

l'occlusion imparfaite de la fente dite choroïdienne, sont héréditaires et coïncident souvent avec diverses autres malformations.

Le colobome est généralement constitué par un élargissement papillaire, un véritable développement ampullaire. Les vaisseaux sont comme déjetés en haut. La partie supérieure de la papille, correspondant à la papille normale, est rosée tandis que la partie inférieure, correspondant au colobome, est blanchâtre ou mieux blanc bleuâtre. Les bords du colobome paraissent souvent bordés de pigment.

On distingue l'excavation du colobome de celle du glaucome à son étendue, à son aspect ampullaire et à l'acuité souvent normale de l'œil.

CINQUIÈME PARTIE

TECHNIQUE DU LABORATOIRE

Les travaux du laboratoire d'ophtalmologie sont analogues à ceux des autres laboratoires médicaux ou chirurgicaux ; toutefois la structure complexe de l'appareil visuel, son organisation délicate comportent certains procédés ou réactifs particuliers. Nous exposerons ici la technique appliquée actuellement aux préparations normales ou pathologiques de l'œil et relatives :

- 1° A la conservation des pièces anatomiques ;
 - 2° Aux préparations histologiques ;
 - 3° Aux préparations bactériologiques.
-

CHAPITRE PREMIER

CONSERVATION DES PIÈCES ANATOMIQUES

Quel que soit le procédé adopté pour la conservation des pièces anatomiques, il repose toujours sur le principe général suivant : employer un liquide qui, en coagulant l'albumine des tissus, fixe les éléments cellulaires dans leur forme, et jouisse de qualités antifermentescibles, capables d'empêcher l'altération ultérieure due à l'intervention des microbes et des moisissures. Il est évident que, suivant la délicatesse du tissu à conserver, suivant le volume de la pièce, etc., la nature du liquide conservateur devra varier ;

aussi la technique de ces opérations est-elle dotée de multiples formules. Mais en ce qui concerne l'ophtalmologie, les variétés sont peu nombreuses; on peut s'en tenir à quelques liquides toujours les mêmes, qui ont fait leurs preuves, et devront suffire à presque tous les cas. Si les pièces qu'on veut garder ne sont destinées qu'à former une collection, on pourra se servir des formules ci-dessous; si on veut au contraire faire un examen histologique, il faudra avoir une technique plus riche que nous exposerons plus loin.

§ 170. **Liquides conservateurs.** — En thèse générale, les liquides conservateurs doivent être employés en grande quantité, proportionnellement au volume de la pièce: pour un globe humain, le volume de liquide conservateur sera, au minimum, de 100 centimètres cubes. Dès que le liquide conservateur aura perdu tant soit peu de sa limpidité, il devra être remplacé en totalité. Nous donnerons d'ailleurs plus loin les règles applicables à chaque cas particulier.

a. *Liquide de Müller.* — Cette solution, à base de bichromate, de potasse, est la plus employée de toutes; elle présente de nombreux avantages dont le principal consiste dans la douceur de son action, qui permet l'examen histologique ultérieur, les déformations cellulaires produites par la solution de Müller étant minimales. Les pièces peuvent se conserver indéfiniment dans ce liquide, si on a soin de le renouveler de temps à autre, ainsi qu'il sera dit plus loin. Il présente l'inconvénient, comme d'ailleurs toutes les préparations chromiques, de colorer en gris verdâtre uniforme toute la pièce, et de mettre un obstacle assez sérieux aux colorations histologiques, de sorte que l'étude ultérieure est un peu gênée par son action; mais il n'en reste pas moins le plus parfait des liquides conservateurs.

On connaît sa formule :

Bichromate de potasse.	20 grammes
Sulfate de soude.	10 —
Eau.	1 litre

Le bichromate de potasse se dissout difficilement dans l'eau froide; si l'on veut préparer rapidement du liquide de Müller, il faut prendre du bichromate pulvérisé et opérer à 50° environ. Il est bon de filtrer la liqueur de Müller avant de l'employer.

b. *Bichromates.* — Au lieu de la liqueur classique de Müller, où le rôle du sulfate de soude est bien mal connu, on peut employer des solutions aqueuses de bichromates alcalins. On se servira de solutions à 1 et 2 p. 100 si l'on emploie le bichromate de potasse, et de solutions à 5 p. 100 si l'on se sert de bichromate d'ammoniaque. Ce dernier sel est préféré par quelques auteurs; il a peut-être une action plus douce encore que la liqueur de Müller; pour notre part, il nous semble que toutes ces solutions se valent en pratique. Les bichromates, comme la liqueur de Müller, colorent fortement les tissus; on peut arriver à une décoloration relative en employant, après un lavage à grande eau, une solution aqueuse d'hydrate de chloral à 1 p. 100. Au bout de quelques minutes, les pièces placées dans ce liquide subissent une décoloration active, mais, pour le travailleur qui a l'habitude des pièces ayant séjourné dans la liqueur de Müller, cette opération est superflue car, en aucun cas, on ne peut espérer rendre à la pièce la couleur qu'elle possédait avant l'action du bichromate.

c. *Acide chromique.* — On peut l'employer pour la conservation des pièces en solution dans l'eau à 0,2 ou 0,5 p. 100. L'acide chromique ne présente aucun avantage sur les bichromates; il a même de nombreux inconvénients dont le principal est l'intensité de son action, qui finit par rendre les pièces friables et cassantes au point que leur dissection ou leur étude est rendue impossible. Il est surtout usité pour les recherches histologiques; nous le retrouverons plus loin.

d. *Alcool.* — L'alcool est un excellent liquide conservateur; il n'a que l'inconvénient d'un prix de revient trop élevé pour les pièces volumineuses. Il a le défaut de ratatiner les pièces et d'exercer une action déshydratante un peu brutale; mais, en l'employant avec discernement, on peut éviter, dans une cer-

taine mesure, les déformations désagréables qu'il cause. Il est parfaitement inutile d'employer de l'alcool absolu pour conserver les pièces, car l'alcool à 70° centésimaux est largement suffisant. C'est d'ordinaire l'alcool éthylique qui sera usité; on peut aussi se servir d'alcool méthylique, mais pour ce dernier, la régie introduit, dans le but de le rendre impropre à la boisson, des substances telles que l'acétone, la benzine, etc., qui, outre leur odeur désagréable, ont l'inconvénient de détériorer les tissus qu'on y fait séjourner; c'est donc en réalité à l'alcool éthylique qu'on devra toujours avoir recours.

e. *Bichlorure de mercure (sublimé corrosif)*. — La meilleure formule consiste à employer des solutions aqueuses saturées à froid. C'est un bon liquide conservateur, mais il doit être changé assez souvent, au moins dans les premiers temps. Il a l'inconvénient que les pièces qui sont restées à son contact pendant longtemps, subissent mal l'imprégnation par les teintures histologiques, tout comme après l'action des substances chromiques.

§ 171. **Préparation des pièces.** — Les pièces anatomiques doivent être mises dans le liquide conservateur aussi fraîches que possible, c'est-à-dire dès leur ablation. Il faut leur faire subir d'abord un nettoyage préalable : on les laisse dans une grande quantité d'eau pour enlever le sang, les caillots qui peuvent masquer les parties intéressantes ou troubler inutilement le liquide conservateur; puis on enlève, avec de petits ciseaux courbes et une pince la graisse, les lambeaux de tissu cellulaire, etc., enfin on installe la pièce dans le liquide.

Conservation dans le liquide de Müller. — On prend une quantité de liquide représentant de 20 à 30 fois le volume de la pièce à conserver; s'il s'agit d'un globe normal ou pathologique seul, 150 à 200 centimètres cubes seront suffisants. Il est bon, pour s'orienter dans l'étude ultérieure, de faire une marque sur un point toujours le même; nous avons l'habitude de pratiquer, en arrière de l'attache du tendon du droit supérieur une petite ouverture de quelques millimètres carrés,

avec des ciseaux fins. Cette petite ouverture a un double avantage, car, outre qu'elle permet de remettre en place le globe de l'œil, elle facilite l'action du liquide conservateur sur ses parties profondes. La pièce, ainsi préparée, est immergée dans le liquide de Müller, où elle gagne généralement le fond, lorsqu'il ne reste pas trop de graisse adhérente. Si la pièce est tant soit peu volumineuse, une tumeur de l'orbite par exemple, il est nécessaire d'y pratiquer avec un rasoir quelques coupes bien nettes, sans quoi le liquide de Müller forme une croûte périphérique s'opposant à la pénétration du réactif au centre de la pièce, qui peut alors s'altérer gravement. Les coupes devront être incomplètes, les divers fragments restant unis les uns aux autres par un lambeau de tissu, pour permettre une reconstitution ultérieure.

Une fois la pièce dans le liquide de Müller, il faut se garder de l'y abandonner, car elle ne tarderait pas à s'altérer d'une façon irrémédiable. Au bout de vingt-quatre heures, on doit changer le liquide, laver légèrement la pièce avec un peu d'eau filtrée pour enlever les précipités qui se forment habituellement, et la replacer dans une même quantité de réactif neuf. Cette opération sera renouvelée *trois jours de suite*. Au bout de ce temps, en général, la pièce n'a plus de tendance à s'altérer; mais si l'on veut assurer sa parfaite conservation, il faut encore renouveler le liquide *plusieurs fois* à dix ou douze jours d'intervalle. En fin de compte, on place la pièce dans le bocal où elle séjournera définitivement. Au laboratoire des Quinze-Vingts, on se sert de bocaux bouchés à l'émeri (pots-bancs) où l'on place un centimètre cube environ de camphre; cette substance assure pour de longs mois la limpidité parfaite du liquide conservateur. La fermeture du bocal doit être hermétique; si on se sert de flacons à l'émeri, ce qui est infiniment meilleur, on frotte le bouchon de paraffine molle et on l'applique à chaud; tout danger d'évaporation est ainsi écarté.

Conservation dans l'alcool. — Comme le précédent, ce liquide doit être employé en quantité assez grande eu égard au vo-

lume de la pièce. L'alcool étant plus léger que l'eau, il faut éviter que la pièce soit placée au fond du vase. La manière la plus commode consiste à remplir le flacon aux trois quarts avec de l'ouate un peu pressée. On y pose la pièce et on remplit avec l'alcool, de façon que le fragment soit toujours placé dans la partie supérieure du liquide, la plus riche en alcool. Au bout de vingt-quatre heures, on change complètement le liquide, et après qu'on a renouvelé plusieurs fois la même opération, on place la pièce dans de l'alcool à 70° sans qu'il soit besoin de mettre de la ouate dans le flacon, les tissus étant suffisamment déshydratés. Pour éviter le ratatinement des tissus et la déformation de la pièce, il est bon de ne pas placer d'emblée cette dernière dans l'alcool fort; on la met pendant vingt-quatre heures dans l'alcool à 40 p. 100, le second jour dans l'alcool à 50 p. 100, le troisième jour à 60 p. 100 et ainsi de suite jusqu'à 70 p. 100. Pour le globe de l'œil, malgré ces précautions, la déformation est presque inévitable si on conserve le globe entier. On pourra l'atténuer dans une certaine mesure, en enlevant au préalable avec un rasoir une calotte sphérique, à la façon d'un verre de montre, sur un point quelconque; mais quelque soin qu'on prenne, on n'évitera jamais un certain degré de ratatinement, conséquence fatale de la déshydratation causée par le réactif; aussi est-il bon de réserver l'alcool pour les pièces autres que les globes, ou tout au moins pour les fragments de globes.

Conservation dans le sublimé. — Les préceptes exposés ci-dessus sont applicables aux solutions de sublimé, à savoir : grande quantité du liquide conservateur et changement fréquent du liquide, au moins dans les premiers temps.

§ 172. **Étude macroscopique du globe de l'œil.** — Ordinairement, lorsqu'il s'agit du globe de l'œil, on ne se contente pas de placer une pièce anatomo-pathologique dans une collection sans l'avoir étudiée au préalable. Les méthodes d'étude qui vont trouver ici leur description s'appliquent aussi bien à l'œil normal qu'à l'œil pathologique.

S'il n'y a pas un intérêt majeur ou spécial à conserver le

globe dans son entier, il faut d'abord l'ouvrir pour étudier sa conformation intérieure : cette ouverture peut être faite immédiatement, ou après que le globe a séjourné un temps plus ou moins long dans un liquide conservateur approprié.

Aussitôt après l'énucléation du globe, on procède à son étude extérieure, en notant avec soin les déformations qu'il présente, les lésions pathologiques existant sur sa surface, ou celles qu'on peut apercevoir à travers la cornée. Cela fait, on procède à l'ouverture du globe. Si l'on pense que les lésions internes ne présentent qu'un intérêt topographique, il sera préférable d'ouvrir le globe après qu'il aura séjourné quelque temps dans le liquide conservateur; il aura alors acquis une consistance qui rendra les manipulations plus faciles. Si au contraire la lésion soupçonnée peut présenter des caractères de coloration ou un aspect qui seraient altérés par les réactifs, il est nécessaire de faire l'ouverture du globe aussi frais que possible.

Il n'y pas de règle précise pour la manière de pratiquer l'ouverture du globe; celle-ci est subordonnée, bien entendu, à la nature de l'étude qu'on veut faire et au siège de la lésion. Il y a cependant quelques méthodes générales qui reçoivent des applications variées suivant les cas.

Les coupes du globe peuvent être *équatoriales* ou *bipolaires*.

Les coupes bipolaires doivent être surtout réservées pour les globes qui ont subi un commencement de durcissement dans les réactifs, car elles sont très laborieuses sur un globe frais; il faut beaucoup d'adresse, servie par une chance heureuse pour arriver à pratiquer une telle coupe sans voir l'iris et le cristallin perdre leurs rapports normaux.

La coupe *équatoriale* peut être facilement faite sur un globe frais; elle trouve surtout son application dans les lésions de l'iris, des procès ciliaires, de la papille et du fond de l'œil. On peut la pratiquer avec des ciseaux fins bien affilés, ou encore dans un baquet de verre rempli d'eau, avec un rasoir très tranchant. On sépare ainsi l'œil en deux segments, l'un antérieur, l'autre postérieur, qu'il est facile d'étudier à l'œil nu et

à la loupe. Une fois l'étude de la pièce fraîche terminée, on la met dans les réactifs appropriés, soit pour la conserver telle quelle, soit pour l'étude histologique.

La coupe *bipolaire* peut être pratiquée suivant tous les méridiens de l'œil. Le sens de la coupe sera naturellement en rapport avec l'étude qu'on se propose; mais la coupe la plus usitée est celle qui passe par le méridien horizontal, permettant seule de partager l'œil en deux moitiés symétriques. Cette coupe est difficile à faire sur le globe frais, facile au contraire si la pièce a subi l'action préalable du liquide de Müller pendant quelque temps. Pour la pratiquer, on tient le globe de la main gauche, plongé dans un grand baquet de verre plein d'eau, et on présente la partie à sectionner au tranchant de l'instrument. Ce dernier peut être un large rasoir ou mieux un couteau à cerveau très bien affilé, auquel on communique de tout petits mouvements de scie ou de va-et-vient en ayant soin de ne pas presser le globe avec les doigts et de serrer tout juste assez pour maintenir les deux hémiglobes. Une fois la section achevée, on laisse tomber au fond de l'eau les deux fragments qu'on peut alors étudier séparément. Si on fait la coupe suivant le méridien horizontal, il faut s'arranger de façon à couper en deux parties égales le fragment de nerf optique resté adhérent au globe: il est préférable de commencer la coupe par le pôle postérieur.

§ 173. **Conservation des hémiglobes.** — Il arrive souvent qu'on veut conserver la moitié d'un globe oculaire présentant une lésion intéressante par sa localisation ou ses rapports avec les diverses membranes de l'œil; le procédé suivant permet de faire des préparations très intéressantes pour l'étude et la démonstration. L'idée première appartient à Priestley Smith; mais le procédé primitif a reçu plusieurs perfectionnements, et nous le décrirons tel qu'il est employé actuellement au laboratoire de la Clinique nationale des Quinze-Vingts, par le docteur Dubief. Ce procédé s'applique d'ailleurs aussi bien à l'œil sain qu'à l'œil pathologique.

Le globe de l'œil, ayant subi l'action du liquide de Müller, est lavé à l'eau courante, ou bien, si on veut le décolorer, placé pendant un temps suffisant dans une solution d'hydrate de chloral à 5 p. 100. Lorsqu'il est bien débarrassé de son liquide conservateur, on lui fait subir les préparations suivantes :

a. 24 heures dans	{ Eau	90 cent. cubes.
	{ Glycérine.	10 —
b. 24 heures dans	{ Eau	75 cent. cubes.
	{ Glycérine.	25 —
c. 48 heures dans	{ Eau	50 cent. cubes.
	{ Glycérine.	50 —

Pendant que l'hémiglobe subit ces préparations préalables, on fabrique de la gélatine glycinée de la manière suivante :

Dans une capsule de porcelaine placée au bain-marie on met :

Gélatine à blancs-mangers	40 grammes.
Eau distillée.	240 —

On fait fondre à une douce chaleur, et, une fois la fusion opérée, on ajoute :

Glycérine.	200 grammes.
--------------------	--------------

en versant petit à petit et en agitant constamment.

Cette solution ainsi préparée n'est pas claire. Pour la clarifier, on y ajoute un blanc d'œuf, on bat quelques instants le mélange, puis on chauffe prudemment à feu nu jusqu'à l'ébullition, ou mieux pendant une bonne heure au bain-marie bouillant. Il ne faut pas oublier que le surchauffage de la gélatine met obstacle à sa solidification par le refroidissement. La coagulation de l'œuf étant effectuée, on passe sur un filtre en papier, qu'on a eu soin d'échauffer préalablement en y faisant couler un peu d'eau bouillante. Malgré la proportion assez élevée de glycérine contenue dans le mélange, cette gélatine peut s'altérer; aussi est-il indispensable d'y ajouter un peu de bichlorure de mercure ou d'acide arsénieux. Le mélange soli-

difié par refroidissement doit être parfaitement transparent, sans grumeaux ni flocons en suspension.

Les vases nécessaires pour conserver les hémiglobes dans la gélatine glycinée, sont de petits cristallisoirs à fond très épais, rodés sur leurs bords pour recevoir un couvercle muni d'une rainure; le fond est usé à la meule à sa partie extérieure pour présenter une surface tout à fait plane.

Un de ces vases est placé à l'étuve à air chaud, entre 40 et 45 degrés, rempli de gélatine glycinée, contenant l'hémiglobe, la surface de section tournée en haut, sans adapter le couvercle. Cette première opération, qui dure 24 heures, a pour effet de rendre le mélange bien homogène et de permettre à toutes les bulles d'air emprisonnées de s'échapper; s'il en restait quelque-une, on chercherait par de petites secousses à la faire sortir. Au bout de ce temps, l'hémiglobe est retourné dans la position qu'il conservera définitivement, c'est-à-dire la surface de section en contact avec le fond du vase. Cette opération est délicate; pour la réussir, il faut que le cristallisoir soit bien rempli de gélatine afin d'éviter d'emprisonner aucune bulle d'air. Si cet accident se produisait, il vaudrait mieux recommencer l'opération que de s'exposer à avoir une préparation manquée: les bulles d'air sont l'ennemi de ce procédé.

A ce moment, si on plaçait le couvercle et qu'on terminât la préparation, on serait sûr au bout de quelque temps de la voir se fissurer lamentablement. Il faut la laisser à l'étuve à 40° plusieurs jours pendant lesquels l'eau s'évapore petit à petit et chaque jour rajouter un peu de gélatine glycinée. A un moment donné, toute évaporation cesse et la gélatine ne change plus de volume; c'est le moment opportun pour terminer la préparation. Pour ce faire, on verse à la surface de la gélatine glycinée fondue jusqu'à ce que le vase déborde et on adapte le couvercle qu'on avait préalablement laissé à l'étuve pour le réchauffer un peu, puis on charge le couvercle avec un poids et, sous l'influence de la pression, l'excès de gélatine s'échappe. Quand le refroidissement est complet, on nettoie avec soin l'extérieur du cristallisoir, puis, une fois

qu'il est bien sec, on applique avec un pinceau, au niveau de la rainure qui unit le couvercle à la boîte, du baume de Canada *sec* dissous dans le xylol. Les jours suivants, on rajoute de nouvelles couches du même lut, jusqu'à ce qu'une épaisseur assez grande garantisse à tout jamais la gélatine de l'évaporation et, par conséquent, de la formation de bulles ou de fissures. En suivant bien cette technique, on peut obtenir d'admirables préparations, se prêtant merveilleusement à l'étude macroscopique des lésions du globe de l'œil.

CHAPITRE II

PRÉPARATIONS HISTOLOGIQUES

§174. Apart un petit nombre de cas très spéciaux, les mêmes méthodes histologiques peuvent être appliquées indifféremment à l'œil normal et pathologique. La technique usitée d'ordinaire en histologie, trouve son application dans l'étude de l'œil; mais, eu égard à la grande spécialisation du sens de la vue, plusieurs procédés sont exclusifs à certaines membranes oculaires. Nous aurons donc à exposer :

- A. Les méthodes générales;
- B. Les méthodes spéciales.

Nous ne nous occuperons pas ici de toutes les méthodes usitées en histologie, telles que injections vasculaires, dissociations, etc. : leur application à l'œil n'offre rien de spécial et nous n'en retiendrons, chemin faisant, que ce qui peut intéresser directement l'ophtalmologie.

A. — MÉTHODES GÉNÉRALES

C'est le plus souvent sur des coupes fines qu'on est appelé à étudier l'anatomie des parties constitutives de l'œil : ces