

atténuée dans une certaine mesure en y incorporant de la gélatine; le mélange suivant donne de bons résultats :

Gélatine	20 parties.
Eau	130 —
Glycérine	100 —
Solution alcoolique de camphre . .	15 —

On fait fondre la gélatine dans l'eau et l'on clarifie avec un blanc d'œuf; on ajoute ensuite la glycérine et le camphre. Cette gélatine-glycérine s'emploie à chaud (30°) et se prend en gelée par le refroidissement.

B. *Montage dans le baume du Canada.* — Le montage dans ce milieu exige des manipulations assez compliquées, mais il a l'avantage de permettre la conservation presque indéfinie des préparations. Son mode d'emploi est un peu différent, suivant qu'il s'agit de coupes à la paraffine ou de coupes à la celloïdine.

1° *Coupes à la paraffine.* — La coupe débarrassée de sa paraffine et colorée, est déshydratée par l'alcool absolu. Ce dernier est ensuite éloigné, et la coupe éclaircie, par l'essence de girofle, la créosote, le xylol, etc. Lorsque la coupe est tout à fait transparente et que, examinée à un faible grossissement, elle ne présente plus ni parties sombres, ni gouttelettes en suspension, on fait tomber l'excès de liquide éclaircissant, et on dépose sur la coupe une goutte de baume du Canada sec dissous dans le xylol, qu'on recouvre d'une lamelle mince. La préparation est alors terminée.

2° *Coupes à la celloïdine.* — L'alcool absolu, la créosote, l'essence de girofle, dissolvent la celloïdine; on ne peut donc les employer. La déshydratation se fera avec de l'alcool dont le titre ne dépassera pas 95° qu'on renouvellera au besoin plusieurs fois. Pour éclaircir les coupes, on se sert d'essence de bergamote, d'essence d'origan, de chloroforme, d'essence de bois de cèdre, d'huile d'aniline, etc. On peut se servir avantageusement de benzine, à condition qu'elle soit très pure (benzine Collas). La coupe, une fois éclaircie, est traitée par le xylol et montée au baume comme précédemment.

B. — MÉTHODES SPÉCIALES

Étude de la cornée. — A. *Méthode de Ranvier (nerfs et cellules fixes).* — La cornée fraîche est placée, pendant cinq minutes, dans du jus de citron frais et filtré sur un morceau de flanelle. On la met ensuite dans une solution de chlorure double d'or et de potassium à 1 p. 100; puis on fait agir la lumière du jour sur la pièce placée dans : eau 50 centimètres cubes, acide acétique deux gouttes. On lave, on durcit dans l'alcool absolu, et on coupe.

B. *Méthode de Rollett (cellules fixes).* — On met la cornée fraîche dans une chambre humide où on l'expose aux vapeurs d'iode. Aussitôt qu'elle est devenue brune, on pourra enlever l'épithélium. Si la réaction n'est pas complète, on remet la cornée dans la chambre humide et on continue l'action de l'iode. Pour la dissociation des fibres, Rollett recommande la macération dans une solution de permanganate de potasse. Aussitôt que le tissu a bruni, on l'agite dans l'eau et on peut facilement dissocier.

Pour les épithéliums, fixer la cornée par le liquide de Flemming ou l'acide osmique, laver et couper après durcissement ou inclusion, enfin colorer à l'hématoxyline et carmin.

Iris et procès ciliaires. — On fixe la pièce dans le mélange chromo-acéto-osmique de Flemming ou mieux dans celui de Fol; elle peut, sans inconvénient, y séjourner plusieurs jours. Les coupes se font soit dans la celloïdine soit dans la paraffine : on doit les colorer par le picro-carmin, mais surtout par le carmin d'Orth ou l'hématoxyline. Les doubles colorations donnent de très belles préparations. Pour l'étude de l'épithélium du corps ciliaire et des cellules cylindriques de la portion ciliaire de la rétine, on pourra, outre les colorations ci-dessus indiquées, employer le procédé suivant. Les coupes, débarrassées de paraffine ou incluses dans la celloïdine, sont lavées dans l'eau pour éloigner l'alcool, puis on les place pendant vingt-quatre heures dans une solution concentrée de

safranine ou de violet de gentiane. On lave de nouveau, on immerge dans l'alcool fort ou absolu auquel on a ajouté un demi p. 100 d'acide chlorhydrique et on les y laisse quelques instants jusqu'à ce qu'il ne s'échappe plus de couleur. Il n'y a plus alors qu'à les déshydrater et à les monter.

Pour l'étude de l'iris, on peut décolorer le pigment par l'eau de chlore qu'on laissera agir quelques heures; il ne faut pousser la décoloration que jusqu'au brun clair, car, si l'on dépassait ce point, on risquerait d'altérer les fibres musculaires. On peut aussi enlever les cellules pigmentaires par l'action du pinceau, après que l'iris a subi pendant quelques jours un bain de liqueur de Müller.

Cristallin. — Pour en faire des coupes, le durcissement le plus convenable est celui de la liqueur de Müller (un mois à six semaines). Pour les dissociations des fibres du cristallin, on se sert du procédé de Max Schültze : on place l'organe frais dans trente grammes d'eau distillée additionnée de quatre à cinq gouttes d'acide sulfurique concentré; au bout de vingt-quatre heures, il suffit après lavage d'agiter, dans un petit tube, un fragment de cristallin avec de l'eau pour voir la dissociation s'opérer d'elle-même. Coloration par les méthodes générales.

Rétine. — Pour durcir la rétine, Urban Pritchard recommande la solution suivante :

Acide chromique 1 gramme.
Eau distillée 20 grammes.

Faire dissoudre et ajouter goutte à goutte dans :

Alcool à 90°. 180 centimètres cubes.

On durcit une rétine en quelques jours, mais l'emploi de cette solution est un peu délicat.

L'acide osmique est le réactif de choix pour la fixation de la rétine. Il peut être employé en solution ou en vapeur. Pour l'usage, il faut faire une section équatoriale de l'œil et exposer l'hémisphère postérieur à l'action du réactif. Il faut employer

des solutions fortes à 1 p. 100 et même à 2 p. 100, qu'on laisse agir de six à vingt-quatre heures : en général douze heures d'osmium donnent un bon résultat. La rétine peut aussi avantageusement être fixée et durcie dans la liqueur de Müller et les bichromates. Les coupes seront colorées par le carmin d'Orth et les teintures d'hématoxyline; on peut les faire avec la celloidine, ou mieux par inclusion dans la paraffine. Pour les dissociations, on doit se servir soit d'alcool au tiers, soit des solutions faibles d'acide osmique (0,2 à 0,5 p. 100), suivies d'une macération dans l'eau pure pendant deux ou trois jours (Ranvier).

Le procédé de Krause pour la dissociation de la rétine, consiste à faire macérer pendant plusieurs jours cette membrane avec une solution de chloral à 10 p. 100; on dissocie ensuite avec les aiguilles. Le même auteur recommande, pour colorer la rétine, une solution de perchlorure de fer à 1 p. 100, suivie, après léger lavage, d'une solution à 2 p. 100 de tannin ou d'acide pyrogallique.

Barrett recommande la méthode suivante pour l'étude de la rétine. Le globe frais et *non ouvert* est placé pendant vingt quatre heures dans :

Acide osmique. 0^{gr},2
Acide chromique 0^{gr},20
Eau distillée 100 grammes.

Puis l'œil est porté pendant quinze jours dans de l'alcool où l'on a fait dissoudre 2 p. 100 d'acide phénique; la pièce est ensuite colorée en masse par le carmin ou l'hématoxyline. L'inclusion est faite dans la paraffine (Barrett conseille l'inclusion dans le beurre de cacao qui se manie comme la paraffine, et offre l'avantage de fondre à très basse température). Les coupes sont colorées en double avec quelques gouttes de teinture alcoolique d'éosine, *avant d'enlever la masse d'inclusion si celle-ci a été faite au beurre de cacao*; on fait dissoudre la masse par le xylol ou l'essence de girofle et on monte dans le baume.

Nerf optique et autres nerfs de l'œil. — Le nerf optique peut être étudié avec la portion adhérente du globe oculaire, mais on est parfois amené à en faire l'examen spéciale. Il faut alors l'étudier par coupes transversales ou longitudinales et par dissociation avec les aiguilles. Le meilleur des réactifs fixateurs est l'acide osmique à un demi p. 100; on colore à l'hématoxyline ou au picro-carmin. Pour l'étude de la myéline et des dégénérescences il vaut mieux employer l'excellente méthode de Weigert que nous donnons ici avec détails.

Les pièces entières, incluses dans la celloïdine, sont plongées, avec le bouchon sur lequel elles sont collées, dans une solution saturée d'acétate neutre de cuivre, étendue d'un égal volume d'eau, puis placées à l'étuve à 35° pendant deux jours. Les coupes sont effectuées au microtome, puis portées dans le bain colorant suivant :

Hématoxyline	1 gramme.
Alcool à 90°.	40 centimètres cubes.
Eau distillée	90 —
Solution saturée de carbonate de lithine.	1 centimètre cube.

Les coupes sont laissées deux heures dans cette solution à chaud (35°). En opérant à froid, il faut les y laisser un temps plus long, qui peut aller jusqu'à vingt-quatre heures. La coloration effectuée on lave à l'eau et on procède à la décoloration dans :

Borax	2 grammes.
Ferricyanure de potassium.	2 ^{gr} ,5
Eau distillée	200 centimètres cubes.

On y laisse les coupes d'une demi-heure à plusieurs heures, suivant les cas. Pour les nerfs pathologiques, la solution décolorante doit être étendue d'eau, et la décoloration durer d'autant plus longtemps que la dilution est plus grande. On lave et on monte dans le baume par les procédés usuels. On peut aussi, après le lavage, colorer les noyaux en rouge par une teinture au carmin.

Les autres membranes de l'œil ne comportent pas, pour l'examen, de technique spéciale; la choroïde, la conjonctive, la sclérotique, etc., peuvent être étudiées par les méthodes générales de l'anatomie microscopique, auxquelles nous renvoyons.

CHAPITRE III

TECHNIQUE BACTÉRIOLOGIQUE

Les études de bactériologie, comme celles d'histologie, comportent des méthodes générales, applicables au plus grand nombre de cas, et des méthodes spéciales, nécessitées par la nature différente des divers micro-organismes qu'on peut rencontrer dans les infections de l'œil ou de ses annexes. La technique bactériologique sera donc divisée en deux grands chapitres, comprenant respectivement ces deux ordres de recherches. Les méthodes générales devront être exposées en bloc, tandis que les méthodes spéciales trouveront leur place dans l'étude détaillée de chaque microbe individuel.

A. — MÉTHODES GÉNÉRALES

Dans les pages qui vont suivre, nous ne pourrions nous étendre avec beaucoup de détails sur toutes les méthodes usitées en bactériologie; nous supposerons le lecteur muni d'un traité spécial sur la matière, et nous n'en retiendrons que les notions strictement nécessaires à l'étude des microbes rencontrés dans l'œil.

L'étude des méthodes générales comporte les trois grandes divisions suivantes :

1° Coloration ;