

Avec ce tube original, il sera maintenant facile de préparer des tubes de gélatine, de gélose, des boîtes de Petri, etc., de se livrer, en somme, à toutes les opérations bactériologiques ordinaires.

B. *Prise de semence dans les milieux.* — Les occasions qu'on a de recueillir, pour les cultiver, les micro-organismes des milieux oculaires sont relativement rares; on n'y peut guère songer en dehors d'une opération ayant un but thérapeutique, ou bien après énucléation du globe. Si l'œil a été enlevé, la substance est recueillie au moyen d'une pipette effilée à laquelle on fait traverser la cornée ou la sclérotique; après qu'on a légèrement flambé la surface de la membrane avec une baguette de verre chauffée. Si c'est au moment d'une opération, on en est réduit à recueillir aussi purement que le permettent les circonstances, la substance d'inoculation soit avec une pipette, soit avec l'anse de platine; dans ce dernier cas, étant données les conditions où l'on opère d'ordinaire, il ne faut guère espérer obtenir d'emblée une culture pure. La substance recueillie sera diluée et mise en culture par les procédés usuels.

C. *Prise de semence sur les membranes.* — S'il s'agit d'une collection liquide purulente ou non, elle est recueillie par le moyen de la pipette flambée. Si c'est un produit solide (tuberculose), on en coupe de petits fragments avec des instruments flambés qu'on fait tomber dans les tubes de culture. Dans le cas de tuberculose, la culture échoue toujours et il ne faut pas négliger de faire concurremment des inoculations aux animaux.

§ 183. **Inoculations aux animaux.** — La technique des inoculations appliquée aux recherches ophtalmologiques ne diffère pas sensiblement de celle employée en bactériologie générale. Ce sont toujours des infections expérimentales pratiquées soit sous la peau, soit dans les veines, soit dans une cavité séreuse, généralement le péritoine; d'ailleurs, la voie d'inoculation à choisir varie avec chaque cas particulier, et nous retrouverons plus loin leur description avec l'étude

spéciale des différents micro-organismes. Seule l'inoculation dans la chambre antérieure est un peu spéciale. Pour faire cette opération, d'ailleurs fort simple, il faut procéder comme il suit. Après avoir soigneusement écarté les paupières de l'animal choisi, on fait, avec une pique ou un couteau de Græe, une petite incision à la cornée, à sa partie supérieure; il sort de l'humeur aqueuse, et par la plaie on introduit, au moyen d'un fil de platine flambé, la substance à inoculer (pus, culture, petit fragment d'organe, etc.). La plaie cornéenne se referme d'elle-même dans la plupart des cas et l'on peut alors assister au développement de la lésion expérimentale. Pour empêcher les infections accidentelles que l'animal provoque souvent en se grattant l'œil avec ses pattes, une fois l'inoculation opérée, on rabat (si c'est un lapin) l'oreille sur l'œil et on la fixe à la joue correspondante par un point de suture; mais cette précaution est ordinairement inutile, car l'occlusion obtenue ainsi est bien loin d'être parfaite.

#### B. — PRINCIPAUX MICROBES PATHOGÈNES DE L'ŒIL

§ 184. Nous indiquerons ici les microbes oculaires pathogènes les plus habituels avec leurs caractères généraux et différentiels.

**Streptocoque.** — Conjonctive normale; certaines conjonctivites; abcès sous-conjonctivaux; abcès des paupières; panophtalmies; sécrétions purulentes en général.

*Morphologie.* — Coccus en chaînettes (30 à 40 grains dans les bouillons, 6 à 10 grains dans le pus et sur milieux solides); grains égaux dans les cultures jeunes, inégaux dans les cultures vieilles.

*Diagnostic bactériologique.* — Se colore par la méthode de Gram, ne liquéfie pas la gélatine sur laquelle il se développe en petites colonies opaques, sphériques, grosses comme une tête d'épingle. — Le bouillon à 37° se trouble d'abord puis s'éclaircit au bout de 48 heures, la culture flottant en flocons déliés: le bouillon devient acide. — Lait coagulé en 4 à 5 jours.

— *Pomme de terre*, culture invisible; aérobie et anaérobie. — *Inoculation sous-cutanée* donne un abcès avec un érysipèle de la région. — *Inoculation intraveineuse*. Septicémie rapide ou abcès viscéraux, suivant la virulence; on retrouve le streptocoque dans le sang. — Lieu d'élection pour l'inoculation: *oreille du lapin*.

**Staphylocoque doré.** — Conjonctive normale et conjonctivites aiguës diverses suppurations oculaires.

*Morphologie.* — Petits cocci réunis en grappes ou amas dans le pus et les cultures; se voit quelquefois en points doubles ou isolés.

*Diagnostic bactériologique.* — Se colore par le Gram. — *Léqûife* la gélatine en formant un dépôt jaune d'or au fond de l'entonnoir de liquéfaction. — *Sur gélose inclinée*. Culture blanche les premiers jours, qui prend peu à peu une teinte dorée. — *Bouillon à 37°* rapidement troublé; dépôt blanc jaunâtre au fond du tube. — Anaérobie facultatif. — *Inoculation intra-veineuse*. Septicémie rapide en 24-48 heures; *sous-cutanée*, abcès; *péritonéale*, péritonite suppurée rapidement mortelle. Parfois le staphylocoque doré ne possède aucune virulence sur les animaux en expérience.

**Staphylocoque blanc.** — Mêmes caractères que le staphylocoque doré, sauf la couleur de la culture qui reste blanche.

**Pneumocoque (Talamon-Fränkcl).** — Conjonctivite aiguë à pneumocoques (pseudo-membrane et sécrétion conjonctivale).

*Morphologie.* — Petits grains lancéolés, disposés deux par deux ou quatre par quatre, entourés d'une auréole claire (capsule). Cette auréole n'existe pas dans les cultures; dans ces dernières, le pneumocoque se dispose souvent en longues chaînes.

*Diagnostic bactériologique.* — Se colore par le Gram. — *Gélatine*. Pas de culture à la température ordinaire. — *Gélose*. Petites colonies transparentes ressemblant à des taches de rosée. — *Bouillon*. A peine troublé, devient acide (acide for-

mique), en même temps que, en quelques jours, le microbe perd sa virulence et ne tarde pas à mourir. — Anaérobie facultatif; pousse dans le vide et y garde sa virulence. — *Inoculation*. C'est la méthode de choix pour le diagnostic du pneumocoque. Inoculer une goutte de la substance d'expérience sous la peau d'une souris blanche. En 24 ou 36 heures l'animal meurt de septicémie et son sang, sa rate, etc. fourmillent de pneumocoques capsulés.

**Gonocoque (Neisser).** — Conjonctivite blennorrhagique et blennorrhéique, ophtalmie des nouveau-nés.

*Morphologie.* — Petits grains doubles en forme de haricots se regardant par leur hile. Libres, en petits amas, ou à la surface et dans l'intérieur des globules purulents.

*Diagnostic bactériologique.* — Ne se colore pas par le Gram. — Ne pousse pas ou très mal dans les milieux alcalins. — *Gélatine acide*. Culture blanche étalée. — *Gélose de Wertheim*. Mélanger une partie de sérum stérilisé par le chauffage discontinu avec deux parties de gélose ordinaire maintenue en fusion à 50°. Sur ce milieu, le gonocoque se cultive assez bien en petites colonies hémisphériques blanchâtres. — *Pomme de terre*. Rien. — *Bouillon*. Le gonocoque peut se cultiver dans l'urine acide stérilisée contenant 1/2 p. 100 de peptone (Finger). — *Inoculations*. Rien de positif.

**Bacille de Weeks.** — Conjonctivite aiguë contagieuse. Ophtalmie d'Égypte.

*Morphologie.* — Petits bacilles courts et fins, isolés ou réunis bout à bout, à extrémités arrondies, quelquefois renflées en massue. Libres, à la surface ou dans l'intérieur des cellules épithéliales.

*Diagnostic bactériologique.* — Ne se colore pas par le Gram. Coloration excellente par le bleu phéniqué, difficile à cultiver. On n'obtient de culture qu'avec les conjonctivites très intenses à exsudat très virulent. Il faut beaucoup de substance d'inoculation; l'ensemencement avec la pipette est meilleur, celui avec le fil de platine échoue au contraire souvent. — *Bouillon*. Petit dépôt sans trouble du liquide. — *Pomme de*

terre et gélatine. Pas de culture. — *Gélose*. Morax recommande la gélose ordinaire à la surface de laquelle on a étalé un peu de *sérum humain* stérilisé. La virulence et la végétabilité des cultures disparaît en quelques jours. — *Inoculations*. Chez les animaux, toujours négative. Morax s'est inoculé à lui-même une culture pure de troisième passage sur gélose, sans traumatisme ni irritation préalable de la muqueuse, il a eu une conjonctivite caractéristique.

**Bacille diphtérique** (*Klebs-Löffler*). — Diphtérie conjonctivale.

*Morphologie*. — Bâtonnet à extrémités arrondies; se disposant par groupes, en broussaille: la coloration du bacille jeune est uniforme, dans les vieilles cultures il prend un aspect granuleux par suite de la formation d'espaces clairs non colorés. Dans les vieilles cultures, beaucoup de formes d'invololution (en poire, en massue).

*Diagnostic bactériologique*. — Il se colore par le Gram (méthode de choix). Pour les fausses membranes, Roux a imaginé la méthode suivante (inférieure à la méthode de Gram). On prend la fausse membrane et on l'étale en couche mince sur des lamelles, par écrasement ou frottis. On laisse sécher; puis on passe trois fois dans la flamme pour fixer. On dépose ensuite sur les lamelles, maintenues avec une pince de Cornet, quelques gouttes du *bleu composé de Roux* préparé avec les deux solutions suivantes:

## SOLUTION A

Violet dahlia . . . . .	1 gramme.
Alcool à 90°. . . . .	10 grammes.
Eau distillée. . . . .	90 —

## SOLUTION B

Vert de méthyle . . . . .	1 gramme.
Alcool à 90°. . . . .	10 grammes.
Eau distillée. . . . .	90 —

Mélez une partie de la solution A à deux parties de la solution B.

On laisse en contact pendant une minute environ et on lave la lamelle à l'eau distillée. Il ne reste plus qu'à sécher et à monter la préparation par les procédés habituels.

*Culture sur sérum*. — Si on ne peut avoir de fausse membrane, il faut avoir recours à la culture sur sérum gélatinisé. Deux tubes de sérum sont nécessaires pour le diagnostic. A l'aide d'un fil ou d'une petite spatule stérilisée dans la flamme de la lampe à alcool ou du bec de Bunsen, on va chercher sur la conjonctive un peu de la sécrétion ou un petit fragment de fausse membrane; puis avec la spatule ainsi chargée, sans l'essuyer, on trace sur la surface du premier et du second tube une série de lignes parallèles aussi nombreuses que possible. Les tubes sont placés à l'étuve à 37° et si, après vingt-quatre heures, la culture est abondante, le *diagnostic de diphtérie est bien probable*. En cas de doute, il faut faire immédiatement un examen histologique. Les colonies du bacille de Löffler sont arrondies, formant une saillie hémisphérique, de sorte que, vues par transparence, elles semblent opaques à leur centre.

**Bacille de Friedländer**. — Dacryocystites (Terson, Widmark, Cuénod), ulcères de la cornée (Terson).

*Morphologie*. — Coccus ovalaires réunis par paires ou quatre par quatre. — Dans les liquides se met en longs filaments. — Capsulé dans les liquides organiques (pus).

*Diagnostic bactériologique*. — Ne prend pas le Gram. — *Bouillon troublé*. — *Lait coagulé*. — *Gélatine non liquéfiée*. — *Culture en clou*. — *Inoculation*. La *souris*, animal de choix. Pneumonie par inoculation pulmonaire. Le bacille se retrouve dans le sang du cœur.

**Bacille de la tuberculose**. — Tuberculose de l'iris et du corps ciliaire; tuberculose de la choroïde; lupus de la conjonctive.

*Diagnostic bactériologique*. — Deux procédés sont aux mains du clinicien pour diagnostiquer le bacille de la tuberculose: a, la coloration spéciale; b, l'inoculation.

a. *Coloration par la méthode de Kühne (Ziehl-Ehrlich)*. — Si

on a affaire à du pus, on prépare tout d'abord des lamelles par la méthode habituelle. La dessiccation étant complète, on flambe légèrement les lamelles, ou on les fixe au mélange éthéro-alcoolique, comme nous l'avons indiqué, puis on les plonge dans la teinture suivante :

Acide phénique cristallisé. . . . .	5 grammes.
Fuchsine. . . . .	1 —
Eau distillée. . . . .	100 —

qu'on a pris soin de chauffer préalablement vers 50°. Au bout de cinq à dix minutes la lamelle est sortie du bain colorant, lavée soigneusement et placée, jusqu'à décoloration complète, dans :

Alcool à 90° . . . . .	3 parties.
Acide nitrique . . . . .	1 —

et lavée de nouveau à l'eau distillée. La lamelle est ensuite colorée en double dans une solution aqueuse faible de bleu de méthylène où elle séjourne une à deux minutes. On lave de nouveau, on laisse sécher et on monte dans le baume. On a ainsi des bacilles de Koch colorés en rouge, se détachant sur un fond bleu.

Si on veut colorer des coupes, les pièces resteront beaucoup plus longtemps dans la teinture de fuchsine, de deux à douze heures. On peut également hâter la coloration en opérant à chaud. On peut aussi colorer le tissu en bleu après l'action de l'alcool nitrique, en se servant de bleu de méthylène insoluble à l'alcool pour permettre la déshydratation ultérieure et le montage au baume; la teinture bleue devra toujours être très diluée pour éviter les surcolorations qui masqueraient à coup sûr les bacilles tuberculeux si ténus et si difficiles à apercevoir lorsqu'ils ne sont pas nombreux.

*Inoculations.* — Il arrive que dans des lésions présumées tuberculeuses, la coloration ne décèle pas de bacilles; il faut alors avoir recours à l'inoculation. L'animal de choix est le cobaye. On délaye la substance d'inoculation avec un peu

d'eau stérilisée, et on l'injecte dans le péritoine. L'animal, abandonné à lui-même, met six ou sept semaines à succomber à la tuberculose généralisée. On peut le sacrifier, si le diagnostic est urgent, au bout de douze à quinze jours; on trouve alors, si la substance contenait des bacilles, des lésions tuberculeuses miliaires sur la surface péritonéale, lésions dans lesquelles le microscope peut montrer l'existence du bacille de Koch.

**Bacille de la lèpre** (*Hansen*). *Lèpre conjonctivale. Morphologie.* — Petits bacilles fins de 3 à 6  $\mu$  de longueur, droits ou un peu courbés, légèrement mobiles parfois. Lorsqu'ils sont colorés, ils ressemblent beaucoup au bacille tuberculeux et possèdent comme lui des vacuoles dans leur protoplasma; mais ils se présentent souvent par paquets dans les préparations.

*Diagnostic bactériologique.* — Il offre les mêmes réactions colorantes que le bacille de la tuberculose, c'est-à-dire qu'il peut être coloré par la méthode de Ziehl ou d'Ehrlich, et qu'il résiste à la décoloration par les acides; cette coloration se fait d'ailleurs beaucoup plus facilement qu'avec le bacille de Koch, elle est presque instantanée. Il se distingue du bacille de Koch par la facilité et la rapidité avec laquelle il se colore par la méthode de Gram; quelques minutes de coloration suffisent.

La culture en est difficile et échoue souvent: d'après Ducey, le bacille de Hansen serait *anaérobie*, et on obtiendrait facilement des cultures dans le vide ou les gaz inertes.

L'inoculation fait parfois succomber les animaux inoculés, mais elle n'a jamais reproduit jusqu'ici les lésions et les symptômes de la lèpre.