

NEUVIÈME LEÇON

LES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE GLOBULES BLANCS

Historique et classifications. — Technique de l'examen. — Prise du sang. — Fixation, Coloration. — Polynucléaires. — Mononucléaires et lymphocytes. — Éosinophiles. — Formes rares: mastzellen, plasmazellen, myélocytes. — Altérations des globules blancs. — Dégénérescences et surcharges.

Le rôle physiologique et les variations morphologiques des globules rouges ont été nettement déterminés par des travaux déjà anciens, parmi lesquels il est juste de mettre au premier plan ceux de Hayem et de Malassez.

Quant aux leucocytes, dont les formes sont plus variées et l'étude plus complexe, ils sont à l'heure actuelle encore l'objet de travaux nombreux qui tendent à leur assigner une origine et peut-être des fonctions différentes.

Déjà Virchow en 1845 (1), étudiant la leucémie, avait distingué deux variétés de globules blancs: les uns petits, ne présentant qu'un seul noyau arrondi, les autres plus volumineux et présentant tantôt un noyau contourné, tantôt un gros noyau étalé, plus ou moins régulier. Cette classification des leucocytes en éléments de la lymphe d'une part et éléments plus volumineux, venant de la rate, d'autre part, permit à Virchow de distinguer deux variétés de leucémie: la leucémie lymphatique ou ganglionnaire et la leucémie splénique.

C'est Wharton Jones (2) qui, en 1846, découvrit des granulations dans le protoplasma de certains éléments leucocytaires, ce

(1) VIRCHOW. *Verh. der phys. med. Ges. zu Würzburg*, II, p. 325, et *Virchow's Archiv*, 1853, t. V, p. 43.

(2) WHARTON JONES. The blood corpuscle considered in its different phases of development (*Philosophical Transactions*, 1846).

qui l'engagea à diviser les globules blancs en éléments granuleux et non granuleux.

La classification de Max Schultze (1), venue plus tard, en 1865, paraît se rapprocher beaucoup de celle admise de nos jours. L'auteur distingue des formes petites, du volume d'un globule rouge, présentant un petit noyau arrondi: ce sont les leucocytes hématoïdes, — des formes volumineuses à protoplasma plus étalé, à noyau volumineux, plus ou moins régulièrement arrondi, — des formes moyennes à protoplasma, finement granuleux et à noyau étranglé, contourné, dessinant les formes les plus bizarres, — enfin des éléments à granulations réfringentes, visibles sans coloration, granulations fines ou volumineuses et dont quelques-unes correspondent certainement aux granulations actuellement appelées éosinophiles.

Dès 1875, M. Ranvier (2), frappé par l'aspect si spécial du noyau de certains leucocytes, essaie de déterminer s'il s'agit de plusieurs noyaux ou d'un seul dont les différentes parties seraient reliées par des filaments chromatiques peu visibles. Il s'arrête à cette dernière hypothèse; il pense que ces éléments ne portent qu'un seul noyau, mais contourné et plurilobé. En même temps, en colorant des leucocytes par la liqueur iodo-iodurée, M. Ranvier se rend compte de l'existence dans ces éléments de granulations de glycogène.

M. Hayem en 1879, d'après ses recherches sur le sang de la grenouille, distinguait quatre variétés de leucocytes: 1° des cellules petites à noyau unique et à protoplasma pâle; 2° d'autres semblables, mais à protoplasma sombre; 3° des cellules à noyau multiple et à protoplasma finement granuleux; 4° enfin des cellules à granulations volumineuses. Plus tard, en 1889, il simplifiait cette classification, en réunissant les deux premières variétés qui correspondent à nos mononucléaires, et il remarquait leur augmentation dans certaines cachexies, dans la leucémie et la pseudo-leucémie. Quant à la troisième variété, devenue la seconde dans sa nouvelle classification, et qui correspond à nos

(1) MAX SCHULTZE. *Arch. für mikrosk. Anatomie*, I, 1865, p. 1.

(2) RANVIER. Recherches sur les éléments du sang (*Archives de physiologie*, 1875).

polynucléaires, il notait son augmentation dans la plupart des leucocytoses inflammatoires. Enfin il assimilait les granulations de la dernière variété aux granulations éosinophiles qu'Ehrlich avait fait connaître.

Les travaux d'Ehrlich (1) et de ses élèves Canon et surtout Schwarze (2) sur les différentes variétés de globules blancs méritent de nous arrêter plus longtemps. Il étudia les leucocytes sur des préparations sèches et fixées à des températures élevées. Sa classification est fondée sur l'aptitude de certains éléments à fixer plus particulièrement tel ou tel réactif colorant. Il existe, en effet, dans les leucocytes des granulations qui se teignent les unes par les réactifs tels que l'éosine, d'autres par les réactifs tels que la thionine, d'autres par le mélange de ces deux substances. Or les couleurs d'aniline peuvent être assimilées à des sels dans lesquels la matière colorante occupe tantôt la position acide, tantôt la position base. On dit que l'éosine est une couleur *acide* parce qu'elle est un éosinate de soude et que, dans ce composé, la substance qui colore occupe la position acide; par contre, le bleu de méthylène est une couleur *basique* parce que c'est du chlorure de tétraméthylthionine, que la substance colorante est la tétraméthylthionine et qu'elle occupe la position base dans la substance employée.

Vous voyez donc que ces expressions de couleur acide et basique n'impliquent pas du tout que, chimiquement parlant, au papier de tournesol par exemple, ces réactifs soient acides ou alcalins, non plus que les granulations qu'elles colorent soient de nature chimique acide ou alcaline.

Ceci posé, Ehrlich a distingué deux variétés de globules blancs dans ses importants travaux publiés de 1879 à 1891 : les uns ne présentent pas de granulations, les autres en sont pourvus.

Dans les éléments non granuleux, le protoplasma est uniforme, se teinte plus ou moins énergiquement ou ne prend aucun

(1) EHRLICH. Ueber die specifischen Granulationen des Blutes (*Verhandlung der physiolog. Gesellschaft zu Berlin*, 1878-1879, n° 20, et *Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes*, Berlin, 1891, p. 5).

(2) SCHWARZE. *Inaug. Dissert.*, Berlin, 1880.

réactif colorant. Ils sont de petit volume. Leur noyau est arrondi. Ils correspondent aux lymphocytes et viennent du tissu ganglionnaire et peut-être splénique.

Les éléments à granulations se divisent en quatre catégories : *acidophiles* (ou *oxyphiles*), *amphophiles*, *basophiles* et *neutrophiles*.

Les premiers, remplis de granulations α , se teignent par les couleurs acides telles que éosine, orange, induline. Les seconds sont chargés de granulations β qui prennent à la fois les colorants basiques et acides; c'est Schwarze qui leur donna le nom d'amphophiles. La troisième variété, que l'on rencontre dans la lymphe du rat, présente des granulations γ qui se teignent énergiquement par les colorants basiques. Enfin ceux de la quatrième variété sont finement ponctués de petits grains très ténus, que l'on ne peut colorer que par un réactif dit neutre, c'est-à-dire fait d'un mélange de couleurs acides et basiques : ce sont les granulations ϵ .

Tandis que les éléments non granuleux ne présentent qu'un noyau, petit, arrondi, les éléments granuleux sont munis d'un noyau polymorphe, du moins dans le sang circulant.

Cette classification, avec des modifications de détail, a été acceptée par presque tous les auteurs. Certains, comme Stiénon (1), Rieder, von Limbeck, Tchistowitsch, Kruger, s'égarent en des distinctions purement morphologiques, ils veulent avec Ouskow (2) voir un rapport de filiation entre l'élément lymphocytaire non granuleux et les éléments granuleux; ce dernier auteur distingue trois variétés de globules blancs : jeunes ou lymphocytes, mûrs ou mononucléaires, vieux ou polynucléaires. D'autres, avec Arnold (3), ne croient pas à la spécificité des granulations et pensent qu'un même leucocyte peut contenir à la fois des grains oxyphiles et basophiles. Presque tous sont mal fixés sur la nature exacte des granulations des éléments appelés mastzellen. Pour

(1) STIÉNON. Leucocytose dans les maladies infectieuses (*Ann. de la Soc. des sciences méd. de Bruxelles*, 1896).

(2) OUSKOW. *Le sang comme tissu* (en russe). Saint-Petersbourg, 1890.

(3) J. ARNOLD. Ueber Theilungsvorgänge an der Wanderzellen, etc. (*Arch. für mikrosk. Anatomie*, 1887, p. 205).

quelques-uns la granulation neutrophile est une granulation oxyphile fine.

Les travaux les plus récents et les plus importants parus sur l'autonomie des différentes formes leucocytaires et sur leur origine distincte dans des organes, des tissus et des éléments spéciaux, sont ceux de Jolly (1898) et de Dominici (1899-1901). Ce dernier auteur, substituant la notion d'origine à la notion de forme, donne une classification des leucocytes d'après les tissus qui leur donnent naissance : éléments lymphoïdes, dont l'origine est dans le tissu lymphoïde et dans les éléments caractéristiques de ce tissu, et éléments myéloïdes, dont l'origine est dans le tissu myéloïde et dans les éléments caractéristiques de ce tissu.

Tel est à grands traits l'historique de cette question. Je vais maintenant, en quelques mots, vous dire comment vous devez faire un examen de sang, vous indiquer les colorants les plus fidèles et les fixateurs les plus sûrs, et vous décrire la forme, la constitution et la coloration des différentes variétés de globules blancs que cette technique vous permettra d'étudier.

Je vous ai déjà parlé des procédés de numération des globules rouges et des globules blancs. Je n'ai donc plus à m'occuper ici de leucocytose quantitative, mais seulement de l'étude des formes histologiques des globules blancs après coloration du sang sec par les réactifs usuels.

Vous recueillerez le sang par piqûre à la pulpe du doigt ou, ce qui est préférable pour de semblables examens, sur le dos de la phalangette au voisinage de l'ongle; mais au préalable, il est nécessaire de nettoyer les téguments à l'éther pour enlever les graisses et les débris épidermiques. Vous vous servirez pour la piqûre d'une petite lancette à saignée, voire de la pointe très fine d'un bistouri. Vous négligerez la première goutte qui perle à la surface du doigt, et par pression du doigt vous ne ferez sourdre la goutte de sang qu'au moment même où vous appliquerez la lame de verre. Cette lame de verre, bien propre, ne doit pas être appliquée fortement, elle doit effleurer en quelque sorte le sommet de la goutte de sang. La goutte une fois recueillie sur la lame, vous prenez une lame rodée, vous la placez de champ

sur la première et vous étalez rapidement avec elle votre goutte de sang; la couche de sang doit être uniforme, très égale et ses bords doivent rester en deçà des bords de la lame porte-objet. Si la goutte de sang recueillie était trop considérable, l'étalement lui ferait déborder la lame de verre, ce qui fausserait votre numération, les globules blancs s'accumulant souvent sur les bords de la préparation.

Vous agitez alors à l'air, jusqu'à séchage complet, et votre préparation est prête pour la *fixation*.

Plusieurs procédés peuvent être employés pour fixer une plaque de sang sec. La chaleur ordinaire, celle de la flamme du bec Bunsen, est tout à fait défectueuse. M. Hayem (1) et ses élèves Bensaude et Herscher (2) se servent de l'alcool absolu maintenu au contact une heure dans un vase de Borrel. Le réactif le plus employé est le réactif dit de Nikiforoff, composé d'alcool absolu et éther à parties égales. On plonge la lame dans ce réactif et on l'y laisse deux heures.

M. Malassez (3) a conseillé l'acide chromique en solution exactement titrée à 1 p. 100. On plonge la lame dans cette solution, on la retire aussitôt et on lave à grande eau. Ce procédé, qui convient admirablement à la fixation des hématies, est médiocre pour les leucocytes. Ehrlich (4) a préconisé l'emploi de la chaleur à 120° dans l'étuve à toluène pendant 1/4 d'heure. Le triacide, au dire de cet auteur, ne prend bien qu'après cette fixation.

M. Dominici se sert souvent des vapeurs d'acide osmique à 1 p. 50, mais ce mode de fixation est assez délicat, et tout récemment ce même auteur a indiqué des réactifs spéciaux, solutions de bichlorure de mercure, d'iode et de formol en proportions données, dont l'action est rapide et qui permettent de

(1) G. HAYEM. *Du sang et de ses altérations anatomiques*. Paris, 1889.

(2) BENSAUDE et HERSCHER. Quelques précautions à prendre dans l'emploi de la solution triacide d'Ehrlich (*Bulletin de la Soc. anatomique*, 8 juin 1900, p. 578).

(3) Voir J. JOLLY. Sur la numération des différentes variétés de globules blancs du sang (*Arch. de méd. expérimentale*, 1896, p. 510).

(4) EHRLICH, *loco citato*, et SCHWARZE, *Inaug. Dissert.*, Berlin, 1880.

colorer facilement les diverses granulations des leucocytes (1).

Je ne m'appesantirai pas plus longtemps sur ces procédés de fixation dont vous trouverez les détails dans les traités spéciaux (2). Il vous est d'ailleurs possible de faire une excellente préparation en fixant votre lame pendant deux heures par l'alcool-éther.

La préparation fixée, il faut passer à sa *coloration*.

On divise les colorants cellulaires, comme vous le savez, en colorants du noyau et colorants du protoplasma. L'hématéine et l'hématoxyline, les couleurs basiques d'aniline, thionine, bleu de méthylène, bleu de toluidine (Dominici), bleu polychrome (Unna), sont des colorants nucléaires. L'éosine, l'orange sont des colorants du protoplasma. Mais dans le groupe des colorants dérivés de l'aniline, il existe des couleurs basiques, d'autres acides, qui teintent des granulations différentes du protoplasma des leucocytes : ce sont plus particulièrement l'éosine, l'orange, les bleus. Vous devrez vous en servir pour la différenciation des granulations.

M. Leredde (3) emploie pour les préparations usuelles l'hématéine acide, dont l'action est très énergique et qui colore très bien le noyau des leucocytes, puis l'éosine qui teinte en rose très pâle le protoplasma de quelques globules blancs, en rouge les hématies et les grains éosinophiles.

Vous pourrez vous servir aussi de la thionine en solution à 1 p. 100, avec décoloration par l'alcool; vous pourrez, par ce seul colorant, teindre différemment en bleu le noyau des leucocytes, en vert (teinte dite métachromatique) les hématies et les

(1) M. JOLLY (Sur quelques points de l'étude des globules blancs dans la leucémie à propos de la fixation du sang, *Arch. de méd. expér.*, janv. 1902, p. 73) a préconisé l'usage de la liqueur de Flemming sans acide acétique. — Beaucoup d'auteurs préfèrent la fixation thermique dans l'étuve à toluène à la fixation chimique, parce que les réactifs tels que l'acide osmique, l'acide chromique forment avec les granulations des combinaisons qui peuvent en faire varier les affinités colorantes.

(2) Voir J. COURMONT et V. MONTAGARD. Les leucocytes; technique (L'Œuvre médico-chirurgical, n° 31). Paris, 1902.

(3) Voir E. LEREDDE et F. BEZANÇON. Principales formes cellulaires des tissus conjonctifs et du sang (*Presse médicale*, 23 nov. 1898, p. 305).

granulations éosinophiles. Le bleu polychrome, le bleu de méthylène, le bleu de toluidine donnent des résultats semblables.

Vous pourrez encore combiner l'action de l'éosine à celle de l'aurantia. Ainsi vous colorerez en jaune orangé les hématies et les granulations éosinophiles, et en rose le protoplasma des polynucléaires.

Le *triacide* d'Ehrlich est un mélange de vert de méthyle, de fuchsine acide et d'orange. Le vert de méthyle y joue le rôle de colorant basique faible, les deux autres de colorants acides et les molécules basiques de vert y sont saturées de molécules acides d'orange et de fuchsine. Il est nécessaire pour étudier les granulations neutrophiles. Ehrlich croit que cette union de colorants basiques et acides produit un composé neutre; en réalité, au dire de Jolly, de Kanthack et Hardy (1), de Dominici (2), ce mélange est à prédominance acide.

Vous laisserez agir le triacide glycérolé d'Ehrlich pendant 20 minutes, puis vous décolorerez par l'alcool absolu. Les grains neutrophiles apparaissent alors en rose violet pâle, les éosinophiles en rouge violet intense, les amphophiles ne sont pas colorés, les noyaux apparaissent vert clair, les hématies orange, orange rouge, orange violet, suivant le degré de décoloration.

M. Dominici, afin d'étudier les granulations amphophiles et basophiles, se sert du bleu de toluidine ou du bleu polychrome et de l'éosine orange; ainsi les mastzellen apparaissent violet rouge, les neutrophiles rosés, les éosinophiles orange, les noyaux et les protoplasmas basophiles en bleu intense, les hématies en orange.

La coloration faite, lorsque vous avez déshydraté votre préparation à l'alcool absolu ou, comme le veut M. Dominici, par une série d'alcools de titre progressivement plus élevé, vous passez la lame au xylol et vous montez dans le baume s'il s'agit d'hématéine, dans l'huile de cèdre s'il s'agit de thionine ou de bleus quelconques.

(1) KANTHACK et HARDY. The morphology and distribution of the wandering cells of mammalia (*Journal of physiology*, XVII, 1894, p. 81).

(2) DOMINICI. Leçons inédites.

Je diviserai les globules blancs en deux grandes catégories : 1° les éléments normaux que vous rencontrerez le plus fréquemment, c'est-à-dire les polynucléaires, les mononucléaires, les lymphocytes, les éosinophiles, et 2° les éléments rares, ceux dont l'apparition dans le sang peut être considérée comme anormale, les mastzellen, les éléments basophiles, les myélocytes, les plasmazellen, les éléments en karyokinèse, les leucocytes altérés.

Les *polynucléaires* sont les éléments les plus nombreux. Leur volume est toujours supérieur ou égal à 12μ ; on peut cependant rencontrer des formes plus petites dans les leucocytoses locales rapides et dans la leucémie. Leur forme est arrondie et régulière. Leur noyau est découpé, plurilobé, d'apparence plurinucléée. Il affecte les formes les plus diverses, en U, en X, en V, en S. Il s'agit, comme l'a vu M. Ranvier, non de plusieurs noyaux, mais de grains chromatiques réunis par des filaments plus ou moins apparents (1). Il se colore très fortement par les réactifs nucléaires (hématéine, bleu).

On a discuté longtemps sur la cause de cette lobulation du noyau. Pour M. Ranvier (2), le noyau est comme étranglé par le protoplasma de l'élément; Lavdowsky (3) met la lobulation du noyau sur le compte de son activité propre; Demoor (4) se rallie à cette opinion; Ziegler (5) croit à un processus de désagrégation; Ehrlich admet que cette lobulation exprime un état de croissance progressive de l'élément; Arnold (6), Renaut (7) pensent que ce stade de lobulation précède souvent une phase de division de la cellule. Pour Metchnikoff (8), la disposition du noyau des poly-

(1) Aussi le terme de polynucléaire est-il tout à fait défectueux : il l'est quant à la forme, car c'est un mot hybride, et quant au fond, car l'élément qu'il désigne n'a pas plusieurs noyaux, mais un seul plus ou moins découpé. C'est un leucocyte à noyau *plurilobé*.

(2) RANVIER. *Loc. cit.*

(3) LAVDOWSKY. *Virchow's Archiv*, 1884, Bd 96, p. 60.

(4) J. DEMOOR. *Arch. de biologie*, 1895, XIII, p. 163.

(5) ZIEGLER. *Anat. path.*, 1889, trad. franç., t. I, p. 254.

(6) ARNOLD. *Arch. für mikrosk. Anat.*, 1887, p. 251.

(7) J. RENAUT. Recherches sur les éléments figurés du sang (*Arch. de Physiol.*, 1881, p. 649).

(8) E. METCHNIKOFF. *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*, Paris, 1892.

nucléaires est en rapport avec la diapédèse. Cette forme spéciale n'existe d'ailleurs que chez les animaux dont le système circulatoire est fermé, elle manque ou est très rare chez les invertébrés dont le système vasculaire est ouvert.

M. Jolly établit une distinction entre les noyaux désagrégés, les noyaux bourgeonnants qui peuvent simuler les polynucléaires, et les polynucléaires vrais. Ces derniers sont des éléments à protoplasma très actif, très mobile, et le noyau perpétuellement comprimé, étranglé, garde les aspects les plus bizarres lorsque le protoplasma revient à sa forme primitive.

On peut réaliser l'aspect plurilobé et les diverses formes du noyau des polynucléaires au moyen de l'expérience suivante,



FIG. 68. — Théorie de la lobulation du noyau des polynucléaires (Jolly).

Aspects divers que présente, après une série de manipulations, la coupe d'une boule de cire blanche renfermant un noyau de cire colorée.

due à M. Jolly (1) : on prend une petite boulette sphérique de cire rouge et on l'inclut dans une autre boulette de cire blanche, de sorte que la première représente le noyau et la seconde le protoplasma d'un élément; puis on aplatit le tout, on l'étire, on le pétrit; après quoi on lui rend la forme sphérique; enfin on pratique des coupes dans la sphère de cire et l'on trouve alors les formes les plus diverses du noyau, comme dans les polynucléaires (fig. 68).

Le polynucléaire (fig. 69, 5 et 6) présente un protoplasma finement granuleux. Les granulations, visibles surtout au triacide, sont fines, inégales, inégalement réparties, très nombreuses; elles se colorent en rose par l'éosine, en rose par l'éosine-orange, en rose violet pâle par le triacide d'Ehrlich.

La nature de ces granulations est mal connue. Sont-elles acidophiles comme le veulent Kanthack et Hardy, ou neutrophiles

(1) J. JOLLY. Recherches sur la valeur morphologique et la signification des différents types de globules blancs (*Thèse de Paris*, 1898, n° 623, et *Arch. de méd. exp.*, 1898, p. 546 et 616).