Zeitschrift: Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 62 (1942-1945)
Heft: 257

Artikel: Étude sur quelques critères de vitalité des globules blancs
Autor: Jeanneret, H.
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-273226

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation
L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use
The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 11.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Etude sur quelques Critères de Vitalité des Globules blancs

PAR

H. JEANNERET

(Séance du 5 novembre 1941.)

Au cours de travaux [1] portant sur le sang conservé, nous nous sommes enquis du sort des globules blancs, en particulier de leurs propriétés biologiques, en fonction de la durée de conservation et du choix de l'anticoagulant. La question est d'un vif intérêt étant donné le rôle de ces cellules dans la lutte contre l'infection. Nous nous sommes basés sur trois critères de vitalité du globule blanc: son pouvoir phagocytaire, sa motilité active et sa colorabilité vitale. Les résultats de ces recherches ont paru dans des revues médicales (1, 2), auxquelles nous renvoyons le lecteur. Ce sont les méthodes et techniques biologiques utilisées qui font l'objet de cette étude, car leur application au sang conservé a donné lieu à plusieurs observations qui méritent d'être retenues.

a. — *Phagocytose.*

La propriété qu'ont certaines cellules de phagocyter les corps étrangers pulvérulents a été reconnue en 1862 par Haeckel (3) chez le théthys, un mollusque dont les globules sanguins absorbent les particules d'indigo, en 1863 par Recklinghausen (4) chez les batraciens, et en 1865 par Max Schultze (5) chez les mammifères. Metchnikoff (6) a démontré en 1883 et 1884 l'englobement des bacilles morts ou vivants par le leucocyte et a établi par là-même l'importance du phénomène de la phagocytose dans la lutte de l'organisme contre les

[1] Poursuivis au laboratoire de l'Hémocentral, Genève, directeur: Roger Fischer, priv.-doc.

agents pathogènes. Les lymphocytes et les éosinophiles ont un pouvoir de phagocytose assez faible. Les polynucléaires neutrophiles sont les plus actifs; leur pouvoir phagocytaire est en fonction de leur motilité amiboïde.

Voici la technique de nos expériences :

6 cc de sang, conservé en ampoule à la glacière, sont prélevés et immédiatement centrifugés à 1200 tours durant 5 minutes. La fine couche blanche, formée de leucocytes et de fibrine, recouvrant l'abondant sédiment de globules rouges, est recueillie avec une pipette de Pasteur. Adjonction d'une trace d'émulsion homogénéisée de staphylocoques, atténuée par la chaleur. Le tout est soigneusement mélangé puis réaspiré à l'aide d'une même pipette qui, scellée à la flamme, est placée à l'étuve. Après 20 minutes à 38°, le contenu est étalé sur lame. Le frottis est fixé à l'alcool éthylique pur et coloré au Giemsa. Examen de la préparation au microscope.

Nos premiers essais avec une émulsion de coli vivants furent décevants. L'émulsion homogénéisée de staphylocoques, rendus inactifs, a donné de meilleurs résultats, bien qu'ici encore le nombre de germes phagocytés soit resté minime.

Après quelques tâtonnements, nous avons modifié notre technique de la façon suivante: au mélange leucocytes + bactéries, nous ajoutons un demi-volume de sérum sanguin conservé à la glacière et dont tout élément figuré a été soigneusement éliminé. Ce sérum provient d'une personne appartenant au même groupe que le donneur du sang conservé liquide. (Un sérum qui pourrait agglutiner et lyser les quelques globules rouges inévitablement présents rendrait l'expérience irréalisable.) Sa présence accroît considérablement le pouvoir phagocytaire des globules blancs étudiés, par suite très vraisemblablement de sa richesse en opsonines de Wright. En faisant cette adjonction, nous nous rapprochons des conditions de la transfusion du sang sur le vivant, puisque les leucocytes citratés, injectés par voie intra-veineuse, sont instantanément baignés dans le sérum frais du receveur.

Les auteurs sont loin d'être unanimes quant au *rôle des opsonines* dans la phagocytose. Wright (7) attribue une importance primordiale à leur présence : sans elles l'activité phagocytaire des polynucléaires neutrophiles disparaîtrait ou deviendrait très faible. Levaditi, Grüber et Zlatogoroff (cités d'après Karavanoff (8)) ne partagent pas ce point de vue et croient avoir démontré dans le polynucléaire neutrophile la présence d'un haut pouvoir phagocytaire en l'absence de plasma sanguin, c'est-à-dire de corps opsonisants.

Nos constatations, pour ce qui touche le sang conservé, corroborent sans l'ombre d'un doute le point de vue de Wright

quant au rôle déterminant des substances extraglobulaires dénommées opsonines sur le pouvoir phagocytaire des globules blancs.

Unger (9) a observé une altération des substances opsoniques sous l'action du citrate de soude. Pauchet et Weil (10) ont contesté que le *citrate lèse les opsonines.*

Afin d'éclaircir la question, nous avons prélevé d'un donneur une certaine quantité de sang, divisé en deux fractions, dont l'une seule a été citratée. Coagulation de l'autre fraction, centrifugation et séparation du sérum. Puis conservation du sang total citraté et du sérum à la glacière. Après 48 heures, les leucocytes du sang conservé, baignant dans leur plasma citraté, ne phagocytent que très faiblement les coques; mais leur pouvoir phagocytaire est notablement accru par l'adjonction d'une goutte du sérum non citraté de même âge et provenant du même individu. De tels essais montrent que le milieu citraté a une action nocive sur les opsonines. Lors d'autres expériences, nous avons lavé dans une solution physiologique (liquide de Gey ou Normosal (11)) les globules blancs du sang conservé, les débarrassant du plasma citraté, puis avons rajouté ensuite seulement du sérum. Ce lavage préalable n'a pas accru ni modifié leur pouvoir phagocytaire. Nous devons en conclure que le citrate n'agit qu'à la longue sur les opsonines. Sa présence à elle seule durant les 20 à 30 minutes que durent les manipulations est sans conséquence sur les opsonines apportées par le sérum ajouté aux leucocytes et au plasma citraté.

Le citrate aurait-il aussi une *action sur les leucocytes* eux-mêmes en réduisant leur pouvoir phagocytaire durant le séjour à la glacière? Certains auteurs le prétendent (Manoukhine, Karavanoff, Drinker, Brittingham (8, 10)). D'autres par contre (Mellon, Hastings et Tasey (12), Pauchet et Weil (10)) n'ont pas observé cette action de l'anticoagulant.

Nous avons constaté que le pouvoir phagocytaire du globule blanc dans le sang conservé s'abaisse en fonction de la durée de conservation selon une courbe constante, que nous avons trouvée lors de l'emploi du citrate comme lors de celui d'un anticoagulant chimiquement fort différent, la Liquemine Roche. Cette baisse se produit parallèlement à celle d'autres propriétés vitales du globule blanc, la motilité, la colorabilité vitale. Nous avons montré ailleurs (1, 2) qu'il doit s'agir avec grande vraisemblance des processus mêmes de vieillissement naturel des globules blancs, qui perdent pro-

gressivement leurs propriétés biologiques et meurent dans un milieu de cytoculture (Osgood (13)) à 38° selon le même rythme qu'à la glacière (sang conservé citraté).

Il ressort de ces quelques observations que le milieu citraté ne lèse vraisemblablement pas le globule blanc de façon notable.

L'interprétation de nos observations de frottis nous oblige à une grande prudence. Il existe des facteurs d'erreur.

Comme nous l'avons montré ailleurs (1), les éléments blancs s'altèrent après quelques jours à tel point qu'il devient alors difficile de différencier un lymphocyte ou un monocyte d'un polynucléaire neutrophile. Lors de l'étalement sur lame, les globules blancs baignant dans du plasma citraté pauvre en globules rouges, s'altèrent considérablement au moment de la dessiccation (ce qui n'est pas le cas lorsqu'on fait un frottis de sang complet). Cette circonstance accroît encore la difficulté de reconnaître les P. N. parmi les leucocytes. Pour y parer, nous avons examiné notre mélange retiré de l'étuve en préparation fraîche, la goutte de liquide, laissée telle quelle ou après adjonction de traces d'éosine ou de bleu de méthylène, recouverte d'une lamelle aux rebords soigneusement lutés à la paraffine. Malheureusement, dans ces conditions, il est très difficile de différencier les thrombocytes et les granulations cytoplasmiques des coques; en outre, il est souvent impossible de savoir si ces derniers se trouvent réellement à l'intérieur du leucocyte ou bien sont simplement accolés à la surface.

Nous arrivons ainsi au dernier facteur d'erreur dans l'interprétation de la phagocytose.

Déjà en 1910, Levaditi et Muttermilch (14) relèvent l'existence de *phénomènes d'accolement et d'agglutination* des particules étrangères à la surface des leucocytes, déterminés par des processus de tension superficielle et d'attraction capillaire, et indépendants de la phagocytose proprement dite.

Levaditi (15) distingue trois phases dans la phagocytose:

1. phase d'attachement, exclusivement physico-chimique;
2. phase d'englobement, phénomène vital;
3. phase de digestion intra-cellulaire;
   — ou au contraire phase leuco-toxique avec mort de la cellule.

Bordet, en 1920 (16), distingue les phénomènes d'accolement et d'adsorption de ceux de chimiotaxie et amiboïsme.

Sans prendre part à ces controverses, soulignons toutefois une observation qui nous paraît être importante. Examinant

nos préparations à l'aide d'un excellent microscope Zeiss, objectif immersion 100, oculaire 10, d'un modèle qui passait pour le dernier cri du progrès il y a peu d'années, nous avons trouvé un pourcentage très élevé de leucocytes contenant des coques que nous avons considérés comme phagocytés. Nous avons repris l'étude des mêmes frottis à l'aide du nouveau microscope Leitz Pamphot, qui permet un agrandissement d'environ 2000 diamètres. Nous avons dû constater, en maniant la vis micrométrique, que plus du 50 % des coques paraissant phagocytés ne se trouvaient pas à l'intérieur du polynucléaire, mais étaient accolés à sa surface dessus ou dessous. Les nombres exprimant la proportion de phagocytes parmi les polynucléaires neutrophiles et leur pouvoir phagocytaire moyen s'en sont trouvés réduits considérablement. C'est ainsi que l'apparition dans nos laboratoires d'instruments techniquement plus perfectionnés nous incite à revoir toute la question de la phagocytose. En présence de tels faits, la question de l'existence même de cette phagocytose pourrait-elle se poser? Ne s'agirait-il pas peut-être de simples phénomènes d'accolement et de bactériolyse à l'extérieur de la cellule, observés à l'aide des microscopes de la fin du siècle dernier grossissant beaucoup moins que nos appareils modernes et interprétés de façon erronée ? Nos observations établissent que, si l'englobement phagocytaire existe, il l'est à un degré moindre que ne l'ont cru Metchnikoff et ses disciples.

Quoi qu'il en soit, tout se passe comme si le vieillissement puis la mort des globules blancs se manifestaient par une diminution du pouvoir phagocytaire de chaque élément, pouvoir que l'on détermine quantitativement d'après le nombre de coques en apparence phagocytés par cellule. Le globule blanc mort ne phagocyte évidemment plus.

b. — *Motilité des globules blancs.*

Cette étude a été faite sur des préparations fraîches des sangs examinés, préparations rapidement élevées à la température du corps humain. Nous avons utilisé dans ce but une caissette thermogène à température intérieure réglable.

Chacun sait que les globules blancs sont le siège de changements de forme ininterrompus que, par comparaison avec ceux des amibes (Lieberkühn) on a nommés amiboïdes.

« Les mouvements amiboïdes, expression directe et signe certain de la vie de la cellule, permettent de déterminer la survie des leucocytes... » (Jolly (17)).

BIBLIOTHEK der E. T. H.
ZÜRICH

Au cours de nos recherches, nous avons combiné l'examen de la motilité des leucocytes à celui de leur colorabilité vitale.

c. — *Colorabilité vitale.*

On entend par coloration vitale (Sabin (18)) la fixation d'un colorant par des éléments du cytoplasma de cellules vivantes. Belkin et Shear (19) ont montré que certains produits confèrent une coloration différente à une cellule vivante et à une cellule morte.

On peut ainsi juger si une cellule est vivante ou morte d'après la manière dont elle se colore (colorabilité vitale).

Pour expliquer le mécanisme de cette coloration, les auteurs ont fait intervenir les phénomènes d'adsorption à la surface des granulations graisseuses et lipoïdes du cytoplasme (mitochondries, chondriosomes) et surtout la solubilité plus ou moins grande des substances colorées dans les lipoïdes cellulaires (Olivo et Boshovic (20)).

On connaît beaucoup de colorants vitaux. Sabin qui en a essayé un grand nombre au cours de ses études sur le sang a remarqué que le rouge-neutre est le moins toxique. Ce dérivé du noyau phénazine (azoacridine) est un colorant basique dissocié en solution étendue, qui agit aussi après la mort (Möllendorff (21)).

Sabin a décrit minutieusement la colorabilité et l'aspect cinétique des globules blancs d'un sang frais, ce qui permet aisément de les différencier. Nous renvoyons à ses travaux. Rappelons brièvement que seules les granulations cytoplasmiques et parfois une vacuole se colorent dans la cellule vivante. Le noyau et la substance fondamentale du protoplasma restent incolores.

Dans du sang conservé, le vieillissement de la cellule se manifeste par une diminution de la motilité amiboïde, la formation toujours plus rare de pseudopodes, un ralentissement des courants cytoplasmiques qui d'ordinaire entraînent les granulations, l'accumulation de colorants dans les vacuoles. L'arrêt de toute motilité active, l'extension de la coloration au noyau, l'imprégnation diffuse de tout le cytoplasma qui prend une teinte mauve, l'apparition de mouvements browniens des granulations cytoplasmiques (par suite d'une liquéfaction du protoplasma) signent la mort de la cellule.

Selon le test biologique utilisé, phagocytose, motilité et colorabilité vitale, l'estimation de la vitalité des globules blancs d'un sang conservé aboutit à des résultats, sinon identiques, du moins peu divergents. Ainsi tous les polynucléaires neutrophiles d'un sang citraté conservé à la glacière seraient morts,

suivant le critère sur lequel nous nous basons, après quatre jours ou après six jours de conservation. De telles différences tiennent au principe même des méthodes utilisées qui, incapables de fixer l'instant exact du passage de vie à trépas de la cellule, sont fondées soit sur la disparition des manifestations d'activité de cette dernière (phagocytose, motilité), disparition qui peut survenir déjà durant l'agonie, soit sur l'apparition de signes d'altération cadavérique (mouvements browniens des granulations cytoplasmiques, coloration nucléaire ou diffuse des globules blancs, etc.) qui peut être tardive.

Fleischmann (22) avait déjà souligné, étudiant l'action des rayons ultra-violets sur la cellule, l'intérêt de la disparition simultanée de son pouvoir phagocytaire, de sa motilité amiboïde et de sa colorabilité vitale, comme critères de mort. Nos résultats nous permettent de nous rallier entièrement au point de vue de cet auteur.

Résumé.

Description des techniques utilisées pour juger de la vitalité des globules blancs dans du sang conservé, à l'aide des critères suivants: pouvoir phagocytaire, motilité et colorabilité vitale. Discussion au sujet du rôle joué par les substances opsoniques dans la phagocytose. Action du citrate de soude sur les opsonines du plasma et sur le pouvoir phagocytaire des leucocytes dans le sang conservé. Observations critiques de certaines pseudo-phagocytoses qui, examinées à l'aide de microscopes très puissants, se révèlent n'être que des phénomènes d'accolement.

Bibliographie.

1. Morphologie et propriétés biologiques des leucocytes dans le sang conservé. FISCHER R. et H. JEANNERET: *Rev. méd. Suisse rom.*, 1941, 6.
2. Durée de la vie des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles dans l'organisme humain. FISCHER R. et H. JEANNERET: *Schweiz. med. Wschr.*, 1941, 9.
3. HAECKEL: Die Radiolarien, 1862, p. 104.
4. RECKLINGHAUSEN: *Virch. Archiv,* 1863.
5. SCHULTZE, M.: *Arch. für Mikr. Anatomie,* 1865, 1.
6. METCHNIKOFF, E.: *Virch. Archiv,* 1884.

— Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation, Paris, Masson, édit., 1892.

7. WRIGHT: cité d'après JOLLY.
8. KARAVANOFF, G.: Le sang, 1935, 7.
9. UNGER: *J. A. M. A.*, 77, 27, 1921, p, 2107.
10. PAUCHET, WEIL, DRINKER, BRITTINGHAM, MANOUKHINE: cités d'après KARAVANOFF.
11. JEANNERET, H.: *Schweiz. med. Wschr*, 33, 1940,
12. MELLON, HASTINGS a. TASEY: *J. A. M. A.*, 79, 20, 1922, p. 1678.
13. OSGOOD, E. E.: *J. A. M. A.*, 1937, 33.
14. LEVADITI et MUTTERMILCH: *S. de Biologie*, 18 juin 1910.
15. LEVADITI: *S. de Biologie*, 16 nov. 1918.
16. BORDET: Immunité, Paris, 1920.
17. JOLLY, J.: Traité technique d'hématologie, Paris, 1923, Maloine et fils, édit.
18. SABIN, F. R.: *Bull. John Hopkins*, 34, 1923.
19. BELKIN et SHEAR: *Am. J. Cancer*, 29, 1937, p. 483.
20. OLIVO et BOSHOVIC: *Boll. soc. ital. biol. sperm.*, 11, 1936, p. 447.
21. MÖLLENDORFF: *Ergebn. der Physiologie*, 18, 1920, p. 141-306.
22. FLEISCHMANN, W.: cité d'après GICKLHORN, J.: *Ergebn. der Biologie*, Bd. 7, 1931.