

Departement pour les maladies du sang. Faculté de Pharmacie et de Biochimie
Médicale, Zagreb, Yougoslavie.

LES VALEURS NUMÉRIQUES ABSOLUES
NORMALES, LE NOMBRE ET LE RÔLE DES
GRANULOCYTES BASOPHILES DANS LES
AFFECTIONS ALLERGIQUES ET DANS
QUELQUES AUTRES ÉTATS PATHOLOGIQUES

Par

NIJAZ SOFTIĆ

INTRODUCTION

Les granulocytes basophiles sont connus depuis longtemps, mais ils sont peu utilisés pour le diagnostic clinique parce que leur taux dans le sang circulant est faible et parce que leurs fonctions étaient jusqu'ici peu connues. Le progrès de la technique microchimique et cytochimique a permis une meilleure connaissance de la composition biochimique des cellules du sang circulant en général et aussi de la fonction des granulocytes basophiles. Les données importantes concernant la variation du nombre des granulocytes basophiles dans l'état physiologique et dans quelques états pathologiques sont obtenues avec la technique de numération directe des granulocytes basophiles.

Les granulocytes basophiles du sang circulant sont liés étroitement aux basophiles tissulaires – mastocytes qui sont répartis dans l'organisme, surtout dans les travées conjonctives et la capsule hépatique, dans le réseau conjonctif du derme et des tissus hémocytopoïétiques, particulièrement autour des petits vaisseaux (1). Chez l'homme dans les conditions phy-

siologiques les basophiles tissulaires ne passent jamais dans le sang et pour cette raison le terme « basophile sanguin » et « basophile tissulaire » est justifié.

Les granulocytes basophiles et les basophiles tissulaires – mastocytes contiennent des granulations métachromatiques qui sont solubles dans l'eau (1). Contrairement à celles des basophiles tissulaires, les granulations des granulocytes basophiles sont facilement dissoutes au cours de la fixation à l'alcool méthylique. Pour cette raison, certains auteurs (8) pensent que la classification de ces cellules en « basophiles à granulations solubles » (les granulocytes basophiles) et « basophiles à granulations insolubles » (basophiles tissulaires) est plus exacte.

Les granulations métachromatiques contiennent de l'histamine et une substance acide qui est identique ou très semblable à l'héparine (9,1). La moitié de la teneur en histamine du sang normal se trouve dans les granulocytes basophiles, un tiers est dans les granulocytes éosinophiles et probablement le reste d'environ $\frac{1}{6}$ est contenu dans les granulocytes neutrophiles. Il est possible que les diverses espèces de granulocytes renferment des concentrations variables d'histamine dans des conditions diverses.

Depuis quinze, les valeurs des granulocytes basophiles sont déterminés par la numération indirecte qui consiste en la différenciation des leucocytes dans les frottis sur lames. A côté de difficultés techniques, ce mode de numération est insuffisant et inexact.

En 1953, *Moore & James* (6) ont décrit la première méthode de numération directe des granulocytes basophiles qui consiste à les compter dans des cellules pour la numération. Ces auteurs ont utilisé la coloration sélective avec le bleu de toluidine. Cette manière de colorer est fondée sur le fait que les granulations des granulocytes basophiles contiennent une substance métachromatique – l'héparine. Cette technique a été modifiée par la suite par plusieurs auteurs et aussi par nous (13, 3, 5, 10).

En 1966, *Shelley & Parnes* (12) ont proposé une nouvelle

méthode pour la numération directe des granulocytes basophiles en colorant les cellules par le rouge neutre.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

On a examiné deux groupes des sujets sains, élèves et étudiants. Le premier groupe, comprenait 80 individus, la second, 29. Nous avons étudié aussi un groupe de malades de la Clinique Dermato-Vénérologique de Zagreb qui sont hospitalisés pour diverses affections dermatologiques.

Le pourcentage des granulocytes basophiles a été déterminé par la différenciation des frottis qui sont colorés selon la méthode de Pappenheim et avec la solution saturée de bleu de toluidine dans le méthanol (1 gr. : 100 ml. de méthanol).

Le nombre absolu des granulocytes basophiles a été établi d'après les méthodes de numération directe de *Moore & James* et de *Shelley & Parnes* (6, 12).

La numération des granulocytes basophiles selon la méthode de *Moore & James* se fait dans le sang dilué au 1/10, dans un million hydroalcoolique contenant de la saponine et du bleu de toluidine. Nous avons un peu modifié cette méthode en augmentant la concentration en saponine, en raccourcissant le temps de prélèvement du sang jusqu'au moment du début de la numération et en corrigeant le facteur de multiplication (3,125 au lieu de 3). Selon la méthode de *Shelley & Parnes*, les granulocytes basophiles se comptent aussi dans une dilution du sang au 1/10. Les cellules sont colorées avec le rouge neutre, la saponine est utilisée comme agent hémolytique et la solution de formol à 5 pour cent est utilisée comme agent fixateur. Comptant les granulocytes basophiles selon les deux méthodes, nous avons utilisé cinq cellules de *Fuchs-Rosenthal* (le volume total étant de $16 \text{ mm}^3 = 3,2 \text{ mm}^3 \times 5$).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Dans le premier groupe de sujets sains (Tableau 1), les valeurs des granulocytes basophiles ont été déterminées par différenciation sur les frottis du sang circulant et par la méthode de numération directe de *Moore & James*.

Le nombre des granulocytes basophiles que nous avons obtenu par la différenciation des éléments nucléés sur les frottis en comptant 500, 1000 et 3000 cellules a été de 0.33–1.66 %. Dans quelques cas, nous avons obtenus moins, dans d'autres, plus.

La méthode de numération indirecte des granulocytes basophiles n'est pas valable à cause de l'erreur au cours de la différenciation des cellules et par suite de l'erreur qui est faite

TABLEAU I

Nombre des sujets examinés	Sexe	Nombre des granulocytes basophiles				Indirecte	Nombre de leucocytes par mm ³	Age des sujets examinés		Total
		Directe	Méthodes		15-25 ans			26-35 ans		
			(Moore-James)	Moyen						
		Min.	Max.							
61	F	6	36/mm ³				4.072* à 8.300			
24	M	6	35/mm ³	15-20/mm ³	0,33-1,66%		4.200* à 7.200	71	12	85

Sujets examinés sains - le premier groupe.

* 2,5-5,5 des granulocytes basophiles par 1000 leucocytes.

en déterminant le nombre absolu des leucocytes et qui peut être ± 10 . A côté de la difficulté qui ressort de la numération d'un grand nombre de cellules nucléées, les granulocytes basophiles ne se répartissent pas uniformément sur les étalements obtenus par frottis, ils ont tendance à s'amasser et c'est pourquoi la différenciation devient très difficile. Dans le même groupe de sujets sains, utilisant la méthode de la numération directe de *Moore & James*, nous avons obtenu le chiffre moyen de 15 à 20 granulocytes basophiles par mm^3 (Tableau I). Les variations individuelles du nombre obtenu descendent jusqu' à 6 et montent jusqu' à 36 des granulocytes basophiles par mm^3 chez les femmes et 35 chez les hommes. Le nombre absolu des leucocytes a été de 4072–8300 par mm^3 c'est à dire que le nombre moyen des granulocytes basophiles sur 1000 leucocytes a été 2.5–5.5. Le nombre moyen de granulocytes basophiles obtenu par *Moore & James* était de 40.6 ± 18 pour les femmes et de 46.7 ± 20.1 cellules par mm^3 chez les hommes. Les variations individuelles des nombres obtenus par les auteurs nommés étaient très grandes.

Nous avons examiné les sujets âgés de 15 à 35 ans et leur âge était presque le même que celui des sujets examinés par Moore et James. Il faut noter que l'âge des sujets examinés par nous n'était pas par le plupart supérieur à 25 ans.

Contrairement aux résultats obtenus par *Moore & James*, nous avons obtenus des nombres presque égaux de granulocytes basophiles chez les femmes et les hommes. Selon nos expériences, nous n'avons pas constaté de variations du nombre des granulocytes basophiles dans la journée ni d'influence de la température, de la pression atmosphérique et du cycle menstruel de la femme sur le nombre des granulocytes basophiles.

Selon la méthode de *Shelley & Parnes*, nous avons déterminé le nombre des granulocytes basophiles chez une groupe de 29 sujets sains âgés de 15 à 30 ans (Tableau 2).

Chez ce groupe de sujets, nous avons obtenu le nombre moyen de 32 granulocytes basophiles par mm^3 . Les variations individuelles étaient de 23 à 45 chez les femmes et de 18 à

TABLEAU 2

Nombre des sujets examinés	Sexe	Nombre des granulocytes basophiles		Nombre de leucocytes par mm ³	Age des sujets examinés		Total
		Directe Min.	Méthodes (Shelley-Parnes) Max. Moyen		15-25 ans	26-30 ans au dessus de 30 ans	
24	F	23	45/mm ³	32/mm ³	20	9	29
5	M	18	45/mm ³	4.300* à 8.200		0	

Sujets examinés sains - le deuxième groupe.

* 4-7 des granulocytes par 1000 leucocytes.

45 chez les hommes. Le nombre absolu des leucocytes était 4300-8300 cellules par mm^3 et la valeur moyenne des granulocytes basophiles par 1000 leucocytes était de 4 à 7. Le chiffre moyen des granulocytes basophiles qui a été obtenu par *Shelley & Parnes* était de 20 à 50 cellules par mm^3 (12). Les valeurs les plus faibles que nous avons obtenues sont presque égales à celles de *Shelley & Parnes*, mais nos plus grandes valeurs sont un peu plus basses. Nous n'avons pas constaté non plus dans ce groupe de variations du nombre des cellules au cours de la journée ni aucune influence des variations de la température et de la pression atmosphérique et du cycle menstruel de la femme sur le chiffre des granulocytes basophiles.

Selon la méthode de *Shelley & Parnes*, les granulocytes basophiles sont colorés en rouge vif ou rouge violet. Les autres leucocytes le plus souvent ne sont pas colorés ou ils sont colorés en rouge jaunâtre clair car la concentration en rouge neutre ne dépasse pas 0.012 pour cent. Si elles sont colorées, les granulations des granulocytes éosinophiles ont une teinte jaunâtre ou rose jaunâtre. Les granulocytes éosinophiles peuvent être facilement reconnus à leur noyau à deux segments.

Il est très important de savoir que la concentration du colorant vital ne doit pas être forte à cause de la toxicité (2) et de l'effet photodynamique du colorant sur les cellules (15). Les valeurs des granulocytes basophiles obtenus selon la méthode de *Shelley & Parnes* sont plus grandes que celles obtenues selon la méthode de *Moore & James*. Les valeurs les plus basses sont 3 fois plus grandes (18:6 cellules), quoique les cellules aient été comptées dans le même volume total.

Il apparaît que les chiffres des granulocytes basophiles obtenus par la méthode de *Shelley & Parnes*, sont plus valables. Nous pensons que le chiffre plus élevé obtenu par la méthode de *Shelley & Parnes* est le résultat d'une meilleure mise en évidence des granulocytes basophiles car avec cette méthode les caractères morphologiques des cellules sont mieux précisés. Avec la méthode de *Shelley & Parnes* nous pouvons aussi

suivre les modifications morphologiques des granulocytes basophiles, par exemple la dégranulation.

Nous avons effectué les deux méthodes de numération chaque fois dans cinq cellules de *Fuchs-Rosenthal*, c'est à dire dans un volume total de 16 mm^3 ($5 \times 3.2 \text{ mm}^3$). Nous pensons que la numération des granulocytes basophiles dans un volume de 16 mm^3 de sang dilué au $1/_{10}$ est suffisante car le nombre total des cellules exprime le taux des cellules contenues dans 1.6 mm^3 de sang non dilué. Nous avons obtenu des valeurs maxima de granulocytes basophiles un peu moindre en utilisant les deux méthodes en comptant les cellules dans un volume total plus grand, c'est à dire, dans un volume total de 16 mm^3 . Selon la méthode de *Moore & James*, on compte les cellules dans un volume total de 12.8 mm^3 et selon la méthode de *Shelley & Parnes* on compte dans un volume total de 8 mm^3 . Il est possible que cette différence dans le nombre des granulocytes basophiles que nous avons est déterminée par des facteurs géographiques et ethniques.

Il est nécessaire de dire que nous n'avons pas tenu compte des cellules douteuses ou mal identifiées.

Pendant la numération des granulocytes basophiles, selon les deux méthodes, il faut compter les cellules très rapidement et les autres cellules à numération, destinées à l'examen, doivent être placées en attente dans une chambre humide. Si on opère selon la méthode de *Shelley & Parnes* il n'y a pas de difficulté car les granulocytes basophiles sont bien reconnaissables. Quand on opère selon la méthode de *Moore & James* des difficultés apparaissent à cause des acides nucléiques du noyau qui sont doués d'une certaine activité métachromatique. En conséquence, la teinte du noyau n'est pas bleue, mais rouge-violette. Il faut noter que la substance métachromatique des granulations des granulocytes basophiles, à cause de hydro-solubilité, a pour conséquence sa diffusion ou sa disparition. Pour cette raison, les cellules peuvent être reconnues par la teinte rouge vif du cytoplasme. Nous avons essayé d'abaisser le pH du milieu par un acide dilué et nous avons constaté aussi, comme *Piette M. & Piette C.* (7) que la métachro-

masie des acides nucléiques ou bien ne subit aucun changement ou bien s'en trouve accentuée. L'acidité favorise la diffusion de la substance métachromatique. Les autres difficultés au cours de la numération des granulocytes basophiles sont minimales. L'évaporation du liquide de dilution ne représente aucune difficulté si on opère vite et quand les autres cellules à numération sont conservées en chambre humide.

Le nombre absolu des granulocytes basophiles peut être augmenté ou réduit au cours de divers états pathologiques (Tableau 3).

TABLEAU 3

Taux des granulocytes basophiles augmenté	Taux des granulocytes basophiles abaissé
Leucose myéloïde chronique	Réactions de l'hypersensibilité : choc
Leucose à basophiles	anaphylactique, urticaire, réaction
Maladie de Hodgkin	aux médicaments
Métaplasie myéloïde	
Polyglobulie primitive	Hyperthyroïdie
Après splenectomie	
Anémie hémolytique (certains cas)	Basophilisme de l'hypophyse
Néphrose (quelques cas)	
Sinusite chronique	Glucocorticoïdes
Variole, Varicelle	(à fortes doses, prolongé)
Colite ulcéreuse	
Myxoedème	Corticotropine
Les formes graves d'hépatite aiguë	(à fortes doses, prolongé)
Hépatite chronique	
Cirrhose du foie	Stress (fort)
Urticaire pigmentaire	infarctus du myocarde
Etat d'hypersensibilité des sujets sensibilisés aux médicaments, aux allergènes alimentaires et aux protéines étrangères	infections sévères (phase aiguë)
	Ulcère peptique aigu avec hémorragie

Etats pathologiques accompagnés de modification du taux des granulocytes basophiles.

En 1963, *Juhlin* (4) a observé une augmentation du nombre des granulocytes basophiles au cours d'un ulcère aigu peptique saignant puis chez un myxoedème et au cours d'une colite

ulcéreuse. Le même auteur a constaté la diminution du nombre absolu des granulocytes basophiles au cours d'un stress et d'un infarctus du myocarde.

La diminution du nombre des granulocytes basophiles au cours de l'infarctus du myocarde survient le deuxième ou le troisième jour après l'apparition de celui-ci et elle est accompagnée de signes de dégranulation. Le taux des cellules devient normal au septième jour, mais les signes de dégranulation disparaissent plus tard, un mois après le début de l'infarctus.

En 1964 et en 1965 nous avons observé l'augmentation de chiffre des granulocytes basophiles au cours d'une hépatite chronique, d'une cirrhose hépatique et de formes graves d'une hépatite aiguë (14). En 1965 et en 1966 nous avons suivi un groupe de malades hospitalisés à la Clinique Dermato-Vénérologique de Zagreb (Tableau 4).

TABLEAU 4

Diagnostic	Nombre des sujets examinés	Nombre des granulocytes basophiles normal	par mm ³ augmenté	Méthode de numération
Psoriasis vulgaire	11	5	6 40-66/mm ³	Moore & James
Névrodermite	2	0	2 30-62/mm ³	Moore & James
Urticaire pigmentaire	2	0	2 37-62/mm ³	Moore & James
Phlébite variqueuse, ulcéreuse avec pyodermie	10	10 21-37/mm ³	0	Shelley & Parnes

Taux des granulocytes basophiles dans quelques cas de maladies cutanées.

Au cours de la détermination du nombre des granulocytes basophiles dans les cas de psoriasis, d'urticaire pigmentaire et de névrodermite, nous n'avons pas étudié les facteurs étiologiques et l'évolution clinique de la maladie. Nous avons étudié un groupe de 10 malades avec manifestations pyoder-

miques au cours d'un complexe de phlébite variqueuse. L'augmentation du nombre des granulocytes basophiles a été constatée dans la pyodermie (12). Chez tous les malades de ce groupe, nous avons trouvé des valeurs de granulocytes basophiles normales. Nous n'avons constaté aucune variation du nombre des granulocytes basophiles liée à la gravité ou à l'évolution de la maladie.

La détermination du nombre absolu des granulocytes basophiles est très importante au cours des manifestations allergiques. Selon les expériences de *Winquist* (16) chez l'animal et de *Shelley* chez l'homme (11), le chiffre des granulocytes est augmenté au cours d'une hypersensibilisation à certains allergènes. Cette augmentation est la conséquence d'une hyperproduction de cellules dans la moëlle osseuse.

Pendant la période de sensibilisation, le nombre des granulocytes basophiles augmente et cette augmentation persiste si la sensibilisation est produite. S'il n'existe pas de contact ultérieur avec l'antigène chez un sujet sensibilisé, le nombre des granulocytes basophiles redevient peu à peu normal. Au cours d'une réaction antigène-anticorps, la chute du nombre des granulocytes basophiles peut être brutale ou lente. L'exposition d'un sujet sensibilisé à l'antigène peut produire une dégranulation des granulocytes basophiles brusque et massive. Au cours de cette dégranulation, à côté de l'histamine et peu être aussi quelques autres amines biogènes, par exemple l'héparine, se libèrent.

CONCLUSION

Le nombre absolu des granulocytes basophiles du sang circulant a été déterminé selon la méthode de *Moore & James* et de *Shelley & Parnes* chez 114 sujets sains âgés de 15 à 35 ans. Nous avons examiné aussi un groupe de 25 malades présentant quelques manifestations cutanées.

Les valeurs moyennes des granulocytes basophiles chez les sujets sains, selon la méthode de *Moore & James*, sont de 15-20 cellules par mm^3 . Les variations individuelles sont de 6-36 granulocytes basophiles par mm^3 chez les femmes et 6-35

chez les hommes. Le nombre moyen des granulocytes basophiles par 1000 leucocytes est 2.5-5.5. Le nombre des granulocytes basophiles, selon la méthode de *Shelley & Parnes*, est de 32 cellules par mm^3 . Les variations individuelles sont de 23-45 cellules par mm^3 chez les femmes et 18-45 chez les hommes. Le nombre des granulocytes basophiles par 1000 leucocytes est de 4-7.

On n'a pas constaté de variations importantes du nombre des granulocytes basophiles chez les femmes et chez les hommes. Nous n'avons constaté aucune variation du nombre des granulocytes basophiles au cours de la journée et ni aucune influence des fluctuations de la température, de la pression atmosphérique ou du cycle menstruel de la femme.

La numération des granulocytes basophiles a été effectuée dans cinq cellules de *Fuchs-Rosenthal*, c'est à dire dans un volume total de 16 mm^3 . On a obtenu un chiffre maximum de granulocytes basophiles un peu moindre en utilisant les deux méthodes en comptant les cellules dans un volume total plus grand. Il est possible que la différence du nombre des granulocytes basophiles qui nous avons obtenue soit dûe à des facteurs géographiques et ethniques.

Avec la méthode de *Shelley & Parnes* les caractères morphologiques des granulocytes basophiles sont mieux accentués, les cellules sont plus faciles à reconnaître et, de plus, on peut suivre les modifications morphologiques dans les cellules.

Le nombre des granulocytes basophiles peut augmenter ou diminuer lors de divers états pathologiques. La détermination du nombre absolu des granulocytes basophiles est très importante au cours des manifestations allergiques.

Au cours de l'examen précédent, nous avions trouvés un nombre plus élevé de granulocytes basophiles dans les cas d'hépatites chroniques, de cirrhoses du foie et chez les formes graves d'hépatites aiguës. Maintenant, nous avons constaté une augmentation du nombre des granulocytes basophiles dans certains cas de psoriasis vulgaire et aussi dans des cas d'urticaire pigmentaire et de névrodermite. Chez les malades présentant des manifestations pyodermiques eczémateuses, au

cours d'une phlébite variqueuse, les valeurs des granulocytes basophiles étaient normales et on n'a pas constaté de variation du nombre des cellules liée à la gravité et à l'évolution de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Bessis, M.*: Traité de cytologie sanguine. Masson, Paris, pp. 503-505, 1954.
2. *Bessis, M. & Storb, R.*: Sensibilité des leucocytes au « laser » à rubis après différentes colorations vitales. Nouvelle Rev. Française d'Hématologie 5, 459-474, 1965.
3. *Boseila, A. W. A.*: Influence of histamin liberator substance 48/80 on basophil leucocytes of rabbit blood. Proc. Soc. Exper. Biol. and Medicine, 98, 184-186, 1958.
4. *Juhlin, L.*: Basophil and eosinophil leucocytes in various internal disorders. Acta Med. Scand. 174, 249-255, 1963.
5. *Mitchell, R. G.*: Circulating basophilic leucocytes counts in the newborn. Arch. Disease in Childhood 30, 130-132, 1955.
6. *Moore, E. J. & James, W. G.*: A simple direct method for absolute basophil count. Proc. Soc. Exper. Biol. and Medicine 82, 601-603, 1953.
7. *Piette, M. & Piette, C.*: Etude critique des méthodes de numération des granulocytes basophiles dans le sang humain. Proposition d'une technique. Annales de Biologie Clinique 20, 197-205, 1962.
8. *Planches d'Hématologie*. Sandoz S. A., Bâle, p. 50, 1952.
9. *Rocha e Silva, M.*: Histamine. Triangle, III, 1-9, 1957.
10. *Rorsman, H.*: Basophil leucocytes and urticaria. Acta Dermato-Venereologica 37, 121-128, 1957.
11. *Shelley, W. B.*: Circulating basophil as indicator of hypersensitivity in man. Arch. Dermatology 88, 759-767, 1963.
12. *Shelley, W. B. & Parnes, H. M.*: The absolute basophil count—Technique and significance. J.A.M.A. 192, 368-370, 1965.
13. *Softić, N.*: Direktna i indirektna metoda brojenja bazofilnih granulocita. Bilten Transfuzije, 1, 91-93, 1965.
14. *Softić, N., Bašić, Ž. & Eles, S.*: Kretanje broja bazofilnih granulocita, vrijednosti heparine i vladanje faktora zgrušavanja krvi kod bolesti jetre. Bilten Transfuzije 17, 173-174, 1965.
15. *Storb, R.*: La coloration vitale des organelles cellulaires. Nouvelle Rev. Française d'Hématologie 5, 475-490, 1965.
16. *Winqvist, C.*: Experimental production of basophil granulocytes in guinea pig. Cell Res. 19, 7-12, 1960.
17. *Wintrobe, M. M.*: Clinical Hematology. Lee & Fibiger, Philadelphia, pp. 234-240, 1961.

Adresse de l'auteur:

Gajeva ul. 2

Zagreb - Yougoslavie.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.