



**UNIVERSITE BATNA -2-Mostefa Ben Boulaïd  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE  
ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES  
ORGANISMES**



**TP reproduction  
M1 BA**

*Présentée par:*

*Dr. LAANANI. I*

# Micronoyaux

Cassure (clastogène)  
Perte (aneugène)

Les cellules  
buccales

Les  
lymphocytes

- Dommages de l'ADN
- Échec de cytokinèse
- Prolifération cellulaire
- Mort cellulaire

**Facile, peu invasive,  
sans culture et  
sensible**

Lien entre la fréquence **élevée de l'instabilité chromosomique** mesurée par **le test des micronoyaux** et le risque élevé **d'infertilité**



**Les cellules buccales**

Mode de vie, les professions et le régime alimentaire

Les lymphocytes

## II Matériel et méthodes

### A. Étude cytogénétique: test des micronoyaux (MN) sur les cellules buccales

#### Couples infertilité idiopathique -couples fertiles

##### Micronoyaux (MN) et bourgeons nucléaires (NUBD)

- (Biomarqueurs de dommage d'ADN )

##### Cellules binucléées (BN)

- (Biomarqueurs des défauts de cytokinèse)

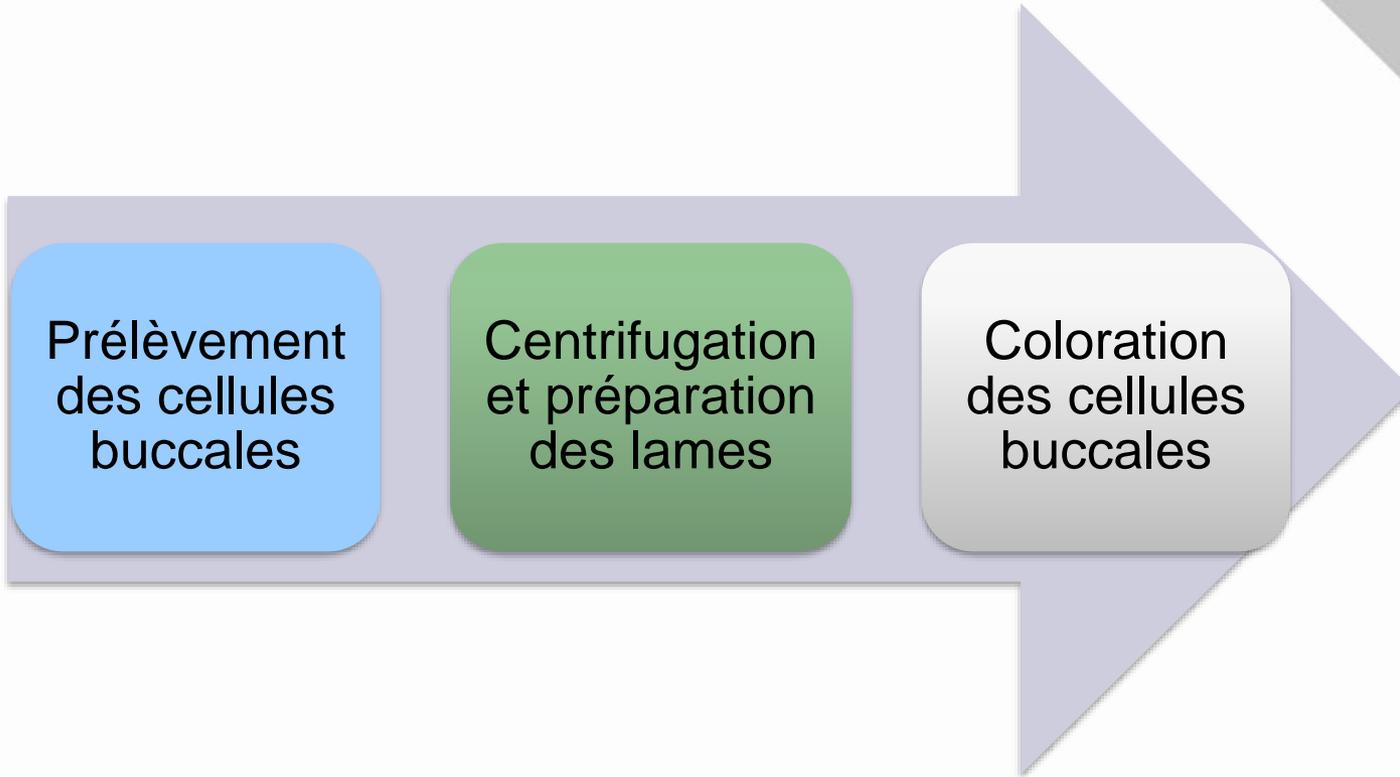
##### Cellules basales (BAS) et différenciées (DIFF)

- (Biomarqueurs de la prolifération cellulaire)

##### Cellules à chromatine condensée (CC), pycnotiques (PYC), caryorrhectiques (KHC) et caryolytiques (KYL)

- (Biomarqueurs de la mort cellulaire)

# 1. Procédure du test



## Prélèvement des cellules buccales



Prélèvement à l'aide d'une  
cytobrosse



Flacon contient la solution de  
Sacomanno

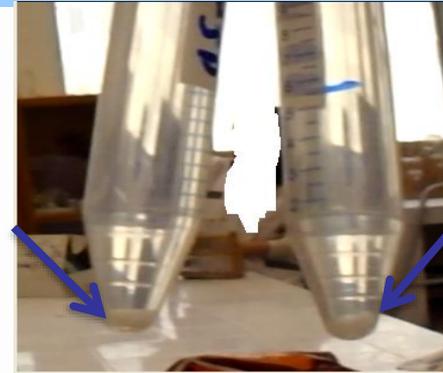
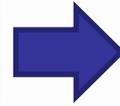


Flacon est fermé hermétiquement  
par du parafilm

# Centrifugation et préparation des lames



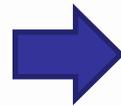
Centrifuger :10 mn, 581g



3 Centrifuger :10 mn, 581g



Agitation par vortex



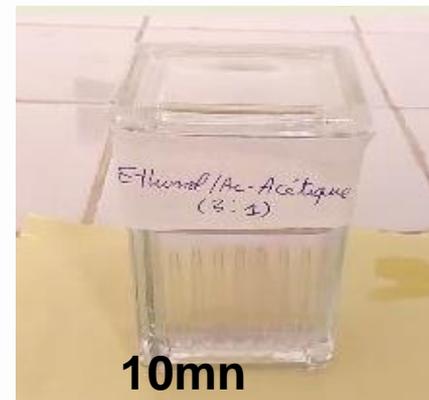
Passe 5 à 6 fois dans une seringue



Filtration 100 µm

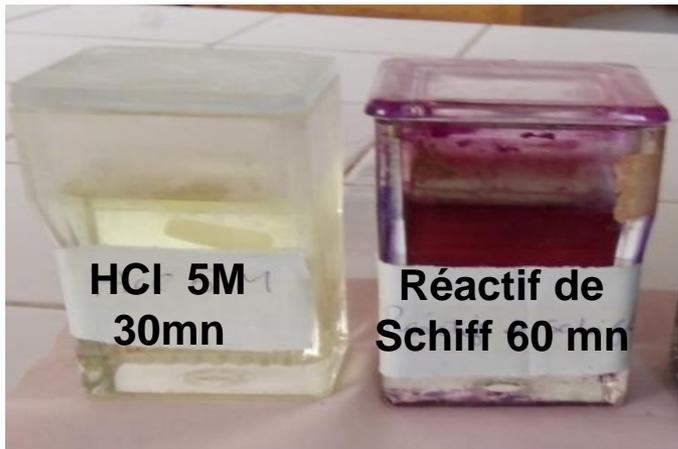


Étalement 120–150 µl



10mn  
Fixation éthanol /Ac. acétique

## Coloration des cellules buccales (Feulgen-Light Green)



Coloration du noyau



Coloration du cytoplasme



Lecture au MO

## 2. Critères de lecture des cellules

-Basés principalement sur ceux décrits par Thomas et al. 2009

**Cellules  
basales**



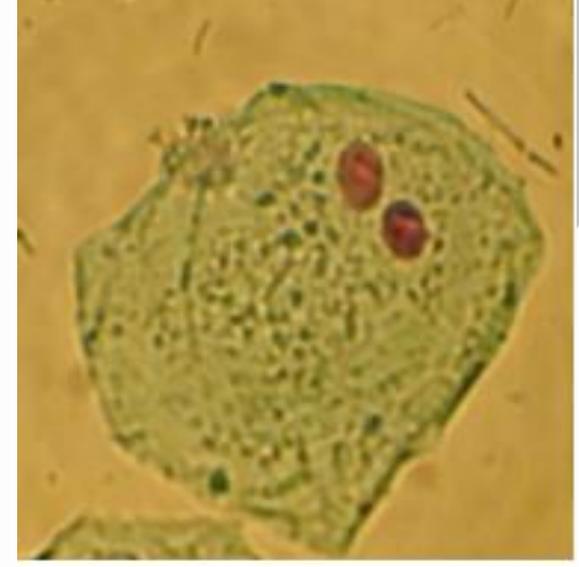
- Plus petite et plus ovale
- Rapport noyau/cytoplasme plus large
- Cytoplasme : nuance de vert plus foncée

**Cellules  
différenciées**



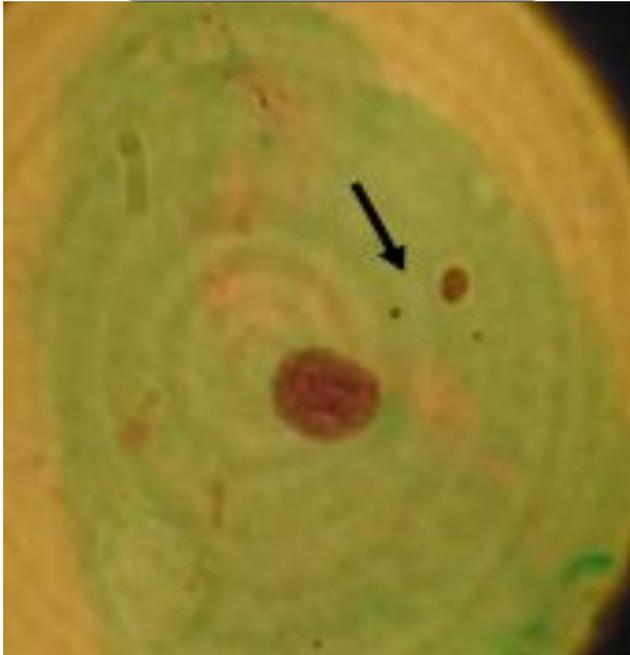
- Plus angulaire et plus plate
- Rapport noyau: cytoplasme est plus petit
- Cytoplasme: nuance vert plus claire

**Cellules  
binucléées**



- La cellule contient deux noyaux
- Les noyaux sont de taille et d'intensité de coloration semblable

## Cellules micronucléés



- Contient le noyau principal et un ou plusieurs MN
- Le MN est rond ou ovale
- Avec même intensité de coloration
- Son diamètre s'étend entre  $1/3$  et  $1/16$
- N'est pas connecté au noyau principal

## Cellules avec bourgeon nucléaire



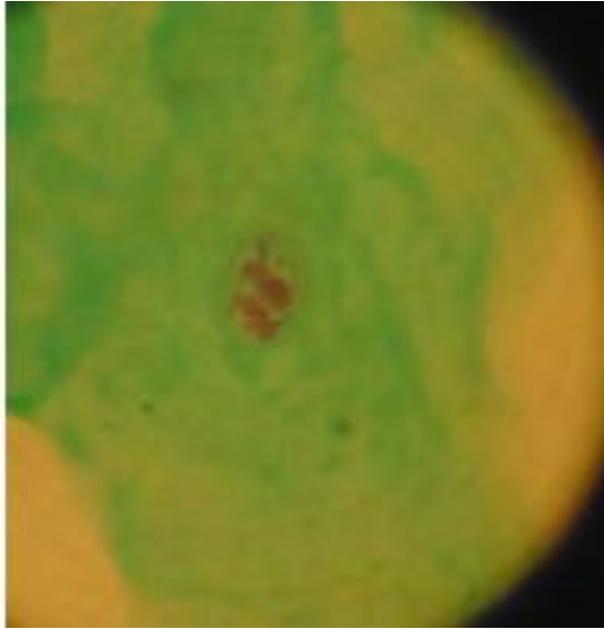
- Le noyau a une constriction apparente nette à une extrémité
- Le bourgeon est attaché au noyau principal
- A une intensité de coloration semblable au noyau
- Son diamètre s'étend d'une  $1/2$  à  $1/4$

## Cellules caryolytiques



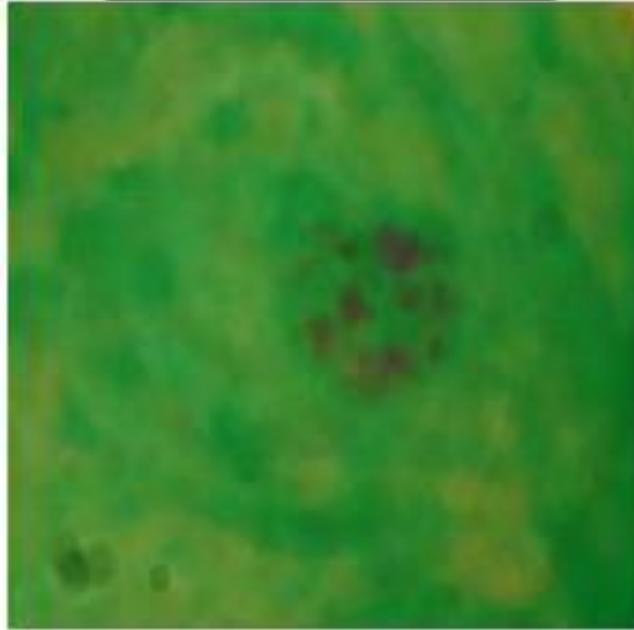
- Le noyau est appauvri en ADN
- Le noyau n'est pas coloré par la coloration de Feulgen

## Cellules à CC



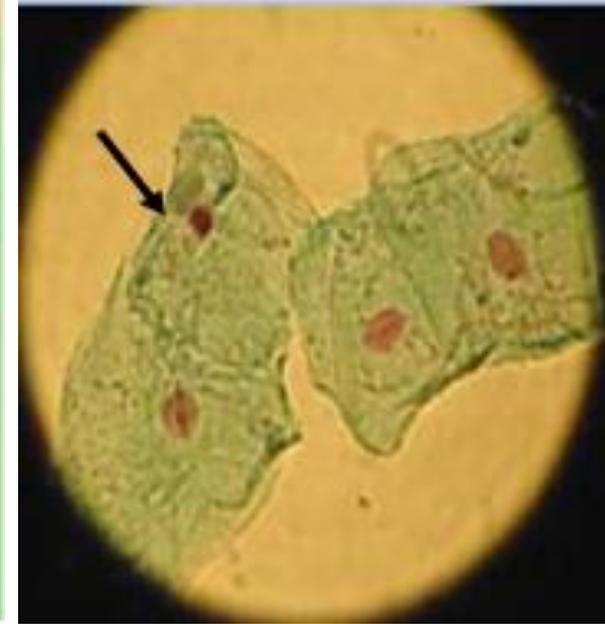
- Le noyau montre un modèle strié
- Le noyau montre des régions d'agrégation de chromatine
- Des régions distinctes du noyau sont plus intensément colorées

## Cellules caryorrhétiques



- Elles ont un modèle nucléaire densément tacheté
- L'agrégation de la chromatine est plus étendue par rapport aux cellules à CC
- La fragmentation nucléaire peut être évidente

## Cellules Pycnotiques



- Le noyau est petit et rétréci
- Le noyau est uniformément mais intensément coloré
- Le diamètre du noyau est entre  $1/3 - 2/3$

### 3. Méthode de lecture des lames

Les lames sont examinées :

- ✓ à un grossissement (**x40**) pour déterminer les différentes cellules et anomalies
- ✓ puis confirmer au grossissement (**x100**)

Etape

1

**1000 cellules**

- Basales
- Différenciées
- Binucléées
- À Chromatine condensées
- Caryorrhectiques
- Pycnotiques
- Caryolytiques

Etape

2

**1000 cellules  
différenciées  
et basales**

- Micronoyaux
- Bourgeons nucléaires

*Merci pour votre attention*

