

**Protocole d'expérimentation *in vivo*:**

**À partir des II<sup>ème</sup> années Pharmacie, Médecine Générale, Médecine Dentaire**

**L'ÉVALUATION DE LA MUTAGENICITE DES SUBSTANCES PAR LE TEST DE MICRONOYAUX**

*Extrait de : Loghin F., Popa D., Kiss B. Analyse et évaluations toxicologiques, Editura Medicală Universitară « Iuliu Hațieganu » Cluj-Napoca, 2004, p.68-69.*

**MATERIEL NECESSAIRE :**

- souris blanches
- soluté injectable de cyclophosphamide
- tampon phosphate salin pH = 7,4
- sérum fœtal de veau
- verre de montre
- seringue et aiguilles
- tubes à centrifuger
- lame de microscope
- pipettes Pasteur
- bac pour la coloration des lames
- réactif de MAY-GRÜNWARD
- réactif de GIEMSA
- huile de cèdre
- microscope avec objectif à immersion

**PREPARATION DU TAMPON PHOSPHATE SALIN :**

- Solution A :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,2M (dissoudre 2,67 g de phosphate mono sodique dans 100 ml d'eau)
- Solution B :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2M (dissoudre 5,36 g de phosphate disodique dans 100 ml d'eau).

On mélange 19 ml de solution A avec 81 ml de solution B et on ajoute du chlorure de sodium jusqu'à la concentration de 0,9%.

**MODE OPERATOIRE :**

On administre par voie intramusculaire, à des lots de deux souris blanches de la race Swiss albino :

- la substance à tester, à la dose de 1/10 de la  $DL_{50}$
- cyclophosphamide, à la dose de 200 mg/kg et 500 mg/kg (témoins positifs)
- de l'eau distillée stérile en même volume (témoins négatifs)

Après 24 heures, les souris sont sacrifiées par rupture de la colonne cervicale et on recueille la moelle osseuse des os du fémur. Ceci est réalisé à l'aide d'une seringue qui contient 10 ml par souris d'un milieu de culture (tampon phosphate salin avec 20% de sérum foetal de veau).

On met en suspension les cellules par mélange dans un verre de montre et on centrifuge 10 minutes à 1500 tours/min. On étale sur une lame de microscope une goutte du pellet obtenu après centrifugation et on laisse sécher à l'air. On prépare deux lames pour chaque souris.

Les lames ainsi obtenues sont colorées par le Réactif de May-Grünwald pendant 3 minutes environ, on lave à l'eau distillée 1 minute, puis on colore pendant 10-15 minutes par le réactif de Giemsa (dilution 1 :3), et on lave de nouveau à l'eau distillée.

Pour chaque lame on compte 2000 érythroblastes polychromatophiles et on identifie les cellules qui contiennent des micronoyaux, en exprimant leur fréquence en pourcentage. Sont considérés comme micronoyaux uniquement les formations de forme régulière, avec un diamètre inférieur au tiers des noyaux principaux, ayant la même intensité de coloration que ceux-ci et placés à une distance inférieure à celle de leur diamètre. Il doit exister un espace de séparation entre les micronoyaux et le noyau principal.

#### **INTERPRETATION DES RESULTATS :**

La fréquence d'apparition des érythroblastes contenant des micronoyaux est comparée avec les valeurs déterminées chez les témoins positifs et les témoins négatifs. On considère en général que la présence des micronoyaux en proportion supérieure à 1% dans les érythroblastes polychromatophiles indique que la substance présente un potentiel génotoxique.

## **EXPLOITATION DU DOCUMENT**

- I. Dans la première partie recensant le matériel requis à la réalisation des épreuves et traitant de la préparation du tampon phosphate salin :**

**1. Dans le tableau ci-après, complétez les pointillés avec les termes correspondant aux images. Référez-vous à la liste ci-dessous :**

*souris blanche, soluté injectable de cyclophosphamide, tampon phosphate salin pH = 7,4, sérum fœtal de veau, verre de montre, seringue et aiguilles, tubes à centrifuger, lame de microscope, pipettes Pasteur, bac pour la coloration des lames, réactif de MAY-GRÜNWALD, réactif de GIEMSA, huile de cèdre, microscope avec objectif à immersion*

**2. Elaborez des phrases avec les constructions ci-dessous en utilisant le pronom indéfini ON :**

a) dissoudre dans l'eau

.....  
.....

b) mélanger avec

.....  
.....

c) ajouter à

.....  
.....

**3. Rédigez maintenant une seule phrase complexe constituée de trois phrases simples faite sur le modèle de 2 a), b) et c). Mettez en évidence la chronologie des faits en utilisant les marqueurs de temps *tout d'abord, après, ensuite, enfin*. Vous pouvez aussi remplacer le pronom indéfini ON par la construction impersonnelle IL FAUT.**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**I. Dans la partie relative au mode opératoire :**

**1. Le terme de *mode opératoire* désigne :**

a) une opération chirurgicale

b) un moyen de réaliser une opération chirurgicale

c) une méthode opérationnelle à suivre

**2. La notion de *voie intramusculaire* indique l'introduction d'une préparation injectable à travers un muscle. Associez dans le tableau ci-dessous les formes médicamenteuses aux voies d'administration possibles.**

1. un aérosol	A. voie orale (ou per os)
2. un collyre	B. voie cutanée (ou trans-dermique)
3. une crème	C. voie nasale
4. une huile	D. voie oculaire (ou ophtalmique)
5. un ovule	E. voie intraveineuse (IV)
6. un patch	F. voie rectale
7. une pommade	G. voie intra-vaginale
8. une préparation pour injection	H. voie inhalée
9. un suppositoire	I. voie intra-musculaire (IM)
10. un spray	J. voie sublinguale
11. des granules homéopathiques	K. voie sous-cutanée (« sous-cut » ou SC)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

**3. Le terme de *témoin* est particulièrement important dans le registre terminologique des sciences naturelles. Ici, les termes « témoins positifs » et « témoins négatifs » renvoient à :**

- a) des personnes qui attestent avoir vu ou ne pas avoir vu ou constaté un fait relatif à l'expérimentation
- b) des personnes qui ont réalisé l'expérimentation en administrant une substance apte à induire des effets positifs ou négatifs
- c) des souris qui ont reçu une substance de référence ou seulement le véhicule pour avoir une réponse positive ou négative au traitement

**4. Répondez par vrai ou faux :**

« Le recueil de la moelle osseuse de l'os fémoral des animaux d'expérimentation a été réalisé par injection. » **V/F**

**5. Réécrivez le texte qui commence par « *On met en suspension* » et se termine par des espaces de séparation et reproduisez la même**

**information en nominalisant les verbes. Faites une liste chronologique des actions successives.**

- a) Mise en suspension de .....
- b) .....
- c) .....
- d) .....
- e) .....
- f) .....
- g) .....
- h) .....
- i) .....
- j) .....
- k) .....

**II. Concernant le paragraphe intitulé *Interprétation des résultats* :**

**1. Quels sont les deux éléments à comparer pour arriver à une conclusion plausible ?**

.....

**2. Quel est l'indicateur d'une génotoxicité possible ?**

.....