

FT02-DEN06-Coloration vitale

Principe : la coloration vitale consiste à mettre les cellules en présence d'un colorant, un pigment. Le colorant va naturellement rentrer dans les cellules, qui vont l'éliminer en l'expulsant avec des pompes moléculaires, situées sur la membrane. Ceci est possible uniquement si les cellules sont vivantes. Dans le cas où les cellules seraient mortes, le métabolisme est arrêté, il n'y a donc pas d'énergie pour faire fonctionner les pompes moléculaires : le colorant reste dans les cellules. Lors d'une coloration vitale, les cellules vivantes sont incolores à l'observation. Les cellules mortes ont pris la teinte du colorant. On utilise principalement le **bleu de méthylène**.

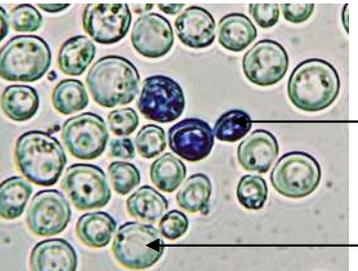
Le bleu de méthylène

Le bleu de méthylène est le principal colorant vital utilisé au laboratoire, mais il est également employé dans de nombreux autres domaines :

- Indicateur rédox ;
- Test de porosité des argiles ;
- Test de perméabilité des trompes utérines ;
- Anti-cancéreux ;
- Antidote à l'intoxication au monoxyde de carbone ;
- Antiseptique ;
- Mesure de la dureté de l'eau.

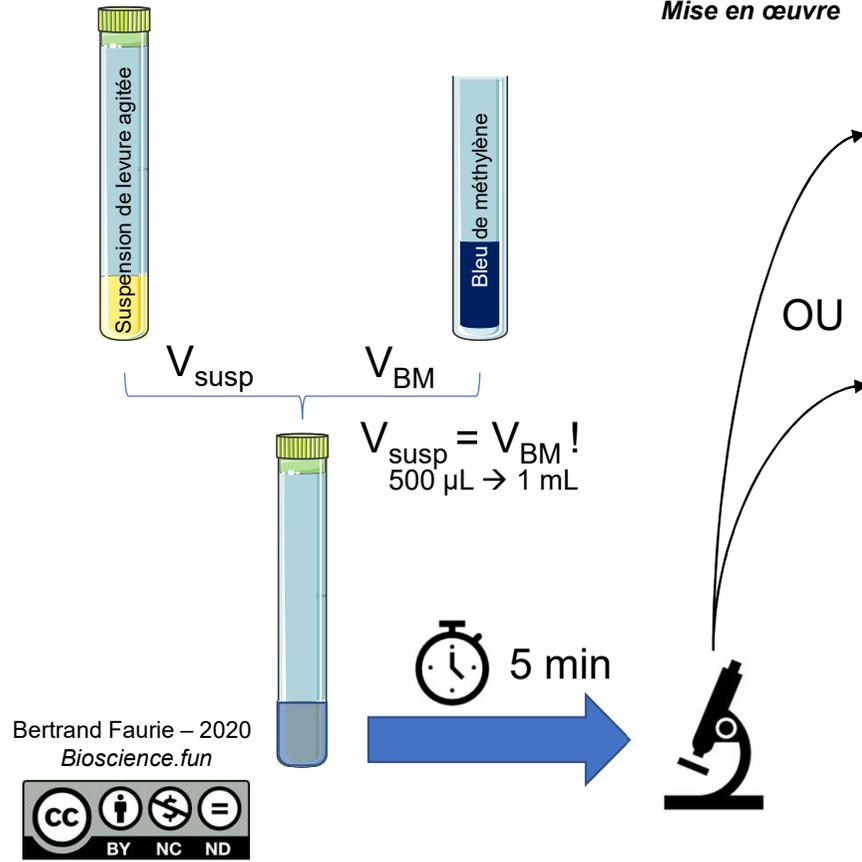
 H302 : nocif en cas d'ingestion.

Observation



Cellule morte
Cellule vivante

<https://aussiehomebrewer.com/attachments/wy1272-12-crop-jpg-106689/>



 La coloration vitale est également possible avec du **bleu trypan**. Dans ce cas, le volume de colorant doit être 3 à 5 fois supérieur au volume de suspension cellulaire. Les cellules sont comptées à l'aide d'un hématimètre. **Colorant présentant un fort effet cytotoxique et tératogène.**

- Comptage sans hématimètre**
1. **Compter** 250 – 300 cellules à l'aide d'un compte globules. Il sera nécessaire d'observer plusieurs champs microscopiques ;
 2. **Préciser** le nombre de cellules mortes et de cellules vivantes ;
 3. **Présenter** les résultats dans un tableau ;
 4. **Calculer** la viabilité finale.

- Comptage avec hématimètre**
1. **Mettre en œuvre** l'hématimètre comme indiqué dans la fiche technique **FT02-DEN01** ;
 2. **Compter** les cellules sur 10 carrés de l'hématimètre ;
 3. **Préciser** le nombre de cellules mortes et de cellules vivantes ;
 4. **Présenter** les résultats dans un tableau ;
 5. **Calculer** la viabilité finale.

Calcul de la viabilité cellulaire

$$Viabilité = \frac{\text{nombre de cellules vivantes}}{\text{nombre de cellules total}} \times 100$$

$$Mortalité = \frac{\text{nombre de cellules mortes}}{\text{nombre de cellules total}} \times 100$$