TRAVAUX PRATIQUES :

CHAP I- LE MICROSCOPE OPTIQUE : DESCRIPTION ET TECHNIQUE D'UTILISATION

DESCRITION DU MICROSCOPE OPTIQUE

Tous les microscopes modernes se présentent sous un aspect sensiblement identique : on y distingue une monture ou partie mécanique supportant la partie optique.

I. - PARTIE MECANIQUE

La monture ou statif du microscope comprend : le pied, la platine et le tube.

A. - Le pied

Le pied doit être lourd pour assurer la stabilité de l'instrument. Il est de forme variable. Il est parfois muni d'une charnière qui permet l'inclinaison de la partie supérieure ou potence ; le travail avec un microscope incliné ne s'applique qu'à des cas limités, lorsque les préparations sont définitives et bien lutées ; dans le travail courant, on se sert presque toujours du microscope dans la position verticale. Dans les nouveaux microscopes il s'agit d'une boîte rectangulaire contenant la source lumineuse.

B. - La platine

La platine est souvent carrée et mobile verticalement à l'aide de la crémaillère et la vis micrométrique. Elle est destinée à recevoir les préparations. Elle est percée au centre d'une large ouverture circulaire pour le passage des rayons lumineux.

Un chariot amovible peut s'adapter sur la platine. Il permet des déplacements de grande amplitude et facilite beaucoup l'examen des préparations étendues.

Deux valets peuvent servir à immobiliser une préparation sur la platine. Ce sont deux lames flexibles qui appuient sur la préparation.

C. - Le tube :

Le tube supporte la partie optique proprement dite du microscope, c'est-à-dire oculaire et objectif.

Dans certains appareils, le tube est mobile verticalement, c'est lui qui s'éloigne ou se rapproche de l'objet à examiner. Ce mouvement du tube peut s'effectuer rapidement au moyen d'une crémaillère fixée au tube lui-même, et lentement au moyen du mouvement lent de la vis micrométrique. Dans d'autres appareils plus modernes, c'est la platine qui est mobile comme indiqué plus haut.

Le tube porte à son extrémité supérieure les oculaires : 1 sur le microscope monoculaire, 2 sur le microscope binoculaire ; et à sa partie inférieure au revolver porte-objectif sur lequel sont vissés les objectifs par grossissements croissants.

II. - PARTIE OPTIQUE

La partie optique du microscope comprend : l'objectif, l'oculaire et l'appareil d'éclairage.

A. - L'objectif :

On divise les objectifs en deux catégories : les objectifs à sec et les objectifs à immersion.

Dans les objectifs à sec, le milieu interposé entre la lentille frontale de l'objectif et la préparation est l'air, tandis que dans les objectifs à immersion, la lentille frontale baigne dans un liquide (habituellement : huile de cèdre).

Les objectifs portent leur grossissement propre : X 2,5 ou 4 ; X 40 ou 45 ; X 60.
L'objectif à immersion est désigné par sa distance focale (en pouce anglais).

B. - Les oculaires :

On utilise généralement deux oculaires, un faible (x5 ou 6) et un moyen (x10 ou 13).

C. - L'appareil d'éclairage :

La source lumineuse provient d'une partie ampoule enfermée dans une lanterne que l'on place devant le microscope. Dans les nouveaux microscopes, la source lumineuse est incorporée dans le pied.

L'appareil d'éclairage du microscope se compose d'un miroir, d'un condensateur et d'un diaphragme -à- iris.

a) - Le miroir : Existe lorsque la source lumineuse est externe.

Le miroir doit être articulé dans toutes les directions. Il est à deux faces, l'une est plane, l'autre est concave. On utilise le plus souvent le miroir plan car la source lumineuse se trouve éloignée du condensateur.

b). - Le condensateur :
Le condensateur est formé d'au moins deux lentilles ; il se trouve au-dessous de la platine du microscope. (Le terme de condensateur est impropre, car il ne condense pas la lumière mais fournit un plus large cône lumineux, d'où résulte une plus grande clarté de l'image.)

On le déplace dans un plan vertical au moyen d'une crémaillère ; descendu au maximum, il est possible de le retirer et de le déporter sur le côté du microscope.

Pour les objectifs faibles, on sera obligé d'abaisser le condensateur au maximum ou de le retirer ; pour les objectifs moyens, on le relèvera plus ou moins pour obtenir un champ uniformément éclairé et pour les objectifs puissants ainsi que l'objectif à immersion, il devra être relevé au maximum, jusqu'à toucher la préparation.

c) - Le diaphragme :

Le complément indispensable du condensateur est le diaphragme. Il s'agit d'un diaphragme à iris qui permet d'obtenir instantanément, en agissant simplement sur un levier, une série

graduelle de cônes lumineux. Ainsi l'intensité de l'éclairage se règle avec le diaphragme et non avec le condensateur.

TECHNIQUE D'UTILISATION DU MICROSCOPE

On pourra se familiariser avec la technique d'observation au microscope en examinant des préparations diverses. On pourra choisir par exemple :

- des préparations colorées de tissus animaux (coupe de peau, de foie, etc.)
  *l'objectif faible permettra d'observer l'agencement des cellules,
  *l'objectif moyen permettra d'observer l'aspect général des cellules
  *l'objectif fort permettra d'observer le détail de la structure cellulaire
- des préparations entre lame et lamelle renfermant des oeufs de parasites ou des grains de pollen.

REMARQUES - L'observation au microscope doit toujours se faire d'abord avec l'objectif le plus faible puis avec l'objectif moyen et enfin avec l'objectif le plus fort sans relever le tube ni déplacer la préparation.

Réglage de l'éclairage

1) Avec des les objectifs faibles ou moyens (jusqu'à 40).

On peut se dispenser du condensateur : il suffit de concentrer les rayons lumineux à l'aide du miroir concave et d'orienter les faisceaux réfléchis suivant l'axe optique.

2) avec les objectifs forts.

Le condensateur est recommandé pour les objectifs forts à sec ; pour les huiles à immersion, l'emploi du condensateur est indispensable.

Mise au point

Pour une mise au point correcte sans risque d'endommager la lame, on observera la technique suivante :

1) Sous contrôle de la vue "en regardant de côté", descendre doucement l'objectif vers la préparation grâce à la vis correspondant au mouvement rapide (vis-à-crémaillère ou vis macroscopique). Se garder de faire cette opération en regardant dans le microscope. Amener l'objectif tout près de la préparation :

- pour les objectifs à sec faibles, à quelques millimètres de la lame ;
- pour les objectifs à sec forts, tout contre la lame en évitant les heurts ;
- pour les objectifs à immersion, contre la préparation en plongeant la lentille dans l'huile à immersion.

2) Relever très lentement le tube en regardant l'oculaire jusqu'à la formation d'une image.

3) Parfaire la mise au point en agissant doucement dans un sens ou dans l'autre sur la vis micrométrique jusqu'à l'obtention d'une image nette.

4) Causes d'insuccès

- Absence d'une image : *l'objectif a été remonté trop vite et trop haut. Recommencer l'opération ;

* ou la préparation a été placée à l'envers.

- Absence de lumière : * l'éclairage détérioré ou mal branché ne fonctionne pas.

* l'objectif n'est pas dans le cran du revolver ou le diaphragme est fermé

- Absence de netteté de l'image :

* l'objectif (ou oculaire) est sale. Lors d'une observation microscopique on reconnaît que les lentilles d'un oculaire sont grasses ou poussiéreuses à la présence de tâches gênantes qui suivent les mouvements de rotation lorsque l'on fait tourner l'oculaire dans son tube;

* l'huile à immersion est oubliée ou déposée sur une lame humide ;

* la lame (ou la lamelle) est sale ;

* la vis micrométrique est bloquée en fin de parcours. Ne pas forcer, la faire tourner en sens inverse et refaire la mise au point.

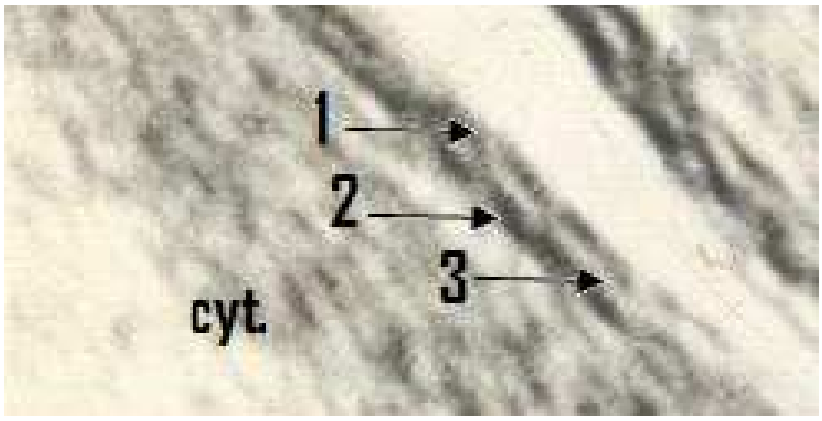
REMARQUE : La légende de chaque dessin doit être complétée en indiquant le grossissement linéaire du microscope.

GROSSISSEMENT LINEAIRE = grossissement de l'objectif x grossissement de l'oculaire.

CHAP- II ETUDE DE LA CELLULE ANIMALE

I- LA MEMBRANE PLASMIQUE

I-1 STRUCTURE TRILAMELLAIRE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE



La membrane plasmique présente un feuillet externe dense (1), un feuillet interne dense (2) du côté du cytoplasme (cyt.) et un feuillet médian clair (3).

I-2 LES ADAPTATIONS DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

a- Les microvillosites

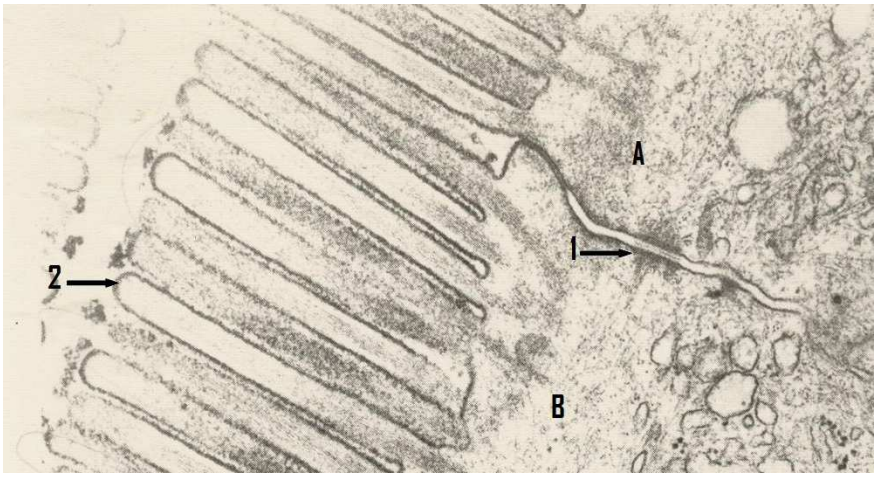


Fig. 1 Ultrastructure des microvillosités

Les cellules A et B en contact forment un desmosome (1). Elles émettent des microvillosités (2) (replis de la membrane) au niveau de la zone apicale.
Elles sont surtout connues dans les cellules intestinales. Lors du développement du follicule ovarien, la membrane plasmique de l'ovocyte de maints groupes animaux différencie également de nombreuses microvillosités

b- Les microinvaginations

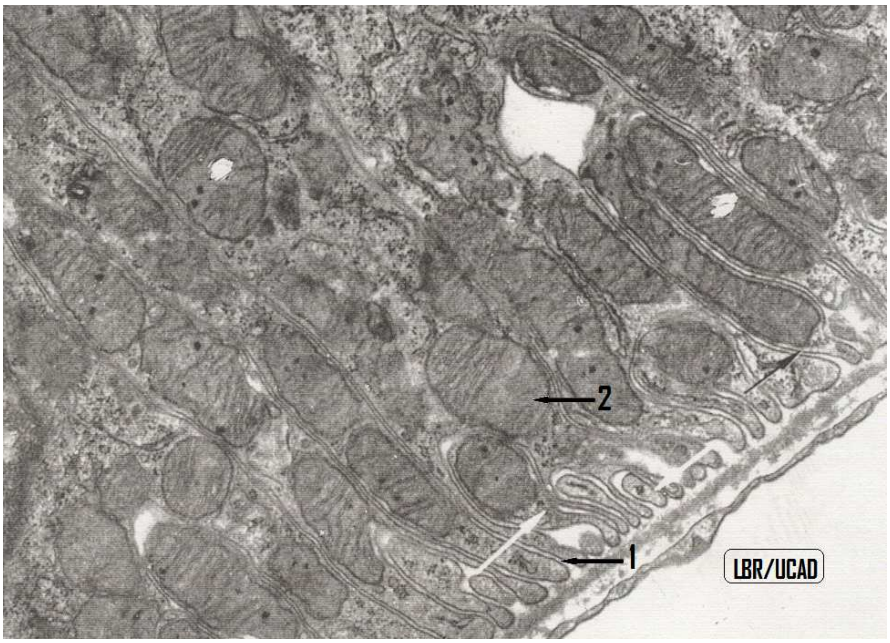


Fig. 2 Ultrastructure des microinvaginations

Ce sont des replis de la membrane plasmique (1) dans le cytoplasme du côté de la lame basale. Le nombre de mitochondries (2) au niveau du pole basal est très important.

II-3 LES CONTACTS CELLULAIRES

Les contacts fermés sont nombreux : il s'agit des desmosomes, des zonula occludens, des zonula adherans et des interdigitations.

Exemple : les desmosomes

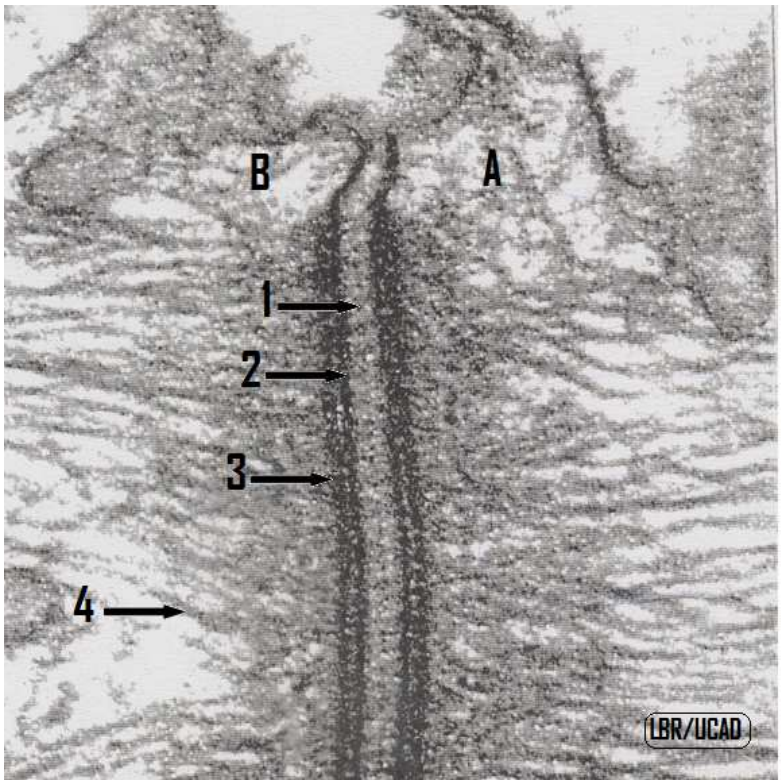


Fig. 3 : <u>Ultrastructure d'un contact cellulaire fermé (desmosome)</u>

Ce contact fermé (desmosome) entre deux cellules (A et B) montre une densification de la zone de contact avec la présence d'un sillon (1). Il faut noter l'épaississement du feuillet interne (3) par rapport au feuillet externe (2), et la présence des tonofilaments (4).

II-4 LES ORGANITES CELLULAIRES

1- LE NOYAU ET LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE

Fig 4 : Ultrastructure du noyau et du réticulum endoplasmique granulaire

L'ultrastructure du noyau montre ici une chromatine dense ou hétérochromatine (H) et une chromatine claire ou heuchromatine (Heu). Juste après le noyau, nous voyons le rticulum endoplasmique granulaire qui réalise des cavités dans la cellule. Ces cavités sont en forme de tubes (1). Les membranes sont associées à des ribosomes (2).

2- LES MITOCHONDRIES

Elles sont ainsi dénommées par Benda en 1897. Elles ont la particularité d'être colorée sélectivement par la méthode de coloration vitale de Janus.

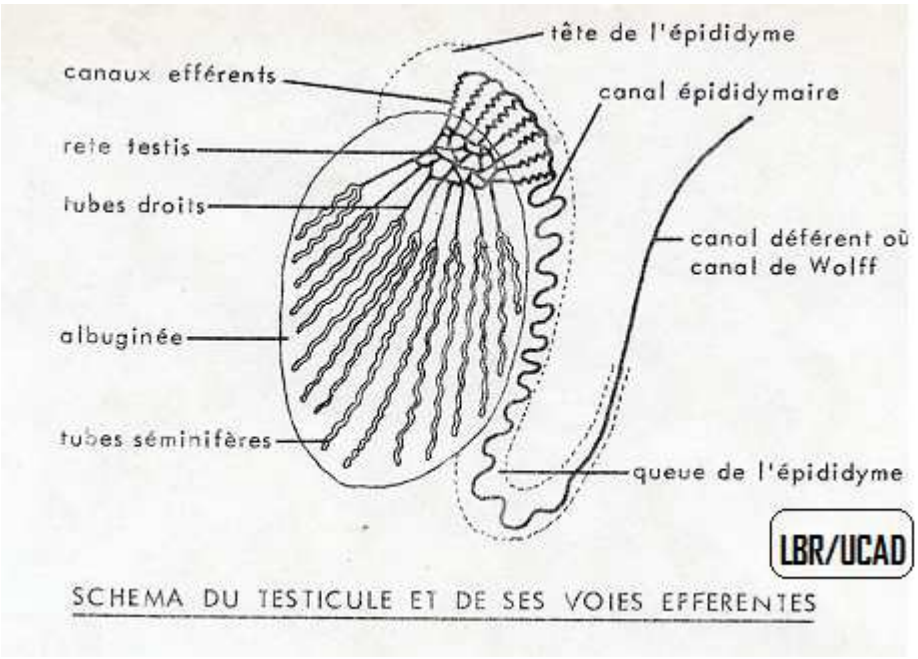
Palade (1952) observe que la mitochondrie (fig. 5) est entourée de 2 membranes : une membrane externe (1) et une membrane interne (2). La membrane interne émet des invaginations appelées crêtes (4) vers le centre.

Les 2 membranes sont séparées par un espace de 80 A d'épaisseur (3). Un espace semblable s'aménage entre les membranes des crêtes. Cet espace apparaît généralement vide. La membrane interne est remplie par une matrice (5) homogène légèrement granulaire. La plupart des mitochondries comporte des granules denses qui ont entre 300 et 500 A de diamètre. Ces granules sont considérés comme étant des régions d'accumulation de cations bivalents (Mg++, Ca++, etc.).

Fig. 5 <u>Ultrastructure d'une mitochondrie en coupe longitudinale</u>

CHAP III- REPRODUCTION

1- <u>APPAREIL GENITAL MALE</u> (des Mammifères)



2- LA SPERMATOGENESE : ETUDE DU TESTICULE DE RAT

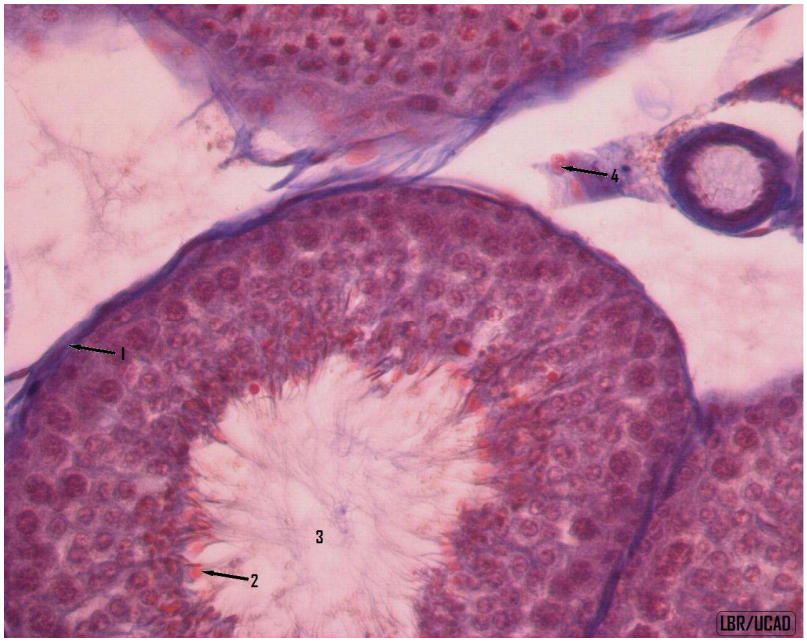


Fig. 1 Coupe d'un testicule de rat x 400

Sur cette photo, nous voyons 3 tubes séminifères d'un testicule de rat qui présente en (1) la membrane basale, en (2) un spermatozoïde avec son flagelle dirigé vers la lumière du tube (3). Entre les tubes séminifères se trouvent les cellules de Leydig en (4).

3- APPAREIL GÉNITAL FEMELLE
UETRUS DE RATE

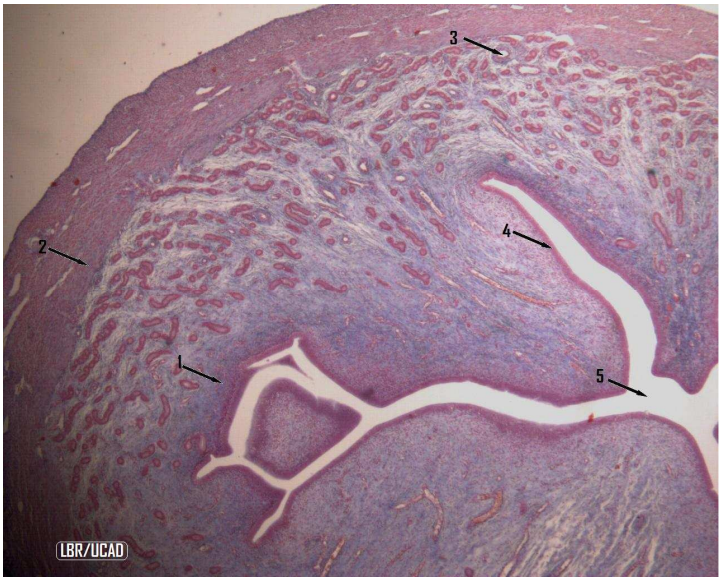


Fig. 2 : Utérus de rate en coupe transversale : x 100

Cette photo montre un utérus de rate en phase lutéinique présentant en (1**)** l'endomètre, en (2) une couche musculaire circulaire du myomètre, en (3) un vaisseau sanguin, en (4) l'épithélium unistratifié et en (5) la cavité utérine.

4- <u>OVOGENESE</u> (MAMMIFERES)
OVAIRE DE RATE

Fig. 3 : **<u>Maturation folliculaire : ovaire de rate</u>** x 100

Sur cette photo, nous voyons un ovaire de rate qui présente dans la zone corticale en (1) un follicule primordial, un ovocyte cavitaire présentant en (2) l'ovocyte, en (3) l'antrum, en (4) la thèque interne et en (5) la thèque externe.

CHAP.IV- ETUDE DES TISSUS : HISTOLOGIE

IV-1 LES EPITHELIUMS
EXEMPLE : Epithélium unistratifié à plateau strié

Fig. 1 <u>Epithélium prismatique a plateau strie en coupe longitudinale</u>

Cet épithélium unistratifié du colon présentant plusieurs cellules caliciformes (1) montre des cellules prismatiques à plateau strié au niveau de la zone apicale. (N= noyau).

IV-2 LES TISSUS CONJONCTIFS

1-les tissus conjonctifs proprement dits ou tissus conjonctifs communs

a- le tissu adipeux

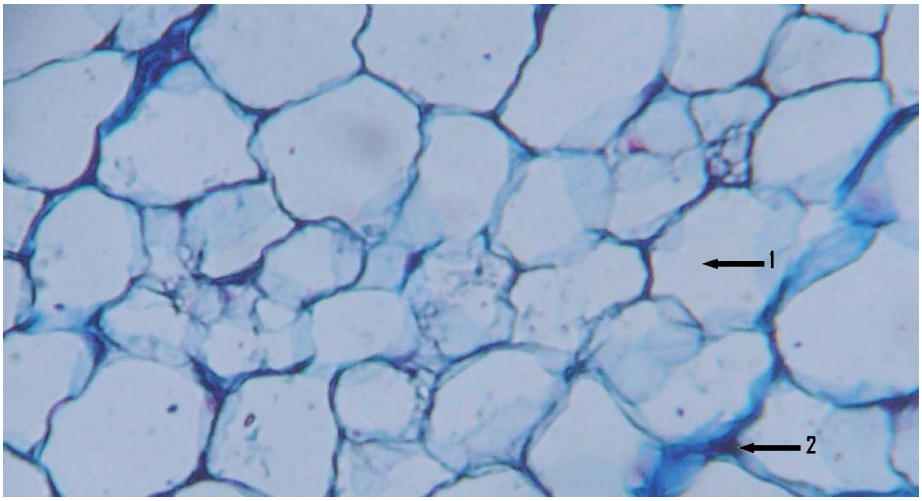


Fig. 2 : Structure du tissu adipeux x100

Les cellules adipeuses (adipocytes) présentent une vacuole lipidique (1) qui occupe presque tout le volume de la cellule et repousse le cytoplasme vers la périphérie ainsi que le noyau (2).

2-les tissus conjonctifs spécialisés :

a- Tissu cartilagineux

a1- cartilage hyalin

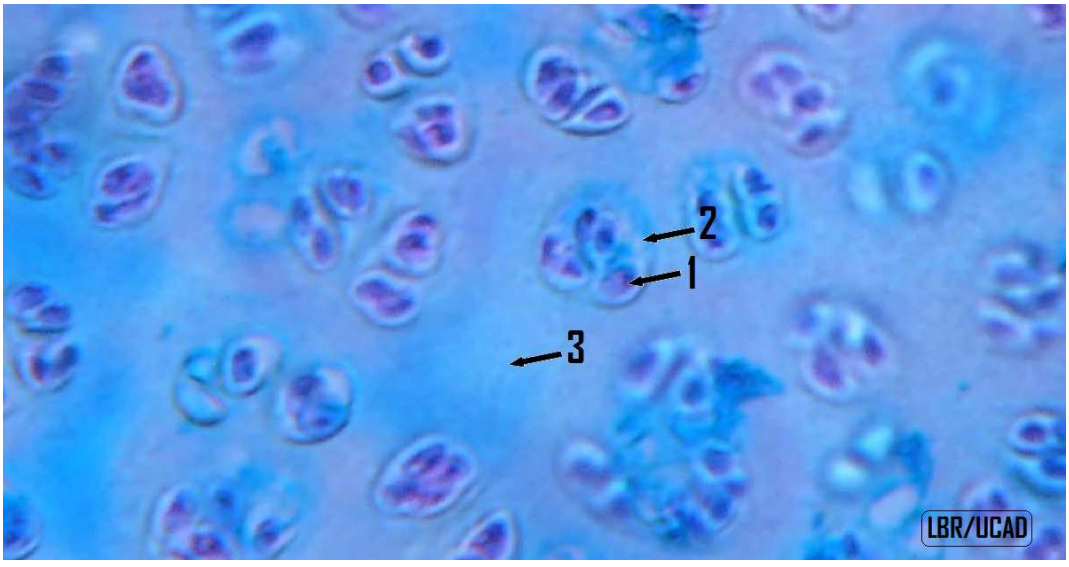


Fig 2 : Structure du cartilage hyalin x 100

Cette photo montre le cartilage hyalin avec les chondrocytes (1) contenu dans les chondroplastes (2), ces éléments cellulaires baignent dans la matrice extracellulaire (3).

A2- cartilage élastique (disques intervertébraux)

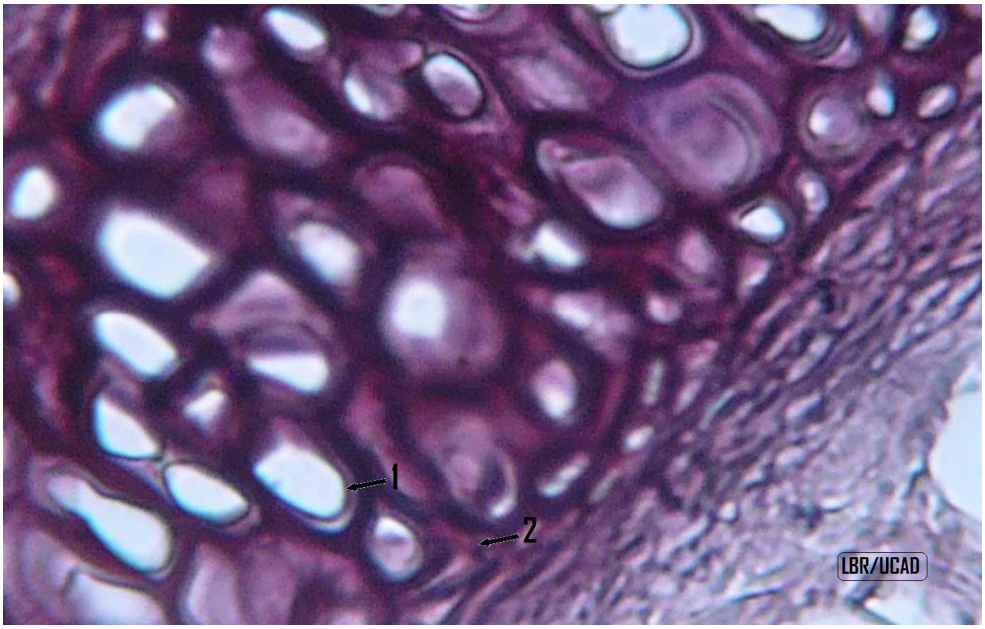


Fig. 3 : Structure du cartilage élastique

Cette photo montre un cartilage élastique présentant une cellule cartilagineuse (1) et les fibres élastiques (2).

b - **Le tissu osseux**

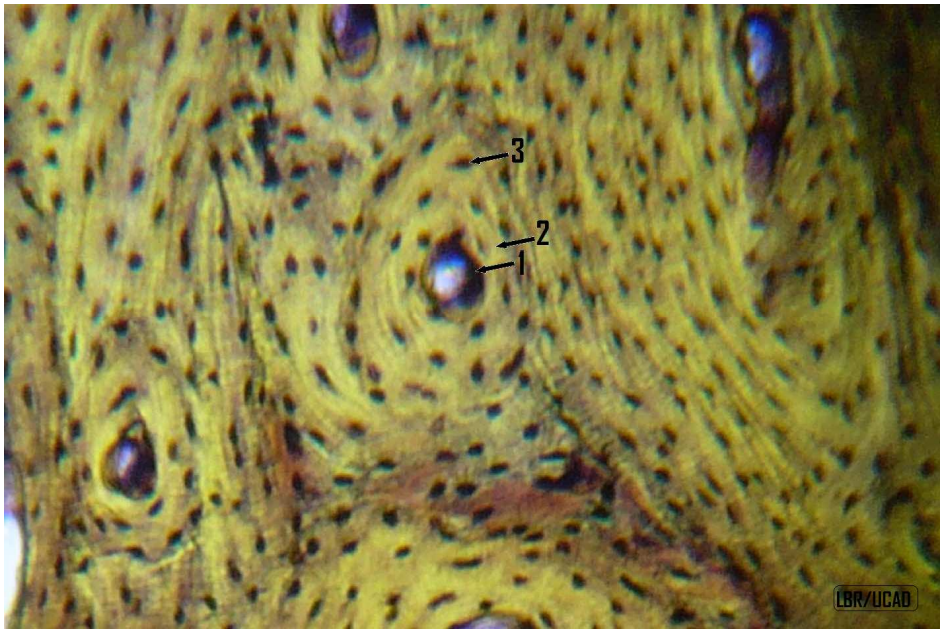


Fig. 4 : Coupe transversale d'un os compact

Cette photo montre une coupe de l'os compact montrant le système haversien avec le canal de Havers (1), dans les lamelles osseuses (2) se trouvent des ostéoplastes (3) qui contiennent les ostéocytes.

IV-3 LES TISSUS MUSCULAIRE ET NERVEUX

a- TISSU MUSCULAIRE STRIE SQUELETTIQUE

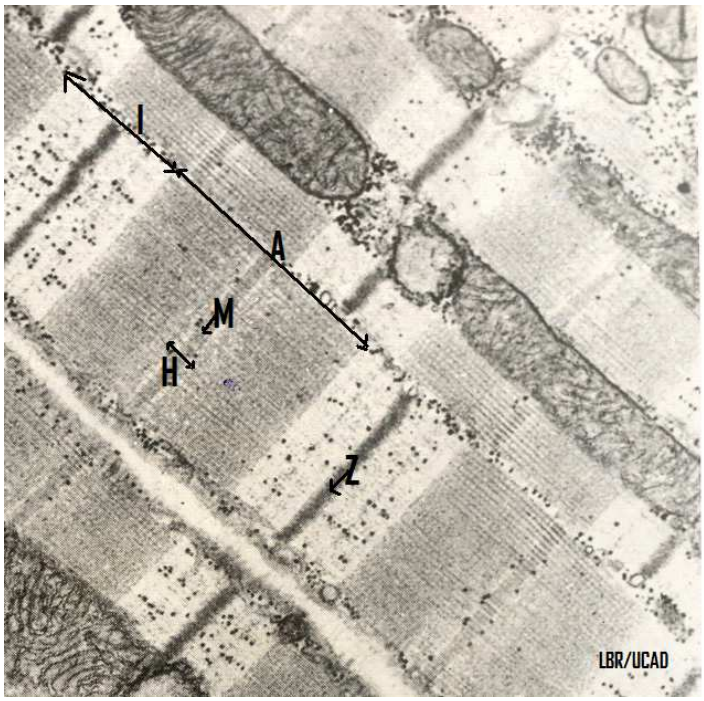


Fig. 5 : Ultrastructure du tissu musculaire strié squelettique : le sarcomère (A= bande anisotrope, H= bande H, M= ligne M, I= bande isotrope)

b- Ultrastructure d'une fibre amyélinique

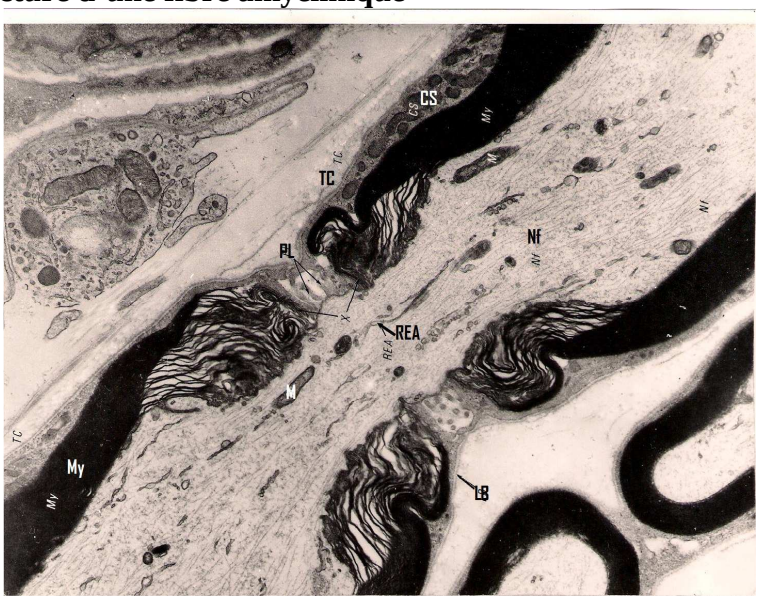


Fig. 9 : Ultrastructure du nœud de Ranvier en coupe longitudinale

La gaine de myéline composée de couches successives de membrane plasmique constitue un tube (my.) qui enveloppe la fibre nerveuse. Elle est interrompue de place en place par un étranglement annulaire ou nœud de Ranvier. A chaque segment interanulaire est associée une seule cellule de Schwann (CS). LB= Lame basale, M= Mitochondrie allongée, Ff= Neurofibrilles, Pl= prolongements de la cellule de Schwann (CS), REA= réticulum endoplasmique agranulaire, TC= tissu conjonctif.

TRAVAUX DIRIGES

I- LE SANG

Le système ABO

a) - Agglutination des hématies du donneur chez le receveur

R D	O	A	B	AB
O	-	-	-	-
A	+	-	+	-
B	+	+	-	-
AB	+	+	+	-

b) - Relations entre le génotype et le groupe sanguin

Groupe sanguin	Génotype	Agglutino-gène	Aggluti-nine	Réaction de hématies avec les anticorps	
				Anti A	Anti B
A	A/A A/O	A	anti B	+	-
B	B/B B/O	B	anti A	-	+
AB	A/B	AB	néant	+	+
O	O/O	néant	anti A anti B	-	-

c) - Hérédité des groupes sanguins

				Groupes
Groupes	Génotypes	Groupes	Génotypes	impossibles
O x O	O/O x O/O	O	O/O	A - B - AB
O x A	O/O x A/A	A	A/O	C - B - AB
O x A	O/O x O/A	O ou A	A/O ou O/O	B - AB
O x B	O/O x B/B	B	B/O	O - A - AB
O x B	O/O x B/O	O ou B	O/O ou B/O	A - AB
O x AB	O/O x A/B	A ou B	A/O ou B/O	O - AB
A x A	A/A x A/A	A	A/A	AB - O - B
A x A	A/O x A/O	A ou O	A/A ou A/O ou O/O	B - AB
A x A	A/A x A/O	A	A/A ou A/O	B - AB - O

II- LA GENETIQUE (cf. exercices)