

## **Chapitre II : Tests de cytotoxicité**

Plusieurs tests sont utilisés pour la mise en évidence de la mort cellulaire :

### **Test de Bleu de Trypan**

### **Test de Rouge Neutre**

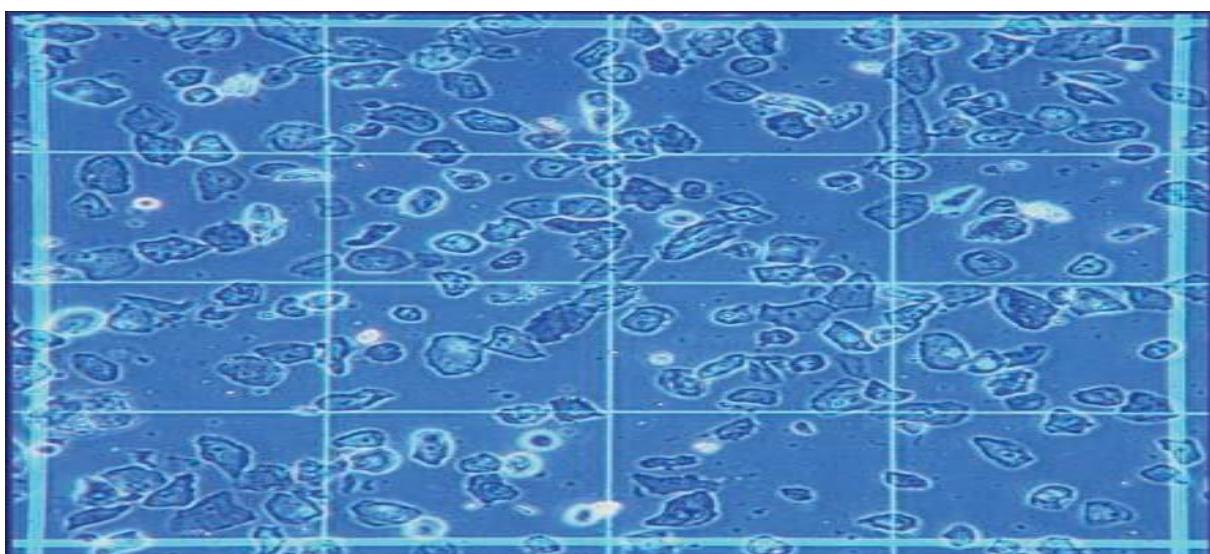
### **Test MTT**

### **Dosage d'ATP**

### **Test Lactate Deshydrogénase**

#### **1. Test de Bleu de Trypan**

Ce colorant d'exclusion pénètre dans toutes les cellules mais seules les cellules mortes le retiennent et se colorent en bleu, les cellules vivantes apparaissent brillantes (Figure 1).



**Figure 1.** Observation microscopique des cellules traitées par le bleu de Trypan (Garnier, 2016)

#### **2. Test de Rouge Neutre**

Colorant vital rouge neutre s'accumule au niveau des lysosomes. Les cellules mortes ne retiennent pas le colorant et ne seront pas coloriées (Figure 2).



**Figure 2.** Réalisation du test de rouge neutre (Borenfreund et Puerner, 1985).

### 3. Test de MTT

Test basé sur la mesure l'activité d'une enzyme mitochondriale, la succinate déshydrogénase. Dans les cellules vivantes, la succinate déshydrogénase transforme le succinate en fumarate. Cette réaction d'oxydation peut être couplée à une réduction du MTT (jaune) en formazan (bleu-violet) dont la couleur est appréciée par spectrophotométrie à 560 nm.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à l'activité de la succinate déshydrogénase, elle-même proportionnelle à la viabilité cellulaire

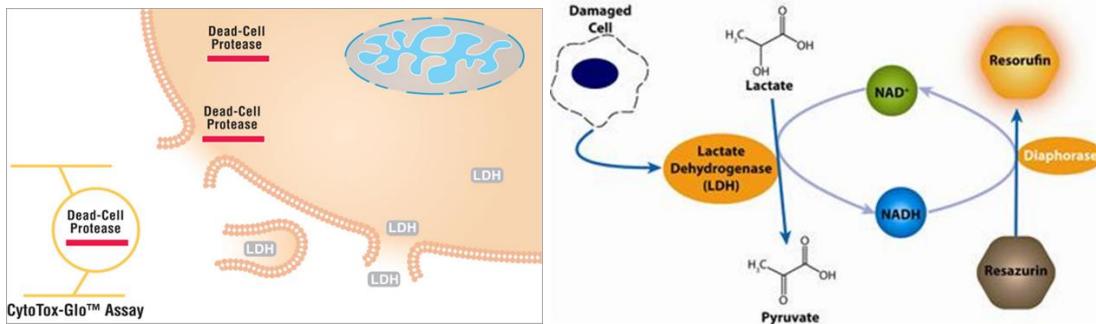
### 4. Test ATP

Ce test est basé sur le dosage de la quantité d'ATP des cellules qui est proportionnelle au nombre des cellules vivantes. Les cellules traitées et lysées sont incubées en présence de luciférase et luciférine. La mono-oxydation de cette dernière par la luciférase, en présence d'ATP et d'oxygène moléculaire produit un signal lumineux proportionnel à la quantité d'ATP présentes dans les lysats cellulaires.



### 5. Test de Lacatate Deshydrogénase

La LDH est une enzyme cytosolique catalysant en présence de NADH, la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique. Lors d'une atteinte membranaire, l'enzyme est relarguée dans le milieu extracellulaire (Figure 3).



**Figure 3.** Mise en évidence de la cytotoxicité par le test de Lactate déshydrogénase (Kumar et al., 2018)

La comparaison de l’activité de cette enzyme dans le milieu extracellulaire par rapport à celle mesurée dans le compartiment intracellulaire, reflète le degré de cytolysé d’une culture cellulaire.

## Références bibliographiques

**Borenfreund, E. and Puerner, J.A. (1985).** Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption, *Toxicology Letters*, 24(2-3). [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(85\)90046-3](https://doi.org/10.1016/0378-4274(85)90046-3)

**Garnier, R. (2016).** Toxicité du bleu de trypan. Archives des Maladies Professionnelles et de l’Environnement 77(6). <https://doi.org/10.1016/j.admp.2016.09.005>

**Kumar, P., Nagarajan, A. and Uchil, P.D. (2018).** Analysis of Cell Viability by the Lactate Dehydrogenase Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 1,(6). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095497>. PMID: 29858337

**Lapointe, J. (2004).** Notions de toxicologie. Deuxième édition revue et augmentée, Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Québec ISBN 2-551-22538-8

<https://123dok.net/article/m%C3%A9thode-%C3%A9valuation-cytotoxicit%C3%A9-evaluation-cytotoxicit%C3%A9.q5mngj77>