



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

THEME :
**Étude bibliographique sur la prise en charge des prélèvements en anatomie
pathologique**

Présenté par :

Hadid Nacira

Soutenu Septembre 2021

Devant le jury

Président(e) :	BOUKENAOUI.N	MCA	ISV Blida1
Examineur :	DAHMANI.A	MCA	ISV Blida1
Promoteur :	SAIDI.A	MCB	ISV Blida1

Année Universitaire : **2020- 2021.**

Remerciement :

En premier lieu et, nous tenons à remercier le tout puissant Allah de nous avoir octroyé la volonté et le courage d'achever ce modeste travail.

En second lieu nous devons ce que nous sommes à nos parents que nous remercions du fond du cœur et que dieu les bénissent.

Il nous est agréable d'exprimer nos profonds remerciements et gratitude à :

Dr Saidi Amina promotrice qui a accepté de nous prendre sous sa charge et de nous guider par ces compétences dans la réalisation ce mémoire.

Aux membres du jury et à leur tête le président du jury qui nous a honorés par sa présence de bien vouloir juger notre travail.

A tous ceux et celles qui nous ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire, sans oublier les bibliothécaires au niveau de l'Institut des Sciences Vétérinaires à Blida.

Nous ne saurons oublier les personnes qui nous sont chères nos collègues et nos amis qu'ont connus à tiret et ailleurs.

HADID NACIRA

Dédicace

Je dédie mon modeste travail : A la personne qui a sacrifié sa vie pour moi , et qui a relevé le défi d'assurer mes études, à l'homme qui a Éclairé le chemin de ma réussite. A toi **HAMIDI MOHAMED AMINE.**

A la prunelle de mes yeux, celle qui m'a soutenu et qui a pleuré jour et nuit pour qu'elle me voie toujours au sommet et comme une étoile filante. A toi **ma chère mère.**

A vous mes chers parents, le déluge d'amour interminable et les Sacrifices symboliques.

A mes chers et adorable frères et sœurs qui sont toujours à mes côtés Ces longs jours.

A ma nièce la petite fleur.

A tous mes ami(e)s, sans exception.

Résumé

Nous avons choisi une synthèse bibliographique basée sur une étude analytique et synthétique de nombreux écrits traitant de l'anatomie pathologique.

Par conséquent, le diagnostic précis repose sur les éléments suivants : Des appareils et équipements spécialisés, des techniques approuvées, un protocole utilisé et l'expérience d'un anatomopathologiste dans ce domaine.

Pour répondre à ces derniers, nous avons utilisé divers livres et manuels et des données provenant des sites spécialisés dans ce domaine.

Mots clés : Anatomie pathologie, anatomopathologiste, méthode.

Summary

We have chose a bibliographic synthesis based on an analytical and synthetic study of many of the writings dealing with anatomypathologic.

Therefore, the accurate diagnosis lies in the following: Specialized devices and equipment, approved techniques, a protocol used, and the experience of an anomatologist in this field.

To respond to the latter, we used various books and manuals in laboratories and even data from the Internet provided by specialists in this field ... about the autopsy process from beginning to end.

Keywords :Anatomy pathology , pathologist, ,method.

المخلص:

يهدف مشروعنا في نهاية الدراسة إلى الكشف عن الأمراض المختلفة التي تصيب الأنسجة. لذلك اخترنا تولىً ببلوغرافياً قائماً على دراسة تحليلية وتركيبية للعديد من الكتابات التي تتناول علم التشريح للأمراض.

وبالتالي فإن التشخيص الدقيق يكمن في الآتي: الأجهزة و المعدات المختصة و تقنيات المعتمدة و البرتوكول المستعمل و الخبرة اناوموباتولوجست (أخصائي الأمراض التشريحي) في هذا المجال .

للرد على هذا الأخير، قمنا بالاستعانة بالكتب والأدلة المختلفة في مخابر وحتى البيانات من انترنت التي قدمها المتخصصون في هذا المجال ... عن عملية تشريح من بداية حتى النهاية .

الكلمات المفتاحية: علم الامراض التشريحي,مختص في علم الامراض التشريحي

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU	TITRE	PAGE
01	Critères pour différencier exsudat et transsudat	07

TABLE DES FIGURES

FIGURE	TITRE	PAGE
01	Réalisation d'une biopsie excisionnelle	04
02	Aiguille de biopsie histologique	04
03	Préparation des matériels pour la cytoponction	06
04	Ponction cytologique	09
05	Cytocentrifugation d'un liquide d'ascite.	09
06	Produit de cytoponction d'un ganglion lymphatique de lymphome de Hodgkin ; étalement coloré au May-Grünewald-Giemsa.	10
07	Radiographie du thorax, vue de profil.	13
08	De gauche à droite, cassette de 0,5 cm, de 1 cm, de 0,5 cm avec grille.	17
09	Mécanisme global d'un automate à inclusion	20
10	Microtome semi automatique	21
11	a coupe au microtome du bloc histologique : confection des lames histologiques	22
12	Les cristaux d'urate de sodium	25
13	Les cristaux de pyrophyte de calcium	25
14	Les cristaux de cholestérol	25

SOMMAIRE

Remerciement :	
Dédicace	
Résumé	
Summary	
الملخص :	
LISTE DES TABLEAUX	
TABLE DES FIGURES	
SOMMAIRE.....	
INTRODUCTION GENERALE	1
I. Définitions de l'anatomie pathologique:	3
II. Les différentes techniques de prélèvements	3
1. Biopsies:	3
a) Biopsie directe sous contrôle de la vue :	3
b) Biopsie-exérèse (ou biopsie excisionnelle) :	3
c) Ponction-biopsie ou biopsie transcutanée :	4
2. Les pièces opératoires:.....	5
a) Définition :	5
b) L'étude des pièces opératoires s'accompagne d'une description macroscopique : 5	
3. La nécropsie:.....	5
a) Définition :	5
b) Matériels nécessaires pour la nécropsie :	5
4. Cytoponction	6
a) Définition :	6
b) Matériels et méthodes :	6
III. Type des prélèvements:.....	7

1.	Prélèvement des liquides d'épanchement:.....	7
2.	Prélèvements histologiques :	8
3.	Prélèvements cytologiques :	9
a)	Étalement des cellules sur des lames de verre :	9
b)	Cytocentrifugation sur lame de verre :	9
c)	Fixation des étalements	10
d)	Techniques d'étude des tissus.....	12
4.	Prélèvements Abdominocentèse –thoracocentèse :	12
a)	Abdominocentèse.....	12
b)	Thoracocentèse.....	13
IV.	La Fixation et les différents fixateurs	14
a)	Définition	14
b)	Les différents fixateurs en anatomie pathologique :	15
V.	Etude macroscopique et microscopiques des liquides pathologiques :	15
1.	Description macroscopique des organes.....	15
a)	Principe	15
b)	Déroulement pratique.....	16
c)	Technique de la macroscopie	17
d)	Encrage des marges: (13).....	18
e)	Cas particuliers.....	19
f)	Inclusion.....	19
g)	Enrobage	21
h)	Coupes et coloration	21
2.	Etude macroscopique :	22
3.	Etude microscopique :	23
	Références bibliographiques :	28

INTRODUCTION

L'anatomopathologie est l'étude des altérations organiques des tissus et des cellules provoquées par la maladie. Ces altérations peuvent être observées à l'œil nu (lésions macroscopiques), au microscope optique (lésions histopathologique ou cytopathologique) ou au microscope électronique (lésions ultra-structurales). Elles sont reconnues par comparaison avec les structures normales.

L'étude microscopique permet également la mise en évidence dans les cellules ou les tissus de certains composés chimiques (histochimie), d'enzymes (histoenzymologie), de constituants antigéniques précis (Immun histochimie) ou d'acides nucléiques.

L'anatomopathologie présente un intérêt majeur pour l'identification des maladies. De nombreuses affections (cancers, par exemple) ne peuvent être reconnues avec précision que par l'examen au microscope d'un fragment de la lésion (histopathologie) ou d'un étalement de cellules isolées (cytopathologie).

Cette étude apporte également des informations précieuses sur l'extension des lésions par l'examen des pièces opératoires (organes ou tissus prélevés lors d'une intervention), permettant ainsi d'apporter un pronostic et de choisir le traitement le plus approprié.

Enfin, l'anatomopathologie, par la pratique de l'autopsie, aide à comprendre l'enchaînement des symptômes et la cause de la mort. Bien que le mot histologie (étymologiquement, science des tissus, du grec [Histos: tissu] et [logos: science]) n'ait été créé qu'en 1821, on considère habituellement, et à juste titre, que le concept morphologique fonctionnel et pathologique du tissu a été fondé par Bichat (1771-1802), sans le recours au microscope, grâce à l'étude anatomique précise et minutieuse des organes des animaux (1) dont il avait identifié les constituants essentiels. En moins de deux siècles, de sa naissance à aujourd'hui, l'histologie a vécu trois révolutions: la révolution fondatrice issue de la microscopie optique et de la théorie cellulaire ; l'apparition de la microscopie électronique ; les par le développement de la biologie moléculaire. Ces trois périodes cruciales dans l'histoire de cette discipline correspondent à une plongée des investigations vers des échelles d'observation de plus en plus fines correspondant en fait à des niveaux d'organisation du vivant de plus en plus élémentaires (2).

En raison des nombreuses maladies tissulaires qui affectent les animaux, leur traitement efficace réside dans le diagnostic précis de l'anatomie pathologique, dans lequel le vétérinaire clinicien peut prendre le traitement approprié, qu'il soit chirurgical ou pharmacologique, même connaître la cause de mortalité de l'animal.

Ce qui nous a amenés à nous interroger sur ce qu'est cette science, quelles sont ses étapes, les techniques utilisées, ses équipements, et ses interprétations ?

Notre objectif est de répondre à ses questions dans une l'étude bibliographique basée sur des manuels et des ouvrages écrits par des spécialistes du domaine

I. Définitions de l'anatomie pathologique:

L'anatomie pathologique (ou anatomo-pathologie) est la discipline médicale qui permet la reconnaissance des anomalies des cellules et des tissus d'un organisme, appelées lésions, pour effectuer le diagnostic des maladies, porter un pronostic et, plus généralement, en comprendre les causes et les mécanismes.

Elle s'appuie sur des techniques morphologiques (c'est à dire l'analyse de la forme des objets) : examen macroscopique (à l'œil nu) et microscopique photonique (dit aussi « optique ») et électronique, immunohistochimie, hybridation in situ, parfois quantifiées (morphométrie) et sur d'autres méthodes utilisées parallèlement (PCR sur coupes ou cellules isolées, microbiologie...). Elle nécessite une collaboration étroite entre l'anatomo-pathologiste, le biologiste, l'imagerie et le clinicien (corrélation anatomo-clinique (3)).

II. Les différentes techniques de prélèvements

1. Biopsies:

Faire une biopsie consiste à prélever de petits fragments d'organes, sous anesthésie locale ou générale. Il ya plusieurs types de biopsies sont réalisables :

a) Biopsie directe sous contrôle de la vue :

Elle concerne essentiellement la peau et les muqueuses et peut se faire à l'aide de bistouri, pince ou trocart. Soit par endoscopie (muqueuses digestive, utérines, respiratoires) à l'aide de pinces endoscopiques adaptées.

b) Biopsie-exérèse (ou biopsie excisionnelle) :

Elles désignent l'exérèse de masses, telles que des tumeurs superficielles de petite taille, des tumeurs profondes (exérèses d'organes par exemple) ou encore des tumeurs mammaires. Elles ont pour but d'enlever la lésion, éventuellement la tumeur, dans sa totalité, En choisissant une zone plus ou moins importante du tissu sain qui entoure la tumeur est aussi enlevée pour être sûr de ne pas laisser en place des prolongements de cette tumeur. Ces biopsies apportent un diagnostic lésionnel grâce à l'analyse histologique et constituent le traitement ou une partie du traitement chirurgical de la lésion.

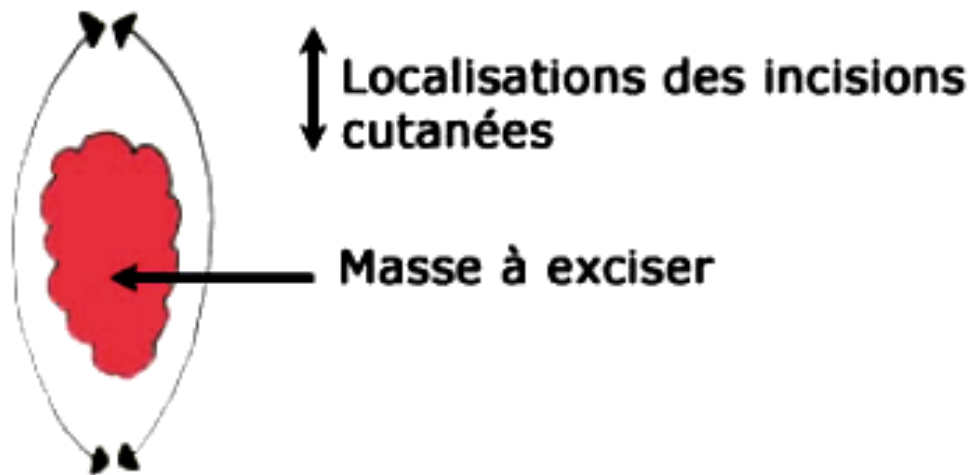


Figure1 :Réalisation d'une biopsie excisionnelle (3)

c) Ponction-biopsie ou biopsie transcutanée :

Il s'agit d'effectuer un forage, à l'aide d'un trocart monté sur un manche et contenu dans une canule, afin de prélever une carotte de l'organe à analyser. Cette technique requiert un guidage par imagerie, généralement un guidage échographique. Elle est notamment utilisée pour prélever des fragments de tissus osseux. Pour d'autres organes (foie, rein), ce type de biopsie peut également être réalisé à l'aiguille à biopsie.

Dans tous les cas, les biopsies doivent répondre à plusieurs critères afin de faciliter l'examen histologique. D'une part, elles doivent être représentatives, elles nécessitent ainsi d'être centrées sur la lésion, suffisamment nombreuses et orientées si cela est possible. De plus, elles doivent être correctement prélevées, de façon atraumatique c'est-à-dire en conservant au maximum l'intégrité des tissus, fixées et identifiées



Figure 2 :Aiguille de biopsie histologique. (4)

2. Les pièces opératoires:

a) Définition :

Une pièce opératoire est le produit de l'exérèse d'une lésion dans sa totalité, souvent à titre thérapeutique, par ablation partielle ou totale d'un organe. Ce sont souvent des prélèvements de gros volume, nécessitant plusieurs recoupes. Ils doivent être mesurés, et/ou pesés et, dans la mesure du possible, disséqués. (5)

b) L'étude des pièces opératoires s'accompagne d'une description macroscopique :

- Type de pièce.
- L'aspect et la taille.
- Extensions des lésions, autres lésions associées.
- Limites de résection.
- Peut faire l'objet de photographies.

3. La nécropsie:

a) Définition :

Une nécropsie est un des outils de base servant à déterminer la cause de décès d'un animal. Cela implique un examen rigoureux externe et interne de la carcasse afin de détecter toutes indications de la cause de décès (lésions). Une bonne nécropsie compris l'observation détaillée des lésions ou anomalies et la collection, l'étiquetage et l'entreposage des échantillons de tissus. Les tests de laboratoire effectués sur des échantillons de tissus préservés adéquatement permettent aux spécialistes en maladies de la faune d'évaluer systématiquement les causes potentielles de mortalité.

b) Matériel nécessaire pour la nécropsie :

Ciseaux, forceps dentées, gants de caoutchouc, flacons ,marqueur indélébile, couteau, planche á découper, manche de bistouri, scie, formol à 10%, lame de bistouri, étiquettes, papier d'aluminium, crayon ,papier, autre équipement pouvant être utiles inclus une balance, règle, et camera. Plusieurs types et tailles de sacs en plastique devraient être disponibles y compris des grands sacs pour disposer des carcasses et des petits sacs pour conserver de façon individuelle les organes congelés.

4. Cytoponction

a) Définition :

La biopsie à l'aiguille fine (BAF) ou **cytoponction**, est une méthode de diagnostic consistant à prélever des cellules et du tissu dans des nodules ou du liquide dans des kystes et des ganglions lymphatiques à l'aide d'une aiguille très fine montée sur une seringue pour effectuer ensuite un examen cytologique du prélèvement au microscope. C'est une procédure chirurgicale de diagnostic sûre et non invasive, qui évite souvent les biopsies chirurgicales majeures. Contrairement à la biopsie par forage, la biopsie à l'aiguille fine est généralement indolore et ne provoque que peu de complications (saignement, infection). Elle est le plus souvent employée pour la détection des cancers du sein, de la thyroïde ou des ganglions lymphatiques dans le cou, l'aîne ou l'aisselle. (6)

b) Matériel et méthode :

- Aiguilles de 25G (orange) ou 22G (bleue), de 5 à 7/10ème de diamètre, de 40 mm long
- Seringues à piston avec embout caoutchouc de 2ml et 5ml
- Lames matées dégraissées
- Un crayon à papier pour identifier les lames



Figure 3.Préparation des matériels pour la cytoponction. (7)

- Si l'on est droitier saisir de la main gauche la lésion à cytoponctionner.
- Sertir une seringue de 2 ou 5 ml (trois corps) d'une aiguille à injection sous-cutanée (bleue ou orange), bien mobiliser le piston de la seringue, planter l'aiguille sertie sur la seringue, dans la lésion, aspirer puis relâcher plusieurs fois le piston de la seringue, éventuellement selon plusieurs incidences de pénétration dans la lésion ou selon plusieurs profondeurs.
- Retirer l'aiguille toujours sertie sur la seringue de la lésion.
- En dehors de l'animal, ôter l'aiguille de la seringue, aspirer de l'air dans la seringue, replacer l'aiguille sur la seringue, pousser le piston de façon à ce que l'air pulsé passe par le fût de l'aiguille pour que le matériel cellulaire qu'il contient s'extirpe et tombe sur le bord d'une lame bien propre et dégraissée à l'alcool. Etaler cette goutte de matériel comme un frottis sanguin à l'aide d'une autre lame, perpendiculairement.

III. Type de prélèvements:

1. Prélèvement des liquides d'épanchement:

On prélève les liquides d'épanchement en respectant scrupuleusement les règles d'asepsie et idéalement avant toute antibiothérapie. Le prélèvement se fait par ponction. On le recueille dans trois flacons stériles dont un contient du citrate de sodium comme anticoagulant. Ce sont des liquides précieux pour lesquels l'analyse est urgente.

- Distinguer un exsudat d'un transsudat :

Les critères utilisés pour cette distinction varient selon les liquides, les plus pertinents sont présentés dans le tableau (1).

Tableau1: Critères pour différencier exsudat de transsudat

	Liquide péricardiques		Liquide articulaire		Liquide pleural		Liquide péritonéal	
	Exsudat	Transsudat	exsudat	transsudat	exsudat	transsudat	exsudat	transsudat
Concentration en protéines dans le liquide	X	X	x	x	>0.5	<0.5	>0.5	<0.5
Concentration en protéines sériques								
Taux d leucocytes dans le liquide	>1000/μl	<1000/μl	>2000/μl	<1000/μl	X	x	x	X

Seuls les exsudats intéressent le laboratoire de microbiologie, les transsudats n'étant pas d'origine infectieuse. (8)

2. Prélèvements histologiques :

La technique de base comporte plusieurs étapes :

- La fixation.
- L'inclusion en paraffine.
- La confection de coupes et leur coloration.

Avant la fixation, il est possible d'effectuer sur le tissu frais des appositions sur lames pour une étude cytopathologique, et des prélèvements pour des techniques particulières :

- la congélation ;
- la fixation adaptée à la microscopie électronique ;
- a mise en culture pour étude cytogénétique, ou en suspension cellulaire pour étude par cytométrie en flux.

En ce qui concerne les pièces opératoires, une étape d'analyse macroscopique est indispensable, avant (idéalement) ou après la fixation de la pièce.

3. Prélèvements cytologiques :

a) Étalement des cellules sur des lames de verre :

L'étalement est fait par le préleveur lors des cytoponctions des tissus, des frottis, écouvillonnage, brossages ou appositions. Ce geste simple doit être bien maîtrisé pour éviter un écrasement des cellules, ou des amas, en plusieurs couches peu interprétables (figure 4).

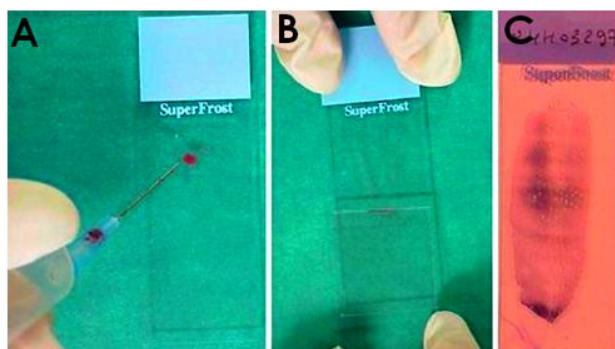


Figure 4 : Ponction cytologique

A : projection du produit de ponction à l'aiguille sur une lame. **B :** la goutte est étalée, tirée à l'aide d'une autre lame. **C :** lame d'un étalement cytologique après coloration.

b) Cytocentrifugation sur lame de verre :

Le liquide (naturel, ou d'épanchement, ou de lavage) est acheminé au laboratoire où il est centrifugé directement sur une lame de verre, sous forme de pastille (figure 5).



Figure 5: Cytocentrifugation d'un liquide d'ascite (9)

À gauche : cytocentrifugeuse, **À droite :** spot de cytocentrifugation sur lame après coloration.

c) Fixation des étalements

Elle se fait soit par simple séchage à l'air pour la coloration de May-Grunwald-Gima (figure 6), Soit par immersion dans l'alcool-éther, ou par application d'un aérosol de laque fixant pour les colorations de Harris-Schorre, ou de Papanicolaou (frottis cervicaux-utérins notamment (figure6)).

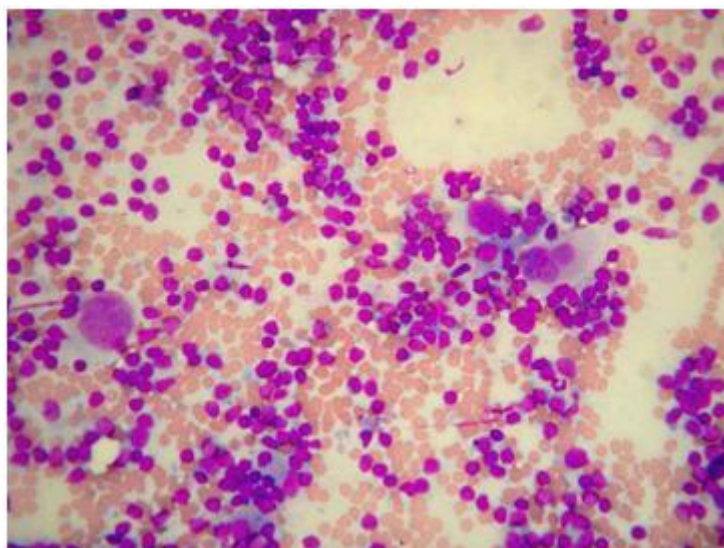


Figure 6 : Produit de cytoponction d'un ganglion lymphatique de lymphome de Hodgkin ; étalement coloré au May-Grünwald-Giemsa.

Afin d'éviter l'altération des cellules par autolyse, la fixation, la cyto centrifugation et la coloration doivent être effectuées rapidement après l'obtention du prélèvement :

- Fixation des frottis cervico-utérins par le vétérinaire préleveur.
- Acheminement rapide d'un liquide à l'état frais au laboratoire.
- Coloration au MGG sans délai excessif de lames séchées à l'air.

Un liquide peut être provisoirement stocké dans un réfrigérateur à +4 °C.

Étalement des cellules en monocouche :

Cette technique moins répandue consiste à recueillir les cellules par ponction (séreuse, organe plein...), ou par frottis (col utérin) et à les transmettre au laboratoire dans un liquide conservateur. Les cellules présentes dans le flacon du fixateur sont ensuite remises en suspension et éventuellement soumises à une dispersion par gradient de densité. Ensuite on effectue un processus de concentration (par filtration et/ou centrifugation).

Enfin, les cellules sont transférées en couche mince sur une lame et sur une pastille de taille déterminée.

L'analyse d'un liquide peut également se faire après fixation et inclusion en paraffine d'un culot de centrifugation, qui est alors effectué de la même façon qu'un prélèvement tissulaire. La technique de prise en charge d'un prélèvement cytologique étant rapide (environ une heure), un résultat urgent peut être donné au vétérinaire prescripteur de l'examen le jour même du prélèvement.

Des colorations spéciales et des réactions immuno-cytochimiques peuvent également être effectuées, à condition de disposer du nombre de lames nécessaires (d'où l'importance des renseignements cliniques fournis à la réception du prélèvement).

Un examen cytopathologique fournit des renseignements souvent partiels, voire sans certitude. Par exemple, les anomalies cytoplasmiques et nucléaires observées dans des cellules cancéreuses, peuvent être difficiles à distinguer de modifications cellulaires induites par des phénomènes inflammatoires ou régénératifs.

En outre, lors de l'étude de cellules isolées, des critères importants du diagnostic d'un cancer tels que l'architecture du tissu néoplasique et ses relations avec le tissu sain ne sont pas analysables. L'examen cytopathologique est le plus souvent un examen de dépistage ou d'orientation diagnostique. Un contrôle par biopsie peut être nécessaire avant toute thérapeutique. (10)

d) Techniques d'étude des tissus

La technique de base comporte plusieurs étapes : La fixation, l'inclusion en paraffine, la confection de coupes et leur coloration.

Avant la fixation, il est possible d'effectuer sur le tissu frais des appositions sur lames pour une étude cytopathologique, et des prélèvements pour des techniques particulières :

- la congélation.
- la fixation adaptée à la microscopie électronique.
- la mise en culture pour étude cytogénétique, ou en suspension cellulaire pour étude par cytométrie en flux. En ce qui concerne les pièces opératoires, une étape d'analyse macroscopique est indispensable, avant (idéalement) ou après la fixation de la pièce.

4. Prélèvements Abdominocentèse –thoracocentèse :

a) Abdominocentèse

❖ Définition

L'Abdominocentèse, ou paracentèse abdominale, est utilisée chez de nombreuses espèces, Elle consiste à prélever du liquide péritonéal lors de soupçon d'atteinte à la cavité abdominale, cette opération se fait avec un instrument pointu : seringue, trocart ..., pour éliminer un excès de liquide ou effectuer un prélèvement pour analyse, pour confirmer la présence d'ascite et l'analyse du liquide prélevé permettra d'infirmer ou de confirmer l'origine pathologie telle que cardiogénique, hépatique, péritonéale...etc.

❖ Technique:

Cette ponction s'effectue en position Décubitus latéral G ou debout, confort possible. Le site de ponction adapté est déterminé et marqué dans la région inférieure gauche de l'abdomen à l'aide d'une échographie. Après désinfection et anesthésie locale, l'aiguille de ponction est insérée dans l'ascite à traverser la paroi abdominale. Lors de la ponction d'ascite à

des fins diagnostiques, une petite quantité de liquide est prélevée avec une seringue afin d'analyser la composition et les bactéries au laboratoire.

b) Thoracocentèse

❖ Définition :

La thoracocentèse est une technique de ponction pleurale qui permet de prélever un échantillon de liquide dans la cavité pleurale à des fins diagnostiques, en vue de déterminer la cause et/ou d'atténuer les signes d'un épanchement pleural, une défaillance respiratoire ou un tableau infectieux par exemple et d'éviter les complications.

❖ Technique :

Si l'état de l'animal le permet, il peut être utile de pratiquer une radiographie dorso ventrale (figure 7) avant la thoracocentèse, elle permettra de visualiser l'épanchement pleural ou le pneumothorax et indiquera quel côté aborder en premier. Le site de ponction est déterminé par radiographie, échographie ou, si aucune de ces techniques n'est disponible, au moyen d'un examen clinique et par percussion.

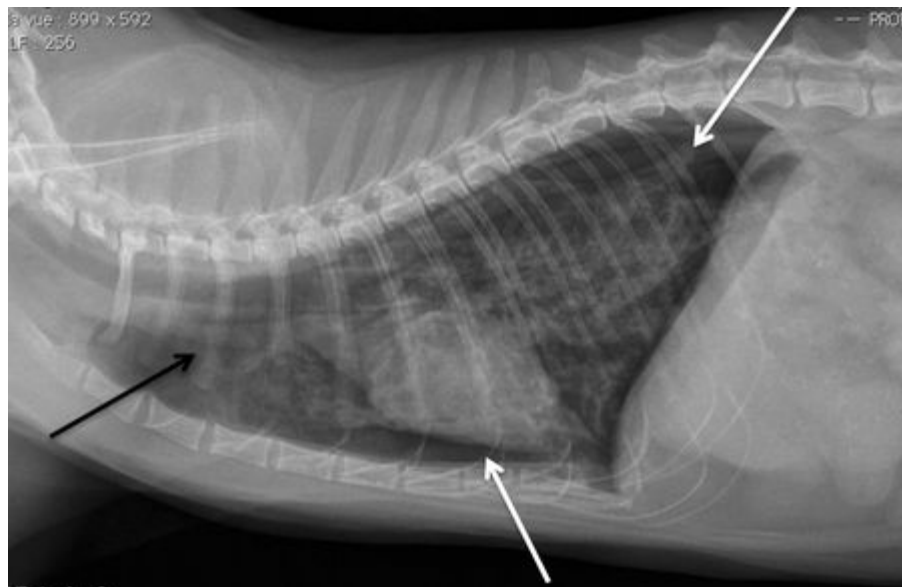


Figure7 : Radiographie du thorax, vue de profil. (11)

Normalement, la position de l'animal à privilégier est le décubitus sternal ou latéral ; elle doit être confortable et limiter un maximum les problèmes de dyspnée en cours d'intervention. Pour préparer la zone avant l'opération, la peau doit être rasée, nettoyée, désinfectée et recouverte de draps chirurgicaux stériles.

Le patient n'est généralement pas mis sous sédation en raison de ses troubles respiratoires. Il est important de s'assurer que l'animal ne bouge pas lors de l'insertion de l'aiguille ou de la ponction de liquide, car cela pourrait endommager certaines structures internes. Le trajet qui relie la peau à la plèvre pariétale est anesthésié avec de la lidocaïne à 2%.

La ponction est généralement effectuée au niveau des articulations chondro-costales entre le 7^{ème} et le 9^{ème} espace intercostal (pour éviter les nerfs et les vaisseaux). La peau est incisée sur une longueur de 1 à 2 cm à l'aide d'un bistouri. L'aiguille ou le cathéter est introduit à la perpendiculaire de la paroi thoracique, en suivant le bord crânial de la côte. Pour recueillir l'air ou le liquide, il convient d'utiliser un robinet à 3 voies, un tube d'extension, une aiguille ou un cathéter de taille adaptée et une seringue (12)

IV. La Fixation et les différents fixateurs

a) Définition

La fixation est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire, elle doit être immédiate ou au moins très rapidement débutée après l'obtention du prélèvement. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible (dessiccation et/ou autolyse du tissu).

Si le laboratoire est situé à proximité immédiate du lieu de prélèvement, celui-ci peut être acheminé rapidement (moins d'une heure) et confié à l'anatomopathologiste qui choisira les conditions de fixation les plus adaptées. Sinon, la fixation doit être effectuée par le médecin préleveur.

Trois précautions doivent être prises :

- ❖ Le volume du fixateur doit représenter environ 10 fois le volume de la pièce.
- ❖ le récipient doit être de taille suffisamment grande pour prévenir les déformations des pièces opératoires volumineuses.
- ❖ Avant fixation, les organes creux (tube digestif, vésicule biliaire, utérus) doivent être ouverts et si nécessaire lavés de leur contenu afin de prévenir l'autolyse des muqueuses, les organes pleins volumineux (foie, rate) doivent être coupés en tranches pour faciliter la pénétration rapide et homogène du fixateur, les poumons peuvent être


fixés par insufflation d'une solution de formol dans les bronches ou coupés en tranches. Seuls les cerveaux de nécropsies seront plongés dans une solution de formol sans être tranchés en raison de la fragilité de la substance cérébrale.

La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement : au minimum 2 à 5 heures pour une biopsie et 48 heures pour une pièce opératoire (13)

b) Les différents fixateurs en anatomie pathologique :

 **Formol:**

Composé organique de la famille des aldéhydes, de formule chimique CH_2O , également appelé méthanal ou formaldéhyde ou aldéhyde formique, il est communément employé pour la conservation des tissus. Le fixateur le plus habituellement utilisé est le **formol à 10 %** tamponné.

 **Fixateurs à base d'alcool :**

Pour les biopsies de petites tailles, qui peuvent être utilisés (fixation encore plus rapide, mais effet délétère sur certains antigènes, ce qui peut nuire à des techniques particulières d'immunohistochimie).

 **Une solution décalcifiante (acide) :**

Utilisé dans les cas particuliers des tissus calcifiés tel que les prélèvements calcifiés (os, certaines tumeurs) doivent être sciés, puis fixés, puis plongés dans avant d'être inclus dans la paraffine, ce qui rallonge la durée de la technique. (5)

V. **Etude macroscopique et microscopiques des liquides pathologiques :**

1. **Description macroscopique des organes**

a) Principe

Cette étape est fondamentale dans l'analyse histologique puisque la lecture et l'interprétation microscopique des lames en dépendent.

Elle permet souvent d'orienter le diagnostic et la qualité de la réalisation de cette étape, qui permet le bon déroulement de la de l'analyse.

L'analyse macroscopique est une observation soignée, à l'œil nu, des altérations des tissus. Elle permet de vérifier les indications données par le clinicien et de décrire la ou les

lésions observées. Cet examen nécessite une bonne connaissance de l'anatomie et une mise en relation avec les données transmises par le clinicien.

La recoupe consiste à faire un échantillonnage des lésions de telle sorte que les coupes des tissus qui sont observées au microscope soient représentatives des lésions.

Ainsi, la technique de recoupe doit assurer la conservation des règles de qualité de fixation, de traçabilité, et la qualité de réalisation des échantillons. Il est important de noter que « recoupe » est un terme purement vétérinaire.

En médecine humaine, la terminologie est différente, on parle de « macroscopie » et de « section ».

b) Déroulement pratique

Identification du prélèvement : importance de la traçabilité. En premier lieu, l'identification du prélèvement ainsi que la feuille de commémoratifs permettent de vérifier la **conformité** du prélèvement aux règles techniques et aux informations transmises sur la fiche d'analyse. Les renseignements fournis par le clinicien demandeur sont :

- ✓ La date du prélèvement.
- ✓ L'identité du vétérinaire qui adresse le prélèvement.
- ✓ L'identité de l'animal (nom, espèce, race, âge, élevage si nécessaire, ses autres références éventuelles (n° de dossier clinique)).
- ✓ Le motif de consultation et les raisons de l'intervention.
- ✓ Les signes cliniques, les traitements administrés, les éventuels antécédents s'il est pertinent de les mentionner.
- ✓ Le lieu de prélèvement, l'aspect macroscopique de la lésion, les hypothèses diagnostiques.

Ces informations sont complétées par les données spécifiques de l'enregistrement du prélèvement au laboratoire.

Elles permettent, non seulement de veiller à une bonne **traçabilité** des prélèvements mais également de mettre en relation la clinique avec les analyses de laboratoire. Le document de travail est la feuille de recoupe.

Après cette vérification, les cassettes utilisées pour mettre les prélèvements recoupés, sont préparées et identifiées. Pour ce faire, on utilise pour le marquage, soit un marqueur spécifique soit un crayon à papier, afin de résister aux solvants. Sur la face de la cassette est noté un numéro d'identification.

c) Technique de la macroscopie

 **Matériel :**

La macroscopie doit être réalisée sous une hotte en fonctionnement ou sur une table aspirante performantes, qui permettent d'aspirer les vapeurs de formol. Les manipulations s'effectuent avec des gants. Peu d'instruments sont utilisés : un bistouri et quelques pinces, éventuellement un couteau pour les grosses pièces et une scie pour les prélèvements ossifiés. Les sections se font sur une planchette en liège. Les échantillons sont placés dans des cassettes dont les principaux types sont présentés sur le schéma ci-dessous. Il existe 2 types de cassettes couramment utilisés selon leur épaisseur. Il y a d'une part les cassettes d'1 cm d'épaisseur qui sont utilisées essentiellement pour les yeux et le système nerveux central, mais elles présentent l'inconvénient d'engendrer une fixation de moindre qualité.

D'autre part, on trouve des cassettes de 0,5 cm d'épaisseur. Celles-ci sont disponibles dans différentes couleurs et peuvent être utilisées pour distinguer divers types de prélèvements. Certaines sont munies d'un couvercle en plastique, d'autres doivent être fermées par un grille métallique. (figure 8)

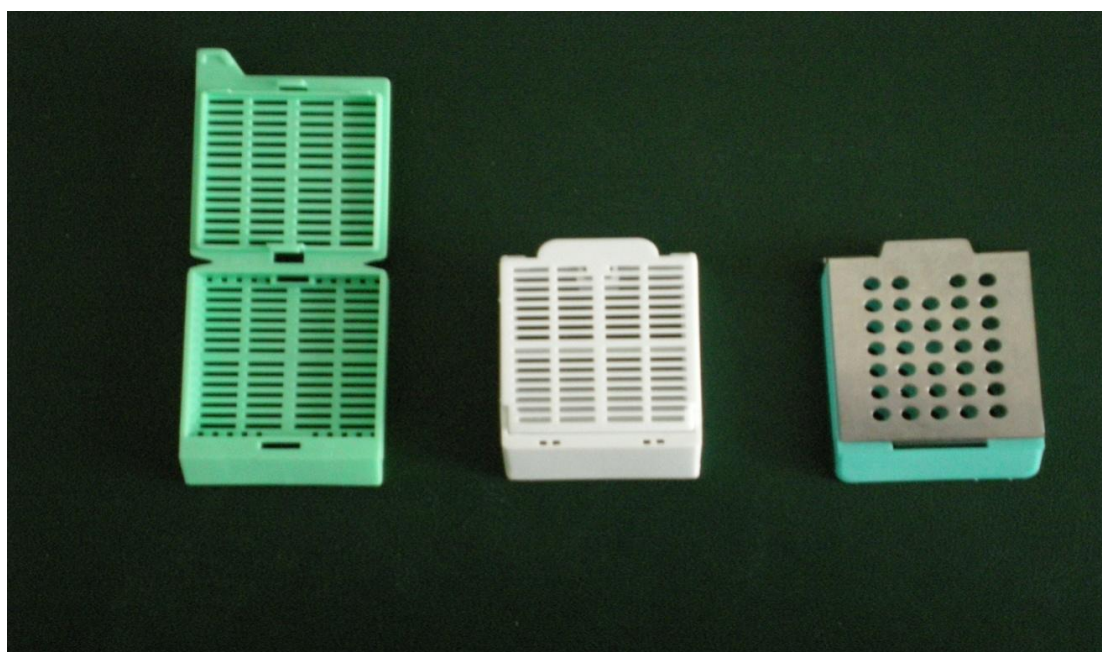


Figure 8 : De gauche à droite, cassette de 0,5 cm, de 1 cm, de 0,5 cm avec grille.

(14)

d) Encrage des marges:

L'encrage permet d'identifier, avant recoupe, les marges des lésions prolifératives. Cette technique est systématiquement réalisée en pathologie humaine pour les suspicions de tumeurs ; en revanche elle est peu utilisée en pathologie vétérinaire du fait de son coût en main d'œuvre. Elle est tout de même employée à l'école vétérinaire d'Alfort.

L'encrage des marges consiste à badigeonner le prélèvement à l'aide d'un pinceau imbibé d'encre de chine ou de pâte à tatouage, excepté au niveau des marges naturelles (par exemple la peau), puis le tremper quelques secondes dans de l'alcool pur qui a un effet déshydratant. L'encre adhère aux tissus mous mais pas aux tissus calcifiés. La recoupe peut s'effectuer tout de suite. L'encrage est réalisé pour toute lésion proliférative qui est recoupée (pas d'encrage si la pièce est incluse en totalité dans la cassette⁽¹⁴⁾).

Méthode :

Le repérage macroscopique est une étape essentielle et conditionne la suite de l'analyse histologique. Il convient d'observer :

- Le type d'organe, de l'orienter, de repérer les lésions,
- Le type d'atteinte : lésion focale, multifocale, diffuse,
- La lésion en elle-même : taille, hypertrophie/atrophie de l'organe en cas de lésions diffuses, délimitations, marges, couleur, aspect, structure, consistance.

Le nombre de coupes et les plans de coupe dépendent en effet de la taille du prélèvement, de sa nature, du type de lésion observée, des observations macroscopiques. La recoupe revient à faire un échantillonnage de la lésion, et, comme tout échantillon, il se doit d'être représentatif, d'où la difficulté de cette étape.

La taille et la forme du prélèvement conditionnent la recoupe ; c'est pourquoi le prélèvement est attentivement observé et mesuré. Il faut, en effet, que les prélèvements tiennent dans une cassette. Les petits prélèvements qui ne peuvent pas être recoupés, tels que les biopsies à l'aiguille ou au true-cut, sont inclus en totalité.

Si le prélèvement est très fin ou plat (nerf), une grille ou une mousse est rajoutée à la cassette pour éviter de perdre le prélèvement à travers les trous de la cassette et mieux le visualiser lors de l'enrobage.

Dans le cas d'un prélèvement plus gros, il y a au moins une recoupe, et plusieurs cassettes sont souvent nécessaires. Les fragments de prélèvements restant sont stockés et

constituent les « réserves humides ». Ils peuvent éventuellement servir si une difficulté technique au diagnostic nécessite de préparer de nouveaux blocs. Les sections doivent être fines et précises, à la limite de la lésion avec le tissu sain. Elles doivent également tenir compte des marqueurs, s'il y en a, qui orientent la lésion.

Par exemple, si la marge crâniale de la lésion a été repérée par le préleveur (par exemple une aiguille ou un fil de suture), une des sections doit passer par cette marge et les autres sections peuvent être orientées.

e) Cas particuliers

❖ **Fixation longue durée:**

Les gros prélèvements nécessitent une durée de fixation de plus de 24 heures. Cette durée est proportionnelle à la taille et au volume du prélèvement. Par exemple, un encéphale doit être fixé pendant une semaine environ. Le formol est renouvelé pendant la durée de fixation.

Les flacons sont alors placés dans une balancelle le temps nécessaire et la recoupe est différée.

❖ **Décalcification**

Dans le cas de prélèvements de tissus osseux ou lors de masse calcifiée, une décalcification est nécessaire pour effectuer des coupes de qualité. Pour cela, les agents décalcifiants les plus utilisés sont les acides anorganiques comme l'acide nitrique ou organiques comme l'acide formique mais on peut également utiliser d'autres molécules comme l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique).

La taille du matériel à décalcifier et la densité de sa structure influencent le temps de décalcification.

❖ **Protocoles particuliers**

Certains protocoles sont très spécifiques et doivent être appliqués avec précision. C'est le cas pour l'œil ou le système nerveux central. De même, certains prélèvements d'autopsie obéissent à un protocole particulier lorsqu'ils entrent dans un cadre expérimental.

f) Inclusion

Cette étape permet d'imprégner les tissus par un matériau inerte qui durcit pour obtenir des blocs homogènes, renfermant des organes ou fragments d'organes. La machine utilisée est

un automate à inclusion. Il en existe de différents types mais tous suivent la même démarche : renforcement de la fixation, déshydratation, solvant, imprégnation.

L'automate de l'ENVA est un appareil autorisant l'emploi de 14 solutions différentes sur 24 heures. La fixation est renforcée à l'aide de 2 bains de formol à 4%. Puis les cassettes sont immergées dans des solvants alcooliques. Cela permet d'effectuer une déshydratation. Plusieurs solvants peuvent être employés : éthanol, butanol. Dans la plupart des cas, sont utilisés 5 bains d'éthanol successifs, le premier à 70°, le deuxième à 95° puis trois à 100°. Les cassettes sont ensuite plongées dans des bains contenant du xylène ou du toluène.

L'objectif est de remplacer l'alcool contenu dans les organes par un agent miscible à la paraffine et de rendre les organes plus transparents. Les deux composés cités précédemment sont miscibles à la fois au déshydratant et à l'agent d'inclusion, on parle d'agents «éclaircissants».

Trois solutions de toluène successives sont utilisées à l'école dans l'automate à inclusion. La dernière partie du processus est l'inclusion en paraffine qui permet d'imprégner les tissus. Cette étape se fait à chaud, environ 56°C, étant donnée la température de fusion de la paraffine et compte plusieurs bains. Le temps de séjour dans la paraffine peut évoluer suivant les prélèvements. Le (figure 09) résume l'ensemble des étapes :

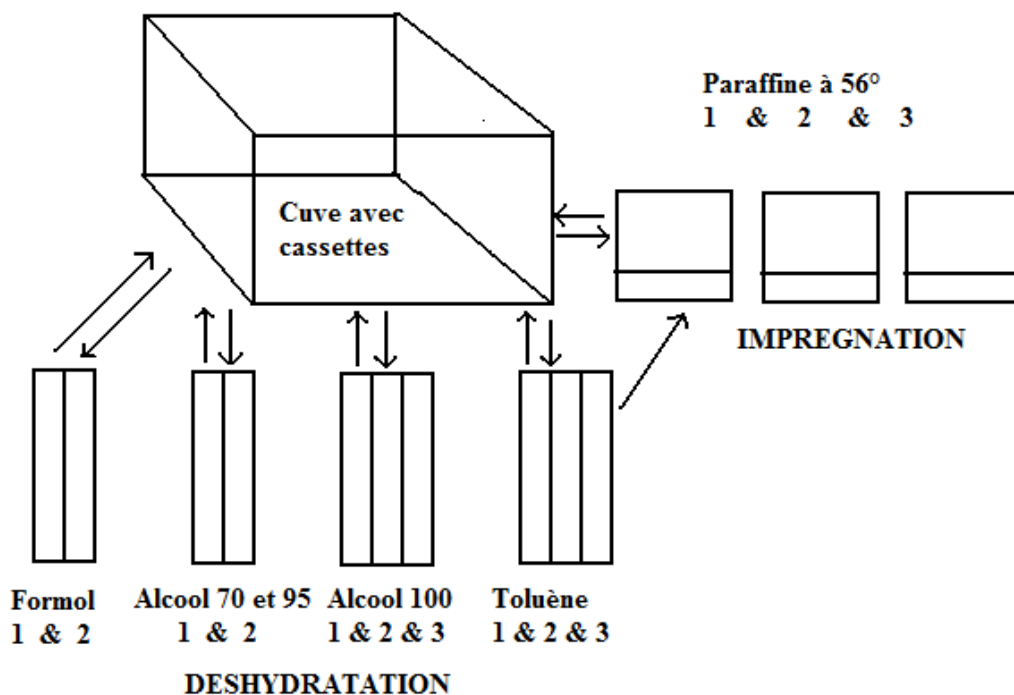


Figure 09 : Mécanisme global d'un automate à inclusion

g) Enrobage

Cette opération est réalisée au moyen d'un appareil d'enrobage et a pour but d'orienter comme il le faut les organes dans un bloc de paraffine refroidi. Pour ce faire, chaque échantillon est placé à l'aide d'une pince dans un moule en acier inoxydable de taille adaptée et préalablement rempli à moitié de paraffine liquide. L'ensemble est refroidi afin de fixer le prélèvement suivant l'orientation choisie puis le moule est totalement rempli de paraffine en recouvrant l'échantillon. La cassette qui contenait le prélèvement est fixée à l'ensemble ; son numéro permet de garantir sa traçabilité. Le tout est refroidi de nouveau sur une plaque à -5°C , puis le bloc froid est démoulé.

Un bloc de tissu très homogène en consistance et élasticité est ainsi obtenu : ce caractère est d'une grande importance pour la confection des coupes.

h) Coupes et coloration

Les coupes sont réalisées à l'aide d'un **microtome** avec réglage de l'épaisseur. Elles doivent être assez fines, généralement 3 à 5 μm . Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser les prélèvements et d'éviter les superpositions tissulaires. Cette étape étant manuelle, elle nécessite une grande habileté et une grande précision, on obtient ainsi un ruban de coupes.



Figure10 : microtome semi automatique.(19)



Figure11 : La coupe au microtome du bloc histologique : confection des lames histologiques. **(15)**

Les coupes sont ensuite dépliées à la surface d'un bain marie tiède et recueillies sur une lame de verre où se trouve de la colle. Vient ensuite l'étape de la **coloration**. Le fait de colorer les coupes permet de mettre en évidence les structures tissulaires et cellulaires. Les colorations utilisées dépendent du type d'analyse, du type d'organe, de ce qui est recherché. La coloration standard la plus utilisée est la coloration **HES** (Hématoxyline, Eosine, Safran). Le but de cette coloration tri-chromique est d'associer un colorant nucléaire, un colorant cytoplasmique et un colorant du tissu conjonctif. Il existe de nombreuses autres techniques de coloration plus ou moins spécifiques (MGG, Ziehl...). Quand cette étape est terminée, on peut procéder au montage.

Les coupes colorées, qui sont déshydratées, et montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique ; elles peuvent être observées en microscopie.

2. Etude macroscopique :

Il faut noter sa couleur, sa limpidité et sa viscosité. L'aspect macroscopique peut aider à distinguer un exsudat d'un transsudat mais, à lui seul, ce critère n'est pas suffisamment performant. Cependant l'examen macroscopique peut être utile à l'orientation diagnostique. Ainsi :

- un liquide articulaire ou péricardique trouble est presque toujours un exsudat

- un liquide pleural ou péritonéal trouble peut être un transsudat

- si un exsudat (confirmé par des paramètres cellulaires et/ou biochimique) est clair, il faut penser à une infection tuberculeuse ou une infection virale.

3. Etude microscopique :

- **Dénombrement des hématies et des leucocytes en hématimètre**

Comme indiqué précédemment, lorsqu'il s'agit de liquide articulaire ou péricardique, le taux de leucocytes est un bon critère pour différencier transsudat et exsudat (<1000 leucocytes/ μ L pour un transsudat). En outre, il permet de poser le diagnostic d'infection bactérienne. En effet, dans ce cas, le taux de leucocytes dans le liquide d'épanchement est très élevé (8). Voici quelques chiffres pour l'illustrer :

- 80 % des arthrites bactériennes présentent plus de 20 000 leucocytes/ μ L.
- 95% des pleurésies bactériennes présentent plus de 10 000 leucocytes/ μ L.
- 80% des péricardites présentent plus de 5 000 leucocytes/ μ L.

- **Préparation des lames**

On prépare les lames par cyto centrifugation ou en réalisant des frottis à partir d'un culot de centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Elles sont colorées au MGG, au Gram et éventuellement à l'auramine (si liquide clair et lymphocytaire).

- Formule leucocytaire sur frottis coloré au MGG

On l'effectue lorsque la concentration en leucocytes est supérieure à 1000/ μ L. L'examen des résultats obtenus est susceptible d'influencer sensiblement la suite de l'analyse. Parmi ces résultats, trois types de formules cytologiques sont particulièrement évocateurs.

a. Prédominance de granulocytes neutrophiles

C'est le cas pour la majeure partie des épanchements inflammatoires, qu'ils soient d'origine infectieuse ou pas. La présence de granulocytes neutrophiles altérés oriente vers une infection bactérienne. (8)

b. Prédominance de lymphocytes

Elle est beaucoup plus fréquente dans un liquide clair que dans un liquide purulent. Une telle formule doit faire penser à une infection tuberculeuse ou virale. Dans ce cas, il faut faire une coloration à l'auramine après cyto centrifugation, puis ensemer des milieux adaptés aux mycobactéries.

c. Granulocytes éosinophiles > 10%

Pour un liquide articulaire, on peut envisager une arthrite parasitaire (filariose). Pour un liquide pleural, les principales causes sont un hémithorax ou un pneumothorax.

❖ Examen direct après coloration de Gram

En règle générale, l'examen direct est positif lors de pleurésies bactériennes et dans 50 à 75% des cas d'arthrites infectieuses. En revanche, il est positif seulement dans 10% des cas d'infection du liquide d'ascite. L'observation de bactéries est d'un intérêt primordial pour orienter le diagnostic. En effet, les infections des séreuses sont presque toujours mono-microbiennes (mises à part les péritonites et certaines pleurésies).

❖ Cas particuliers des liquides articulaires :

Le diagnostic des arthrites microcristallines se fait par l'observation d'un frottis coloré au MGG en lumière polarisée, éventuellement complétée par un état frais.

Les cristaux d'urate de sodium : Ils sont présents lors de la crise de goutte

- En forme d'aiguilles fines.
- En moyenne de 10 à 20 μm .
- Très réfringents. (8)

Urate de sodium

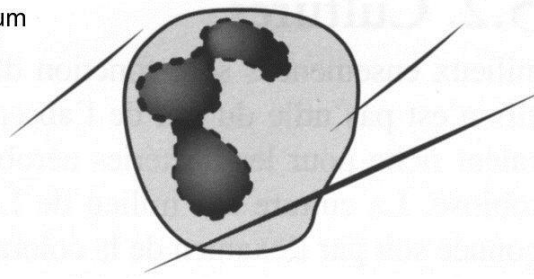


Figure12: Les cristaux d'urate de sodium.

Ils sont présents lors de chondrocalcinose calcique :

- En forme de parallélépipède, de rectangle, de carré et de losange à bouts arrondis
- En moyenne de 5 à 10 μm
- Intra ou extra cellulaires
- Non ou très peu réfringents

Pyrophosphate
de calcium

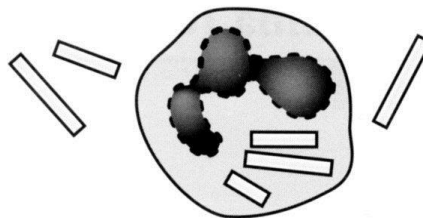


Figure13 :Les cristaux de pyrosphate de calcium.

Ils peuvent être observés au cours de la polyarthrite rhumatoïde :

- en forme de rectangle
- en moyenne 10 à 20 μm

Cholestérol

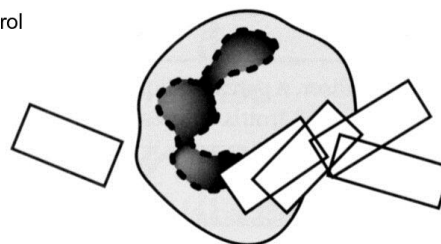


Figure14:Les cristaux de cholestérol.

Mise en culture :

On réalise des isolements sur les milieux suivants :

- gélose chocolat enrichie incubée en atmosphère enrichie en CO₂ ;
- gélose au sang incubée en aérobiose
- gélose au sang incubée en anaérobiose

Lors de prélèvement mono-microbien, l'ensemencement de milieux sélectifs ne se justifie pas. À l'inverse, lors de prélèvement pluri-microbien, il faut ensemencer en supplément des milieux d'isolement sélectifs.

On ensemence ces milieux par étalement de 3 à 4 gouttes du liquide d'épanchement sur la moitié de la boîte. Le reste de la boîte est ensuite ensemencé par épuisement. L'ensemencement peut être moins abondant si l'examen direct montre que le liquide est riche en germes.

Il est recommandé d'ensemencer systématiquement, avec le liquide d'épanchement, des flacons d'hémocultures afin d'améliorer la sensibilité des cultures, notamment lorsque le sujet est sous traitement antibiotique avant la ponction. En l'absence de flacon d'hémoculture, il faut ensemencer un bouillon Schaedler + vitamine K3 ou un milieu de Rosenow.

Enfin si le liquide est clair et lymphocytaire, il faut ensemencer des milieux convenant aux mycobactéries. Ces milieux seront incubés à 35°C pendant un minimum de 7 jours. Notons que, pour gagner du temps, on peut tenter de réaliser l'antibiogramme, le premier jour de l'analyse, directement à partir du liquide d'épanchement. (16)

CONCLUSION

Suite à notre recherche bibliographique sur l'anatomie pathologie, nous avons constaté qu'il s'agit d'une série d'étapes complexes qui doivent être enchaînées avec rigueur et précision. Le temps entre l'arrivée du prélèvement et sa préparation peut être une raison majeure de la détérioration des échantillons, soit en restant trop longtemps sans traitement, soit par un mauvais traitement de ces échantillons ; ce qui les rend illisibles par les anapathologistes surtout sous le microscope.

L'anatomie pathologie joue un rôle majeur pour un diagnostic rapide et précis des maladies soit par la biopsie, en particulier les carcinomes et les tumeurs. Soit par la cytoponction des kystes et des nodules et des ganglions lymphatiques ou par la nécropsie pour révéler la cause de mortalité de l'animal. Tout cela se fait grâce à différentes techniques, telles que les méthodes histologiques ou cytologiques. Qui servent selon le type d'échantillon.

Références bibliographiques :

1. RE Nakhleh Affiliation. *Necessity of clinical information in surgical pathology*. Detroit, MI, USA : Departments of Pathology, Henry Ford Hospital, 1999.
2. Gabe, M. *Techniques histologiques*. Paris : Masson, 1968.
3. l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. *vet-alfort.fr*. [En ligne] 2005. [Citation : 03 07 2021.] <http://www.vet-alfort.fr>.
4. Aiguille de biopsie histologique ULTIMATE. *medicalexpofr*. [En ligne] 2014. [Citation : 25 08 2021.] <https://www.medicalexpofr/prod/zamar-biopsy/product-105232-690264.html>.
5. Collège Français des Pathologistes (CoPath). Moyens et objectifs de l'anatomie. *campus.cerimes.fr*. [En ligne] 2011. [Citation : 29 08 2021.] http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_1/site/html/cours.pdf.
6. Biopsie à l'aiguille fine. *fr.Wikipedia.org*. [En ligne] 07 01 2021. [Citation : 01 09 2021.] https://fr.wikipedia.org/wiki/Biopsie_%C3%A0_l%E2%80%99aiguille_fine#cite_note-1.
7. Comment réaliser une cytoponction a laiguille fine un carottage a laiguille des calques par impression un cytobrossage. *Lapvso.com*. [En ligne] 2015. [Citation : 02 08 2021.] <https://www.lapvso.com/comment-realiser-une-cytoponction-a-laiguille-fine-un-carottage-a-laiguille-des-calques-par-impression-un-cytobrossage/>.
8. Analyse bacteriologique liquides epanchement. *microbiologiemedicale.f*. [En ligne] 2016. [Citation : 15 07 2021.] <https://microbiologiemedicale.fr/analyse-bacteriologique-liquides-epanchement/>.
9. Research facilities and equipment. *sahmriresearch.org*. [En ligne] 2015. [Citation : 27 08 2021.] <https://www.sahmriresearch.org/our-research/research-facilities-and-equipment/general-equipment/cyocentrifuge>.
10. Anatomie-pathologique. *campus.cerimes.fr*. [En ligne] 2017. [Citation : 01 09 2021.] http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_1/site/html/2_2.html.
11. Pneumothorax pneumomediastins spontanés chat. *chvcordeliers.com*. [En ligne] 2019. [Citation : 20 09 2021.] <https://www.chvcordeliers.com/pneumothorax-pneumomediastins-spontanes-chat/>.
12. Technique ponction pleurale et les indications de la thoracocentese. *vets and clinics*. [En ligne] 2014. [Citation : 20 09 2021.] <https://www.affinity-petcare.com/vetsandclinics/fr/technique-ponction-pleurale-et-les-indications-de-la-thoracocentese#:~:text=La%20thoracocent%C3%A8se%20est%20une%20technique,par%20exemple%20%E2%80%93%20et%20d'%C3%A9viter>.
13. Moyens et objectifs de l'anatomie. <http://campus.cerimes.fr/>. [En ligne] 2011. [Citation : 20 08 2021.] http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_1/site/html/cours.pdf.

14. **CHEVET, Valérie.** L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT - Thèses. *theses.vet-alfort.fr*. [En ligne] 2009. [Citation : 20 08 2021.] <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1281>.
15. La-coupe-au-microtome-du-bloc-histologique-confection-des-lames-histologiques. *apvso.com*. [En ligne] 2013. apvso.com/5-la-coupe-au-microtome-du-bloc-histologique-confection-des-lames-histologiques/.
16. Gélose chocolat enrichie. *microbiologiemedicale.fr*. [En ligne] 2016. [Citation : 01 09 2021.] <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-chocolat-enrichie/>.
17. Microbiologiemedicale. [En ligne] 2020. <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-chocolat-enrichie/>.
18. Medecine sorbonne universite ,L'anatomie pathologique. *medecine sorbonne universite*. [En ligne] 2007. [Citation : 13 07 2021.] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/anapath/Cours/POLY.Chp.1.html>.
19. Microtome semi automatique www.indiamart.com