

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE - ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

LE DIAGNOSTIC EN PATHOLOGIE AVIAIRE

Présenté par :

M^{elle} : REGGUEM HIBA

M^{elle} : ZAROUR WASSILA

Soutenu le : 16/06/2007

Le jury :

-Président : M^{elle} BENMAHDI M (Maître de conférence charge de cours)

-Examineurs : Melle AIN BAAZIZ H (Maître de conférence charge de cours)

M^r GOUCEM R (Maître assistant charge de cours).

Promoteur : Mr REGGUEM B (Maître assistant charge de cours).

Année universitaire : 2006/2007

Remerciements

Nous remercions dieu de nous avoir aidé à accomplir cette tâche avec un grand courage et une grande patience.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Mr REGGUEM B pour nous avoir guidées lors de la préparation et l'accomplissement de notre travail, ainsi que pour ses précieux conseils.

Nos remerciements vont aussi à :

- M^{elle} BENMAHDI qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury.
- M^{elle} AIN BAZIZ pour avoir bien voulu examiner notre travail.
- Mr GOUCEM pour avoir eu l'amabilité d'accepter de juger ce travail.

Nous tenons également à remercier :

- M^{me} BENFENATKI Nacéra.
- M^{me} BEDJELLOUT.
- Mr REGGUEM Djamel.
- Tout le personnel de l'ENV.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- A mon adorable père, qui m'a toujours aidé, soutenu et conseillé dans les moments les plus difficiles.
- A ma très chère mère, pour tout ce qu'elle a fait pour mon bien et mon bonheur.
- A mes très chers grands-parents.
- A ma chère sœur : HANANE.
- A mon cher frère : HANI.
- Aux jumeaux : SABRINA et WASSIM.
- A AMINE ainsi que l'adorable YASMINE.
- A mes respectueux oncles.
- A mon oncle DJAMEL, pour sa générosité et à sa disponibilité à tout moment.
- A mes chères tantes.
- A mes chers cousins et cousines.
- A WASSILA ainsi que toute sa famille.
- A mes amies : SAMIA, RABIA et WAHIBA.
- A tous mes amis (es) de l'ENV.

HIBA

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- A mes parents surtout ma très chère mère pour son aide moral qu'elle a su me procurer, sa patience, sa générosité ainsi que sa disponibilité.

Que dieu la garde pour nous.

-A mes chères sœurs : KARIMA, NABILA, FAHIMA et NESRINE.

- A mes beaux frères : NAIM & HAMOUDI.

-A LYES & ZINE.

- A ma chère nièce IMENE et neveu YANIS.

- A mes chères tantes FATIHA et CHAHIRA.

-A mes oncles : BOULAID et AZIZ.

-A mes copines : LEYLA, HASSIBA, RIMA et SABRINA.

-A tous mes amis (es) de l'ENV.

-A HIBA ainsi que toute sa famille.

WASSILA

LISTE DES ABREVIATIONS

% :	Pourcentage
μL :	microlitre
EDTA :	acide éthylène-diamine-tétraacétique
ELISA :	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
Ex :	Exemple
FC :	Fixation du complément
GR :	Globule rouge
GRM :	Globule rouge du mouton
HA :	hema-agglutination
HIT :	Test d'inhibition de l'hémagglutination
IC :	Indice de consommation
IF :	Immunofluorescence
L :	Litre
Min :	Minute
ml :	Millilitre
MRC :	Maladie respiratoire chronique
Ng :	Nano Gramme
SN :	Sero-neutralisation
t :	Tour
UV :	Ultraviolets

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Disposition du cadavre.....	16
Figure 2: Coupure des commissures.....	17
Figure 3: Examen de la cavité buccale et l'oropharynx.....	17
Figure 4: Dépouillement du cadavre.....	18
Figure 5: Ouverture du cadavre et éviscération.....	19
Figure 6: Examen des sacs aériens.....	19
Figure 7: Examen de la cavité thoraco-abdominale.....	20
Figure 8: Examen du tube digestif.....	21
Figure 9: Examen du proventricule et du gésier.....	21
Figure 10: Examen du jéjunum, iléon, rectum, caecum.....	22
Figure 11: Examen du foie et de la vésicule biliaire.....	22
Figure 12: Examen du pancréas.....	23
Figure 13: Examen de la trachée.....	23
Figure 14: Examen des poumons.....	24
Figure 15: Examen des sacs aériens.....	24
Figure 16: Examen de l'appareil uro-génital femelle.....	25
Figure 17: Examen de l'appareil uro-génital male.....	26
Figure 18: Examen des reins et des surrénales.....	26
Figure 19: Examen de la rate.....	27
Figure 20: Examen de la bourse de Fabricius.....	27
Figure 21: Examen du thymus.....	28
Figure22 : Prélèvement du nerf sciatique.....	28
Figure 23: Prélèvement de l'encéphale.....	29
Figure 24: Examen des pattes.....	29
Figure 25: Examen de l'articulation.....	30
Figure 26: Sacs hermétique.....	40
Figure 27: Le ME de la station de pathologie aviaire de Ploufragan.....	45
Figure 28: Virus de la maladie de Marek vu au microscope électronique.....	45
Figure 29: Préparation des coupes au microtome.....	46
Figure 30: Coloration de la préparation.....	46
Figure 31: Conservation des lames.....	46

Figure 32: Inoculation sur la membrane chorio-allantoidienne.....	47
Figure 33: Inoculation sur culture cellulaire.....	47
Figure 34: Des colonies de salmonelles.....	48
Figure 35: Technique de l'immunofluorescence.....	49
Figure 36: Hema agglutination rapide sur lame.....	50
Figure 37: Test d'inhibition de l'hemagglutination.....	52
Figure 38: Bâtiment d'élevage vue externe.....	55
Figure 39: Lieu de stockage de l'aliment.....	55
Figure 40: L'intérieur du bâtiment d'élevage.....	55
Figure 41: Poules pondeuses en batterie.....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Tableau récapitulatif.....	13
Tableau 2: Tableau comparatif.....	14
Tableau 3: Tableau récapitulatif.....	33
Tableau 4: Tableau comparatif.....	35
Tableau 5: Les prélèvements en virologie.....	42
Tableau 6: Les prélèvements en bactériologie.....	43
Tableau 7: Les prélèvements en mycologie.....	43
Tableau 8: Les prélèvements en parasitologie.....	44
Tableau 9: Les prélèvements pour les maladies nutritionnelles.....	44

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : NOTIONS GENERALES EN PATHOLOGIE AVIAIRE

1-Définition de la pathologie aviaire	4
2-Notion de spécificité dans la pathologie aviaire.....	4
3-Notion d'interdépendance dans la pathologie aviaire	4
4-La classification et causes prédisposantes des pathologies aviaires.....	5

CHAPITRE II : LA CLINIQUE EN PATHOLOGIE AVIAIRE

1.Définition de la clinique.....	7
2-Exemples considérés.....	7
2.1. Cas de Newcastle.....	7
2.2. Cas de Marek	8.
2.3. Encéphalomyélite.....	8
2.4. Maladie de Gumboro.....	9
2.5. Bronchite infectieuse.....	10
2.6. Laryngotracheite infectieuse.....	10
2.7. Coccidiose.....	11
2.8. Pasteurellose.....	12
2-9-Mycoplasmosose.....	12
2-10-Salmonellose.....	12
2 -11-Colibacillose.....	12
2-12-Ascaridiose.....	12
3-La problématique.....	15
4-Conclusion 1.....	15

CHAPITRE III : LA NECROPSIE EN PATHOLOGIE AVIAIRE

1. Définition.....	16
2. La technique d'autopsie	16
2.1. Préparation	16
2.2. Exploration de l'oropharynx	17
2.3. Dépouillement du cadavre.....	18

2.4. Ouverture du cadavre et éviscération	19
3. Etude anatomopathologique spécifique	30
3.1. Bronchite infectieuse	30
2.2- Newcastle	30
3.3. Maladie de Marek.....	31
3.4. Gumboro	31
3.5. Laryngotracheite infectieuse	31
3.6. La pasteurellose	31
3.7. La tuberculose	32
3.8. Mycoplasmoses	32
3.9. Aspergillose	32
3.10. Salmonellose.....	32
3.11. Leucose.....	32
4-Problématique	36
5-Conclusion.....	36

CHAPITRE IV : LE LABORATOIRE EN PATHOLOGIE AVIAIRE

1.Définition	37
2.Prélèvement d'échantillon pour le laboratoire	37
2.1. Les précautions à prendre lors du prélèvement	37
2.2. La qualité du prélèvement.....	38
2.2.1. Conservation.....	38
2.2.2. Emballage.....	39
2.3. Le document accompagnant le prélèvement.....	40
3-Que faut il envoyer au laboratoire	42
3.1. Pour les maladies virales	42
3.2. Pour les maladies bactériennes.....	43
3.3. Pour les maladies mycologiques	43
3.4. Pour les maladies parasitaires	44
3.5. Pour les maladies nutritionnelles	44
4. Les techniques du laboratoire.....	45
4.1. Les techniques qualitatives	45
4.1.1. Visualisation directe	45

4.1.2. Isolement et culture	47
4.1.3. L'immunologie qualitative	48
4.2. Les techniques quantitatives.....	51
4.2.1. Parasitologie.....	51
4.2.1.1. La sédimentation	51
4.2.1.2. La flottaison	51
4.2.2. Histopathologie	51
4.2.3. L'immunologie quantitative.....	52
4.2.3.1. La sero-neutralisation	52
4.2.3.2. Le test d'inhibition de l'hémagglutination	52
4.2.3.3. Le test d'agglutination	53
4.2.3.4. Test ELISA.....	53
4.2.4. Le dosage biochimique	54
4.2.4.1. Dosage du glucose	54

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.

CHAPITRE V : MATERIELS ET METHODES

1-Materiels.....	56
2-technique du prélèvement	56
3-le protocole du test d'inhibition de l'hémagglutination.....	59

CHAPITRE VI : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

1-Le premier cas	60
2-le deuxième cas.....	61
3-Troisième cas	62

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

INTRODUCTION

Dans les années 74 à 80, le souci majeur de nos responsables du ministère de l'agriculture gravitait au tour de deux axes essentiels :

-Le premier est celui de préserver un cheptel ovin longtemps considéré comme patrimoine hors paire par sa race, son rendement à l'abattage et la qualité de sa viande tant appréciée par l'Europe toute entière.

-Le second souci préoccupant est celui de répondre aux besoins protéiques d'une jeune génération résultant d'une démographie galopante qui exhibe des besoins de plus en plus pressants.

L'édifice socio-politico-economique s'articule autour de la régulation par le développement de l'activité avicole à grande échelle traduisant ainsi :

- Le reproducteur chair : pour un effectif national d'environ 2,1 millions sujets/an.
- Poule pondeuse : pour un effectif national d'environ : 14 544 000 sujets /an.
- Poulet de chair : 160 millions environ de sujet/an.
- Poulette démarrée : 15 millions de sujet/an.

Cette activité avicole, tout produit confondu, se solde malheureusement par des productions à coût très élevé.

Les coûts élevés émanent des charges alimentaires qui représentent 70% de la totalité des charges de production.

Dans les charges de production résident les charges de prestation vétérinaire et leur impact sur le coût de production, parmi celles-ci :

- ✓ Le manque à gagner dû aux mortalités hors norme de cheptel, ou au manque à produire pour des raisons de mauvaises qualités de production (taux d'éclosion).
 - ✓ Le manque à gagner dû aux erreurs d'investigations en matière de diagnostic à l'origine de consommation excessive de médicaments souvent sans effet ,à titre d'exemple rappelons que les groupes avicoles (centre est-ouest) consomment en moyenne près de 7 milliards de centimes de charges médicamenteuses par groupe et par année fiscale.
 - ✓ L'antibiorésistance engendrée par des thérapies hasardeuses et excessives est à l'origine de la sensibilité du cheptel aux pathologies et de l'altération de la valeur biologique de ce dernier.
- Ce constat économique amène se solde par la diminution du pouvoir d'achat du consommateur

Ce préambule explique notre effervescence relative au choix de ce thème qui s'intitule :

Le diagnostic en pathologie aviaire et non le diagnostic des pathologies aviaires.

Nous entendons par diagnostic en pathologie aviaire, l'ensemble des investigations cliniques, nécropsiques et de laboratoire en vue d'agir vite et de limiter au mieux la propagation des maladies par l'investigation juste en temps opportun visant à réduire au moins les coûts sanitaires.

-Problématique

- a) Beaucoup de praticiens se contentent d'un diagnostic clinique et nécropsique nonobstant l'intérêt du laboratoire pour différentes raisons : moyens financiers, matériels ou autres considérations...
- b) De cette démarche hasardeuse naissent des erreurs de diagnostic avec souvent des thérapies sans effet altérant à la fois la valeur biologique du cheptel et les indices zootechniques (Indice de consommation, Indice de conversion) etc....
- c) Est ce là une solution au vu d'éradiquer les pathologies sans conséquences sur la valeur biologique du cheptel : l'altération des indices économiques ? **NON**
- d) Est ce là une solution pour aboutir à des productions saines, loyales et marchandes tel que stipulé par le code de commerce ? **NON**
- e) Est ce là une solution pour produire à moindre coût et toucher sa cible dès les premières interventions ? **NON**
- f) La thérapie hasardeuse ne contribue-t-elle pas à l'antibiorésistance bactérienne? **OUI**
- g) La thérapie hasardeuse ne constitue-t-elle pas un frein pédagogique pour les professionnels ? exemple : utilisation d'antibiotiques à large spectre. **OUI**

Nous restons attentives à toutes ces interrogations en étant persuadées d'emblée que le diagnostic clinique et nécropsique ne sont pas suffisants pour confirmer certaines pathologies compte tenu de la similitude clinique et nécropsique de beaucoup de pathologies.

L'association de deux pathologies dans un même cheptel peut aussi être constatée et constitue une véritable contrainte dans la thérapie.

De cette définition émerge la notion de contraintes rencontrées dans l'investigation du vétérinaire et de leur traitement au vu d'efficacité technico-économique visant d'une part à protéger le consommateur (résidus d'antibiotiques dans les productions) et de produire à moindre coût d'autre part.

Notre thème s'articule autour des contraintes dans l'investigation et les mesures à préconiser dans les phases :

- la clinique.
- la nécropsie.
- Le laboratoire.

Pour cela on a opté pour le plan suivant :

- Une partie bibliographique :

Porte sur la complexité en matière de pathologie aviaire et la nécessité de respecter
Toutes les phases.

- Une partie expérimentale :

Porte sur La nécessité absolue du respect de la qualité de l'échantillonnage et l'échantillon.

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

**NOTIONS GENERALES EN
PATHOLOGIE AVIAIRE**

1. Définition de la pathologie aviaire

C'est une science qui étudie les maladies des volailles ayant pour étiologie soit :

- Les virus
- Les bactéries
- Les parasites (internes et externes).
- D'ordre chimique.
- Stress
- Nutritionnelles.

Nécessitant de l'opérateur la maîtrise de l'investigation prophylactique, clinique, nécropsique et du laboratoire visant le rendement optimum.

2. Notion de spécificité dans la pathologie aviaire

Certaines pathologies sont spécifiques par rapport à l'espèce animale considérée, d'autres par contre touchent plusieurs espèces à la fois. Ex :

- Maladie de Newcastle : canard, poule,...
- Hépatite virale : canard.
- Histomonose : la dinde.

3. Notion d'interdépendance dans la pathologie aviaire

L'apparition de pathologie est souvent la résultante de paramètres interdépendants. Les mauvaises conditions d'élevage (litière, aération, aliment) sont des paramètres prédisposants qui conditionnent l'apparition de coccidiose, MRC.

De ces deux notions de spécificité et d'interdépendance naît la notion de confusion dans l'investigation.

4. La classification et causes prédisposantes des pathologies aviaires

L'étude étiologique dans les pathologies aviaires révèle une classification ayant pour critères :

- ✓ La fréquence d'apparition dans les élevages.
- ✓ Leur importance économique et technique.

Nous distinguons ainsi :

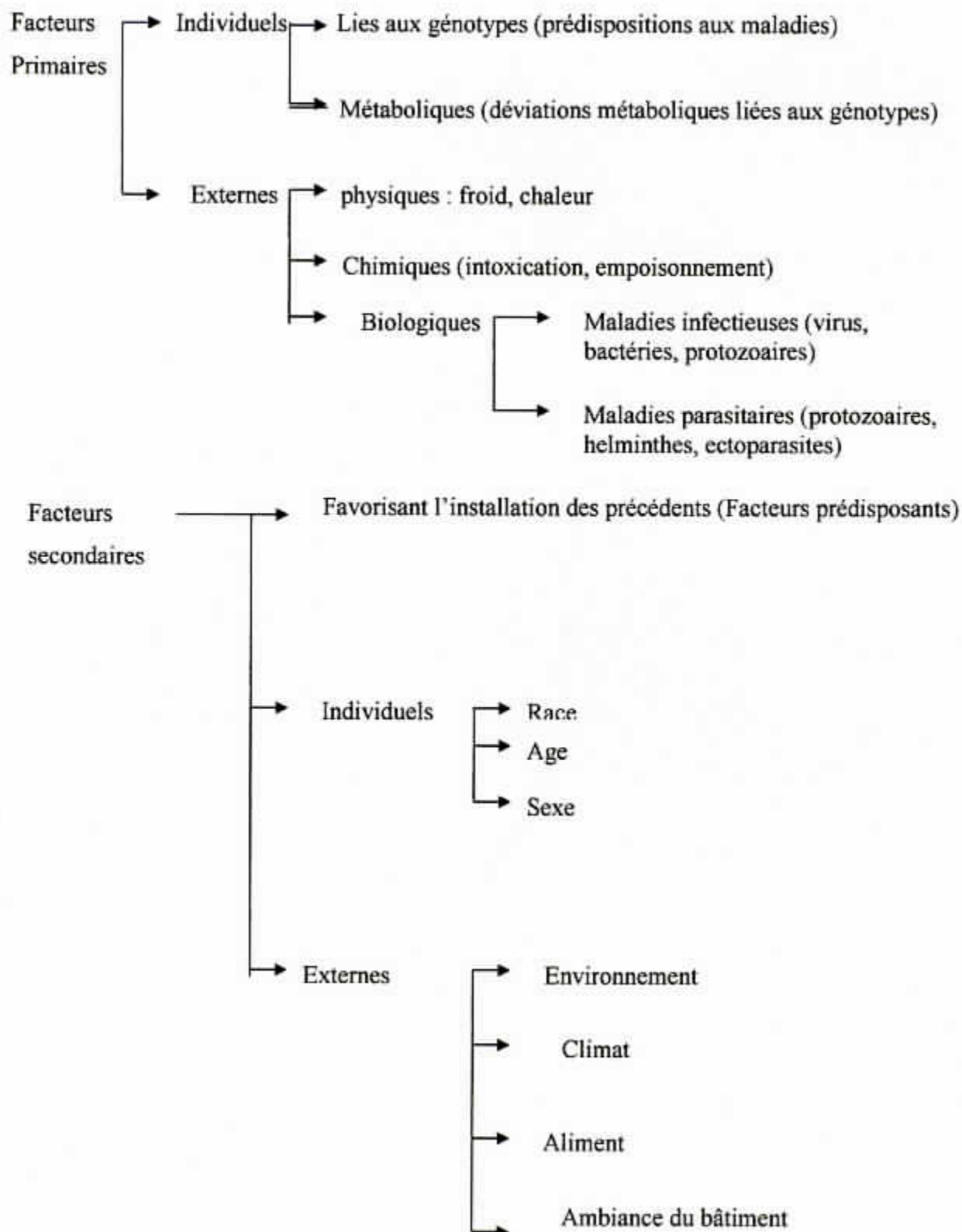
- a. Les maladies infectieuses.
- b. Les maladies nutritionnelles.
- c. Les maladies parasitaires.
- d. Les empoisonnements et autres stress liés directement aux aléas de l'environnement.

Dès la première alerte, le responsable des élevages procède à des investigations nécessaires qui visent l'identification de la maladie, l'adoption d'une thérapie spécifique donc efficace et éviter donc les méfaits de la propagation de cette dernière. Il doit donc être doté d'un sens clinique conforté par l'expérience et de prendre les mesures urgentes qui s'imposent.

La rigueur dans l'investigation l'obligera à faire appel à la nécropsie et au service du laboratoire afin d'affiner sa démarche par des informations en faveur d'un bon diagnostic.

Le laboratoire reste de loin l'arme fatale complémentaire à toutes les investigations faites sur le terrain. Le rôle du laboratoire est de mettre en évidence l'étiologie possible et de sa mesure possible (ex : numération bactérienne). Il faut faire pour cela appel aux techniques biochimiques, immunologiques et histologiques.

A signaler aussi que toute maladie constitue une agression des animaux et que toute agression quelque soit sa nature suscite une réaction chez l'agressé. Cette agression peut être ponctuelle biochimique et disparaît sans laisser de traces ou durable avec lésions organiques.

Etude étiologique des maladies

CHAPITRE II

LA CLINIQUE EN
PATHOLOGIE AVIARE

1. Définition

Manifestations inhabituelles d'un cheptel traduisant une quelconque pathologie se manifestant par: inappétence, prostration, hyperthermie, diarrhée...

2. Exemples considérés (DIDIER V, 2001)

2.1. Cas de Newcastle

Les symptômes dépendent de la virulence de la souche et de son tropisme ainsi que de l'espèce sensible et de la résistance individuelle. On peut distinguer classiquement 4 formes qui peuvent indifféremment coexister.

✓ Formes suraiguës

Atteinte générale grave. Mortalité brutale en 1 à 2 jours sur plus de 90% des effectifs.

✓ Formes aiguës

Apparition tout d'abord de signes généraux : abattement, plumage ébouriffé, avec souvent des œdèmes, cyanose ou hémorragie des caroncules crêtes et barbillons.

Associations ou non des différentes formes :

- Digestive (diarrhée verdâtre à hémorragique),
- Respiratoire (catarrhe oculo-nasal, trachéite, bronchite entraînant une dyspnée importante).
- Nerveuse (convulsions, ataxie, paralysie d'un ou de plusieurs membres),

Au bout de quelques jours tout cela évolue vers la mort ou une lente convalescence associée à des séquelles nerveuses (paralysie, torticolis) et des chutes importantes de ponte chez les femelles en production.

✓ Formes subaiguës et chroniques

Elles correspondent à l'étalement dans le temps des formes aiguës avec exacerbation des signes respiratoires le plus souvent. Il y a fréquemment complication de mycoplasme, colibacillose, pasteurelloses, chlamydiose. Chute de ponte sur les pondeuses. Apparition rare de diarrhées et de paralysie.

✓ Formes inapparentes :

L'existence de formes asymptomatiques inapparentes est certainement plus fréquente que l'on peut le supposer.

2.2. Cas de Marek

✓ Maladie classique

On parle de « maladie classique » lorsque les tumeurs s'installent surtout sur les nerfs périphériques provoquant des paralysies progressives des pattes, des ailes et parfois du cou.

Cette forme apparaît sur des oiseaux âgés de 20 à 30 semaines qui meurent en une à trois semaines, les uns après les autres pour atteindre jusqu'à 10% de l'effectif initial. Il y a une chute de ponte spectaculaire chez les pondeuses en production.

✓ Maladie aigue

Cette expression plus précoce sur des animaux plus jeunes (de 7 à 16 semaines), son évolution est plus rapide (2 à 5 jours) la mortalité est beaucoup plus importante (30 à 80% des oiseaux sensibles, 90% chez les pondeuses) et les tumeurs siègent sur des tissus ou organes autres que le système nerveux. Des formes suraiguës très précoces ont été diagnostiquées sur des oiseaux de 2 à 3 semaines. On trouve souvent les oiseaux morts avant de les voir malades.

2.3. Encéphalomyélite

✓ Symptômes très précoces

Les oiseaux infectés in ovo présentent des troubles très peu évocateurs dès les 10 premiers jours de vie, ce qui entraîne une nette augmentation de la mortalité néonatale.

✓ Symptômes précoces

Chez les poussins contaminés après l'éclosion et s'expriment entre 2 et 4 semaines par des signes nerveux sur 40 à 80% des oiseaux dont 10 à 80 % meurent.

Il y a incoordination motrice progressive avec des tremblements surtout de la tête et du cou. On sent l'animal tremblé dans la paume de la main.

Les poussins se déplacent de moins en moins, gagnés par des paralysies flasques et meurent d'inanition. Les survivants présentent parfois de la cataracte.

✓ Forme tardive

Ataxie et des paralysies sur les oiseaux jusqu'à 6 semaines.

✓ **Chez la poule pondeuse**

-L'atteinte en début de ponte provoque un faible décrochement de la courbe mais avec une remontée longue et incomplète.

-L'atteinte en cours de ponte provoque une chute brutale mais un retour rapide à la normale.

2.4. Maladie de Gumboro

✓ **Forme immunologique**

C'est une forme subclinique de traduction paradoxale. Elle est due à l'action immunosuppressive du virus qui détruit les lymphocytes B. L'évolution est inapparente par l'effet d'une souche virale peu pathogène ou par la persistance d'immunité maternelle. Elle apparaît sur des animaux de moins de trois semaines et se traduit par des retards de croissance, des échecs vaccinaux ou par l'apparition de pathologies intercurrentes.

✓ **Forme aigue classique**

La maladie s'installe quand l'immunité passive maternelle disparaît et que la bourse de Fabricius mûrit par le balayage antigénique provenant du cloaque entre 3 et 6 semaines. Elle apparaît brutalement après quelques jours d'incubation et prête à confusion avec un épisode de coccidiose aigue :

-Abattement, anorexie.

-Diarrhée blanchâtre profuse et aqueuse qui humidifie les litières.

-Le cloaque est souillé, irrité et les animaux se piquent.

-Soif intense, déshydratations.

-Démarche chancelante, tête baissée.

La morbidité s'élève à 80%

La mortalité est rarement supérieure à 10%

✓ **Formes atténuées**

Ce sont des formes atténuées de la forme aigue sur des poussins de plus de 6 semaines.

2.5. Bronchite infectieuse

La maladie affecte les oiseaux de tout âge mais s'exprime différemment après une courte durée d'incubation.

✓ Symptômes a prédominance respiratoire

Se rencontrent surtout chez les oiseaux de moins de 5 semaines et se traduisent par :

- Abattement, frilosité,
- Râles, toux, éternuements,
- Jetage sero-muqueux, jamais hémorragique
- Dyspnée
- Conjonctivites, sinusites

La morbidité peut atteindre 100% et la mortalité varie en fonction des complications.

La guérison généralement spontanée en une à 2 semaines, s'accompagne souvent de grands retards de croissance

✓ Manifestations a tropisme génital

Le passage du virus sur des futures jeunes pondeuses de moins de 2 semaines ,hormis l'atteinte respiratoire, aura des conséquences désastreuses sur la ponte par destruction des cellules de l'appareil génital.

Ces lésions génitales cliniquement occultes et irréversibles aboutiront à des fausses pondeuses : c'est-à-dire des femelles adultes qui ne pondront jamais.

✓ Atteinte rénale

Une forme de corona virose peut être associée aux formes respiratoires .ce virus a tropisme rénal, néphropathogène provoque une néphrite associée a une urolithiase.

2.6. Laryngotracheite infectieuse

Les oiseaux malades présentent des râles trachéaux, une dyspnée caractéristique de détresse respiratoire par encombrement de la trachée .ils expulsent d'ailleurs par la toux un mucus caséeux ou sanguinolent. On remarquera en plus une rhinite et une sinusite uni ou bi latérale. Les pondeuses en production montrent une nette baisse de ponte. On a 3 formes cliniques quelque soit l'âge des oiseaux atteints

✓ **La forme aigue**

C'est la forme rencontrée lors d'épizootie.

La mortalité peut atteindre 70% du troupeau. Les troubles généraux et la détresse respiratoire sont graves. Il y a rejet d'un mucus sanguinolent ou de sang en nature par le bec.

✓ **La forme subaiguë**

C'est une forme atténuée. La mortalité atteint 10 à 30% de l'effectif. Les râles et la toux sont plus discrets avec rejet de matières caséeuses.

✓ **La forme chronique**

Les signes cliniques et le tableau lésionnel sont plus discrets. La morbidité est faible. Les oiseaux montrent les signes d'un coryza. Baisse importante de ponte. La mort survient par étouffement provoqué par la formation de fausses membranes dans la trachée.

2.7. Coccidiose

✓ **Forme aigue**

Il existe différentes expressions liées à l'espèce de coccidie responsable :

-Coccidie cæcale hémorragique, peut apparaître sur les poussins de 2 à 3 semaines

Les oiseaux sont frileux, tristes et meurent avec une diarrhée très hémorragique.

-coccidiose intestinale suraiguë du poulet. Les poules meurent entre 4 et 6 semaines d'âge avec une diarrhée profuse et les signes classiques de frilosité et abattement qu'il ne faut pas confondre avec la maladie de Gumboro.

-Coccidiose duodénale de la poulette.

L'expression de ces coccidioses est de plus en plus étalée dans le temps par l'utilisation irrationnelle d'anticoccidiens.

✓ **Forme chronique**

Elles sont dangereuses car elles sont occultes. Elles augmentent les indices (De consommation et de croissance) et diminuent les productions.

2.8. Pasteurellose

3 formes :

✓ Forme suraiguë

C'est le plus souvent une mort foudroyante , sans prodromes, on remarque alors des oiseaux prostrés avant la mort , la crête ,les barbillons ou les caroncules sont violacés : la mort survient en quelques heures.

✓ Forme aigue

Se traduit par une fièvre élevée, de l'anorexie, soif intense, respiration accélérée et sifflante, une diarrhée mucoïde puis verdâtre et nauséabonde et enfin hémorragique. Il y a cyanose de la crête, des barbillons ou des caroncules dans les stades ultimes. La mort survient en quelques heures.

✓ Forme chronique

Consécutives aux formes précédentes ou apparaît d'emblée avec des souches peu pathogènes sous forme de foyers localisés : abcès pasteurelliques.

Les pasteurelles se localisent et se multiplient dans les blessures que font les oiseaux entre eux ou dans tout autre traumatisme.

2-9-Mycoplasmoses

Renflements, râles trachéaux et bronchiques ; jetage ; toux ; ponte réduite ; éternuements.

2-10-Salmonellose

-Poussins : mort, diarrhée liquide blanchâtre, déshydratation

-Poule : soif, prostration, cyanose, diarrhée, polypnée.

2-11-Colibacillose

Indolence, anorexie, dépérissement, râles, toux, éternuement, jetage, sinusite

2-12-Ascaridiose :

Retard de croissance, entérite avec diarrhée, amaigrissement, baisse de ponte parfois mort

Tableau 1-Tableau récapitulatif

<u>Maladies</u>	<u>Symptômes</u>
<u>Newcastle</u>	- Poussins : suffocation, toux et râles, incoordination motrice, paralysie - Adulte : toux, râle léger, nervosité, ponte réduite, coquille molle. Mortalité : 90%
<u>Marek</u>	Dépression, paralysie partielle ou complète (pattes, ailes, cou ...) Mortalité : 10-30%
<u>Gumboro</u>	Prostration, dépression, déshydrations, anorexie, diarrhée blanche, démarche chancelante. Mortalité < 10%
<u>Encéphalomyélite</u>	- Signes nerveux, incoordination motrice progressive, légers tremblements de la tête et du cou, somnolence - Chute de ponte de 30-60% puis retour à la normale. Mortalité : 10-80%
<u>Bronchite infectieuse</u>	- Poussins : râles, éternuements, toux rauque, abattement, frilosité. - Adulte : chute de ponte de 10-50%, augmentation des œufs anormaux. Mortalité : 5-25%
<u>Laryngotracheite infectieuse</u>	- Gêne respiratoire marquée, toux, râles, mucus caséux ou sanguinolent, rhinite et sinusite. - Ponte réduite. Mortalité : 5-70%
<u>Coccidiose</u>	- Baisse de croissance et IC élevé. - Mort importante. - Amaigrissement, anémie, diarrhée, Chute de ponte
<u>Colibacillose</u>	Indolence, anorexie, dépérissement, râles, toux, éternuement, jetage, sinusite
<u>Mycoplasme</u>	Reniflements, râles trachéaux et bronchiques ; jetage ; toux ; ponte réduite ; éternuements.
<u>Salmonellose</u>	- Poussins : mort, diarrhée liquide blanchâtre, déshydratation - Poule : soif, prostration, cyanose, diarrhée, polypnée.
<u>Pasteurellose</u>	- Mort = premier signe - Fièvre, dépression, anorexie, écoulement mucoïde du bec, diarrhée, polypnée.
<u>Ascaridiose</u>	Retard de croissance, entérite avec diarrhée, amaigrissement, baisse de ponte parfois mort.

Tableau 2-tableau comparatif

Symptômes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<u>Torticolis</u>	+	+		+		+						
<u>Paralyse</u>	+	+										
<u>Incoordination motrice</u>	+					+						
<u>Toux et râles</u>	+		+	+					+	+		
<u>Dépression</u>		+			+		+					
<u>Diarrhée</u>	+				+		+	+			+	+
<u>Chute de ponte</u>	+		+	+		+			+		+	+
<u>Anorexie</u>					+		+					
<u>Amaigrissement</u>											+	+

- 1- Newcastle

2- Marek

3- Bronchite infectieuse

4- Laryngotracheite

5- Gumboro

6- encéphalomyélite
- 7- pasteurellose

8- salmonellose

9- mycoplasmose

10- colibacillose

11- coccidiose

12- ascaridiose

3. La problématique

De cette étude succincte de pathologies nous relevons l'existence de signes cliniques communs pour des pathologies différentes avec des étiologies différentes.

Cette coexistence de signes cliniques peut prêter à confusion et entraîner le vétérinaire ou le praticien dans un rail d'investigations complexes sujet à des erreurs de diagnostic et de thérapies sans effet avec les conséquences que nous connaissons.

4. Conclusion 1

La phase clinique dans l'investigation vétérinaire n'est qu'un élément dont la suspicion pathologique dépend absolument des autres phases d'investigation qui sont la nécropsie et le laboratoire.

CHAPITRE III
**LA NECROPSIE EN
PATHOLOGIE AVIAIRE**

1. Définition :

C'est l'examen et l'exploration d'un cadavre, de ses différents organes et régions anatomiques, pour préciser les conditions et les causes de la mort. Aussi appelée nécropsie, elle comporte un examen macroscopique (par la vue et la palpation) des tissus disséqués ainsi qu'un examen microscopique, histopathologique des prélèvements.

2. La technique d'autopsie (GUY-PRIERRE M et ALL, 2007)

2.1. Préparation

✓ Euthanasié l'oiseau

- Luxation de l'articulation atloïdo-occipitale par une traction brutale et inverse de la tête et du cou, assez facile à réaliser chez un sujet jeune, elle ne l'est pas sur une poule adulte.
- La section de la moelle épinière au costotome, juste en arrière de la boîte crânienne.
- Injection d'air ou solution à euthanasie soit :
 - A la base du cœur.
 - Dans le ventricule gauche.

✓ Humecter la peau et le plumage.

✓ Disposer l'animal en décubitus dorsal.



Figure 1: la disposition du cadavre

2.2. Exploration de l'oropharynx

Ouvrir le bec, couper les commissures et descendre le long du cou en sectionnant l'oesophage.



Figure 2: coupure des commissures

Examiner la cavité buccale et l'oropharynx, rechercher la présence de pétéchies, mucus, ulcères.



Figure 3 : examen de la cavité buccale et l'oropharynx

2.3. Dépouillement du cadavre

Inciser la peau de plis de l'aîne et désarticuler les pattes en les ramenant vers le dos.



Figure 4: dépouillement du cadavre

2.4. Ouverture du cadavre et éviscération

- Boutonnière a la pointe du bréchet
- Inciser de part et d'autre du bréchet.
- Section des muscles pectoraux et des cotes au niveau du cartilage de jonction, des os coracoïdes et claviculaires.

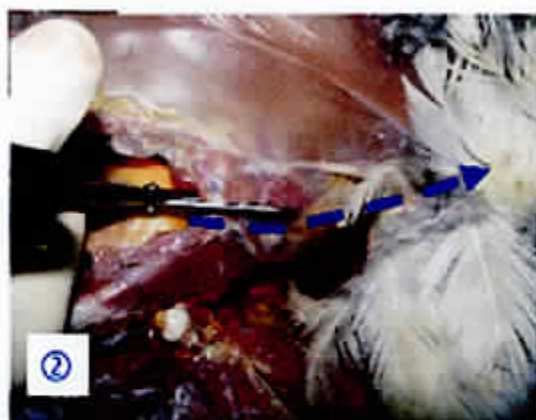


Figure 5: ouverture du cadavre et éviscération

- Récliner le bréchet vers l'avant et observer l'aspect des sacs aériens et des séreuses (foie, péricarde)



Figure 6: examen des sacs aériens

✓ Examen de la cavité thoraco-abdominale

- Observer les organes in situ avant de commencer la phase de dissection et de prélèvements.
- Examen et dissection du cœur et péricarde.

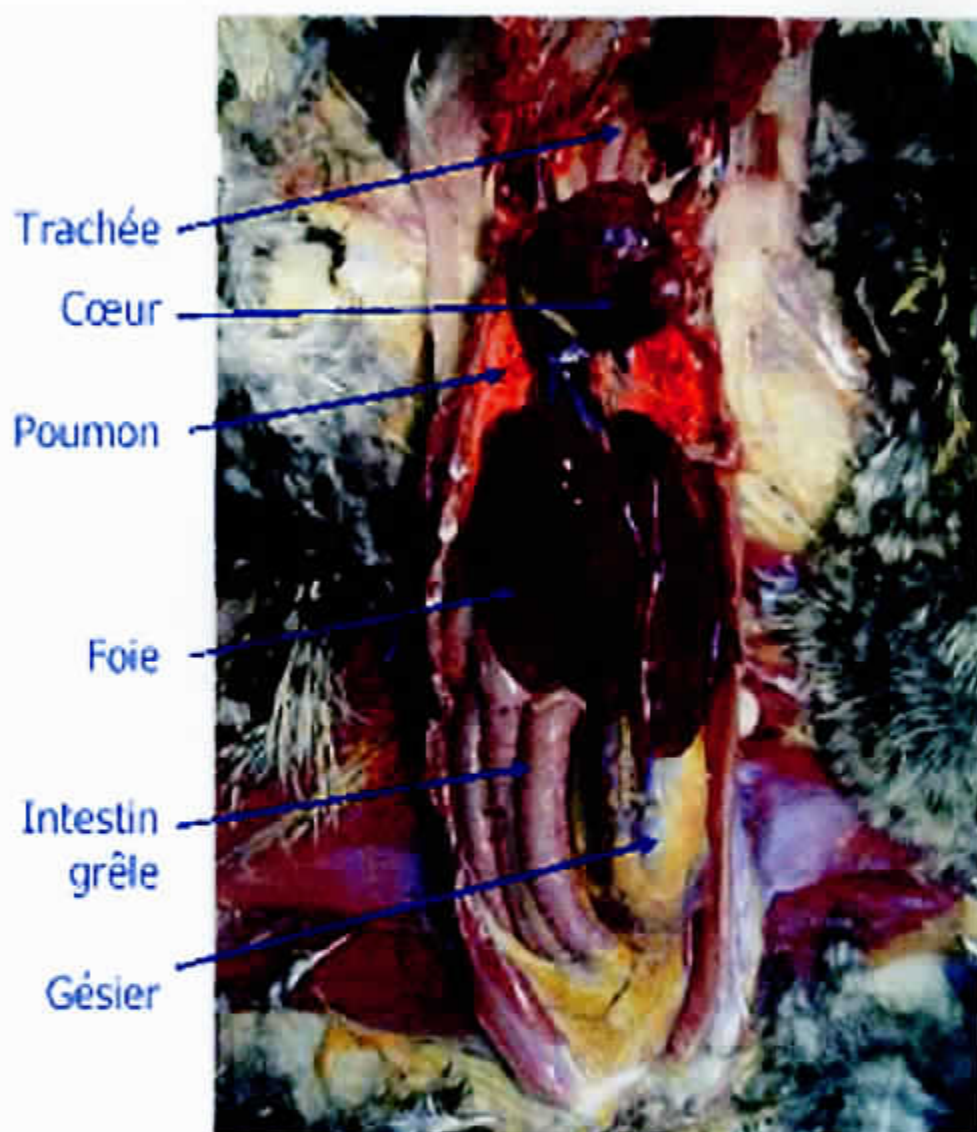


Figure 7: examen de la cavité thoraco-abdominale

✓ Examen du tube digestif

- Sectionner le tube digestif entre le jabot et le proventricule.
- Sectionner le cloaque.
- Séparer le foie de la masse digestive (attention à la vésicule).
- Dérouler le tube digestif.

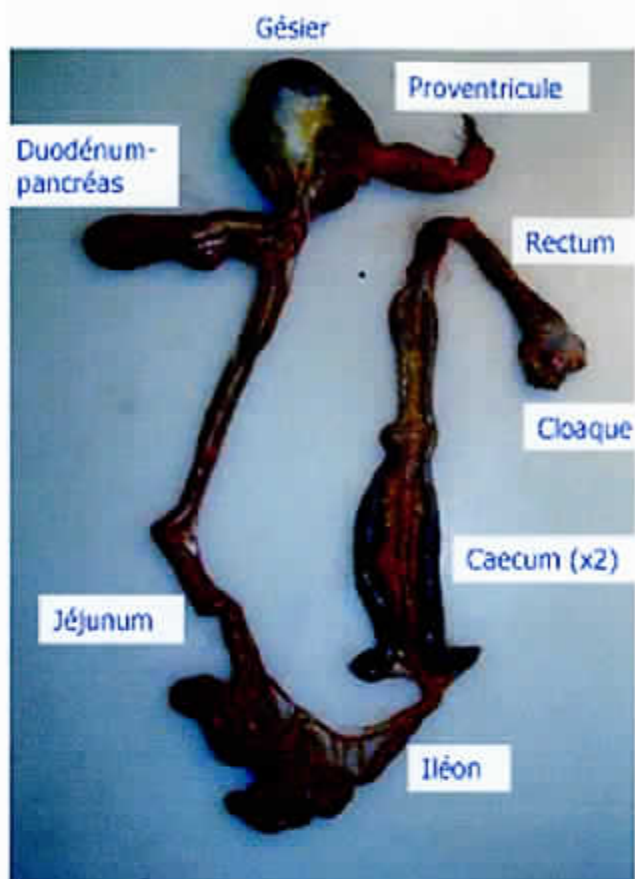


Figure 8 : examen du tube digestif

▪ Proventricule et gésier

Observer la muqueuse et le contenu, retirer après la cuticule du gésier, rechercher les ulcères et les lésions hémorragiques.

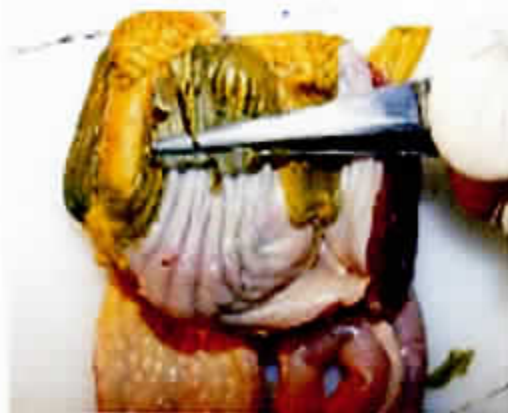


Figure 9: examen du proventricule et gésier

- Jéjunum, iléon, rectum, caecum

Examiner la paroi, muqueuse et contenu.



Figure 10: examen du jéjunum, iléon, rectum, caecum

- Foie et vésicule biliaire

-Noter l'aspect, la couleur, le volume et la consistance du foie puis réaliser les coupes et observer les sections.

-Observer la couleur, volume et consistance de la vésicule biliaire.



Figure 11: examen du foie et vésicule biliaire

- Pancréas

Observer la couleur, le volume et la consistance.

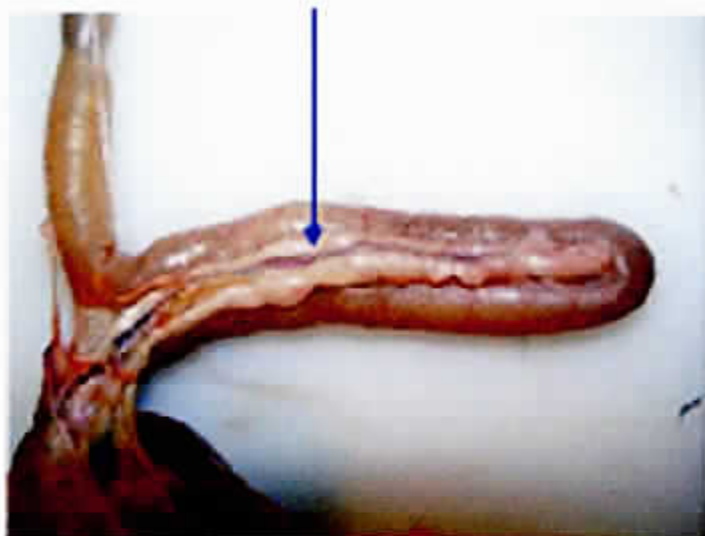


Figure 12: examen du pancréas

- ✓ Examen de l'appareil respiratoire

- Trachée

Ouvrir la trachée et examiner la muqueuse : congestion, sang, mucus, fibrine.



Figure 13: examen de la trachée

- Poumons

Décoller les poumons et examiner la surface et le tissu : pneumonie, nodule.

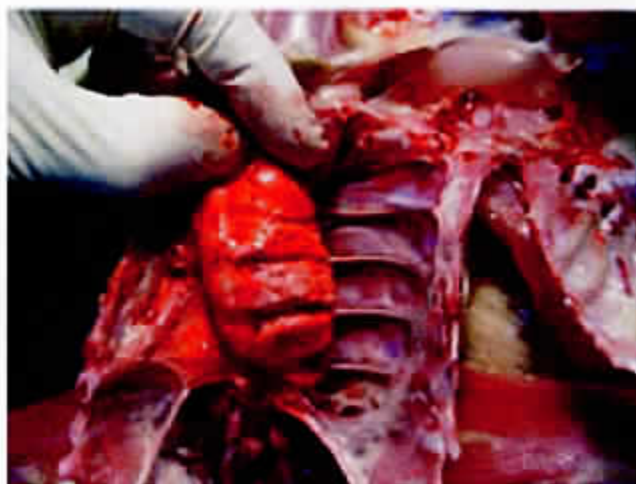


Figure 14: examen du poumon

- Sacs aériens



Examen des sacs
aériens thoraciques

Examen des sacs
aériens abdominaux



Figure 15: examen des sacs aériens.

✓ **Examen de l'appareil uro-génital**

▪ Chez la femelle

- Dégager et examiner la grappe ovarienne après section de la base du pédicule, tirer légèrement sur l'oviducte pour l'extraire en le disséquant.
- Observer les reins encastés dans l'os lombo-sacré.

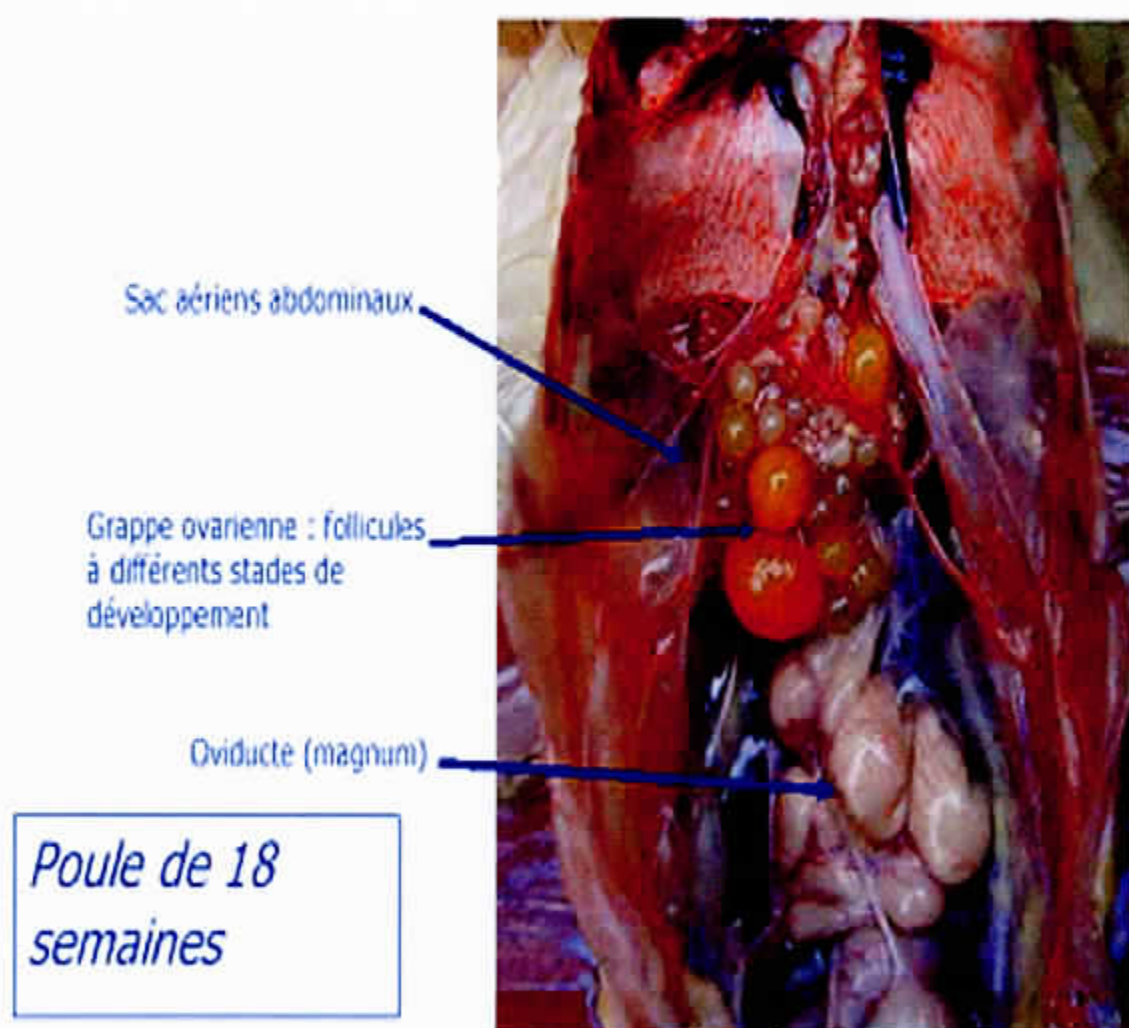


Figure 16: examen de l'appareil uro-génital femelle.

- Chez le male

-Retirer et examiner les testicules : position, volume, couleur.

-Observer les reins encastrés dans l'os lombo-sacré.

*Coq de 18
semaines*

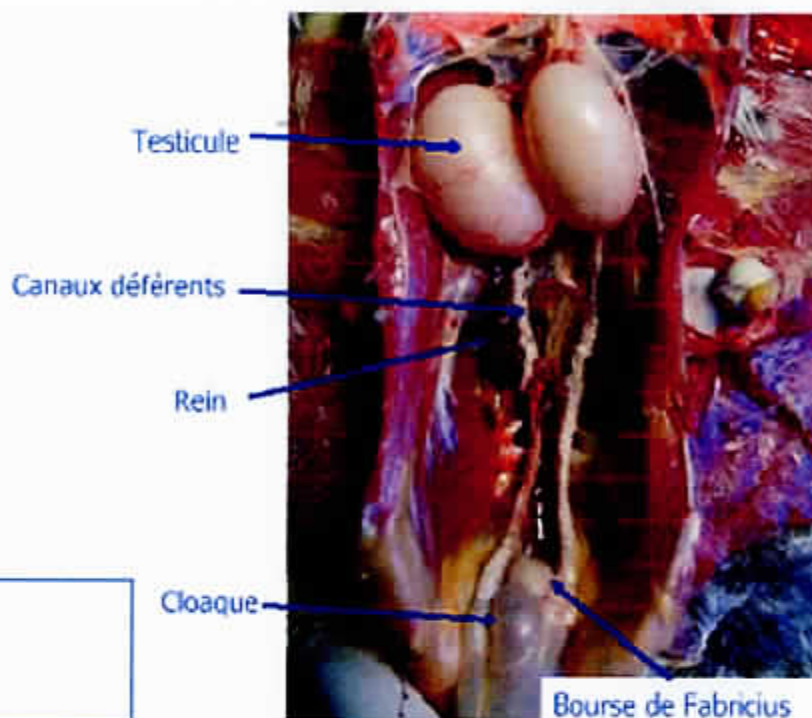


Figure 17:examen de l'appareil uro-génital male.

- Reins et surrénales

*Caneton de 3
semaines*

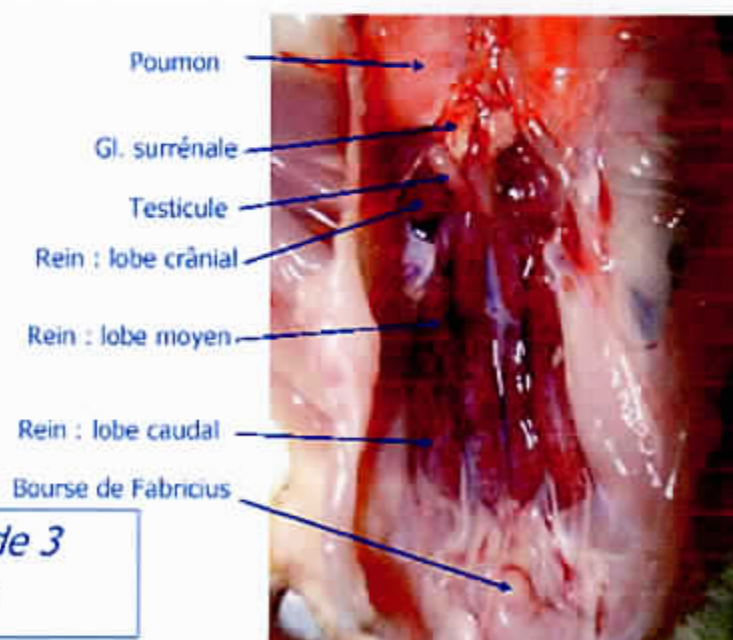


Figure 18: examen des rein et des surrénales.

✓ **Examen des organes hemato -lymphopœitiques**

▪ Rate

Isoler la rate de la masse digestive (accollée à la région proventricule gésier) observer son aspect, sa couleur, son volume et sa section.



Figure 19: examen de la rate.

▪ Bourse de Fabricius

Située au plafond du cloaque, observer son aspect, volume et sa muqueuse. Régression de 10 à 20 semaine (poule).

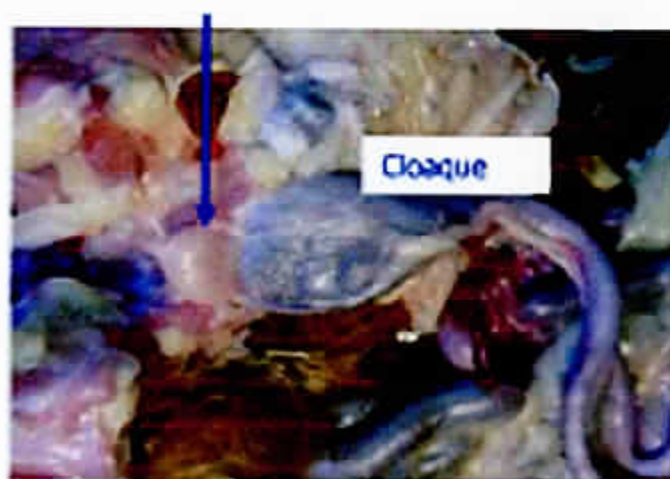


Figure 20: examen de la bourse de Fabricius

▪ Thymus

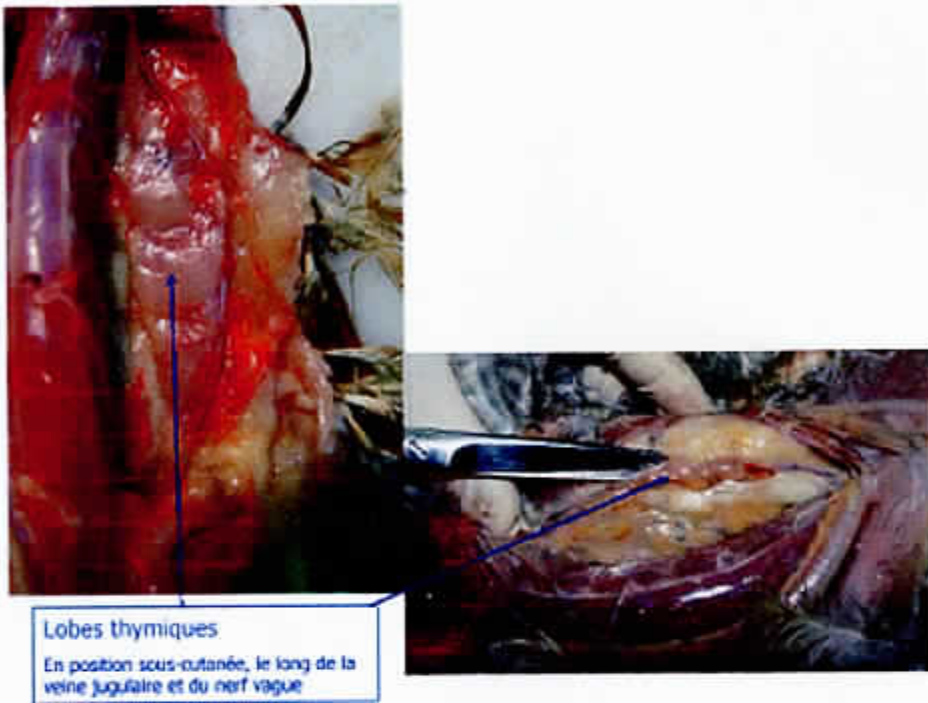


Figure 21: examen du thymus

✓ **Examen du système nerveux**

▪ Prélèvement du nerf sciatique

Dans le cadre d'une suspicion de la maladie de Marek, le nerf sciatique et le plexus lombosacré sont prélevés en vue d'analyse histologique.



Figure 22: prélèvement du nerf sciatique

- Prélèvement de l'encéphale

Des ciseaux forts sont introduits dans le trou occipital (nuque) et la calotte crânienne est découpée.



Figure 23: prélèvement de l'encéphale.

- ✓ Examen de l'appareil locomoteur

- Pattes

Rechercher les déformations des os longs, les inflammations des gaines tendineuses, les abcès plantaires.



Figure 24: examen des pattes.

▪ Articulations

Observer l'aspect extérieur des articulations et les ouvrir. Noter la présence d'épanchement ou de dépôt d'urate ou de fébrine.



Figure 25: examen de l'articulation

3. Etude anatomopathologique spécifique

3.1. Bronchite infectieuse

Lésions de l'appareil respiratoire

Présence de pétéchies dans les bronches et la trachée. Les voies aérophores, les sinus et les sacs aériens sont remplis d'un enduit catarrhal puis muqueux voire mucopurulent dans le cas de surinfection bactérienne.

Lésions de l'appareil génital

-Chez la femelle on note l'atrophie de l'oviducte pour un ovaire et utérus normaux et parfois même des pontes intra abdominales lorsque les femelles deviennent adultes.

-Pour les males, les testicules sont définitivement atrophies.

3.2. Newcastle :

On note la présence de pétéchies ou suffusions (hémorragies en piquûres de puces ou en plaques) :

Ventricule succenturié : les papilles glandulaires sont décapées surtout a la jonction œsophage proventricule.

Gésier : hémorragie sous la couche cornée.

Intestin : pétéchies réparties le long de la muqueuse intestinale.

Ulcère plat des amygdales coecales et des anneaux lymphoïdes recouverts d'un magma nécrotique plus ou moins mêlé de fébrine.

3.3. Maladie de Marek

- Présence de lésions tumorales.
- Hypertrophie des nerfs périphériques : plexus sciatiques, lombaires, coeliaques, brachiaux.
- Hypertrophie des différents viscères : foie, rate, rein, gonades.
- Folliculite des bulbes plumeux.

3.4. Gumboro

Les animaux morts sont déshydratés, ce qui peut entraîner une coloration foncée des muscles pectoraux et une néphrose uratique.

Oedème de la bourse de Fabricius et elle augmente de poids et de volume, sa surface peut être couverte d'un transsudat gélatineux jaunâtre et parfois présence de pétéchies ou même être entièrement hémorragique. Dans ce cas, les poussins vont éliminer du sang par les fientes.

On observe aussi des lésions hémorragiques intramusculaires.

3.5. Laryngotracheite infectieuse

Les cellules de l'épithélium trachéal sont gonflées et perdent leur ciliature. L'escalator mucociliaire est décapé. Il y a oedème puis séparation des muqueuses infectées de la sous muqueuse avec rupture capillaire et hémorragies. Dans les cas sévères les oiseaux ont généralement du sang dans le bec, sur les faces et sur les plumes.

3.6. La pasteurellose

La forme suraiguë

Congestion intense de la carcasse, quelques pétéchies disséminées sur l'arbre respiratoire, le myocarde et quelques viscères. Œdème et hémorragie.

La forme aigue

Des hémorragies en piqûres de puces sur le myocarde, la trachée, le tissu conjonctif sous cutané. Présence d'un fin et abondant piqueté nécrotique blanchâtre qui conflue parfois en placards de coagulation.

La forme chronique

- Arthrites parfois suppurées.
- Aérosaculites, sinusites, conjonctivite.
- Foyers de pneumonie.
- Ovarites et ponte abdominale.
- Oedème inflammatoire des barbillons

3.7. La tuberculose

Présence de nodules a caséification très précoce, a calcification très rare. Souligner par la cachexie. Sur le foie et la rate on observe des nodules jaunâtres. Des ulcères en entonnoir sur la muqueuse intestinale. Ainsi que des nodules en grappe au niveau du péritoine et des nodules de caséification précoce dans le muscle.

3.8. Mycoplasmoses

Inflammation plus ou moins productive de toutes les séreuses viscérales :

Péricardite, peri-hepatite, omelette fibrineuse des sacs aériens.

3.9. Aspergillose

Exsudat sur la muqueuse des sacs aériens, des nodules dans les parenchymes pulmonaires et les bronches

3.10. Salmonellose

-poussins : de petites taches blanchâtres de nécrose sur le foie, tube digestif enflammé, poumons congestionnés, foie hypertrophie.

-Adulte : parfois nécrose du foie et la plupart du temps absence de lésions.

3.11. Leucose

Des tumeurs gris- blanchâtres sur le foie et rate souvent hypertrophies avec des cellules tumorales. Les os déformés, épaissis, durs à casser.

Tableau 3: Tableau récapitulatif

maladies	lésions
Newcastle	-Aérosaculites, conjonctivite -Trachéite parfois hémorragique -Hémorragie des intestins -Nécrose des formations lymphoïdes intestinales et amygdales cæcales -Hémorragie de la muqueuse du proventricule et du gésier
Bronchite infectieuse	-Exsudat catarrhale ou caséeux dans : trachée, conduits naseaux sinus. -Larmolement -Opacification des sacs aériens et accumulation de fibrine -Présence d'un bouchon caséeux dans la trachée des poussins -Accumulation d'urate dans les tubes et les uretères -Lésion de l'oviducte chez les poussins -Oedème de la trachée -Présence du vitellus dans la paroi abdominale
Laryngotracheite	-Oedème et congestion de : ▪ Epithélium de la conjonctivite ▪ Sinus infra orbitaire -Exsudat sanguinolent dans la trachée -Présence de sang dans le bec, face et plume -Nécrose et hémorragie de muqueuse trachéale, bronche, poumons et sacs aériens
Gumboro	-Déshydratation et coloration foncée des muscles pectoraux. -Néphrose uratique -Oedème et hémorragie de la bourse de Fabricius -Lésions hémorragiques intramusculaires

Marek	-Lésions tumorales -Hypertrophie des nerfs périphériques : plexus, sciatique, lombaire, caecale, brachiaux -Hypertrophie du foie, rate, rein, gonades -Folliculites des bulbes plumeux
Mycoplasmosé	- Mucus dans les voies respiratoires supérieures -Inflammation catarrhale des voies respiratoires supérieures -Oedèmes des sacs aériens -Inflammation fibrineuse des sacs aériens -Inflammation fibrineuse du péritoine et capsule hépatique
Pasteurellose	-Congestion de la carcasse -Pétéchies sur l'arbre respiratoire, myocarde, viroses -Hémorragie en piqûres de puces sur le myocarde, trachée, tissu conjonctif -Des piquetés nécrotiques blanchâtres -Arthrites parfois suppurées -Aérosaculites, sinusite, conjonctivite -Ovarite, ponte abdominale
Tuberculose	- Granulomes blancs jaunâtres dans l'oropharynx, foie, rate
Aspergillose	-Exsudat sur la muqueuse des sacs aériens -Nodules dans les parenchymes pulmonaires -Nodules dans les bronches
salmonellose	-poussins : taches blanchâtres de nécrose sur le foie, tube digestif enflammé, poumons congestionnés, foie hypertrophie. -Adulte : parfois nécrose du foie et la plupart du temps absence de lésions.
Leucose	-tumeurs gris- blanchâtres sur le foie et rate. - Les os déformés, épaissis, durs à casser,

Tableau 4:Tableau comparatif

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Epaississement des sacs aériens	+	+	+						
Caecum gonfle				+					
Entérite				+	+				
Foie					+	+	+		
Rate						+		+	
Rein						+			+
Ponte intra abdominale	+				+				
Aérosaculites		+			+				
Conjonctivite		+			+				

1- Bronchite infectieuse

2- Newcastle

3- Aspergillose

4- Salmonellose

5- Pasteurellose

6- Leucose

7- Tuberculose

8- Marek

9- Carence en vitamine A

4-Problématique

Le problème se situe dans la présence de lésions communes qui peuvent nous induire en erreur ex :
Epaississement des sacs aériens dans la bronchite infectieuse, Newcastle et aspergillose.

5-Conclusion

Vu la présence de lésions communes entre les différentes pathologies on peut conclure que les investigations necropsiques restent toujours un paramètre insuffisant pour confirmer la pathologie.

CHAPITRE IV

**LE LABORATOIRE EN
PATHOLOGIE AVIAIRE**

1. Définition

Le laboratoire est une enceinte dans laquelle s'effectue toutes les opérations de diagnostic qui sont d'ordre soit :

- ✓ Autopsie.
- ✓ Etude necropsique.
- ✓ Prélèvements : échantillons et analyse bactériologique, virologique, biochimique.

2. Prélèvement d'échantillon pour le laboratoire

2.1. Les précautions à prendre lors du prélèvement (INMV, 1997)

- a. Choisir 3 ou 4 adultes ou une demi-douzaine de poussins vivants .les placer dans un emballage a claire-voie. si le trajet doit durer plus de 10 a12 heures, placer sous les oiseaux une couche d'aliment humecte.
- b. Envoyer les oiseaux (ou les autres prélèvements) par colis express. s'arranger pour que les expéditions n'arrivent pas au laboratoire pendant le week-end ou un jour férié. Consulter le transporteur au sujet des délais d'expédition et de distribution.
- c. Attacher la fiche de commémoratifs à la caisse après l'avoir compléter. Bien préciser les commémoratifs et les conditions d'apparition de la maladie.
- d. Si vous devez envoyer des cadavres, envelopper les dans du papier kraft huile, ou dans plusieurs journaux pour éviter l'écoulement des liquides. placer le paquet dans un récipient étanche. si possible enfermer le tout dans un second récipient rempli de glace ou d'un mélange de sciure et de glace.
- e. Les prélèvements d'organes doivent être places dans des petits bocaux a large ouverture, a fermeture hermétique et rempli avec une solution a 10% de formol du commerce.
- f. Les flacons de sang doivent être expédiés des que possible après prélèvement et de préférence dans un récipient fermé et réfrigéré. Ne pas utiliser de glace pour ces échantillons. Séparer le sérum et envoyer les échantillons séparés et identifiés.
- g. Pour optimiser les possibilités d'isoler la bactérie, l'échantillon doit être pris, si possible, avant d'instaurer un traitement antibiotique.

h. Etiquetage des tubes :

L'étiquetage des tubes doit se faire immédiatement après le prélèvement et doit comporter les informations concernant l'élevage.

2.2. La qualité du prélèvement (anonyme MARS 2007)

2.2.1. Conservation

- a. on ne doit pas congeler ni réfrigérer des échantillons de sang (tubes secs) destinés à la sérologie.
- b. le sérum peut être réfrigéré.
- c. les organes destinés à l'isolement du germe ou du virus doivent être maintenus à l'abri de la chaleur :
 - ✓ sac polythylène.
 - ✓ Absorbant.
 - ✓ Boîte thermostable.
- d. le plasma peut être congelé pour la biochimie.
- e. les frottis. Les prélèvements pour l'histopathologie doivent être fixés immédiatement pour éviter toute lyse cellulaire.
- f. les écouvillons doivent être placés dans des milieux conservateurs.
- g. on évitera la dessiccation des excréments en ajoutant du soluté physiologique et en les expédiant dans des flacons bien bouchés.
- h. les phanères (plumes, squames) sont expédiées dans des petits sacs ou petits flacons étanches. ne jamais congeler.
- i. pour le sang complet avec de l'anticoagulant :

Réfrigéré à 4°C il doit arriver au laboratoire avant les 24 heures après son extraction.
Protéger les tubes des coups de chaleur.

 - Pour des cultures bactériennes : EDTA ou Héparine.
 - Pour des cultures de lymphocytes (virémies, tuberculoses): seulement Héparine.
 - Pour des hémoparasites : tout anticoagulant ou directement frottis de sang sur porte-objet de verre.

j. pour le sérum

- La réfrigération n'est pas nécessaire. Ne jamais congeler les sérums avec caillot. On peut congeler le sérum propre après avoir enlevé le caillot. Protéger les tubes des coups.
- En tube sans anticoagulant. Pour maximiser le volume de sérum, laisser le tube incliné ou inversé à température ambiante pendant 30 minutes.

k. pour les fientes

✓ Pour analyse coprologique :

- La réfrigération n'est pas nécessaire. Ne pas congeler. Utiliser un récipient hermétique
- Recueillir directement du rectum avec un gant ou un sac en plastique.

✓ Pour des cultures bactériologiques :

- Réfrigérées, non congelées et temps de transport minimum. Récipient hermétique.
- Le même procédé que le précédent.

l. pour les cadavres

- La réfrigération est nécessaire. Si une analyse bactériologique est demandée ne pas les congeler. Si on ne demande que l'Immunoperoxydase on peut les congeler.
- S'il est mort depuis plus de 4 heures et il n'est pas réfrigéré, probablement il est contaminé.

2.2.2. Emballage**2.2.2. A. Tubes stériles et fermeture hermétique, type Venojet****• Sans anticoagulant**

Pour le transport de sérums, lait, urine et autres liquides. Deux ou trois millilitres est un volume d'échantillon suffisant.

• Avec anticoagulant

Héparine, pour le transport de sang si on demande une culture bactérienne ou une culture de cellules lymphoïdes (virémies, tuberculose, etc.).

EDTA ou Héparine pour la recherche d'hétoparasites et le transport de liquide articulaire ou céphalo-rachidien

2.2.2.B. Flacons ou pots avec fermeture hermétique

Pour le transport d'organes, de tissus, de fèces, etc. Il faut éviter les flacons en verre à cause des éventuelles ruptures. On peut utiliser les pots de ramassage d'urine des pharmacies, les tupperwares simples que l'on achète aux supermarchés ou n'importe quel récipient hermétique. Il est important de vérifier l'étanchéité de la fermeture pour éviter l'écoulement de liquides pendant le transport. Pour éviter de favoriser les contaminations bactériennes on ne doit pas mélanger, en aucun cas, des organes différents dans le même pot.

2.2.2. C. Sacs hermétiques

Pour inclure des organes si on ne possède pas de pots hermétiques. Les sacs à congeler aliments en plastique fin et résistant sont pratiques. Il est indispensable de laisser égoutter l'organe pour éliminer la plus grande quantité de liquides ainsi que faire plusieurs nœuds pour optimiser l'étanchéité de la fermeture. Ne jamais mélanger différents organes dans le même sac et ne pas oublier d'identifier chaque sac.



Figure 26: Sac hermétique

2.2.2. D. Ecouvillons

Ils sont très pratiques puisqu'ils permettent de prélever des échantillons d'animaux vivants (écouvillons rectales, rhino-pharyngés, vaginales, oculaires, cutanés, etc.) ou d'organes après une nécropsie. Leur transport est moins cher, ils n'ont pas besoin de réfrigération et ils éliminent des risques biologiques. Pour prélever correctement un échantillon avec un écouvillon, nous devons le faire tourner sur lui-même, en frottant contre les parois tissulaires pour desquamer des cellules.

2.3. Le document accompagnant le prélèvement (INMV, 1997)

C'est un des composants les plus importants de l'envoi et cependant souvent il est absent, ce qui pose des graves problèmes au moment de décider les analyses qu'il faut faire dans le laboratoire. Ce dit document oriente efficacement l'opérateur du laboratoire dans l'entreprise du diagnostic

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

Institut National

De la Médecine Vétérinaire

Laboratoire vétérinaire

N°.....

Alger le.....

Demande d'analyses en pathologie aviaire

Demandeur :.....

Adresse :.....

Date :.....

Nature du prélèvement:.....

Nombre de prélèvement :.....

Propriétaire :.....

Adresse :.....

CommémoratifsType d'élevage : poulet de chair ☐ Reproducteur ☐ Pondeuse ☐ Couvoirs ☐

Effectifs :.....Souche :.....Origine :.....Age :.....

Mode d'élevage : Batterie ☐ Au sol ☐ Avec parcours ☐

Qualité du logement :.....Aliment.....Eau :.....

Stress récents :.....

Traitement entrepris :.....

Vaccinations :.....

Symptômes observés :.....

.....

.....

% de mortalité :.....% de morbidité :.....

Analyses demandées

Sérologie :.....

Bactériologie :.....

Signe Dr.....

3-Que faut il envoyer au laboratoire ? (JEANE B, avril 1992)

3.1. Pour les maladies virales

Tableau 5: Les prélèvements en virologie

maladies	prélèvements		
	histopathologie	sérologie	Isolement viral
<u>Bronchite infectieuse</u>	Trachée.	Sang: ELISA ,SN, HA, IF	Trachée, poumons
<u>Newcastle</u>	Cerveau.	Sang : HIT ,HA ,SN ,ELISA	Ecouvillon de trachée, cloaque, poumon, proventricule, cerveau
<u>Marek</u>	Nerf sciatique, poumon, foie, reins, rate.	Sang : SN, IF, ELISA	follicules plumeux
<u>leucose</u>	Proventricule, nerf, foie, reins, rate.		
<u>encéphalomyélite</u>	Encéphale, moelle épinière, nerf, proventricule.	Sang : SN, ELISA	Encéphale
<u>gumboro</u>	Bourse de fabricius.	Sang : ELISA, SN, IF	Bourse de Fabricius, rate
<u>Larygotracheite infectieuse</u>	Trachée.	Sang : ELISA, IF, SN	Ecouvillons de trachée, sinus, poumon
<u>variole</u>	Pharynx, trachée (raclage)	Sang : IF, SN, HA	Prélèvements de lésions cutanées ou diphténoïdes

3.2. Pur les maladies bactériennes

Tableau 6: Les prélèvements en bactériologie

maladies	prélèvements		
	histopathologie	bactériologie	sérologie
<u>colibacillose</u>	Cœur, foie, pancréas, encéphale.	Foie	
<u>pasteurellose</u>	Foie, poumon, ovaire.	Moelle osseuse, sang, foie et écouvillons de cavités nasales et sacs aériens	Sang : ELISA
<u>tuberculose</u>	Foie, rate, os longs (frottis et coupes).	Foie, rate : coloration de ziehl. mise en évidence des bacilles acido-alcooloresistants .granulomes inflammatoires	
<u>mycoplasme</u>	Trachée et sacs aériens	Sacs aériens et trachée	Sang : ELISA
<u>salmonellose</u>	bactériologie Foie et cœur :	Foie, rate, œufs et écouvillons de cloaque, litière et duvet	Sang : ELISA

1.3. Pour les maladies mycologiques

Tableau 7: Les prélèvements en mycologie

maladies	prélèvement		
	histopathologie	Examen microscopique	isolement
<u>aspergillose</u>	Poumons, sacs aériens	Poumons et sacs aériens.	Poumon et cerveau
<u>candidose</u>	Jabot, foie.	Jabot et œsophage	Jabot et œsophage

1.4. Pour les maladies parasitaires

Tableau 8:Prélèvements en parasitologie

maladies	prélèvements	
	parasitologie	histopathologie
<u>coccidiose</u>	Intestin et cæcums	Intestin et cæcums
<u>capillariose</u>	œsophage, jabot, gésier, intestin	œsophage, jabot, gésier, intestin
<u>trichomonose</u>	Organes affectés	Organes affectés
<u>histomonose</u>	Foie et Cals de tissus hépatiques	Foie et Cals de tissus hépatiques

1.5. Pour les maladies nutritionnelles

Tableau 9: Prélèvements pour les maladies nutritionnelles

maladies	prélèvements	
	Dosage des vitamines	histopathologie
<u>Carence en vitamine E et en sélénium</u>	Prélèvements des aliments pour le dosage de la vitamine E et du sélénium	Muscles et cerveau
<u>Carence en vitamine A</u>	Dosage de la vitamine A dans le foie, le sang et les œufs	Trachée, larynx oesophage.
<u>Sténose hépatique de la poule pondeuse</u>		Foie, mise en évidence de la stéatose hépatique pathologique par la coloration noir soudan ou rouge à l'huile

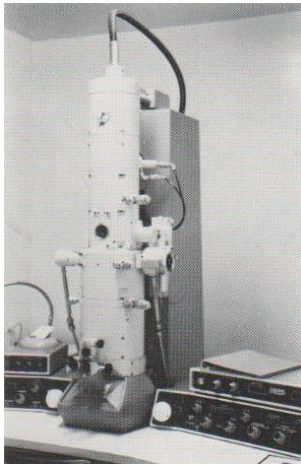
4. Les techniques du laboratoire

4.1. Les techniques qualitatives

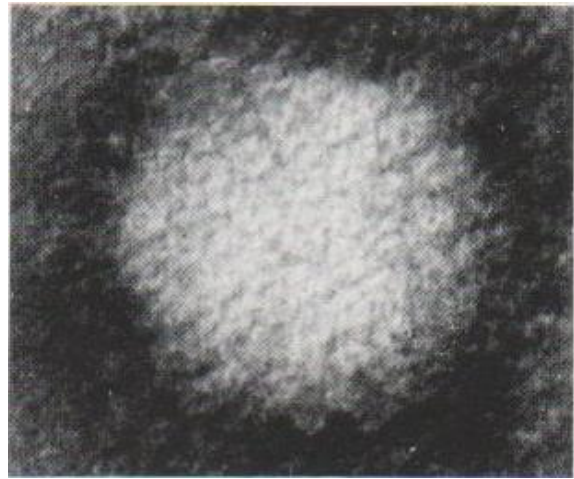
4.1.1. Visualisation directe

4.1.1.1. En virologie

Le microscope électronique permet l'étude morphologique des virus. La préparation des coupes est très particulière. La lecture en est fort longue.



**Figure27:le microscope électronique
De la station de pathologie aviaire de
Ploufragan**



**Figure28:virus de la maladie de
Marek vu au microscope
électronique**

4.1.1.2. Bactériologie et la mycologie

L'examen au microscope optique d'un frottis permet la classification en bacilles ou en cocci et cette première classification est affinée par la coloration de gram, Ziehl, etc.....

4.1.1.3.Parasitologie

L'helminthologie s'appuie avant tout sur l'étude morphologique des parasites dont les caractéristiques ne sont visibles qu'à l'aide du microscope à faible grossissement.

La numération des parasites internes est possible mais n'est pas d'un usage courant en aviculture.

La coprologie conduit au diagnostic parasitaire par l'étude des œufs ou des oocystes

4.1.1.4.Histopathologie

La préparation des lames histologiques peut se résumer ainsi :

La fixation est faite aussitôt après prélèvement (formol 10%).le fragment d'organe est ensuite placé dans un bloc de paraffine liquide qui est ensuite refroidi puis découpé en minces lames ultra minces avec un microtome.

Les éléments cellulaires caractéristiques des lésions sont mises en évidence par une coloration appropriée. Les lames préparées sont protégées avec des lamelles et on les conserve dans des boîtes a rainures.



**Figure29:préparation des coupes
Au microtome**



**Figure30:coloration de la
préparation**



Figure31:conservation des lames.

4.1.2. Isolement et culture

4.1.2. 1.Virologie

Pour cela le virus sera inoculé soit :

➤ Sur œufs embryonnés :

L'inoculation de la membrane chorio-allantoïdienne avec des cellules infectées entraîne une zone de nécrose.

L'inoculation du sac vitellin est un peu plus lente à produire ses effets.

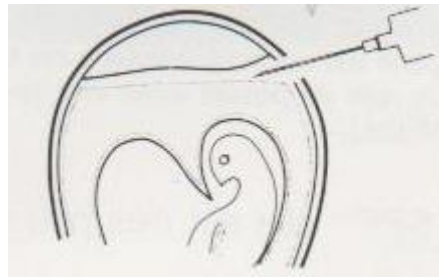


Figure32:inoculation sur la membrane chorio-allantoïdienne

➤ Inoculation sur culture cellulaire :

Après inoculation, les foyers s'agrandissent et forment des plages visibles à l'œil nu qui peuvent permettre ultérieurement la capture d'une unité virale (clonage).

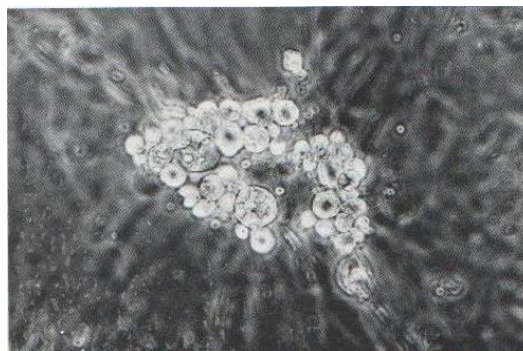


Figure33:inoculation sur culture cellulaire

4.1.2.2. Bactériologie et mycologie

La culture et l'isolement des germes vont permettre de les identifier en s'appuyant sur plusieurs critères :

- morphologie des colonies.
- type respiratoire : aérobiose ou non.
- réactions métaboliques : fermentation, production de gaz,....

Il existe plusieurs milieux de culture :

- sélectifs** : qui vont inhiber le développement de germes qui sont souvent associés au microbe recherche.
- électifs** : qui stimulent la croissance d'un germe donne.
- **les milieux d'enrichissement** : combinent les 2 actions précédentes.
- les milieu de conservation** : sont des milieux pauvres qui assurent la survie des bactéries.

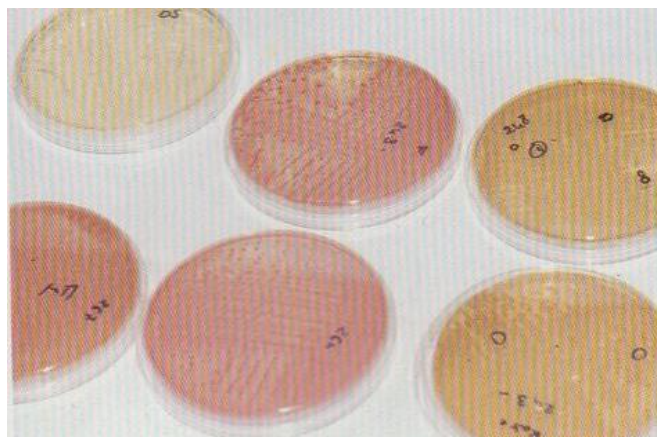


Figure34:des colonies de salmonelles

4.1.3. L'immunologie qualitative

4.1.3.1. Précipitation en milieu gélifié

Met en jeu la précipitation des antigènes avec les anticorps au cours de la diffusion en milieu gélifié.

Pour cela on coule une couche de gélose sur une lame de microscope ou une boîte de pétri .on creuse dans le gel a l'emporte-pièce deux cupules a une certaine distance l'une de l'autre.

Dans l'une on dépose le virus ou la suspension virale, dans l'autre un sérum anti-connu ou un sérum a éprouver. On laisse le tout a 37c°.

La réaction d'antigène/anticorps se traduit par l'apparition d'une ligne de précipitation.

4.1.3.2. L'immunofluorescence

Permet de visualiser l'union antigène/anticorps grâce à la fluorescence des particules fixées sur l'anticorps.

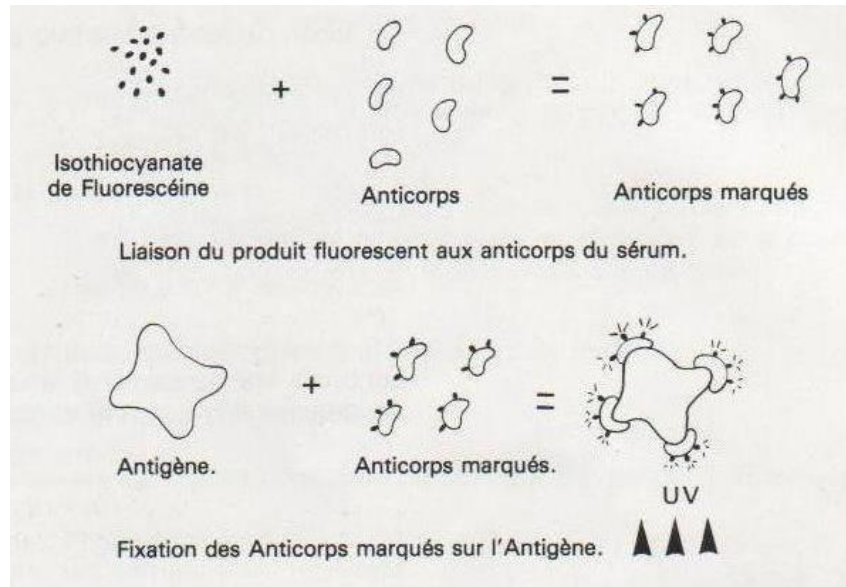


Figure 1: technique de l'immunofluorescence

On examine la préparation au microscope avec une source ultra violette qui favorise la fluorescence et deux filtres, l'un pour canaliser les UV, l'autre pour les éliminer de la vision de l'observateur.

4.1.3.3. Les réactions d'agglutination :a. L'hema-agglutination rapide sur lame :

- Agiter le flacon.
- Faire tomber une goutte d'antigène sur une lame de verre .
- Ajouter une goutte de sang.
- Mélanger les 2 gouttes par une rotation rapide de la lame.
- Lire la réaction avant la première minute.
- L'obtention d'une coloration homogène du mélange indique **une réaction négative**.
- L'apparition d'un fond incolore de la goutte avec formation de petits flocons colorés indique **une réaction positive**.

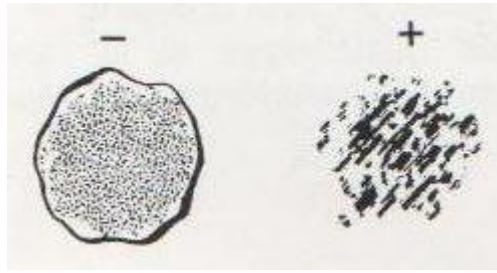


Figure 2: hema-agglutination rapide sur lame

b- Séro – agglutination rapide sur lame :

- Prélever le sérum dans chaque tube à l'aide d'une pipette graduée de 0.2ml.
- Déposer sur la plaque de verre.
- Mélanger 1/100 ml de sérum avec 1/5 ml de réactif à l'aide d'un agitateur.
- Etuver la plaque pendant 10 minutes à 30°.
- Faire la lecture à l'aide d'un agglutinoscope.
- L'obtention d'un mélange homogène et coloré malgré la présence possible de flocons en suspens indique une réaction négative.
- L'obtention de gros flocons visibles à l'œil nu .Quelquefois de fins agglutinats ne peuvent être perceptibles qu'à la loupe indique une réaction positive.

c - Séro – agglutination lente en tube :

- centrifuger
- chauffer a 55c° pendant 20mimnutes.
- ajouter des quantités décroissantes de sérum a une quantité déterminée de préparation antigénique.
- placer les tubes à l'étuve a 37c°pendant 24heures.
- si le mélange reste trouble donc la réaction est négative.
- si le liquide s'est éclairci et les corps bactériens se sont déposés au fond du tube donc la réaction est positive.

4.2. Les techniques quantitatives

4.2.1. Parasitologie

Elles sont limitées à la mise en évidence et à l'identification des espèces parasites présentes.

4.2.1.1. La sédimentation :

- dilution des selles dans de l'eau.
- tamiser la solution.
- laisser décanter durant 30 minutes environ.
- jeter le surnageant et reprendre le culot avec de l'eau.
- répéter l'opération jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair (03 à 04 fois).
- jeter le surnageant et garder le culot de 01 a 02ml.
- les gouttes du culot sont déposées entre lame et lamelle.
- observer au microscope optique.
- le temps de décantation peut être réduit par une centrifugation du filtrat durant 02 a 03minutes a 2000 a 3000 t/minutes.

4.2.1.2. La flottaison :

- Dilution des selles dans une solution dense (densité supérieure a celles des œufs ou larves)
- tamiser la solution.
- verser la solution dans un tube a essai et le remplir jusqu'à l'obtention d'un ménisque et déposer une lamelle sur le tube.
- laisser reposer durant 15 à 20 minutes dans un tube a essai.
- prendre la lamelle et la déposer sur une lame.
- observer au microscope optique.
- le temps de décontamination peut être réduit par une centrifugation du filtrat durant 02 a 03 minutes a 2000 ou 3000t/minutes.

4.2.2. Histopathologie

La numérotation des hématies permet de poser le diagnostic d'anémie quand elle est inférieure à la normale.

La formule leucocytaire donne des informations sur la capacité immunitaire du sujet.

4.2.3. L'immunologie quantitative

4.2.3.1. La sero-neutralisation :

Le sérum d'un animal infecté est porteur d'anticorps qui peuvent neutraliser les effets biologiques des antigènes correspondants.

-on utilise un sérum d'activité bien définie qui sera mélangé au virus à identifier dans les proportions parfaitement connues soit :

-un sérum constant /sérum dilué = β neutralisation

-sérum fixe/virus dilué = α neutralisation

-incuber à température définie pendant un temps donné.

4.2.3.2. le test d'inhibition de l'hémagglutination :

Ex : le virus de la grippe

Si on ajoute à la préparation virale un sérum anti-virus donc porteur d'anticorps l'agglutination est inhibée, parce que les anticorps du sérum se sont fixés sur les particules virales.

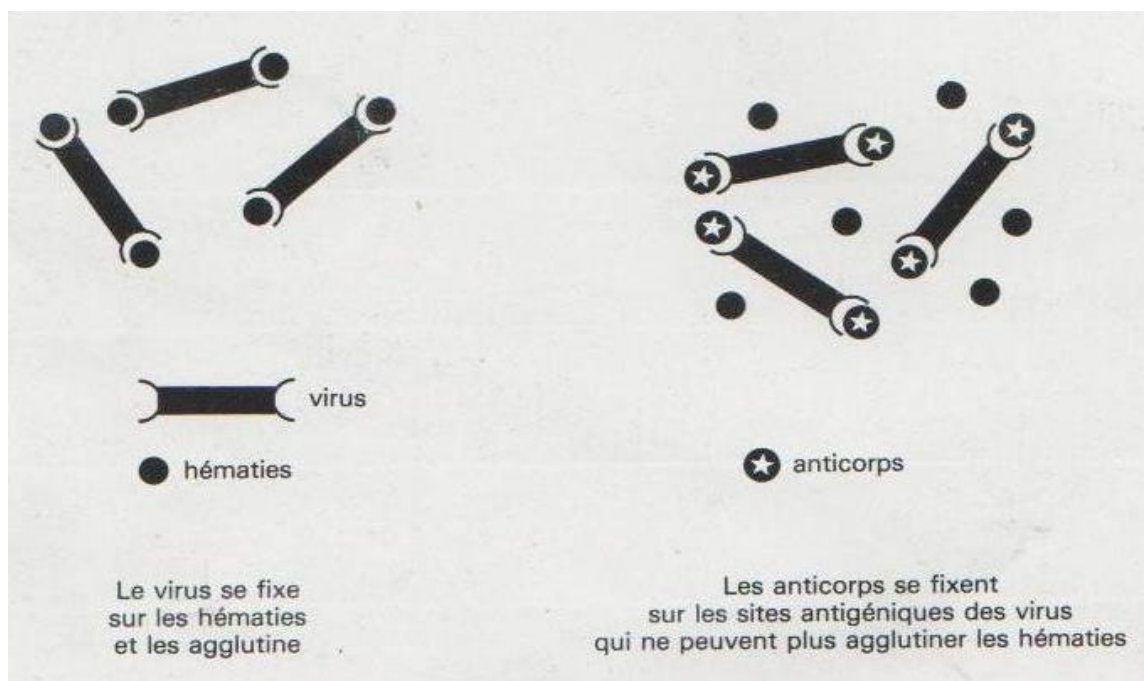


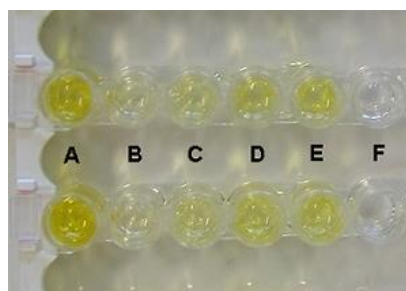
Figure 3: test d'inhibition de l'hémagglutination

4.2.3.3. Le test d'agglutination :

- Déposer deux fois 20 μL de suspension de GRM à 10 % sur des lames de microscope puis 20 μL d'immun sérum de lapin en face de la première et 20 μL de sérum de lapin non immunisé en face de la seconde.
- Si on ne dispose pas de pipette de précision, déposer une goutte de chaque solution avec une pipette Pasteur ou une seringue jetable.
- Agiter quelques instants par rotation de la lame.
- L'agglutination des globules rouges ne se produit qu'avec le sérum provenant d'un animal immunisé contre les GRM montrant ainsi la présence d'anticorps spécifique anti-GR.

4.2.3.4. Test ELISA (ANONYME ,avril 2007)

- Déposer dans les puits 100 μL des solutions témoins (témoin positif : lactoglobuline à 100 ng.mL^{-1} , témoin négatif : eau) et des solutions à tester (lait de vache : 1 goutte de lait diluée dans 1 L d'eau distillée, extrait quelconque soupçonné de contenir la protéine, etc.).
- Ajouter 100 μL d'anticorps traceur (conjugué à une enzyme, l'acétylcholinestérase) dans chaque puits.
- Incuber 30 min à la température ambiante.
- Vider les puits en retournant les barrettes et les rincer avec une pissette d'eau distillée pour éliminer l'excès d'anticorps.
- Vider l'eau de rinçage.
- Déposer dans chaque puits 200 μL de réactif d'Ellman (substrat de l'acétylcholinestérase).
- Incuber 10 min à température ambiante.
- Une réaction positive se traduit par une coloration jaunâtre.



4.2.4. Le dosage biochimique**4.2.4.1. Dosage du glucose :**

-On prend 3tubes :

Tube témoin : 1ml de solution tompon.

Tube standard : 1ml tompon + 0.01ml de solution glucose.

Echantillon : 1ml de solution tompon +100µlde l'échantillon.

-agiter à l'aide d'un vortex.

-incuber 30mn à 25c°.

-faire la lecture par un spectrophotomètre :

$$[\text{Glucose}] = \text{densité optique de l'échantillon} / \text{densité optique du standard} * [\text{standard}]$$

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE V

MATERIELS ET METHODES

LE BUT DE L'EPERIMENTATION

Le but de l'expérimentation est de mesurer l'impact de l'échantillon sur le résultat du diagnostic. Pour cela on s'est déplacé dans un bâtiment d'élevage de poules pondeuses en production depuis 9mois pour effectuer des prélèvements sanguins dans des tubes héparinés.



Figure 38: Bâtiment d'élevage vue externe



Figure 39: lieu de stockage de l'aliment



Figure 40: l'intérieur du bâtiment d'élevage



Figure 41: poules pondeuses en batterie

Les échantillons ont été envoyés au laboratoire pour un titrage d'anticorps spécifiques newcastle. La durée et la température de conservation varient d'un échantillon à l'autre :

- Premier cas :

L'échantillon transporté en glacière à $+4\text{ C}^{\circ}$ et envoyé directement au laboratoire.

-Deuxième cas :

L'échantillon est stocké à la température ambiante pendant 10 jours.

-Troisième cas :

L'échantillon est stocké à une température $> +4\text{ C}^{\circ}$

1-Matériels

Pour effectuer les prélèvements on a prévu le matériel suivant :

- Vaccinostyle pour inciser la veine alaire.
- Du coton et de l'alcool chirurgical pour désinfecter.
- Des tubes héparinés pour récolter le sang.
- Une glacière pour conserver les échantillons à 4 C°.



2-technique du prélèvement

- Plumer l'aile pour mettre en évidence la veine alaire.



-Désinfecter l'endroit par de l'alcool chirurgical.



-A l'aide d'un vaccinostyle on réalise une petite incision au niveau de la veine alaire.



-ensuite on récolte le sang dans un tube hépariné.



-Secouer le tube.



-Refaire la même chose avec le reste des tubes.



-Mettre les tubes dans une glacière.

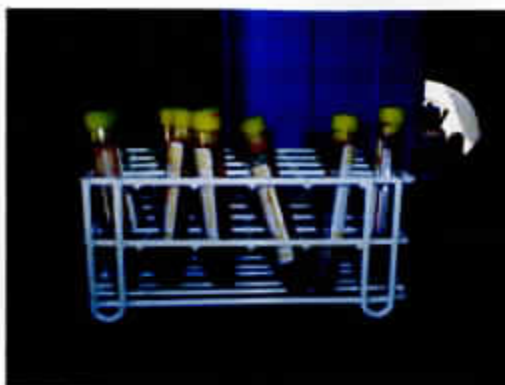


3-Le test d'inhibition de l'hémagglutination

La réaction d'inhibition de l'hémagglutination virale met en jeu, dans un premier temps un virus et des Anticorps antiviral dirigés contre l'hémagglutinine du virus, et dans un deuxième temps des hématies qui portent des récepteurs pour cette hémagglutinine.

CHAPITRE VI
RESULTATS ET
INTERPRETATIONS

1-Le premier cas



- Le sang prélevé dans des tubes héparines et envoyé directement au laboratoire.
- Echantillon : 3tubes.
- Transport : en glacière à 4 C° environ.
- Le lieu : Draa ben kheddah.
- Prélèvement conforme.
- analyses demandées : HIT

Résultat :

Le titrage d'anticorps spécifiques de Newcastle est de :

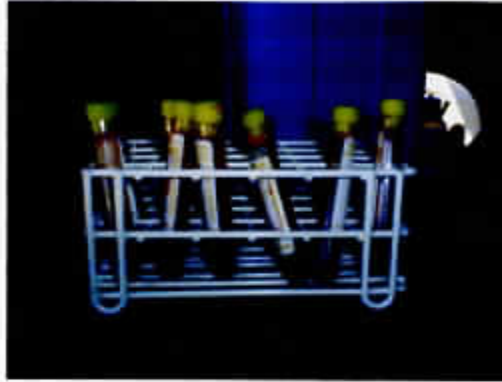
1/128 - 1/32 - 1/16

Interprétation des résultats :

S'agissant d'une poule pondeuse en production depuis 9 mois. Les faibles taux d'anticorps 1/32, 1/16 sont acceptables puisque les anticorps issus d'une vaccination régressent avec l'âge a condition de ne pas vacciner entre temps.

Pour le tube : 1/128 est un peu élevé pour l'âge de la poule .cette hausse légère d'anticorps pouvant s'expliquer par le passage d'un virus sauvage sans effet sur le niveau de production.

2-le deuxième cas



- sang prélevé en tube hépariné.
- échantillon : 3tubes.
- lieu : Draa ben kheddah.
- stockage de l'échantillon à température ambiante pendant 10jours.
- échantillon non conforme et refusé par le laboratoire.

Résultat :

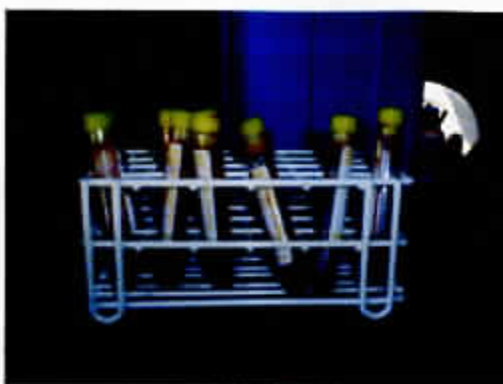
- modification de la couleur du sang (rose claire).
- formation d'un culot au fond du tube.

Interprétation du résultat :

Ce sang a subi une érythrolyse avec libération d'enzyme intra-erythrocytaire et début de digestion du sérum qui reste, considère comme milieu de culture.

Cette altération est probablement aggravée par une contamination bactérienne de l'échantillon lors du prélèvement.

3-Troisième cas



- sang prélevé dans un tube hépariné.
- échantillon : 3 tubes.
- non respect de la norme température.

Résultat :

- l'échantillon semble être moisi et altéré.
- un léger dépôt blanchâtre au fond du tube mais moins prononcé que précédemment.
- la couleur du tube est plus foncée que précédemment.

Interprétation du résultat :

- la conservation de l'échantillon par le froid semble être un élément déterminant pour la préservation de l'échantillon.
- l'hémolyse est donc conditionnée par le non respect de la chaîne du froid de l'échantillon.

CONCLUSION

Cette étude nous a permis d'identifier les différentes phases de diagnostic en pathologie aviaire qui sont : en premier la clinique qui reste une étape de suspicion vu la présence de symptômes cliniques communs entre les différentes pathologies, ensuite la nécropsie qui reste un paramètre insuffisant pour confirmer une pathologie et enfin le laboratoire qui pose ses exigences qui sont d'ordre qualitatif (qualité du prélèvement).

De cette étude succincte, nous concluons qu'une investigation dans le diagnostic n'a de portée technico-économique positive qu'à travers le respect des phases cliniques, necropsiques et de laboratoire.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANONYME ,2007 :<http://www.exopol.com/fr/toma.fr.html>„mars 2007

ANONYME ,2007 :<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/immu6ell.htm>„30 avril 2007

BELKAID, M et TABET, MERRAZ, O et AMRIOUI, B et ZENAIDI, N et BAHBOU, M: Diagnostic de laboratoire en parasitologie, tom1

DIDIER VILLATE, 2001:Maladies des volailles, dextieme édition

GUY-RIERRE MARTINEAU et JEAN -LUC GUERIN et JEAN -YVES DOUET ,02-01-2007: Clinique des élevages avicoles et porcins

INMV, octobre 1997:guide des méthodes de prélèvements en médecine vétérinaire

JEANNE BRUGERE-PICOUX et AMER SILIM, avril 1992 : Manuel de pathologie aviaire, Première édition

MERCK SHARP et DOHME: manuel d'aviculture

R, R TRIKI YAMANI, avril 2006 : Magvet pathologie aviaire Numéro 54

Résumé

Le diagnostic est une étape préliminaire pour mettre en œuvre un traitement efficace. En pathologie aviaire, le diagnostic repose sur trois phases : la phase clinique, la phase necropsique, et enfin le laboratoire. Ces étapes sont étroitement interdépendantes.

Le non respect de cette chronologie peut nous induire en erreur.

La qualité des résultats du laboratoire dépend des prélèvements effectués et reçus, le non respect de la température et de la durée de conservation peut engendrer de mauvaises interprétations des résultats et entraîner des prises de décisions inadéquates.

Summary

The diagnosis is a preliminary stage to implement an effective treatment. In avian pathology, the diagnosis rests on three phases: the clinical phase, the necropsique phase, and finally the laboratory. These stages are narrowly interdependent .the not respect of this chronology can induce us in error.

The quality of the results of the laboratory depends on the taking away carried out and receipts, the not respect of the temperature and the shelf life can generate bad interpretations of the results and involve inadequate decision-makings.

ملخص

في علم امراض الدواجن التشخيص يعتمد على 3 مراحل : مرحلة الاعراض مرحلة التشريح و اخيراالمخبر. ان هذه المراحل مرتبطة ببعضها البعض و اهمال اي مرحلة قد يؤدي الى ارتكاب الاخطاء.

ان نتائج المخبر تعتمد على نوعية العينات. ان عدم احترام درجة الحرارة و مدة الاحتفاظ قد يؤدي الى تفسيرات خاطئة و منه الى قرارات علاجية غير مناسبة.