

Webinaire

La perfusion intra-cardiaque chez les rongeurs de laboratoire

Groupe de travail PICTURE

Perfusion Intra-Cardiaque Uniformisation et Raffinement des Expérimentations

AFSTAL ComVet - MESR - FC3R



Damien Gervasoni
Susana Gomez
Stephan Langonnet
Elisabeth Normand
Myriam Rouahi
Delphine Roussel

gt.picture@fc3r.com

Qu'est-ce que la **perfusion intra-cardiaque terminale** et pourquoi est-elle pratiquée?

C'est une technique qui permet de faire circuler, via le cœur qui bat ou non, des liquides physiologiques ou de fixation dans tout l'organisme en utilisant la circulation sanguine pour les faire pénétrer au sein des tissus et des organes. Elle nécessite une thoracotomie.

Elle est pratiquée pour la préparation d'échantillons

*pour des techniques histologiques et immunohistochimiques
observables par différentes techniques de microscopie

- ✓ plein champ
- ✓ à fluorescence
- ✓ confocale,
- ✓ électronique

*pour des techniques d'électrophysiologie ex vivo sur tranches aiguës de cerveau.

* pour des techniques de biologie cellulaire (analyse FACS, tri cellulaire,...)



La pratique de la perfusion intra-cardiaque ante mortem nécessite

- 1) d'être formé à l'expérimentation animale
- 2) une autorisation de projet délivrée par le MESR suite à un avis favorable du Comité d'éthique en expérimentation animale dont dépend l'EU dans laquelle elle est pratiquée

Ce cadre a été renforcé depuis la recommandation de la CNEA du 7/12/21 :

<https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/sites/default/files/2022-05/recommandation-concernant-la-perfusion-intra-cardiaque-7-d-cembre-2021--18176.pdf>

La perfusion intracardiaque une **procédure chirurgicale à part entière** et réalisée sous anesthésie générale (conforme aux bonnes pratiques et à la définition chirurgicale de l'anesthésie incluant narcose, myorelaxation ET analgésie) par un personnel dûment qualifié.



Pour la pratiquer , **il faut** la formation réglementaire à la chirurgie expérimentale



Pourrait-on s'affranchir de la perfusion ante mortem (sur cœur battant)?

Le cœur battant au moment de la perfusion est-il un **point indispensable, un élément clé** pour obtenir les résultats scientifiques escomptés?

Ses résultats peuvent-il être obtenus si **le cœur est arrêté** donc si l'animal est mort dans l'impossibilité de ressentir de la douleur?

Est-ce que c'est possible : **jamais ? toujours ? parfois?**

Sur quel critères ?

- * Le type d'organes à étudier
- * Le type d'organites à étudier
- * L'échelle d'étude de l'échantillon (macroscopique, microscopique)
- * Les techniques mises en œuvre
 - * histologie
 - * Immunohistologie avec ou sans fluorescence
 - le type d'Anti corps utilisés
 - le type d'Antigènes recherchés (abondance , localisation)
 - * Electrophysiologie
 - * Autres



L'objectif du groupe PICTURE

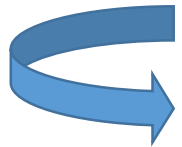
1- **Préparer** un guide de bonnes pratiques pour la perfusion intra-cardiaque *ante mortem*.

Analgésie
Anesthésie

2- **Promouvoir et diffuser** des protocoles de perfusion *post-mortem* et l'utilisation des échantillons recueillis

3- **Identifier** toutes les actions locales sur le sujet

4- **Recenser** des données déjà acquises pour leur valorisation



1ere étape de recensement des pratiques à travers un questionnaire en ligne

L'objectif du ce webinaire, suite au recueil des 400 réponses au questionnaire

1 –Donner des informations

*sur la perception, la prise en charge de la douleur de l'animal au cours de cette chirurgie thoracique

*les critères physiologiques qui définissent la mort

Volet
« vétérinaire »

2- Après la perfusion....

Volet
« Traitement des
échantillons »

3- présentation de travaux de comparaison de résultats obtenus avec « cœur battant » versus « cœur arrêté »



Prélèvement d'échantillons sans perfusion intra-cardiaque

Euthanasie

Dissection et prélèvement d'échantillons

Immersion dans du fixateur

Coupes
✓ au cryostat
✓ Au vibratome
✓ A la paraffine

*Faisable pour des petites pièces
*Possible effet de bord suite à un gradient de fixation

Prélèvement d'échantillons avec perfusion intra-cardiaque

Anesthésie
Cœur battant

Euthanasie

Définition de la mort

Chirurgie thoracique

- Incision abdominale
- Ouverture du diaphragme
- Découpage des côtes
- Incision de l'oreillette droite
- Introduction d'une canule/aiguille dans le ventricule gauche
- Passage des liquides

Permet l'élimination complète des hématies

Liquide physiologique

Fixateur

Avec ou sans l'héparine (anticoagulant)

Post fixation éventuelle par immersion dans du fixateur

Coupes
✓ au cryostat
✓ Au vibratome
✓ A la paraffine
✓ ultrafine

Avec une pompe

Avec une potence

Avec une seringue

Contrôle du débit et pression des liquides

Histologie

IHC à la DAB

Microscopie plein champ

IHC fluo

épifluorescence

Microscopie confocale

Microscopie électronique

Volet
« vétérinaire »

Merci de votre attention, le parole est à Damien Gervasoni



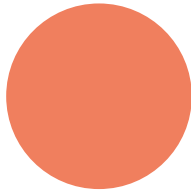


GT-PICTURE

Faits marquants de l'enquête nationale

Damien Gervasoni

Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon
Comité d'Ethique en Expérimentation Animale
de l'Université Claude Bernard



Faits marquants de l'enquête nationale

Objectif : Recenser les pratiques, cerner leur contexte et leurs modalités de réalisation

- **Questionnaire en ligne du 11/12/2023 au 15/02/2024**
 - 413 réponses complètes
 - **322 réponses déclarant une pratique de la perfusion intracardiaque ~78%**
 - 90 répondants ont accepté d'être recontactés
- **Le panel en bref**
 - Toutes régions, majoritairement : Ile de France, Auvergne-Rhône-Alpes, Occitanie, Nouvelle Aquitaine, Provence-Alpes-Côte d'Azur, Grand-Est, Centre Val-de-Loire
 - Etablissements publics (>94%)
 - Pratique de la perfusion intracardiaque :
 - Très fréquemment (plusieurs fois par semaine) : 7%
 - Fréquemment (plusieurs fois par mois) : 46%
 - Rarement (quelques fois par an) : 47%

Faits marquants de l'enquête nationale

Objectif : Recenser les pratiques, cerner leur contexte et leurs modalités de réalisation

- **Espèces cibles (Plusieurs réponses possibles)**
 - **Souris : 88.2%**
 - Rats : 26,4%
 - Autres (<2,5%) : Primate non humain, Hamsters, Amphibiens, Oiseaux, Poissons, Reptile
- **Animal entier ? 78,6%**

Faits marquants de l'enquête nationale

Objectif : Recenser les pratiques, cerner leur contexte et leurs modalités de réalisation

- **Vous faites cette perfusion pour la préparation d'échantillons à des techniques de (plusieurs réponses possibles):**
 - Préparation de coupes (cryostat, vibratome, ultamicrotome, autre) : **82,6%**
 - Techniques (coloration, immunohistochimie, DAB ou fluorescence, autre) : **84,4%**
 - Microscopie (plein champ, à fluorescence, confocale, autre) : **68,0%**
 - Électrophysiologie sur des tranches de cerveau : 9,6%
- **Quels types de liquides sont perfusés (plusieurs réponses possibles)**
 - Liquide physiologique : **84,8%**
 - Liquide fixateur : **83,9%**
 - Autre (9 réponses libres) dont tampon HEPES+EDTA+collagénase, eau distillée, agent de contraste, PBS

Faits marquants de l'enquête nationale

Objectif : Recenser les pratiques, cerner leur contexte et leurs modalités de réalisation

- **Organe(s) prélevé(s) à l'issue de la perfusion (plusieurs réponses possibles)**
Cerveau (85,4%), foie (22,4%), rein (13,7%), rate (13,0%), intestin (12,7%), poumon (11,5%), cœur (10,2%), pancréas (5,%), estomac (3,1%), vessie (0,9%)
Autres dont moëlle épinière, vaisseaux, muscles, tissus adipeux blanc et brun, organes reproducteurs et gonades, yeux, oreilles, ...
- **La procédure de perfusion intracardiaque (ouverture du thorax) commence : (plusieurs réponses possibles)**
 - sur animal anesthésié vivant (cœur battant) : **84,8%**
 - sur animal mort (juste après le constat de l'arrêt de battements cardiaques) : **22,7%**

Faits marquants de l'enquête nationale

Objectif : Recenser les pratiques, cerner leur contexte et leurs modalités de réalisation

- **Le choix de la méthode de perfusion a été fait car : (plusieurs réponses possibles):**
 - Celle pratiquée depuis toujours dans l'établissement / l'équipe / l'Unité / l'animalerie : **85,7%**
 - Directement appliquée à partir d'une publication / d'un ouvrage scientifique : 26,1%
 - Développée spécifiquement pour répondre à un besoin particulier de l'étude : **39,8%**
 - Autre : 23 réponses libres dont *Essais comparatifs en faveur du cœur battant (7), usage commun « Comme on m'a appris » / « Habitude de l'équipe » (5), homogénéité de pratique entre équipes (2), absence d'alternative pour fixer les tissus (2)*

Faits marquants de l'enquête nationale

Perfusion sur animal vivant (à « cœur battant »)

- **Dans le cas d'expériences sur animal anesthésie vivant (cœur battant), quels arguments scientifiques avancez-vous pour expliquer cette technique ? (réponses libres)**
 - Obtenir une bonne perfusion tissulaire : 33.82%
 - Exsanguination / Eliminer les hématies / Eviter la coagulation : 30,5%
 - Obtenir une fixation rapide « en l'état » : 17%
 - Viabilité / Maintien en vie des cellules : 5,9%
 - Qualité histologique pour analyses ultérieures : 3,3%
 - Réalisation d'un prélèvement de sang : 2%
 - Aucun : 4,1%

Faits marquants de l'enquête nationale

Perfusion sur animal vivant (à « cœur battant »)

- **Quel type d'anesthésie utilisez-vous ? (plusieurs réponses possibles):**
 - Kétamine/Xylazine : **59,9%**
 - Isoflurane : 29,5%
 - Autres : 56 réponses libres dont
Médicament euthanasique à base de pentobarbital* (25), pentobarbital (12),
Tilétamine/Zolazepam ** seul ou additionné (7), Thiopental (2), Cryoanesthésie (1), Alfaxalone (1),
Uréthane (1), Alcool ou éther (1)

* Préparation de type Exagon[®], Euthasol[®], Dolethal[®], Euthoxin[®],...

** Zoletil[®]

Faits marquants de l'enquête nationale

Perfusion sur animal vivant (à « cœur battant »)

- **Quel(s) antalgique(s) utilisez-vous ? (plusieurs réponses possibles):**
 - Morphinique et substances apparentées (buprénorphine, fentanyl, sufentanil, ...) : **24,2%**
 - Anesthésique local (lidocaïne, bupivacaïne,...) : 13,3%
 - Anti-inflammatoire Non Stéroïdien (ibuprofène, kétoprofène, meloxicam, diclofénac,...) : 8,4%
 - Aucun : 46,6%

Faits marquants de l'enquête nationale

Perfusion intra-cardiaque post-mortem

- **Procédures sur animal mort : quel type de molécule utilisez-vous ?**
 - Médicament euthanasique à base de pentobarbital : 46,6%
 - Kétamine / Xylazine : 31,4%
 - Autre : 13 réponses libres dont CO2, dislocation cervicale, décapitation, kétamine / médétomidine, isoflurane.
- **Critère(s) utilisés pour considérer que l'animal est mort ?**
 - Arrêt cardio-respiratoire (20,8%)
 - Autres : 14 réponses libres, dont absence de réflexes, absence de retrait au pincement, absence de réflexe palpébral, dislocation cervicale.

Faits marquants de l'enquête nationale

Première synthèse

- **Les perfusions intracardiaques sont réalisées majoritairement**
 - sur animaux vivants anesthésiés
 - en vue de prélever des organes d'intérêt, principalement le cerveau
 - à l'aide de liquides physiologiques et de produits fixateurs (PFA)
- **Un antalgique de type morphinique est utilisé dans un peu moins de 25% des cas**

Perfusion Intracardiaque Terminale

Pistes de réflexion

- Réalisée à cœur battant, la perfusion intracardiaque terminale est une intervention chirurgicale(*)
 - Elle implique une ouverture de grande cavité et la nociception associée
 - Elle entraîne la mort de l'animal par exsanguination
 - Jusqu'à confirmation de la mort de l'animal, profondeur et maintien de la narcose doivent être adaptés pour garantir l'absence, même partielle, de reprise de conscience de l'animal, et les mesures d'analgésie doivent être adaptées pour garantir l'absence de nociception(**)
- Tout doit être mis en œuvre pour qu'elle se fasse sans causer de souffrance physique ou mentale à l'animal.
- Méthodologie adaptée
 - Qualification et compétence de l'opérateur

www. * Recommandation CNEA concernant la perfusion intra-cardiaque (7 décembre 2021)

www. ** Recommandation CNEA concernant les procédures ou actes sans réveil (10 avril 2024)

Perfusion Intracardiaque Terminale

Pistes de réflexion

Le choix de réaliser une perfusion « à cœur battant » doit s'appuyer sur une démarche incluant des considérations éthiques et scientifiques = réflexion préalable.

Caractère de stricte nécessité :

- **sur la base d'arguments scientifiques tangibles démontrant l'impossibilité de procéder post-mortem pour le but recherché.**
- la décision de procéder à cœur battant ne devrait pas s'appuyer sur une habitude, un historique de pratique, des idées reçues ou concepts purement théoriques.

Prise en compte de la sensibilité animale

- Choix de méthodes les moins délétères pour l'animal (Art R.214-95 CRPM) : voie d'administration des anesthésiques, limitation au minimum des gestes et interventions qui génèrent douleur et inconfort dont incisions, ponctions, pincements, déplacement de viscères, positionnement de l'animal, extension des membres, ...).
- Impact du transport des manipulations/contentions préalables à la perfusion
- Impact de la mort de l'individu sur les autres animaux de son groupe (perturbation sociales, disparition de marques olfactives, ...)
- Pièce dédiée (paramètres d'ambiance) équipée (hotte ou table) et instruments chirurgicaux adaptés à l'espèce et en bon état.

Perfusion Intracardiaque Terminale

Pistes de réflexion

Le choix de réaliser une perfusion « à cœur battant » doit s'appuyer sur une démarche éthique et scientifique = réflexion préalable.

Prise en compte de la sensibilité de l'opérateur

- Hygiène et sécurité (risques associés aux produits et outils employés, à l'espèce utilisée/modèle, EPI)
- Préparation minutieuse de l'intervention
- Planification permettant une réalisation sereine, efficace et respectueuse
- Compte-rendu, debriefing, écoute et accompagnement de la personne vis-à-vis de la mise à mort d'animaux

La perfusion intracardiaque doit permettre d'atteindre l'objectif scientifique visé :

- Temps écoulé entre l'induction de l'anesthésie et le prélèvement
- Choix de médicaments compatibles avec l'objectif (isoflurane, barbituriques, ...)
- Prélèvement exploitable pour obtenir les informations recherchées avec le minimum de biais

Merci de votre
attention

gt.picture@fc3r.com



Inserm



INRAE



Inria

INSTITUT PASTEUR

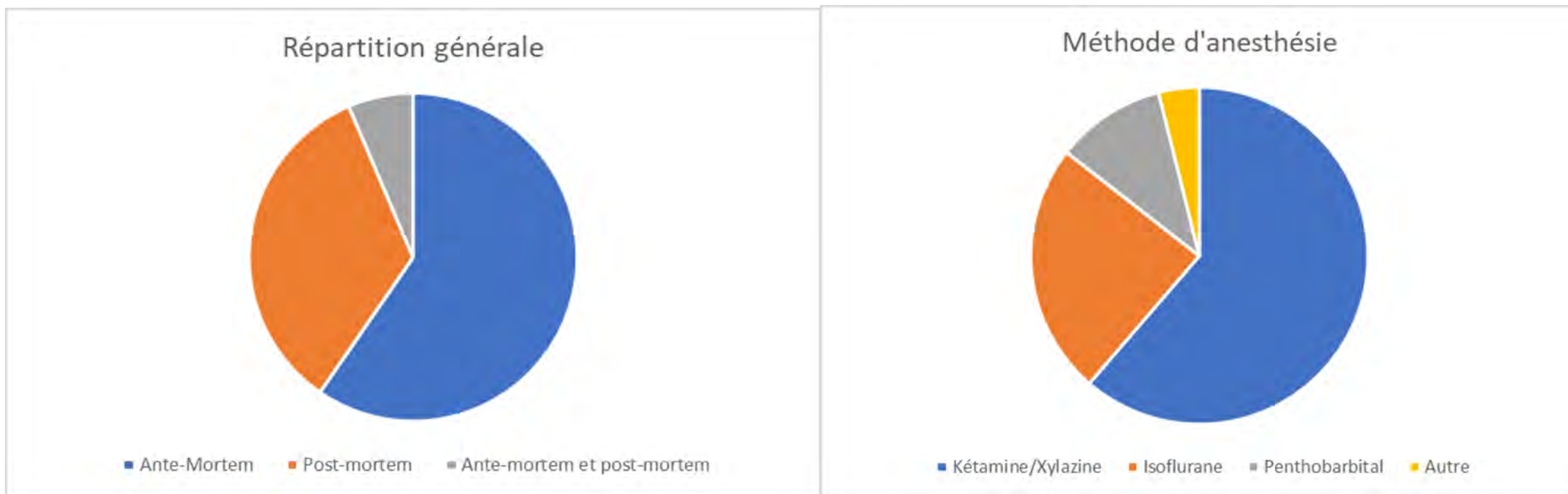
Udice French Research Universities

France Universités



Analyse du sondage GT PICTURE (Fin 2023)

Partie Anesthésie – Analgésie – Mise à mort

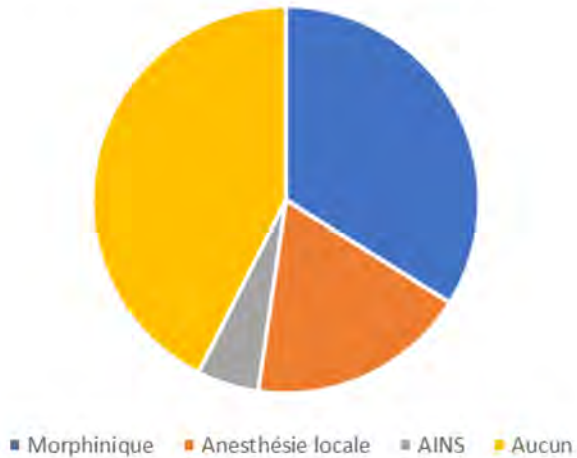


- 359 réponses
- Autre : Uréthane, Domitor, cryoanesthésie...

Analyse du sondage GT PICTURE

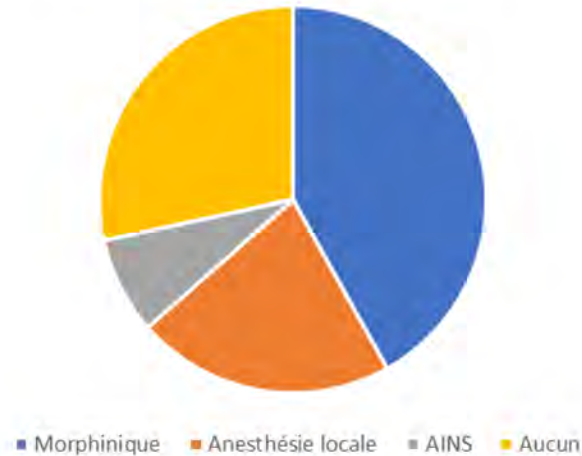
Partie Anesthésie – Analgésie – Mise à mort

Analgésie associée à la Kéta/xyla



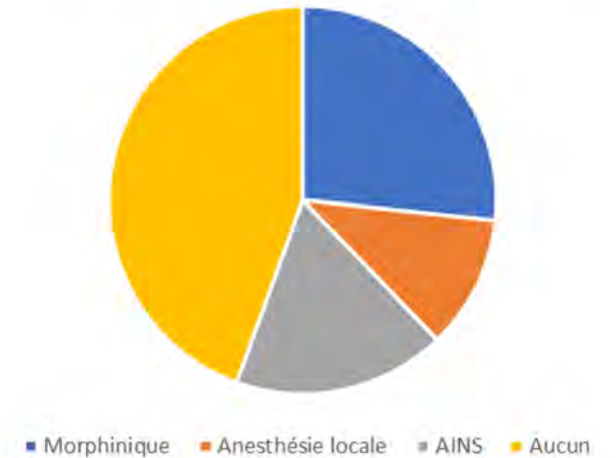
- Seuls 4/157 combinent morphinique et anesthésie locale

Analgésie associée à l'Isoflurane



- Seuls 6/62 combinent morphinique et anesthésie locale

Analgésie associées aux autres anesthésies



- Seuls 3/37 combinent morphinique et anesthésie locale

256 ante-mortem sur les 359

(Parfois confusion ante-mortem et arrêt cardi-vasculaire complet => quelques « faux » ante-mortem dans l'analyse ?)

- Morphinique : immense majorité = buprénorphine, morphinique de grade 2; non adapté pour les douleurs intenses
- Anesthésie locale : majorité lidocaïne en splash block

Bonnes pratiques

Thoracotomie : chirurgie lourde nécessitant une prise en charge de la douleur adaptée

- Ce qui devrait être fait : une analgésie multimodale puissante impliquant par exemple
 - l'usage de morphiniques forts (fentanyl, morphine)
 - La réalisation de blocs locaux
 - L'usage d'alpha-2-agonistes (xylazine)

=> Envisager un passage en post-mortem à chaque fois que cela est possible

- Raffinement des procédures, tranquillité du personnel
- Plus besoin de formation à la chirurgie
- Nécessité de détecter la mort le plus précocement possible pour être dans les meilleures conditions de réalisation (facteur temps pour la qualité des tissus)

Détection précoce de la mort

Travaux en cours

Objectif : publication de recommandations

1. Méthodes d'euthanasie recommandées

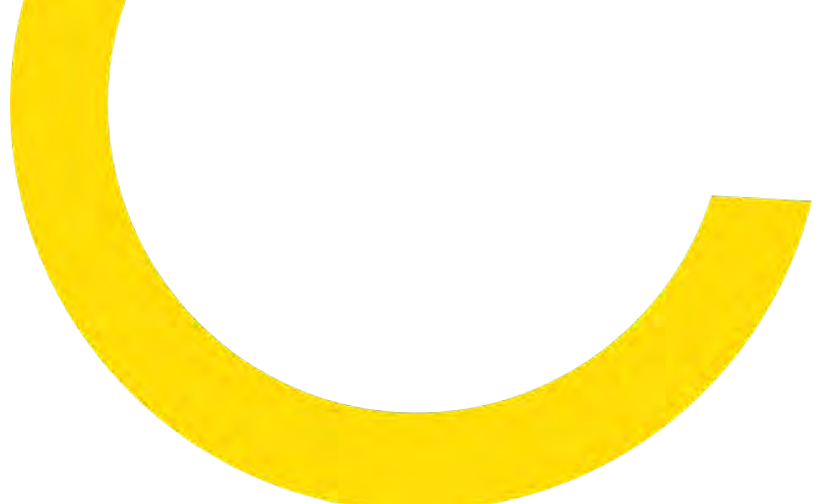
Sédation obligatoire puis injection de Pentobarbital (EuthasolND : RCP Rongeur)

2. Descriptions des séquences de modifications physiologiques

Immobilisation => EEG iso=> Arrêt respiratoire => Arrêt cardiaque
Avec t>250 secondes entre AR et AC

3. Méthodes de détection de l'arrêt respiratoire

Travail bibliographique en cours pour identifier des critères précis de détection précoce de l'arrêt respiratoire



Résultats du groupe de travail Toulousain

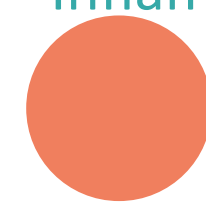
Myriam Rouahi

Faculté de Santé Toulouse

Centre de Recherche sur les Maladies

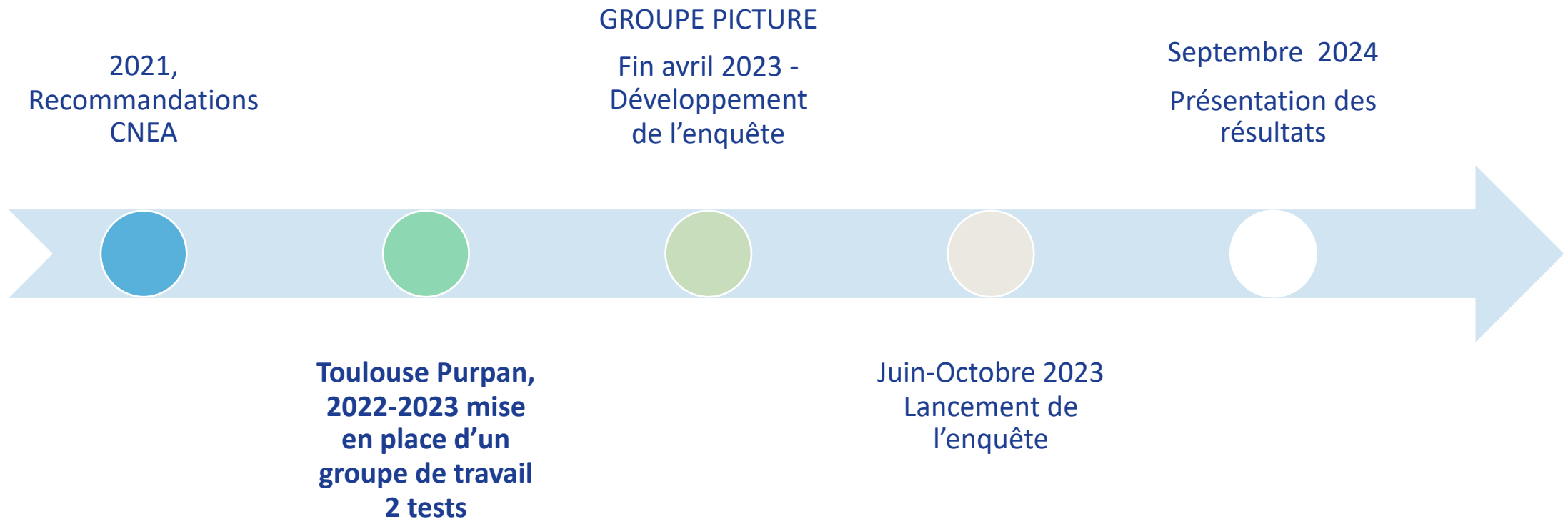
Inflammatoires et Immunitaires

(INFINITy)



Chronologie

Groupe de travail Toulousain sur la perfusion Post-mortem, est il toujours nécessaire de perfuser à cœur battant?



Test n° 1: Impact du mode de mise à mort sur l'aspect macroscopique du cerveau après PIC

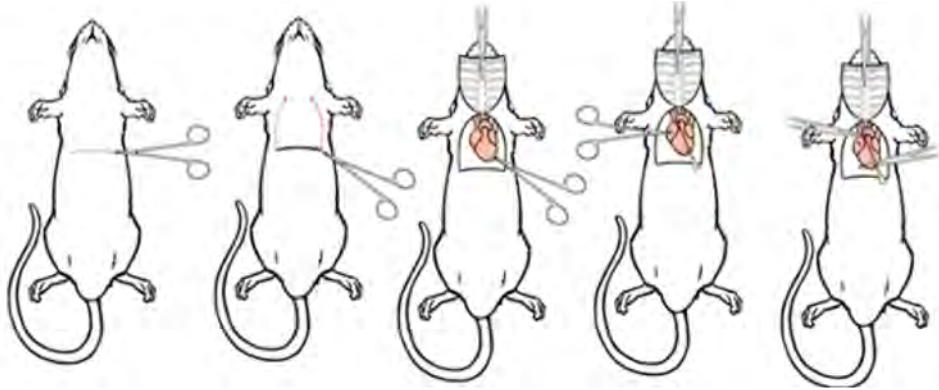
Conditions expérimentales

Méthode de perfusion IP	Liquide de rinçage + fixation	Débit de perfusion	Nb	Age des animaux	Cerveau
Kétamine/Xylasine (100/10)mg/kg	X	X	1	Adulte	
Kétamine/Xylasine (100/10)mg/kg	PBS (10ml/min)	10ml/min	2	Adulte	
Euthasol® Pentobarbital (200mg/kg)	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	
Euthasol® Pentobarbital (200mg/kg) + héparine*	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	
CO2 (Cycle de 8min)	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	
CO2 Cycle de 8min) + héparine*	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	

*IP 0,08ml héparine pour 100g de souris

Test n° 1: Impact du mode de mise à mort sur l'aspect macroscopique du cerveau après PIC

Conditions expérimentales



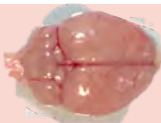
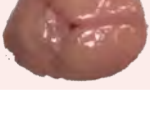
<http://jove.com/v/3564/whole-animal-perfusion-fixation-for-rodents>



Test n° 1: Impact du mode de mise à mort sur l'aspect macroscopique du cerveau après PIC



Résultat

Méthode de perfusion IP	Liquide de rinçage + fixation	Débit de perfusion	Nb	Age des animaux	Cerveau
Kétamine/Xylasine (100/10)mg/kg	X	X	1	Adulte	
Kétamine/Xylasine (100/10)mg/kg	PBS (10ml/min)	10ml/min	2	Adulte	
Euthasol® Pentobarbital (200mg/kg)	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	
Euthasol® Pentobarbital (200mg/kg) + héparine*	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	
CO2 (Cycle de 8min)	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	
CO2 Cycle de 8min) + héparine*	PBS (10ml/min)	10ml/min	1	Adulte	

*IP 0,08ml héparine 5000UI/ml pour 100g de souris

Test n° 1: Impact du mode de mise à mort sur l'aspect macroscopique du cerveau après PIC

Bilan

- + Montrer l'intérêt de la perfusion
- + La condition de perfusion post-mortem CO₂ donne la plus mauvaise efficacité de lavage du cerveau
- + Foie, rein, moins éclaircie en post-mortem
- Peu de souris/ conditions et beaucoup de conditions
- Une mauvaise prise en compte de l'analgésie de l'animal pour l'euthanasie sous Euthasol®

Test n° 2: Impact de 2 modes de mise à mort sur l'aspect microscopique des tissus après PIC

Conditions expérimentales:
2 expérimentatrices différentes

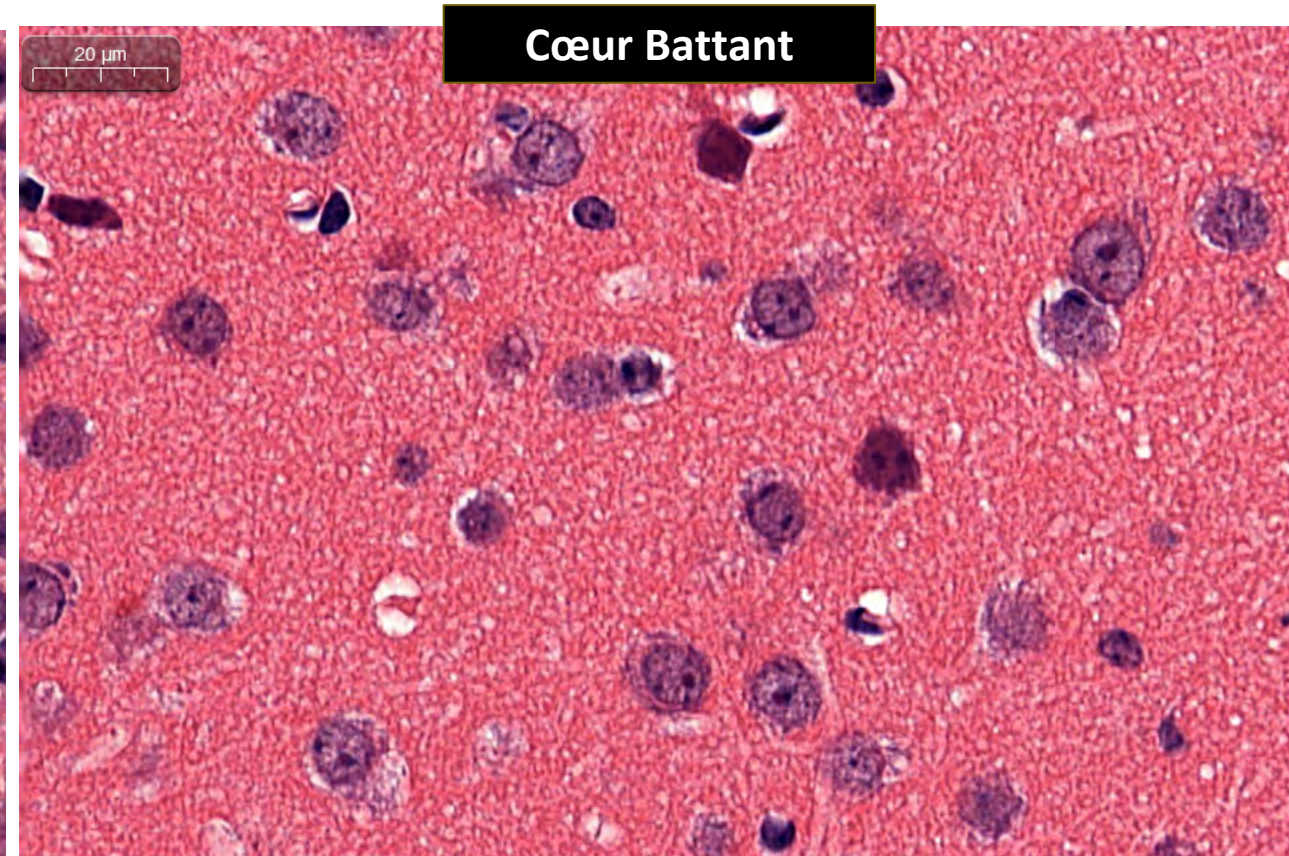
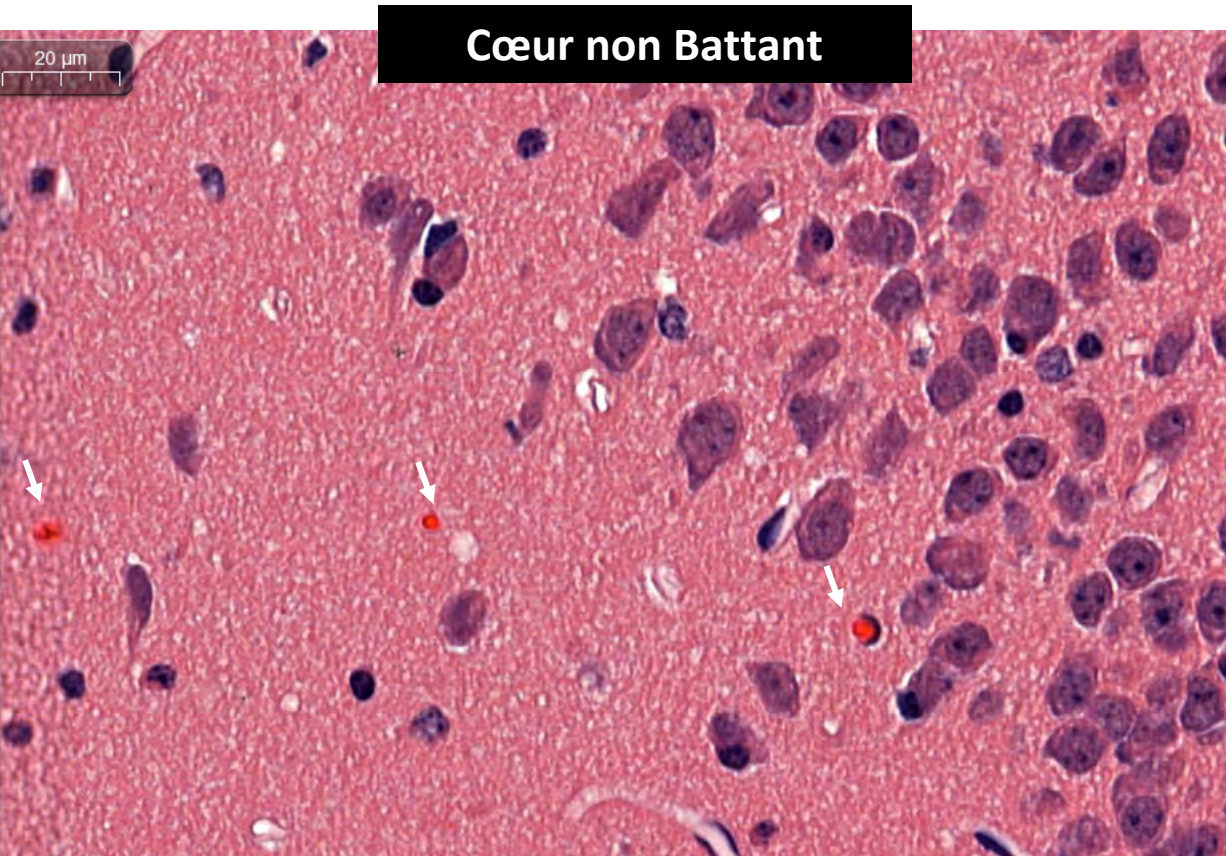


Méthode de perfusion	Liquide de rinçage + fixation	Débit de perfusion	Age des animaux	Nombre d'animaux
Kétamine/Xylasine (100/10mg/kg)	PFA 4%, 100ml	10ml/min	Adulte	2
Kétamine/Xylasine (100/10mg/kg)	PBS+ PFA 4%, 100ml	10ml/min	Adulte	2
Euthasol® Pentobarbital (200mg/kg)	PFA 4%, 100ml	10ml/min	Adulte	2
Euthasol® Pentobarbital (200mg/kg)	PBS+ PFA 4%, 100ml	10ml/min	Adulte	2

Cerveau, foie, rein, poumon

Observation de coupes de cerveau de souris

Perfusion PFA 10 min à 10ml/min



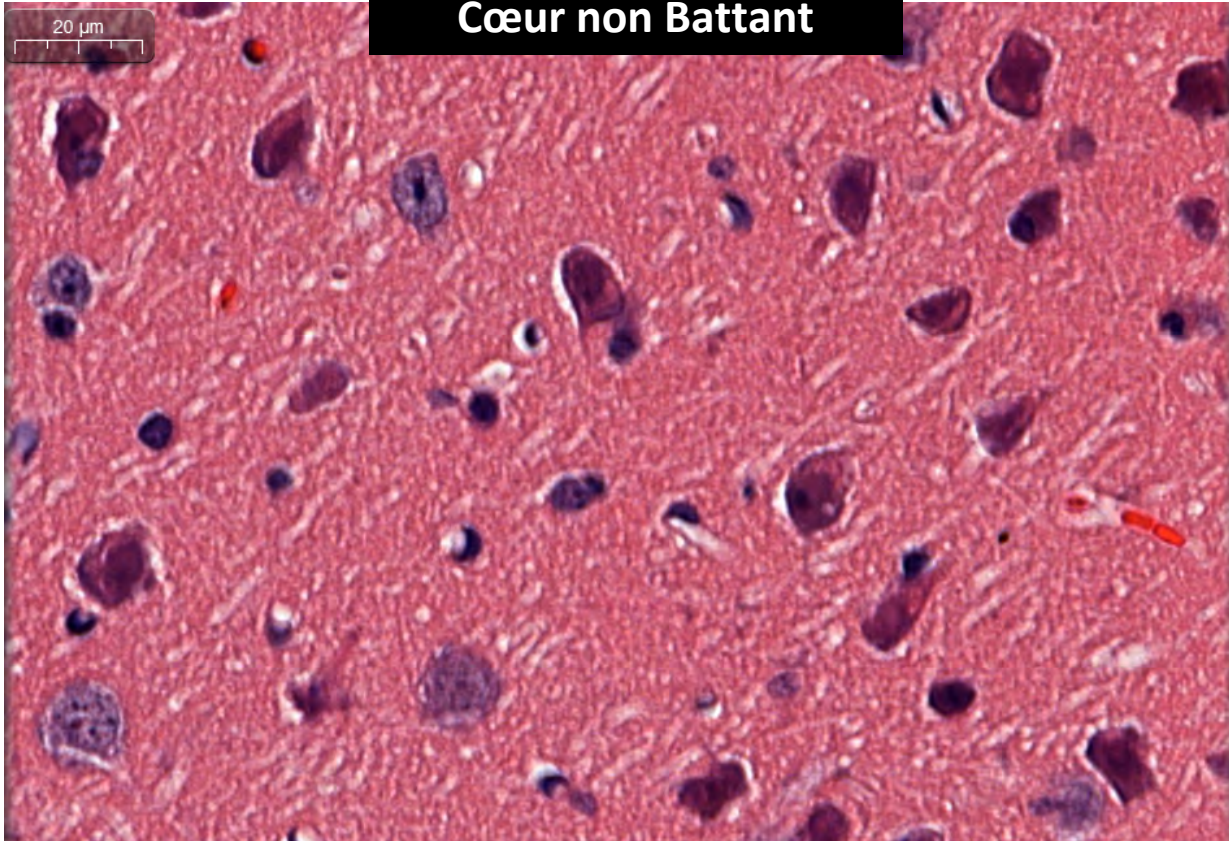
Beaucoup plus de GR visibles sur les coupes cerveau de souris cœur non battant

Observation de coupes de cerveau de souris

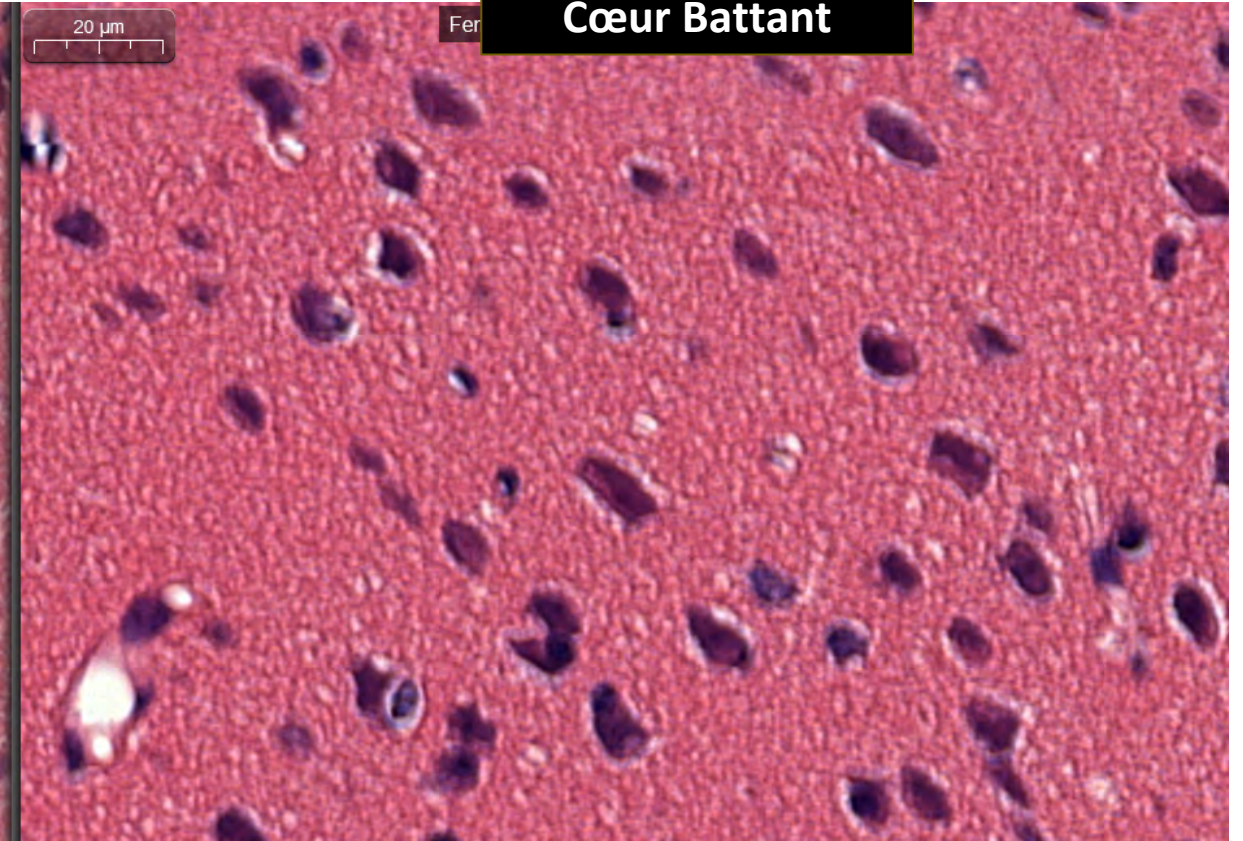
Perfusion PBS (10ml/min), 10min suivi de PFA 10 min à 10ml/min



Cœur non Battant



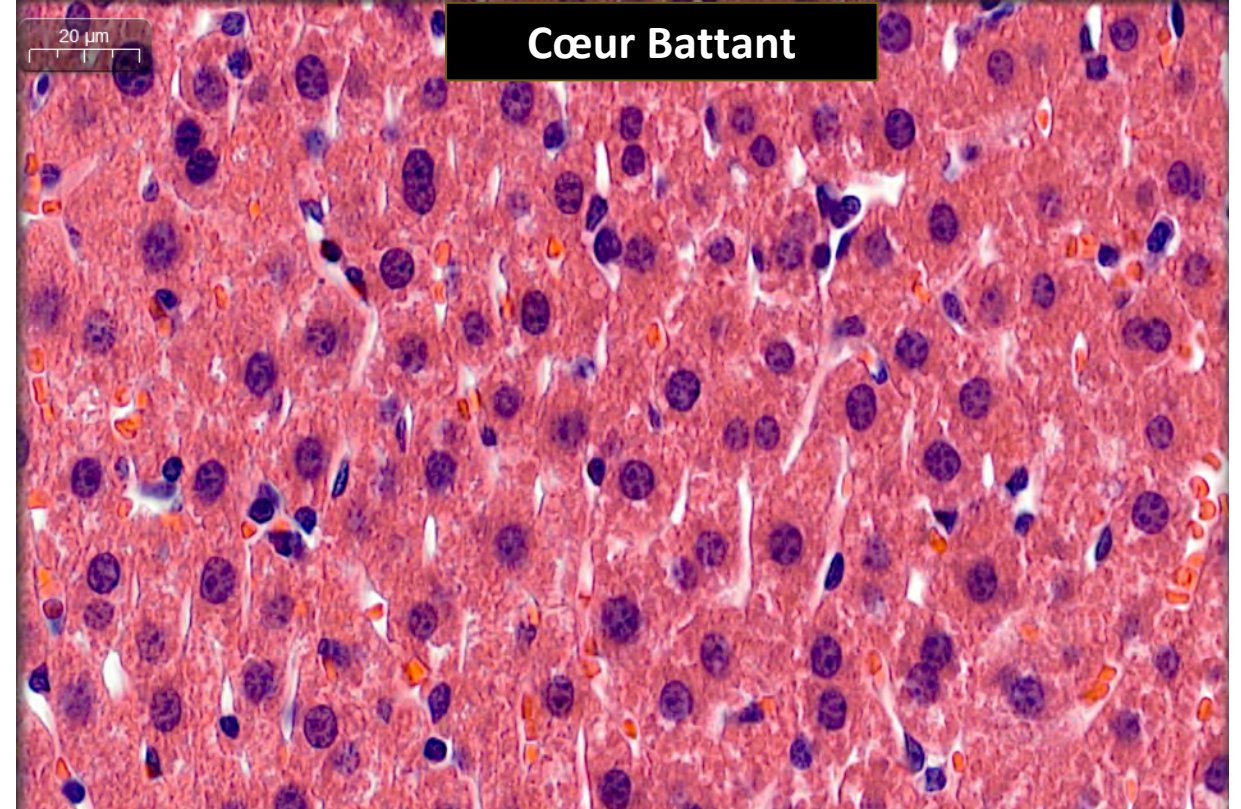
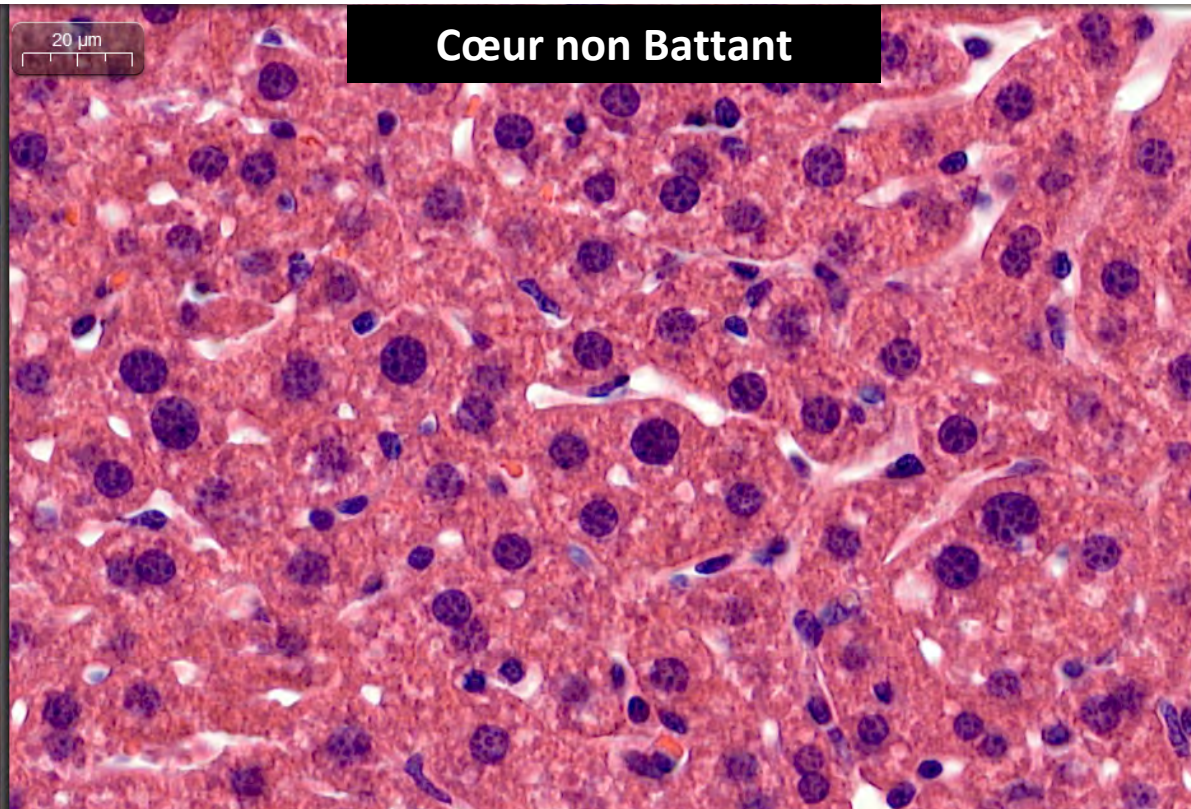
Cœur Battant



Pas de différences sur la présence de « dark neurones » + de GR sur cœur non battant

Observation de coupes de foie de souris

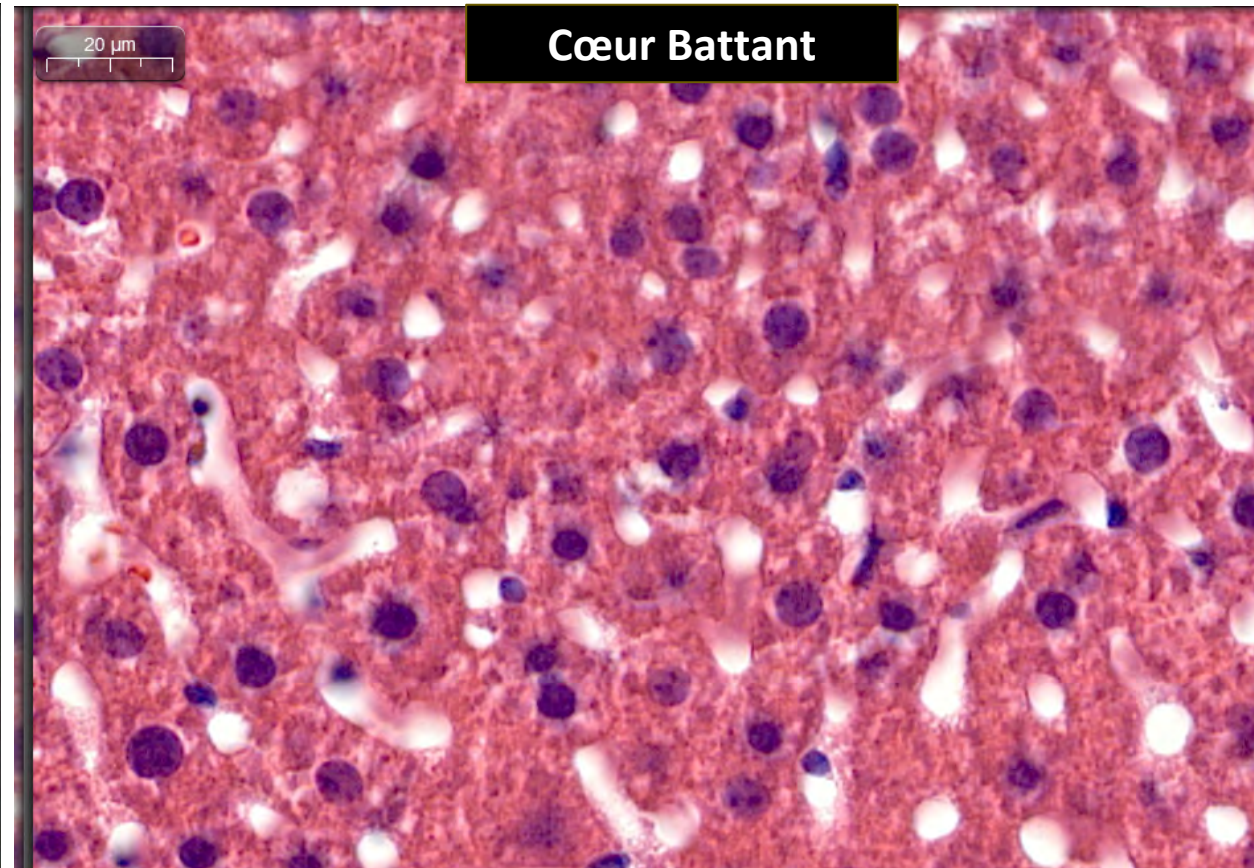
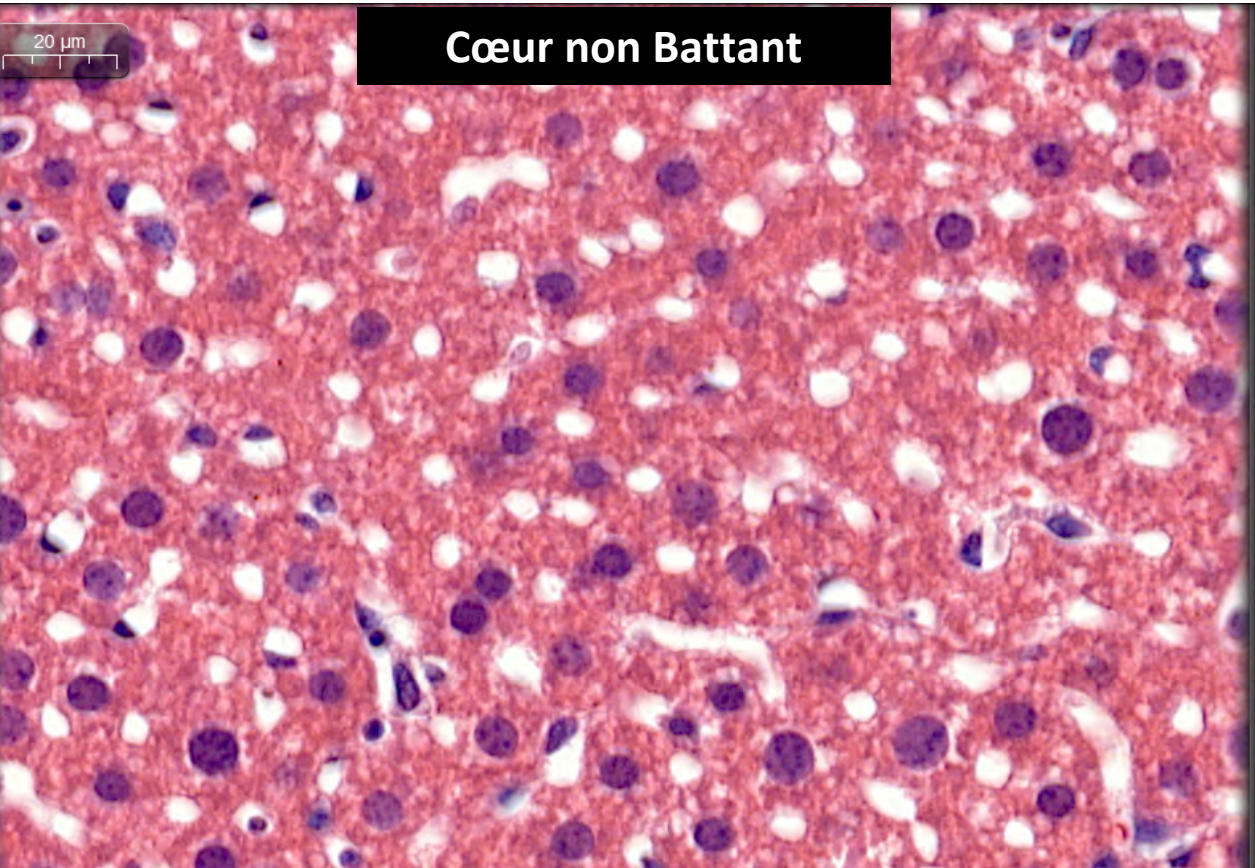
Perfusion PBS (10ml/min)



Pas de différence d'altération des cellules et pas de différences sur la présence de GR

Observation de coupes de foie de souris

Perfusion PBS (10ml/min), 10min suivi de PFA 10 min à 10ml/min



Pas de différence d'altération des cellules et pas de différences sur la présence de GR

Test n° 2: Impact de 2 modes de mise à mort sur l'aspect microscopique des tissus après PIC

Bilan

Le cerveau:

Plus de globules rouges visible sur cœur non battant

**Pas de différences sur la présence d'un type de marqueurs de l'apoptose des neurones
« les darks neurones »**

Pour les organes périphériques:

Différences pas de différences au niveau microscopique pour le foie (idem rein et poumon, non montré)

Bilan du groupe Toulousain PIC

On ne peut pas être catégorique sur nos résultats mais que dans nos conditions expérimentales:

Perfuser pour éliminer ou réduire la quantité d'hématie est une bonne technique

L'euthanasie au CO2 ne semble pas adaptée pour une bonne perfusion la piste de l'héparine à approfondir

On observe plus de GR sur le cœur non battant mais aucune différence sur le critère de mort cellulaire que nous avons choisi

Pas de différences sur les organes périphérique

Nous utilisons une approche 3R avec la réutilisation d'animaux.

Tout cela avec en tête que notre étude utilise peu d'animaux et beaucoup de conditions, elle peut certainement conforter d'autres initiatives dans d'autres zootechnie.

Qu'il n'y a pas de réponse binaire à cette question qui dépend de l'objectif post-mortem: tissus histologie, Immunohistochimie, électrophysiologie,

Nécessite un projet plus complet (DAP, nombre d'animaux...)

Ce sont des expériences couteuses et c'est la raison pour laquelle nous avons rejoint le groupe de travail national.

L'étape suivante est le séminaire de Delphine Roussel de l'ICM

Remerciements

Les membres du groupe de travail de la PIC Toulouse:

Mme Rachel Balouzat; Mr Romain Ecalard Service Zootechnie du Centre Régional d'Exploration Fonctionnelle et Ressources Expérimentales (CREFRE) PURPAN

Mesdames Emilie Bassot, Elisabeth De Bon, Nissrine Ballout, membres de l'Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires (INFINITY).

Mme Samantha Milia, Mr Thimothé Durand-Plavis le service d'Histopathologie Expérimentale US06/CREFRE.

Mme Pr Nathalie BOURGÈS ABELLA, pour l'expertise histologique,

Groupe PICTURE, FC3R

Vous pour votre attention!

gt-picture@fc3r.com

