



CH - NIORT
Laboratoire de biologie

V2b/MO-LAB-08– Version N°12

Mode Opérateur

MYELOGRAMME

I – OBJET :

Cette procédure décrit les modalités de prélèvement de moelle osseuse par ponction sternale pour la réalisation du myélogramme : décompte en pourcentage des différents précurseurs des lignées granuleuses, érythroblastique et lymphoïde après coloration.

II – DOMAINE D'APPLICATION :

Sont concernés les médecins des services de soins, les biologistes autorisés à réaliser les prélèvements de moelle osseuse et les infirmières qui accueillent les patients, et assistent les biologistes lors du prélèvement.

III – DEFINITIONS / ABREVIATION :

Néant

IV – DOCUMENTS DE REFERENCE :

Guide de bonnes pratiques des ponctions médullaires – juin 2003

Etapas pré-analytiques pour la cytologie médullaire, ganglionnaires et des liquides biologiques 2011

Rédacteur	Version	Vérificateur	Approbateur	Date
GOUDEAU V.	01	DELEPLANQUE P. LANEELLE D.	DELEPLANQUE P. LANEELLE D.	16.02.1999
GOUDEAU V.	02	BOUIN M.C. FAUCHER Y.	BURET B. DELEPLANQUE P.	19.10.1999
BURET B.	03	BOUIN M.C. FAUCHER Y.	BURET B. DELEPLANQUE P.	10.01.2002
BURET B.	04	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	16.07.2007
BURET B.	05	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	28.05.2008
BURET B.	06	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	17.04.2009
BURET B.	07	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	30.06.2010
BURET B.	08	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	27/09/2010
BURET B.	09	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	13/03/12
BURET B.	10	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	02.08.2012
BURET B.	11	DELEPLANQUE P.	LUREAU P.	10.12.2013
BURET B. <i>Signé</i>	12	DELEPLANQUE P. <i>Signé</i>	LUREAU P. <i>Signé</i>	20.07.2015

Modifications apportées lors de la présente version :

- Révision annuelle
- Utilisation du Dakin pour désinfecter la peau du patient en cas d'allergie à la Bétadine
- Coloration d'1 frottis à l'Aérospray avec interprétation du myélogramme possible, hormis les cas de Syndrome Myélodysplasique, ou en cas de difficulté de lecture

V – CONTENU :

V-1 Conditions de réalisation

Un rendez-vous est pris auprès des infirmières (poste 83166) . Le biologiste peut en prendre connaissance en consultant le calendrier des rendez-vous dans Outlook ; y figurent l'identité du patient , du prescripteur et le motif de la demande.

La prescription écrite sur une ordonnance pour les Consultations Externes ou sur le bon de prescription médicale d'examens biologiques, doit être accompagnée de renseignements cliniques et au minimum d'un résultat de NF récent. Si ce n'est pas le cas pour les patients de Consultations Externes, réaliser un bilan sanguin pour une NF ± réticulocytes et prélever un tube sec supplémentaire.

Une éventuelle transfusion (hématies ou plaquettes) n'a pas d'influence sur le résultat ; il n'y a aucune conséquence à réaliser le myélogramme après une transfusion urgente.

Des examens spécialisés autre que le myélogramme peuvent être demandés à l'occasion du prélèvement de moelle osseuse : immunophénotypage, caryotype, myéloculture pour BK, PCR Leishmaniose,...

Le patient est informé par le médecin prescripteur de la nature de l'acte qui va être pratiqué et doit être préparé au geste dès ce moment.

La ponction sternale est CONTRE-INDIQUEE en cas d'hémophilie congénitale ou acquise (anti VIII) . Elle est par contre réalisable et sans danger chez les patients présentant une thrombopénie, même sévère, et sous anticoagulants (Héparines Antivitamine K Xarelto Pradaxa Eliquis) à la condition d'assurer une compression prolongée après la ponction.

Avant de commencer, vérifier l'identité du patient sous forme de question ouverte (nom, prénom, date de naissance).

V-2. Matériel

Pour la désinfection cutanée :

- Bétadine dermique 10%
- Bétadine Scrub
- Compresses stériles

Pour l'anesthésie locale :

- Pommade EMLA posée 1h30 avant la ponction
- ou xylocaïne à 1%
- Une seringue stérile de 2 cc et une aiguille sous-cutanée (marron)

Pour la ponction et l'étalement :

- Trocard de Mallarmé (réf MO 15/3)
ou
Aspiration Needles (réf AM 15/28) } pour les adultes
- Aspiration Needles (réf AM 18/28) } pour les enfants
- Seringue stérile de 20 cc
- Lames à bords rodés dégraissées à plages dépolies pour l'identification du patient
- Parfois :
 - 1 tube EDTA de 3 ml (bouchon violet) pour réaliser un immunophénotypage (suspicion de lymphome) ou une cytogénétique de myélome (voir annexe pour « recherche de la délétion du chromosome 13 » chez patients atteints de myélome -code Glims X_MUT_CH13) ou une PCR leishmaniose (code Glims X_LEISH_PCR)
 - 1 milieu spécial pour caryotype médullaire (Cf. mode opératoire V2b/MO-LAB-09)
 - 2 milieux gélosés de culture pour BK si une myéloculture est demandée (voir avec le laboratoire de Microbiologie)

Fournisseur : Pharmacie du CH de NIORT
GALLINI France SARL
BP 24140 - 31241 L'UNION Cedex
05.61.35.87.87

Rq : la biologie moléculaire BCR/Abelson ou JAK2 se réalise sur le sang

Divers :

- Gants stériles
- 1 pansement
- 1 plateau à ponction
- 1 haricot
- 1 aiguille rose
- 1 container à aiguilles souillées
-

V-3 Protocole de prélèvement

Le patient se positionne en décubitus dorsal et le prélèvement en sternal se fait au niveau du manubrium. Vérifier l'absence de signes locaux au point de ponction

Se laver les mains et les frictionner avec une solution hydro-alcoolique puis mettre des gants stériles

Désinfection cutanée :

Retirer la pommade EMLA (posée depuis au moins 1h) s'il y a lieu

Savonner largement la peau du patient avec des compresses stériles imbibées de Bétadine Scrub

Rincer avec du sérum physiologique

Sécher avec des compresses stériles

Appliquer une 1^{ère} couche de Bétadine dermique et laisser sécher au moins 1 minute. Renouveler l'application de Bétadine dermique et laisser sécher 30 secondes

Attention : en cas d'allergie à la Bétadine, utiliser du Dakin pour la désinfection de la peau.

Anesthésie locale :

S'il n'y a pas eu d'application de pommade EMLA, le biologiste peut pratiquer si le patient n'est pas allergique une anesthésie locale SC à la xylocaïne 1% (1,5cc) Le reste du flacon de xylocaïne est jeté.

Prélèvement :

L'aiguille à ponction sternale est enfoncée à travers la table supérieure du sternum. Le capuchon est ensuite dévissé, le mandrin enlevé et une seringue de 20 cc est ajustée. L'aspiration doit être lente et s'arrêter juste au moment où on aperçoit le suc médullaire pour ne pas hémodiluer.

Retirer la seringue et déposer une goutte de prélèvement sur les différentes lames.

Si un immunophénotypage ou un caryotype ou une myéloculture sont nécessaires, la seringue de 20 cc est réajustée sur l'aiguille à ponction et on procède à une nouvelle aspiration de suc médullaire (pas plus de 1cc, forcément dilué). On adapte ensuite une aiguille (marron) au bout de la seringue pour mettre le prélèvement dans le tube adéquat. **Si la ponction est facile, on peut faire systématiquement cette nouvelle aspiration en rejetant le suc médullaire dans un tube à bouchon violet de façon à permettre des examens complémentaires dans les 24H si cela s'avère nécessaire à la lecture des frottis.**

Retirer l'aiguille à ponction et l'éliminer dans le collecteur pour Piquants, Coupants, Tranchants.

L'infirmière réalise une compression au point de ponction avec des compresses stériles, d'autant plus prolongée qu'il existe un risque hémorragique puis applique un pansement.

Pendant ce temps, le biologiste étale les frottis, en écrasant si nécessaire les grains de moelle, identifie les lames (Nom du patient), puis les laisse sécher à l'air à température ambiante.

V-4 Lecture des frottis

Les spécifications des performances (fidélité, justesse,...) sont présentées dans le dossier de validation des méthodes

Deux frottis sont colorés au May Grunwald Giemsa (Cf. protocole V3c/PA-HEM-01) qui est la coloration de référence, et 1 frottis est coloré à l'Aérospray sur le protocole MOELLE : cette dernière permet une lecture en urgence du myélogramme, mais n'est pas appropriée pour le diagnostic de Syndrome

Myélodysplasique dans la mesure où certains critères peuvent ne pas être mis en évidence, telle que la dégranulation des précurseurs granuleux.

De même en cas de difficulté de reconnaissance des éléments, il faudra toujours avoir recours à la coloration manuelle de May Grunwald Giemsa.

L'examen des frottis de moelle devra toujours comporter à la fois :

- Un examen au faible grossissement qui permet d'estimer la richesse globale en cellules et la richesse en mégacaryocytes
- Un examen au fort grossissement (objectif 100) qui permet, en comptant au moins 200 cellules, d'établir le pourcentage respectif des différents précurseurs des lignées granuleuse, érythroblastique et lymphoïde.

D'autres colorations seront peut-être nécessaires :

- Coloration de Perls (Cf. protocole V3c/PA-HEM-05). Ajouter le code analyse Glms MYELO_PERLS
- Coloration de myloperoxydase (Cf. protocole V3c/PA-HEM-06). Ajouterle code analyse Glms MYELO_PEROX.

Une conclusion clairement rédigée devra proposer des hypothèses diagnostiques et/ou suggérer des examens complémentaires.

V-5 Annexes

Formulaires pour envoi de cytogénétique de myélome et consentement spécifique

VI – EXEMPLAIRES EN CIRCULATION :

Nombre d'exemplaires	Localisation
6	3 salles de prélèvement / 1 Pièce Hématologie / 1 Bureau de la qualitiennne / 1 Guide des prélèvements (INTRANET)