



MYELOGRAMME

I – OBJET :

Cette procédure décrit les modalités de prélèvement de moelle osseuse par ponction sternale pour la réalisation du myélogramme et les modalités de lecture des frottis ou empreintes de biopsie ostéo-médullaire (BOM) après coloration : décompte en pourcentage des différents précurseurs des lignées granuleuses, érythroblastique et lymphoïde.

II – DOMAINE D'APPLICATION :

Sont concernés les médecins des services de soins, les biologistes et internes autorisés à réaliser les prélèvements de moelle osseuse ainsi que 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
Recommandations du Groupe Français Hématologie Cellulaire mai 2018

V – CONTENU :

V-1 Conditions de réalisation

Un rendez-vous est pris auprès des infirmières (poste 83166). Le biologiste peut aussi prendre connaissance des RV pris pour le laboratoire en consultant le calendrier des rendez-vous dans Outlook ; y figurent l'identité du patient, du prescripteur, le motif de la demande, le N° de tel du service demandeur, le N° de tel du patient (pour les patients externes) et les initiales de la personne qui a pris le RV. Demander aux patients externes d'apporter si possible des résultats de bilans sanguins récents.

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 de moins d'un mois. Si ce n'est pas le cas pour les patients de Consultations Externes ou en fonction du contexte clinique (cytogénétique myélome..), un bilan sanguin peut être réalisé en complément du myélogramme, en accord avec le biologiste préleveur.

Sont urgents les myélogrammes prescrits dans les contextes de :

- Blastose sanguine ou suspicion/suivi/rechute de leucémie aigüe
- Suspicion de lymphome de haut grade (lymphome de Burkitt)
- Suspicion de syndrome d'activation macrophagique
- Cytopénie (isolée ou associée) sévère, en particulier thrombopénie inexpliquée
- Agranulocytose ou pancytopénie

Le prescripteur contactera le biologiste pour tout résultat attendu dans les 4 heures



La ponction sternale est CONTRE-INDIQUÉE en cas de radiothérapie (en fonction du site irradié) d'infection locale, d'hémophilie ou de déficit de facteurs de coagulation inférieur à 10%. Elle est par contre réalisable et sans danger chez les patients présentant une thrombopénie, même sévère. Chez les patients sous anticoagulants (Héparines, Anti Vitamine K : INR <3, Xarelto, Pradaxa, Eliquis) ou anti agrégants plaquettaires, assurer une compression prolongée après la ponction. 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, ... Attention aux jours préférentiels pour la réalisation du caryotype en fonction du contexte (cf C1/MO-LAB-009 ou *guide des prélèvements-Caryotype Onco-Hématologique médullaire*).

Le patient est informé par le médecin prescripteur de la nature de l'acte qui va être pratiqué et doit être consentant (oralement) dès ce moment.

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

V-2. Matériel

Antiseptie de la peau : (en 4 temps)

- Pour les enfants prématurés et de moins d'un mois : ... Soluté de Dakin
- Pour les enfants d'un à 30 mois : PVP-I aqueuse ou soluté de Dakin
- Pour les enfants de plus de 30 mois et les adultes : PVP-I alcoolique ou Chlorhexidine alcoolique
- Sérum physiologique
- Compresses stériles

Anesthésie locale :

- Pommade EMLA posée 1h30 avant la ponction. Pose non systématique. A rincer au sérum physiologique et à sécher avec des compresses stériles avant de réaliser l'antiseptie.
- Chlorhydrate de lidocaïne à 1%
- Une seringue stérile de 2 cc et une aiguille sous-cutanée.

Ponction et l'étalement :

- Aiguille à biopsie (réf IST15/03)
- Aiguille à biopsie (réf IST 15/01)
- Aiguille à biopsie (réf AM 18/28)
- 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 (code Glims X_MUT_CH13) ou une PCR leishmaniose (code Glims X_LEISH_PCR)
 - 1 milieu spécial pour caryotype médullaire (1 tube bouchon rouge « moelle » ou 1 tube vert hépariné sans gel) (code Glims X_CARYOM)
 - 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)



Divers :

- Gants non stériles (pour la désinfection) et stériles (pour le prélèvement)
- 1 plateau à ponction
- 1 aiguille de transfert
- 1 haricot
- 1 pansement
- 1 collecteur à déchets perforants
- tondeuse électrique avec lames individuelles
- Acide tranexamique (cutanée ou en injectable)

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 frictionner les mains avec une solution hydro-alcoolique avant de mettre les gants.

Désinfection cutanée:

En cas de pilosité une tonte préalable est souhaitable.

Mettre des gants non stériles.

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

Réaliser l'antisepsie de risque intermédiaire (4 temps) adaptée à l'âge du patient avec des compresses stériles.

Attention : en cas d'hypersensibilité à l'un des constituants de la PVP-I, utiliser du Dakin pour la désinfection de la peau.

Anesthésie locale :

Le préleveur pratique (si le patient n'est pas allergique) une anesthésie locale SC au chlorhydrate de lidocaïne à 1% (1,5 cc) après application ou non de pommade Emla au préalable. Le reste du flacon est jeté.

Prélèvement :

Vérifier que le patient est bien installé : la tête en hyperextension et immobile.

Mettre des gants stériles

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 une lame et faire des frottis jusqu'à épuisement, et si possible avec la dernière goutte, faire un étalement grossier, poser dessus de façon parallèle une lame et la faire coulisser, celle-ci peut être intéressante pour apprécier la richesse et la cytologie mégacaryocytaire.

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 de transfert 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 suite à la lecture des frottis.**

Retirer l'aiguille à ponction et l'éliminer dans le collecteur à déchets perforants.



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. **En cas de trouble de l'hémostase connu (constitutionnel ou acquis) ou en cas de saignement prolongé, l'application d'Acide Tranexamique sur compresse pour compression est possible.**

Pendant ce temps, le préleveur étale les frottis, en écrasant délicatement s'il y a les grains de moelle en bout de frottis, identifie les lames (Nom du patient et numéro du dossier si prélevé au laboratoire), puis les laisser sécher à l'air à température ambiante et les transmet au laboratoire dans des porte-lames eux même identifiés si prélevé par les médecins des services de soins, directement aux techniciens d'hématologie si prélevé par des biologistes du laboratoire.

V-4 Lecture des frottis ou empreintes de BOM

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

En fonction du nombre de frottis de moelle, colorer idéalement 2 frottis ou 1 seule empreinte de BOM à l'Aerospray **sur le protocole MOELLE**, et à la demande du biologiste au May Grunwald Giemsa (Cf. D1/MO-LAB-008) qui est la coloration de référence.

Pour rappel, la coloration à l'Aerospray permet une appréciation en extrême 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 (désertique, pauvre, diminuée, normale, augmentée) la richesse en mégacaryocytes (non observés, très rares, diminués, normaux, nombreux, augmentés) et la présence d'éléments de grande taille
- 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 et d'en observer les anomalies de maturation éventuelles.

500 cellules au moins seront observées en cas de :

. Dysplasie : significative pour $\geq 10\%$ des éléments de la lignée (pour la lignée mégacaryocytaire, ne visualiser que 30 éléments)

. Hémopathies pour lesquelles un seuil est défini pour le diagnostic (5% 10% 20% pour les syndromes myélodysplasiques et leucémies aiguës ; 10% pour le myélome)

En cas de frottis désertique, sans grains médullaires observables, la mention « frottis ne comportant pas de cellules médullaires, contrôle recommandé » sera indiquée dans la conclusion et suffira

D'autres colorations seront peut-être nécessaires :

- Coloration de Perls (Cf. D1/MO-LAB-006). Ajouter le code analyse Glims MYELO_PERLS
- Coloration de mylopéroxydase (Cf. D1/MO-LAB-007). Ajouter le code analyse Glims MYELO_PEROX.

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



V-5 Contrôles de qualité

Les biologistes participent à une Evaluation Externe de la Qualité :

- Association de Biologie Praticienne : EEQ entièrement numérique utilisant images fixes et champs larges, à raison de 4 cas biocliniques par an avec décompte des éléments et proposition de diagnostic
- Confrontation interrégionale organisée par le laboratoire d'Hématologie du CHU de Poitiers avec envoi de frottis coloré

V-6 Archivage

Les frottis de moelle colorés sont lutés au laboratoire d'Anatomie Pathologie puis conservés selon le tableau d'archivage. Ref K4/EQ-LAB-001.

V-7 Annexes

Annexe 1 : Feuille de lecture du myélogramme (*document interne au laboratoire*)

Annexe 2 : Images de référence pour apprécier la densité médullaire (*document interne au laboratoire*)

Annexe 3 : Fiche de renseignements pour envoi du caryotype médullaire (ou immunophénotypage) au CHU de Poitiers (cf *Intranet guide des prélèvements-caryotype onco-hématologique médullaire*)

Annexe 4 : Fiche de renseignements et consentement écrit du patient pour envoi de cytogénétique de myélome au CHU de Toulouse (cf *Intranet guide des prélèvements-caryotype onco hématologique médullaire*)