

# Mode opératoire de prélèvement du myélogramme

## SOMMAIRE

<b>1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION</b>	<b>2</b>
<b>2. RESPONSABILITES</b>	<b>3</b>
<b>3. DOCUMENT DE REFERENCE</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIEL UTILISE</b>	<b>3</b>
<b>5. RENSEIGNEMENTS A RECUEILLIR</b>	<b>4</b>
<b>6. IDENTIFICATION</b>	<b>4</b>
<b>7. DEROULEMENT DU PRELEVEMENT</b>	<b>5</b>
<b>8. TRANSPORT DES PRELEVEMENTS</b>	<b>9</b>

Toute impression de ce document sans l'en-tête contenant sa référence et sa version en haut de chaque page (cf. procédure de gestion documentaire) n'est pas gérée et doit être rapidement détruite. Seules la version informatique lisible à l'écran sur Kalilab et la version papier contenant cet en-tête sont valides.

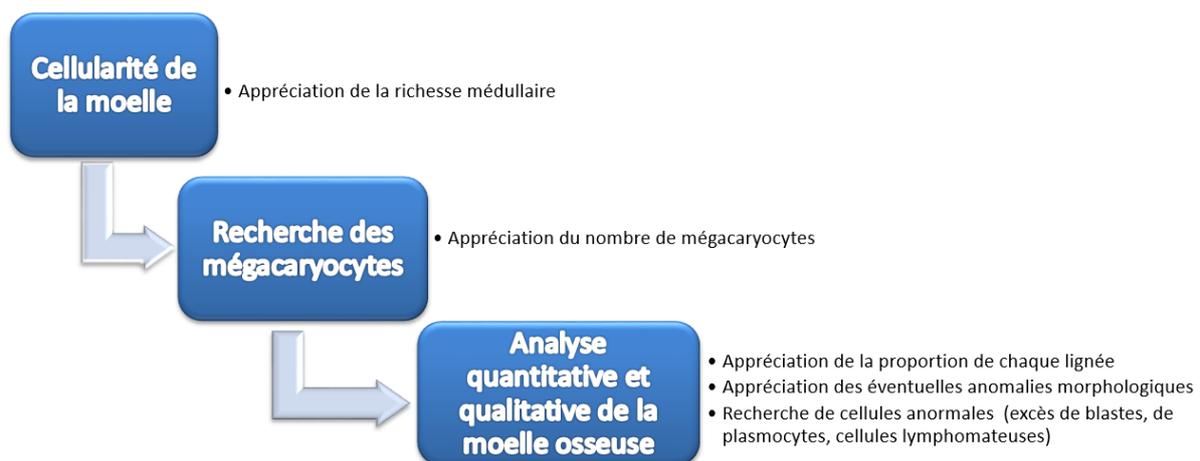
## 1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit le prélèvement de moelle osseuse en site sternal pour la réalisation des myélogrammes.

Seule la ponction sternale (au niveau du manubrium sternal) est pratiquée par les biologistes de Laborizon Maine-Anjou : la ponction en site iliaque n'est pas réalisée. A l'exception du mode de prélèvement, le reste des dispositions est applicable (prescription, renseignements, etc..).

- La ponction de moelle osseuse est un examen prescrit devant un faisceau d'arguments cliniques et biologiques, en seconde intention (après l'examen clinique et l'interprétation du bilan biologique, et notamment l'hémogramme).
- Principales indications du myélogramme :
  - Bilan étiologique d'une anémie non carencielle (en fer ou en vitamines B9, B12)
  - Bilan étiologique d'une pancytopenie
  - Bilan étiologique d'une thrombopénie
  - Bilan étiologique d'une neutropénie
  - Suspicion d'hémopathie (leucémie aiguë, syndrome myélodysplasique, néoplasie myéloproliférative, myélome multiple)
  - Recherche d'une infiltration médullaire (lymphome)
  - Recherche d'un envahissement médullaire (métastases médullaires cancer solide)
  - Suspicion de syndrome d'activation macrophagique (SAM)
- Principes du myélogramme :
  - Ponction et aspiration de la moelle osseuse
  - Etalement sur lames (frottis médullaires)
  - Etude cytologique des cellules médullaires

Les frottis médullaires sont colorés au May-Grünwald Giemsa (MGG) puis observés au microscope, selon trois grandes étapes :



L'aspiration de moelle permet, en outre, d'effectuer d'autres examens spécialisés à visée diagnostique, pronostique ou thérapeutique :

- Etude immunophénotypique par technique de cytométrie en flux (immunophénotypage des lymphocytes, des plasmocytes, des blastes, ...)
- Etude cytogénétique (caryotype, FISH)
- Biologie moléculaire
- La culture de progéniteurs médullaires
- Recherche microbiologique (recherche de mycobactéries, Parvovirus B19)

## 2. Responsabilités

Le prélèvement est réalisé par un Biologiste Médical, selon la réglementation en cours :

- Médecin
- Pharmacien Biologiste possédant une attestation de formation ([JORF n°259 du 6 novembre 2005](#) [Décret n°2005-1382 du 4 novembre 2005](#))

## 3. Document de référence

- GUIDE DE BONNES PRATIQUES DES PONCTIONS MEDULLAIRES :
  - Société Française d'Hématologie (SFH)
  - Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC)
  - Collège d'Hématologie des Hôpitaux (CHH)
  - Syndicat National des Biologistes Hospitaliers (SNBH)
 (- Juin 2003 -)
- Groupe de travail du GFHC « Myélogramme. Recommandations du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) »
- Gairdner D., Marks J., Roscoe J.D. Blood formation in infancy. Part I. The normal bone marrow. *Arch Dis Child*. 1952 ; 27 : 128-33
- Lee S.H., Ho S.J., Thomas D.T., et al. A partial nucleated differential cell count of the bone marrow aspirate that is independent of peripheral blood dilution. *Int J Lab Hematol*. 2008 ; 30 : 473-9
- den Ottolander G.J. The bone marrow aspirate of healthy subjects. *Br J Haematol*. 1996 ; 95 : 574-5
- Manuel de prélèvement
- Procédure générale de prélèvement
- Procédure d'identitovigilance
- Procédure AES
- Fiches techniques des flacons de prélèvements

## 4. Matériel utilisé

- **Matériel général :**
  - Gants stériles
  - Compresses stériles
  - Pansement compressif (Méfex<sup>®</sup>, Elastoplast<sup>®</sup>...)
  - Boite pour le transport de lames
  - Crayon de papier pour identification des lames
  - Container à DASRI
- **Matériel de désinfection cutanée :**
  - Chlorhexidine (Biseptine<sup>®</sup>)
- **Produits d'anesthésie :**
  - Prilocaine - Lidocaïne (crème Emla<sup>®</sup>)
  - Chlorhydrate de lidocaïne (Xylocaïne<sup>®</sup> 10 mg/mL injectable)
  - Protoxyde d'azote (Kalinox<sup>®</sup>)
- **Matériel pour la ponction et l'étalement :**
  - Trocarts à usage unique
  - Aiguilles à ponction lombaire
  - Seringues stériles 10mL
  - Des lames à bords rodés et à plages dépolies pour l'identification du patient
  - En cas de demande d'examens spécialisés : tubes EDTA (immunophénotypage, recherche de mycobactéries, culture de Leishmanies) et tubes héparines (sans gel séparateur)

## 5. Renseignements à recueillir

Le médecin prescripteur responsable de la prise en charge du patient adresse une prescription au laboratoire (ordonnance, bon de clinique) **ainsi qu'une feuille de renseignements cliniques.**

La prescription doit comporter :

- Une NFS (sauf si NFS récemment réalisée au laboratoire [datant de moins de 2 jours] (*International Council for Standardization in Haematology [ICSH]*))
- Le myélogramme
- Les analyses spécialisées médullaires complémentaires éventuellement souhaitées (immunophénotypage, cytogénétique, biologie moléculaire ...).
- La prescription d'un anesthésique local

Elle doit être accompagnée d'une fiche de renseignements clinico-biologiques (MU-HEM-EN-010-02 : Fiche de renseignement clinique myélogramme).

Tout « évènement » susceptible de modifier la réalisation du geste de ponction doit être recherché par le prescripteur et signalé au préleveur.

Selon les recommandations du GFHC, le myélogramme peut être réalisé chez tous les patients à l'exception de ces contre-indications :

- Les antécédents de sternotomie (contre-indication formelle à la réalisation d'une ponction aspiration médullaire en sternal)
- Les antécédents de radiothérapie (en fonction du site irradié, la moelle est potentiellement non représentative de l'hématopoïèse [cas des cancers du sein])
- Une infection locale
- Des troubles importants de l'hémostase : le myélogramme peut être réalisé chez tous les patients, à l'exception de ceux atteints d'hémophilie ou présentant un déficit sévère connu en facteur de la coagulation (taux < 10 UI/dL), pour lesquels il convient de contacter le Centre de Ressources et de Compétences (CRC) Maladies Hémorragiques Constitutionnelles (MHC).

Autres évènements à rechercher :

- Traitement anticoagulant à dose curative : il faut de préférence effectuer le geste à distance du pic d'activité après la prise de l'anticoagulant (idéalement en résiduel, juste avant la prise).
  - Pour un AOD : pic 2 à 3 heures après la prise
  - Pour une HBPM : pic 3 à 4 heures après injection sous-cutanée d'une héparine administrée 2 fois/jour, pic 4 à 6 heures pour une héparine administrée 1 fois par jour
  - Pour une héparine calcique : pic 90 minutes après l'injection sous-cutanée
  - Sous traitement par AVK, un contrôle d'INR est recommandé (INR < 3 pour le geste).
- Dans tous ces cas, ainsi que pour les patients sous traitement antiagrégant plaquettaire, une compression locale est réalisée.
- Vérifier l'absence d'allergie aux produits utilisés, notamment les anesthésiques (de type xylocaïne/lidocaïne) et désinfectants cutanés (si utilisation de produits iodés).

Toutes ces informations seront reportées sur la fiche de renseignements et doivent être vérifiées par le préleveur avant la ponction.

## 6. Identification

Se référer à la procédure générale de prélèvement.

## 7. Déroulement du prélèvement

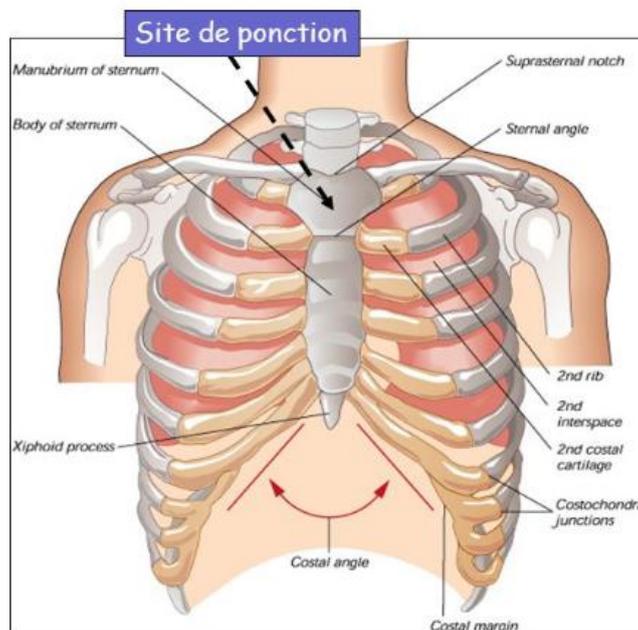
### a) Préparation du patient

- Il est fondamental de bien expliquer la nature du geste au patient, son adhésion à la ponction de moelle jouant un grand rôle dans la qualité de réalisation de cet acte, en limitant notamment son caractère anxiogène. Cette information préalable repose sur un dialogue avec le biologiste responsable du prélèvement, et sur une fiche d'informations dispensée lors de son arrivée au laboratoire.
- Le patient bénéficie de la pose d'un anesthésique local par timbre transdermique (patch EMLA®), au minimum 1h avant la réalisation du geste.
- L'injection de xylocaïne ou lidocaïne est laissée à l'appréciation du biologiste.
- La dispensation de gaz antalgiques (protoxyde d'azote type Kalinox®) est possible, sous condition d'hospitalisation.
- Pour les patients anxieux, une prémédication, sur prescription médicale par le médecin qui suit habituellement le patient, peut être utilisée (par exemple Xanax (0,25 mg, sublingual), 30 min avant le geste).

### b) Mode opératoire : ponction-aspiration sternale

#### Patient en décubitus dorsal

- Repérer le site de ponction : 1 à 2 cm sous la fourchette sternale, entre les extrémités internes des deuxièmes espaces intercostaux.



#### Désinfection cutanée

- Enlever la pommade EMLA® à l'aide d'une compresse sèche
- Déterger le site de ponction avec de la chlorhexidine alcoolique

#### Mettre des gants stériles

#### Réaliser une ponction transcutanée avec le trocart (de type Mallarmé) muni de son mandrin

- Traverser les tissus mous pour atteindre le plan osseux
- Exercer une pression maîtrisée, perpendiculaire à la table externe de l'os, jusqu'au passage de la corticale (avec rotations et oscillations possibles en fonction de la dureté de l'os). La sensation de ressaut caractéristique permet de s'arrêter entre les 2 tables de l'os.
- Une fois le trocart en place, le mandrin est retiré.

**Aspirer la moelle osseuse avec une seringue stérile**

- Première seringue : prélever une goutte de moelle (200µL maximum), destinée à l'étalement des frottis.
- Seconde seringue : aspiration de 2mL de moelle au maximum, destinés aux examens complémentaires (immunophénotypage, caryotype) (seuls les deux premiers mL aspirés **sont représentatifs** de la moelle, risque d'hémodilution au-delà)

**Réaliser les frottis de moelle** (un nombre de 6 à 8 lames est recommandé par le GFHC) **et répartir le contenu de la deuxième seringue dans les tubes (héparine, EDTA)**

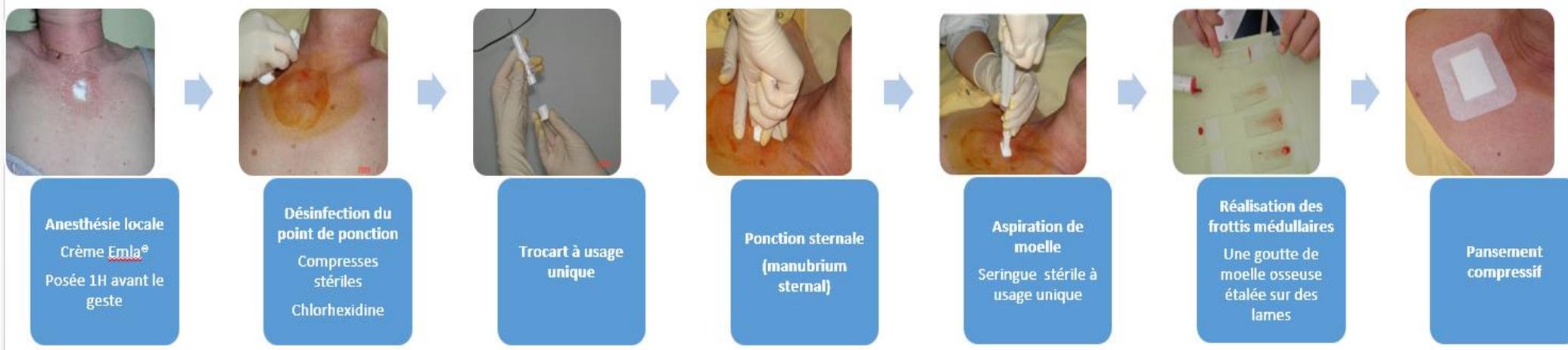
**Extraire le trocart**

- Comprimer manuellement la zone de ponction pendant quelques minutes par l'intermédiaire d'une compresse stérile

**Poser un pansement stérile après vérification de l'hémostase**

Impression non gérée

# Déroulement d'une ponction-aspiration sternale



mbression nc

## Variante

### Réaliser une ponction transcutanée avec une aiguille à ponction lombaire

- Saisir la partie en plastique de l'aiguille entre pouce et index et traverser la peau par piqûre franche ; on arrive sur le périoste où l'on arrête la pression.
- Placer alors le pouce en opposition de l'index et du majeur de la main gauche sur l'aiguille en dessous de la partie plastique pour servir de garde.
- Exercer alors une pression d'intensité progressivement croissante, tout en assurant des mouvements de vrille de l'aiguille jusqu'à sentir le franchissement de la corticale externe (environ 1 cm de progression dans l'os).
- Stopper alors la pression, lâcher l'aiguille. Elle doit tenir en place sans bouger.
- Enlever le guide.

### c) Réalisation des frottis

#### Méthodes d'étalement des frottis

Les étalements de moelle sont réalisés par le préleveur, au lit du patient. L'identification des lames est effectuée au crayon à papier sur la partie dépolie.

#### Frottis tiré ou étalé :

- Étaler une goutte déposée sur les lames à l'aide d'une autre lame inclinée à 40° (technique semblable à celle des frottis sanguins).
- Un frottis médullaire de bonne qualité doit généralement comporter des grains (caractéristique de la moelle osseuse) et des franges.



Frottis médullaires

#### Grain écrasé (écrasement des grains de moelle) :

- Déposer un grain de moelle en regard du bord érodé d'une lame.
- Appliquer une seconde lame propre sur le grain et la faire glisser parallèlement à la première jusqu'à l'autre extrémité, en écrasant délicatement le grain.
- En cas d'aspiration difficile et de « dilution » du prélèvement, il peut être nécessaire « d'enrichir » le prélèvement avant de procéder au frottis.

#### Méthode « d'enrichissement » du prélèvement :

- Séparer le « suc médullaire du sang » en déposant quelques gouttes de prélèvement à partir de la seringue sur 3 lames légèrement inclinées.
- Le sang s'écoule vers le bas de la lame, alors que les grains de moelle restent à l'endroit du dépôt.
- Déposer directement à partir de la seringue une goutte de suc médullaire, et réaspirer la « partie liquide (sang) » de la goutte en laissant les grains.
- Laisser sécher les lames à l'air libre sans ventilation ni agitation.

- Identifier les lames au lit du malade avec au minimum nom, prénom, numéro de dossier ou date de naissance.

Les frottis sont séchés à l'air libre, puis adressés au laboratoire d'hématologie dans une boîte à lame, accompagnés de la prescription et de la fiche de renseignements.

S'identifier en tant que préleveur, noter la date et l'heure du prélèvement et renseigner les informations relatives à la ponction aspiration :

- Site osseux prélevé
- Difficulté de la ponction (aisée, normale, difficile)
- Consistance osseuse (normale, dure, diminuée, friable)
- Les problèmes éventuellement rencontrés

#### **d) Surveillance du patient**

- Laisser le patient au repos avec surveillance du pansement pendant environ 15 minutes.
- Le patient peut reprendre une activité normale dans l'heure qui suit le prélèvement.
- Dans les cas usuels, aucune surveillance particulière ultérieure par un personnel soignant n'est nécessaire.
- Le pansement peut être retiré par le malade après quelques heures. Il est déconseillé de prendre une douche/ un bain pendant 48H ou de pratiquer la natation.

#### **e) Complications**

Elles sont rares.

Les plus fréquemment rencontrées :

- Malaise vagal
- Douleur résiduelle : cède spontanément ou avec un analgésique simple (de type paracétamol).

Exceptionnellement :

- Risque hémorragique : l'incidence des complications hémorragiques est exceptionnelle après un myélogramme (Lee S.H, et al)
- Infection : respecter des conditions strictes d'asepsie
- Disjonction manubrio-corporéale : en cas de fragilité osseuse
- Tamponnade par hémopéricarde : rarement décrite lors des prélèvements au niveau du manubrium
- Pneumopéricarde
- Pneumothorax
- Rupture du trocart : conserver le matériel et les références (fournisseur, lot, ...) pour déclaration en matériovigilance
- « Crise d'angoisse »

## **8. Transport des prélèvements**

L'ensemble des lames est regroupé dans des boîtes de transport ou des boîtes porte-lames en plastique (de contenance variable), correctement identifiées (étiquetage des boîtes de transport). Le délai d'acheminement au laboratoire est d'environ 2 heures.

Un absorbeur d'humidité ou un dispositif isotherme ne sont pas utiles car il a été vérifié que le dispositif de transport ne génère pas de condensation.