



1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les modalités de prélèvement de moelle osseuse par ponction sternale pour la réalisation du myélogramme ainsi que les modalités de lecture et d'interprétation des frottis médullaires après coloration au May Grunwald Giemsa : décompte en pourcentage des différents précurseurs des lignées granuleuses, érythroblastiques et lymphoïde.

2. Responsabilités

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

3. Déroulement de l'activité

3.1. Conditions de réalisation

Un rendez-vous est pris auprès des biologistes (poste 3034). Noter le RDV dans l'agenda présent dans le laboratoire, à proximité des paillasse d'hématologie-hémostase.

La prescription écrite sur une ordonnance pour les Consultations Externes ou sur le bon de prescription médicale d'examen biologiques, doit être accompagnée de renseignements cliniques et au minimum d'un résultat de numération formulaire (NF) récent. De manière optimale, le formulaire [HC2-FOR007 Demande de myélogramme](#) disponible sur le manuel de prélèvement se situant sur l'intranet doit être complété quand la demande émane des services de soins.

Un bilan sanguin pour une NF + réticulocytes doit être prélevé le même jour que le myélogramme. Un frottis sanguin doit être réalisé même en l'absence de critère de révision de lame.

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

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. Un patch de pommade anesthésiante de type Emla doit être appliqué une heure avant le geste (englobant le 1/3 supérieur du sternum) si le biologiste prélève, un gaz analgésique type MEOPA doit également être mis à disposition.

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 ou AOD). En cas de traitement par AVK, l'INR devra cependant être impérativement inférieur à 3 le jour du prélèvement. Pour les héparines et AOD, la prise précédant l'acte sera de préférence évitée ou décalée.

3.2. Matériel

Pour la désinfection cutanée :

- Bétadine dermique ou Chlorhexidine alcoolique
- Bétadine Scrub ou Chlorhexidine scrub
- Sérum physiologique
- Compresses stériles

Pour l'anesthésie locale :

- Pommade EMLA posée 1h avant la ponction (min 30 min) ou xylocaïne à 1%
- Une seringue stérile de 2 cc et une aiguille sous-cutanée si xylocaïne

Pour la ponction et l'étalement :

- Trocard de Mallarmé (réf MO 15/3)
- Aiguilles spinales pédiatriques (0,9 x 90 mm) type BD Spinal Needle Ref. 405253
- Seringue stérile de 20 cc
- Lames à bords rodés dégraissées à plages dépolies pour l'identification du patient

Divers :

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

3.3. 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 ou Chlorhexidine scrub
- Rincer avec du sérum physiologique
- Sécher avec des compresses stériles
- Appliquer une 1^{ère} couche de Bétadine alcoolique ou Chlorhexidine alcoolique et laisser sécher au moins 1 minute.

Anesthésie locale :

S'il n'y a pas eu d'application de pommade EMLA, le préleveur peut pratiquer si le patient n'est pas allergique une anesthésie locale SC à la xylocaïne 1 ou 2 % sans adrénaline (1,5 cc).

Prélèvement :

L'aiguille à ponction sternale est enfoncée à travers la table supérieure du sternum. Le capuchon est ensuite dévissé le cas échéant, 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).

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 appose un pansement.

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

Si le préleveur n'est pas un biologiste, recueillir les données suivantes :

- Lieu de ponction (sternal ou iliaque) ?
- Dureté de l'os ?
- Difficulté d'aspiration ?

3.4. Enregistrement du prélèvement au laboratoire

Enregistrer la demande de myélogramme dans le SIL : MOELL

Eventuellement les examens complémentaires : IMPHE, CARYM, BK, biologie moléculaire.

Saisir le code MGBIO si le préleveur est un biologiste et renseigner en ERM l'identité du préleveur.

La secrétaire enregistre également la demande dans le fichier Excel Listing global sur \\LIS3\Labo Base documentaire\MYELOGRAMME

Création d'un répertoire au nom du patient NOM_PRENOM_DDN AAAAMMJJ

Coller le bon de demande dans le cahier de rendu ainsi qu'une feuille de saisie des comptes.

3.5. Lecture des frottis

Les frottis sont colorés avec l'automate de coloration Aerospray (Cf. [HD3c-MO002 Utilisation du colorateur AEROSPRAY 7152](#))

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 (idéalement 500 cellules), d'établir le pourcentage respectif des différents précurseurs des lignées granuleuse, érythroblastique et lymphoïde ainsi que d'apprécier la morphologie des cellules.

Dans la mesure du possible (présence d'au moins deux biologistes habilités), la lecture interprétative des frottis et les comptes seront réalisés par deux personnes. Harmoniser les résultats par discussion collégiale le cas échéant.



Le compte est reporté sur le document [HD4c-FOR001 Compte de myélogramme](#).

Effectuer une moyenne.

Le document est archivé dans le cahier des moelles.

D'autres colorations seront peut-être nécessaires (Cf. [HD4c-INS012 Réalisation de colorations cytochimiques sur frottis médullaires](#)): Coloration de Perls ou de Myéloperoxydase

3.6. Rédaction du compte-rendu

Le compte-rendu doit préciser :

- Lieu de ponction, dureté de l'os
- l'indication du myélogramme (renseignements cliniques fournis)
- Nombre de cellules observées
- Richesse générale du frottis
- Richesse ou densité en mégacaryocytes
- Un décompte exprimé en % : blastes indifférenciés, lignées neutrophile, éosinophile, basophile et érythroblastique, lymphocytes, monocytes plasmocytes.
- Une conclusion clairement rédigée devra proposer des hypothèses diagnostiques et/ou suggérer des examens complémentaires.

3.7. Conservation des lames

Les lames non colorées et colorées sont conservées dans une pochette identifiée pendant 10 ans. La première année, la conservation se fait dans la pièce d'hématologie puis ensuite dans la réserve.

4. Classement et archivage

Documents introduits par le mode opératoire :

- Bon de demande et HC2-FOR007 Demande de myélogramme
- HD4c-FOR001 Compte de myélogramme
- Compte-rendu des résultats (dans SIL)

Les règles de classement et d'archivage sont décrites dans la procédure [HH2-PR002 Gestion des enregistrements et archivage](#).