

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT CILIAIRE BRONCHIQUE ET NASAL

*Recommandations élaborées par le groupe de travail « dyskinésie ciliaire primitive »
du Centre de Référence des Maladies Respiratoires Rares*

Date de mise à jour : 19 mars 2010

A- INTRODUCTION

Les prélèvements de cellules ciliées pour étude de la structure et de la fonction ciliaire peuvent être réalisés au niveau de la muqueuse nasale, ou au niveau de la muqueuse bronchique.

Le brossage ciliaire permet une analyse du battement ciliaire à partir de cellules vivantes

La biopsie ciliaire permet une étude de l'ultrastructure ciliaire en microscopie électronique

1- Organisation des prélèvements

Prévenir le laboratoire qui recevra le prélèvement et organiser l'acheminement du prélèvement

- Le brossage pour l'analyse du battement ciliaire doit être conservé à température ambiante et acheminé très rapidement au laboratoire car l'étude doit être réalisée dans un délai maximum de 6h après le prélèvement.

- La biopsie pour étude en microscopie électronique doit être immédiatement fixée. Elle peut être conservée à 4°C avant d'être acheminée au laboratoire à température ambiante, éventuellement par courrier postal.

Pour obtenir une aide afin de réaliser localement ces études ciliaires et/ou d'adresser des prélèvements:

Contactez personnellement avant tout prélèvement :

Dr Estelle ESCUDIER

Service de génétique et embryologie médicales

Hôpital Armand-Trousseau, 26 avenue du Dr Arnold Netter, 75571 PARIS Cedex 12

Tel : 01.44.73.52.44, Fax : 01.44.73.52.19, estelle.escudier@trs.aphp.fr

2- Antibiothérapie préalable

Indication :

- Echec d'un premier prélèvement

- Sécrétions chroniques (rarement nécessaire en ORL, nécessaire quasi systématiquement pour le prélèvement bronchique)

Modalités : à adapter aux antibiogrammes des colonisations connues et du dernier ECBC

En 1^{ère} intention : Amoxicilline + Acide Clavulanique per os pendant 10 jours

En 2^{ème} intention : Ceftriaxone intra-veineux ou IM pendant 5 jours

En cas d'allergie aux bêta-lactamines : Cotrimoxazole pendant 10 jours

3- Prévention des complications hémorragiques

Contrôle du bilan d'hémostase (INR, TCA, taux de plaquettes, TS) en cas de facteurs de risques hémorragiques connus (insuffisance rénale chronique, immunosuppression, hypertension artérielle pulmonaire, hépatopathie, thrombocytopenie, anomalie de la coagulation)

CAT en cas de traitement anti-coagulant ou anti-agrégant en cours:

- En cas de traitement par aspirine à dose anti-agrégante : pas d'indication à l'arrêt de l'aspirine

- Dans tous les autres cas (héparine, AVK, clopidogrel...) : contacter le cardiologue du patient, décision collégiale en fonction du risque d'arrêt de l'anticoagulation et de l'intérêt de la fibroscopie

B- LES PRELEVEMENTS CILIAIRES

- Les prélèvements doivent être réalisés **en dehors d'une période de surinfection aiguë**

- Le prélèvement pour l'étude du battement ciliaire doit être pratiqué de manière la moins traumatique possible afin d'éviter toute contamination sanguine importante compromettant la survie cellulaire et rendant plus difficile les analyses

1- Le brossage nasal

- Anesthésie locale + vasoconstriction : introduction sous contrôle rhinoscopique avec une pince de Politzer de cotonnettes imbibées de xylocaïne 5% avec naphazoline (théoriquement contre-indiquée chez l'enfant de moins

de 6 ans) bien essorées (afin d'éviter le ruissellement postérieur et donc l'anesthésie du pharynx très désagréable) qui sont laissées en place une dizaine de minutes.

- Prélèvement réalisé selon les habitudes sous guidage endoscopique (optique rigide 0° ou 30°) ou sous guidage microscopique chez les petits enfants (en dessous de 6-8 ans).
- Brossage de la muqueuse nasale à l'aide d'une brosse cytologique, préalablement humidifiée par immersion dans le milieu de recueil, en effectuant cinq à dix mouvements de rotation et de translation au niveau de la face médiale du tiers moyen (le tiers antérieur est revêtu d'un épithélium non cilié) du cornet inférieur (ou si besoin au niveau du cornet moyen lorsque le cornet inférieur est cicatriciel)
- La brosse est ensuite agitée vigoureusement dans un tube en polystyrène à fond conique stérile contenant environ 3 ml d'un milieu de survie cellulaire
- Deux brossages au minimum sont réalisés
- Il est préférable de brosser une seule fosse nasale et de réserver l'autre pour la biopsie

Remarque : La richesse cellulaire du prélèvement peut être grossièrement appréciée par observation de la suspension cellulaire avant sédimentation

2-La biopsie nasale

Les cellules sont recueillies par curetage (par exemple à l'aide d'une curette pour chirurgie d'oreille) et par biopsie (micropince droite ou 45° fenêtrée de chirurgie endonasale ou micropince à mors-curette).

- Le curetage consiste à racler la surface épithéliale d'arrière en avant pour détacher un lambeau superficiel d'épithélium au niveau du tiers moyen du cornet inférieur.
- La biopsie est pratiquée en mordant tangentiellement la surface épithéliale (et non perpendiculairement comme pour une biopsie anatomopathologique traditionnelle) puis en « strippant » un lambeau d'épithélium d'arrière en avant.

Les prélèvements sont immédiatement immergés dans le fixateur approprié fourni par le laboratoire qui effectue l'examen de l'ultrastructure ciliaire.

Remarque : L'absence de saignement persistant est contrôlée 10 minutes après le prélèvement. En cas de saignement, le site de la biopsie est tamponné avec un fragment de Surgicel. Il est conseillé au patient de ne pas se moucher pendant 24-48h.

3- Le brossage bronchique

Matériel :

- Brosse à usage unique adaptée au calibre du fibroscope choisi
- 1 à 3ml de liquide de transport (utiliser le moins de liquide possible afin de ne pas diluer le prélèvement)
- Tubes en polystyrène à fond conique stérile

Réalisation :

- Choix de la zone la moins hémorragique et avec le moins de sécrétion.
- En cas d'utilisation d'une brosse sans gaine de protection : rinçage du canal opérateur au sérum physiologique avant introduction de la brosse afin de ne pas la "charger" de sécrétion
- Effectuer plusieurs va et viens le long de la paroi bronchique, sous contrôle endoscopique, avec délicatesse, sans faire saigner la muqueuse.
- Immerger la brosse dans le liquide de transport, et agiter énergiquement la brosse dans le liquide

Remarque : afin d'améliorer le rendement du brossage (en évitant de perdre du matériel cellulaire dans le canal opérateur et de polluer le prélèvement avec les sécrétions présentes dans le canal opérateur), il est conseillé de réaliser le brossage en fin d'endoscopie, de sortir l'endoscope en gardant la brosse à l'extrémité distale du canal opérateur, puis de repousser la brosse afin de la faire dépasser de l'extrémité distale de l'endoscope et de l'immerger directement dans le liquide de survie cellulaire.

4-La biopsie bronchique

Matériel :

- Pince biopsique réutilisable ou à usage unique
- => Choix de la pince de biopsie: préférer les pinces jetables lorsque c'est possible (limitation du risque infectieux, coût moindre car les pinces « réutilisables » sont hors d'usage après 5 à 10 utilisations).
- 5ml de fixateur fourni par le laboratoire qui effectue l'examen de l'ultrastructure ciliaire dans un pot stérile

Réalisation :

- Fermer la pince sur la muqueuse bronchique (éviter de biopsier l'éperon qui contient peu de cellules ciliées)
- Tirer un coup sec afin de prélever une biopsie muqueuse

- Retirer la pince du fibroscope et vérifier qu'il y a du matériel biopsique dans la pince
- Réaliser plusieurs biopsies jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante de matériel
- Vider la pince au dessus du fixateur
- Tremper l'extrémité ouverte de la pince dans le fixateur pendant 20 secondes afin de fixer le prélèvement à la dernière biopsie (Attention, on peut recommencer la biopsie avec la même pince seulement si la pince n'a pas été trempée dans le fixateur !)
- Agiter la pince dans le fixateur pour détacher la biopsie, puis vérifier l'absence de tissu résiduel dans la pince.

C- Références du matériel

Brosse endobronchique à usage unique (brossage nasal)

- Brosse bronchique Olympus® de diamètre 2mm, pour canal opérateur 1.2mm, réf. BC-202D-2010. Société : Olympus France endomédical, 74 rue d'Arcueil, Silic L165, F-94533 Rungis Cedex. Tel : 01.45.60.23.00. Fax : 01.45.60.22.30. www.olympus.fr
- Brosse endocervicale Gyneas®. Boîte de 50 brosses. Réf. 02.104. Société : Laboratoire Gyneas, Tel : 01.34.04.99.50, Fax : 01.34.04.88.44, www.gyneas.com

Pince biopsique à usage unique (biopsie nasale)

- Micro pince mors-curette® ronde 1.5mm, Réf. INS175. Société : Pouret médical. Tél : 01.41.40.42.42. Fax : 01.41.40.42.52. www.pouret-medical.fr

Brosse endobronchique à usage unique (brossage bronchique)

- Brosse bronchique Olympus®, taille en fonction de la taille du canal opérateur. Société : Olympus France endomédical, 74 rue d'Arcueil, Silic L165, F-94533 Rungis Cedex. Tel : 01.45.60.23.00. Fax : 01.45.60.22.30. www.olympus.fr

Brosse de diamètre 2mm, pour canal opérateur 1.2mm, réf. BC-202D-2010

Brosse de diamètre 3mm, pour canal opérateur 2mm, réf. BC-202D-3010

Pince biopsique à usage unique (biopsie bronchique)

- Pince Radial Jaw® ou Radial Jaw 3®, sans aiguille, taille en fonction de la taille du canal opérateur. Société : Boston Scientific, 14 place Georges Pompidou, Immeuble B, BP32, 78184 Saint Quentin en Yvelines. Tel : 01.39.30.49.00, Fax : 01.39.30.49.01. www.bostonscientific.com
- Boîte de 5 pinces Radial Jaw® de diamètre 1.8mm, pour canal opérateur 2mm, réf. M00512661
- Boîte de 5 pinces Radial Jaw 3® de diamètre 1.8mm, pour canal opérateur 2mm, réf. M00515231
- Boîte de 5 pinces Radial Jaw 3® de diamètre 2.2mm, pour canal opérateur 2.8mm, réf. M00515211

Pince biopsique réutilisable (biopsie bronchique) : pour biopsies avec endoscope fin (enfants avant 10 ans)

Taille en fonction de la taille du canal opérateur

- La plus petite pince : Pince Rat Tooth® diamètre 1.15mm, pour canal opérateur 1.2mm, réf. FB 56D-1. Société : Olympus France endomédical, 74 rue d'Arcueil, Silic L165, F-94533 Rungis Cedex. Tel : 01.45.60.23.00. Fax : 01.45.60.22.30. www.olympus.fr

Tubes en polystyrène à fond conique stérile (brossage ciliaire) :

- Boîte de 250 tubes, réf. 080010. Société : Dominique Dutscher SA, 30 rue de l'Industrie, BP62, 67172 BRUMATH cedex, Tél : 03.88.59.33.90, Fax : 03.88.59.33.99, www.dutscher.fr

Liquide de transport (brossage ciliaire) : Milieu de survie cellulaire

- Universal IVF Médium® avec rouge de phénol, conservation entre 2 et 8°, 2 mois maximum après expédition. Boîte de 10 flacons de 10ml, réf. 10311010. Société : Médicult, 1 rue Vergers, 69760 Limonest, Tel : 04 72 56 48 00, Fax : 04 72 56 48 01, www.medicult.com
- B1 enrichi en BSA® (Attention : contient de la pénicilline et de la streptomycine). Boîte de 10 ampoules de 10ml. Société : Laboratoire CCD, 48 rue des Petites Ecuries, 75010 Paris. Tel: 01.44.95.14. 95, Fax : 01.44.95.14.90, www.ccd-lab.com
- Fercult®. Réf. MT246. Société JCD SAS, 4bis quai Jean-Jacques Rousseau 69350 La Mulatière, France. Tel : 04.72.98.04.84, Fax : 04.72.98.31.48, www.laboratoires-jcd.com

Fixateur (biopsie ciliaire) :

Glutaraldehyde 2.5% dans tampon cacodylate 0.045M pH 7,4 fourni par le laboratoire de microscopie électronique sur demande (conservation 3 mois à 4°C)

D-Bibliographie

- Les bonnes pratiques de la bronchoscopie souple diagnostique, en 2007. Rev mal respir 2007; 24:1363-92
- Flexible endoscopy of paediatric airways. ERS Task Force. Eur Respir J 2003 Oct;22(4):698-708.
- British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. British Thoracic Society Bronchoscopy Guidelines Committee, a Subcommittee of Standards of Care Committee of British Thoracic Society. Thorax 2001 Mar;56 Suppl 1:i1-21.

Comité de rédaction:

Dr Bassinet Laurence, pneumologue, Créteil
Dr Blanchon Sylvain, pneumo-pédiatre, Paris
Pr Coste André, ORL, Créteil
Dr Escudier Estelle, histo-embryologiste, Paris
Dr Thumerelle Caroline, pneumo-pédiatre, Lille

Comité de lecture :

Dr Berlioz Michele, pneumo-pédiatre, Nice
Dr Bessaci Katia, pneumo-pédiatre, Reims
Dr Beydon Nicole, pneumo-pédiatre, exploration fonctionnelles respiratoire, Paris
Pr Clement Annick, pneumo-pédiatre, Paris
Dr Cros Pierrick, pneumo-pédiatre, Brest
Pr De Blic Jacques, Pneumo-pédiatre, Paris
Dr Delaisi Bertrand, pneumo-pédiatre, Paris
Dr Deneuille Eric, pneumo-pédiatre, Rennes
Dr Derelle Jocelyne, pneumo-pédiatre, Nancy
Dr Desmazes-Dufeu Nadine, pneumologue, Paris
Dr Lebourgeois Muriel, pneumo-pédiatre, exploration fonctionnelles respiratoire, Paris
Dr Papon Jean-François, ORL, Créteil
Dr Reix Philippe, pneumo-pédiatre, Lyon
Dr Renoux Marie-Catherine, pneumo-pédiatre, Montpellier
Dr Roger Gilles, ORL, Paris
Dr Patron Cariou Gwenaëlle, ORL, Nantes
Dr Tamalet Aline, pneumo-pédiatre, Paris

Resp!Rare

**Centre de référence
des maladies respiratoires rares**

www.respirare.fr