

## Diagnostic des maladies mitochondriales

Dr C JARDEL /Dr M GILLERON

Service de **BIOCHIMIE METABOLIQUE** ( Pr D ROUSSELOT)

UF de **BIOCHIMIE DES MALADIES NEUROMETABOLIQUES** (Dr C JARDEL)

GRUPE HOSPITALIER PITIE SALPETRIERE

**Protocole de la biopsie musculaire au lit du malade** : modalités particulières à respecter en vue des études suivantes : morphologie en microscopie optique ; analyse ultrastructurale ; analyse biochimique

Préparer :

- un bécher de 100 ml en plastique épais
- une plaque de polystyrène présentant un trou permettant de soutenir le bécher en plastique au dessus d'un récipient contenant de l'azote liquide (petite boîte en polystyrène ou thermos adapté)
- de l'isopentane (disponible en anatomie pathologique en général)
- de l'azote liquide
- de la carboglace avec des tubes préalablement marqués au nom du patient et indiquant le tissu prélevé
- des étiquettes au nom du patient

Lorsque le patient est prêt pour la biopsie : remplir le récipient d'azote liquide, remplir le bécher d'isopentane et mettre ce dernier à refroidir au contact avec l'azote liquide. Il se forme en 5 minutes environ une solidification de l'isopentane dans la partie inférieure du bécher.

Taille biopsie : un cylindre de 3 mm sur 5 mm

Le ou les fragments biopsiques destinés à l'**analyse morphologique en microscopie optique** doivent :

- être de forme cylindrique avec un côté nettement plus long et parallèle aux fibres musculaires (à peu près 1 à 2 mm de diamètre et 5-8 mm de longueur) ; l'orientation doit être reconnaissable
- être plongés dans l'isopentane refroidi par l'azote liquide pendant 20 secondes. Il est nécessaire d'agiter doucement le prélèvement dans l'isopentane pour obtenir une congélation complète. Le plus pratique est de prendre le prélèvement (pour le muscle : éventuellement monté sur de la gomme adragante sur une rondelle de liège) avec une pince (type Kosher par exemple). Il est important pour la morphologie que le fragment ne soit pas pincé (en dehors du strict minimum pour le maintenir)
- être ensuite transférés dans un tube sec conservé dans la glace pilée

Le fragment biopsique destiné à l'**analyse biochimique de la chaîne respiratoire** doit :

- être clairement identifié : un moyen sûr est de faire un petit éventail avec une étiquette au nom du patient pliée et repliée pour s'adapter à la taille du tube, et de poser dessus le fragment musculaire
- être immédiatement placé dans un tube à vis pour cryoconservation, le tout plongé immédiatement dans l'azote liquide

Au mieux, pour l'ensemble des analyses biochimiques, morphologiques et génétiques, il faudrait disposer de 4 fragments dont l'un au moins a la forme cylindrique longue optimale (fragment pour l'analyse morphologique).

### **Comment transporter et faire voyager un prélèvement sans rompre la chaîne du refroidissement à -80°C ?**

Stocker le tube contenant le prélèvement dans un congélateur à -80°C.

Au moment de l'envoi, mettre le tube contenant le prélèvement dans un petit sac en plastique contenant de la carboglace. Enfouir le tout sous une quantité suffisante de **carboglace** (au moins un volume de 15x15x15 cm<sup>3</sup>) dans une **boîte en polystyrène** expansé. Comblé les vides dans la boîte avec du papier. Sceller la boîte avec de l'adhésif. **Attention, utiliser un contenant qui respire (polystyrène) et n'est pas totalement hermétique, sinon risque d'explosion.**

**Avertir le laboratoire receveur**, envoyer le prélèvement en début de semaine de façon à ce qu'il soit réceptionné et transféré dans un congélateur ou une cuve à azote liquide dès son arrivée.

Envoyer par transport express type chronopost **avec livraison en mains propres**.

	Fragment pour morphologie	Fragment pour analyse ultrastructurale	Fragment pour analyse biochimique	Fragment pour analyse génétique
Nombre de fragments	1 ou 2, longitudinal (dans le sens des fibres)	1, longitudinal (dans le sens des fibres)	1	1
Prétraitement	Congelé dans l'isopentane refroidi par l'azote liquide		Mis immédiatement dans un tube plastique à vis qui est immédiatement plongé dans l'azote liquide	Mis immédiatement dans un tube plastique à vis qui est immédiatement plongé dans l'azote liquide
Contenant	Mis dans un tube ou flacon sec	Tube ou flacon contenant de la glutaraldéhyde 2,5 %	Tube plastique à vis pour cryoconservation	Tube plastique à vis pour cryoconservation
Conservation et transport	Dans glace pilée	Dans glace pilée	Dans azote liquide, à défaut carboglace <sub>1</sub>	Dans azote liquide, à défaut carboglace <sub>1</sub>