 ME-PANA-MO-01	Biologie Médicale	Page : 1/3
		Date : Septembre 2018
Version N° 03	Protocole de fixation des tissus pour une étude en Microscopie Electronique à Transmission	

Historique		
Version	Date	Commentaire
02	Juin 2017	Intégration SAPANET

<u>Sommaire</u>	
1. Objectifs.....	1
2. Domaine d'application et personnes concernées.....	1
3. Définitions	1
4. Description	2
4.1. Préanalytique dans les services demandeurs.....	2
5. Documents de référence.....	3

1. OBJECTIFS




Décrire le protocole de fixation des tissus pour une demande d'étude en microscopie électronique à transmission venant d'une structure extérieure au CHU de Poitiers.


2. DOMAINE D'APPLICATION ET PERSONNES CONCERNÉES

Toutes les personnes susceptibles de demander un examen de microscopie électronique à transmission.

3. DEFINITIONS

ME : Microscopie électronique

Rédaction		Vérification		Approbation	
Nom Prénom	Date	Nom Prénom	Date	Nom Prénom	Date
KAAKI Sihem	28/09/2018	CHASSAT Stéphane	12/07/2017 28/09/2018	PLAZANET Caroline	01/10/2018
Signature :		Signature :		Signature :	
					

 ME-PANA-MO-01	Biologie Médicale	Page : 2/3
		Date : Septembre 2018
Version N° 03	Protocole de fixation des tissus pour une étude en Microscopie Electronique à Transmission	

4. DESCRIPTION

4.1. Préanalytique dans les services demandeurs

Prévoir systématiquement une biopsie dédiée à la microscopie électronique dans le cas d'une atteinte rénale et d'une gammopathie monoclonale

4.1.1 Protocole

- Immédiatement après exérèse, plonger la biopsie dans le glutaraldéhyde.
- Si besoin découper, dans le glutaraldéhyde, en fragments de 1 à 2 mm³.

Le délai entre le prélèvement et la fixation doit être **le plus court possible**, de l'ordre de quelques secondes, pour avoir une ultrastructure interprétable.

Le temps de fixation est de, **au minimum** 1 heure à 4°C et il est possible de conserver la biopsie dans le glutaraldéhyde à 4°C plusieurs jours, avant envoi. Et surtout, il faut éviter d'envoyer en fin de semaine.

A noter qu'il est possible de vous envoyer notre glutaraldéhyde 3%. Pour cela, il vous faut envoyer un mail au minimum 15 jours avant la date de la biopsie aux adresses suivantes :


Madame KAAKI Sihem : sihem.kaaki@chu-poitiers.fr

Madame ORY Cécile: cecile.ory@chu-poitiers.fr

4.2 Préparation des fixateurs

4.2.1 Préparation de 20mL de glutaraldéhyde 3%

- Prélever 1.2mL de glutaraldéhyde solution Grade I 50% SIGMA ALDRICH (réf : G7651)
- Ajouter 5 mL de tampon Phosphate 0.4M (cf 4.2.2 Préparation du tampon phosphate 0,4M)
- Qsp 20mL d'eau distillée
- Conserver à 4°C maximum 2 mois

 ME-PANA-MO-01	Biologie Médicale	Page : 3/3
		Date : Septembre 2018
Version N° 03	Protocole de fixation des tissus pour une étude en Microscopie Electronique à Transmission	

4.2.2 Préparation du tampon phosphate 0,4M, pH=7.2

- Préparer du phosphate monosodique 0.4M :
 - Peser 6.24g de phosphate monosodique $\text{Na H}_2 \text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (PM=156 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dans un bécher
 - Qsp 100mL d'eau distillée
 - Conserver à 4° C jusqu'à éuisement du stock

- Préparer du phosphate disodique 0.4M :
 - Peser 14.32 g de phosphate disodique $\text{Na}_2 \text{H PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (PM=358 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dans un bécher
 - Qsp 100mL d'eau distillée
 - Conserver à 4° C jusqu'à éuisement du stock

- Préparation du tampon phosphate 0.4M final, pH=7.2 :
 - Prélever 16 mL du tampon phosphate monosodique et 84 mL du tampon phosphate disodique dans une bouteille hermétique.
 - Conserver à 4° C jusqu'à éuisement du stock

4.3 Envoi des prélèvements

Merci de joindre : - la demande de ME remplie
 - une ordonnance à l'entête de l'établissement demandeur sans information clinique

Les biopsies doivent être envoyées dans des tubes qui se vissent ou qui se clipsent remplis de glutaraldéhyde 3% à ras-bord, à 4°C et par un transporteur, à l'adresse suivante :

Centre Hospitalier Universitaire La Milétrie
 Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques (niveau -2A)
 Microscopie électronique

2 rue de la Milétrie CS 90577
 86021 POITIERS CEDEX

5. DOCUMENTS DE REFERENCE

- Recommandations des Bonnes Pratiques en ACP. V2 (2009)