

Identification par séquençage 16S sur spécimen à culture négative

Révisé le 2019-04-23

Indication

Spécimens cliniques de sites normalement stériles pour lesquels il y a eu des tentatives infructueuses pour la culture et l'isolement d'une bactérie (spécimen à culture négative)

Spécimens

Liquides biologiques normalement stériles (sang, hémoculture, LCR, autres liquides biologiques)

LCR, envoyer un volume minimum de 0,2 ml

Pour les autres liquides, envoyer un volume minimum de 0,5 ml

Pour les hémocultures, envoyer un aliquot ≥ 2 ml (2-5 ml)

Biopsie tissulaire d'un site normalement stérile

Tissu paraffiné d'un site normalement stérile

Congeler le spécimen à -20°C et envoyer sur glace sèche

Spécimens rejetés

Plasma, sérum, prélèvement de sites non-stériles (expectorations, selles, tube digestif, ongles, biopsie cutanée superficielle etc...), spécimens fixés dans du formol.

Suggestions pour le contenant

Contenant suggéré pour l'envoi des spécimens : Tube à centrifuger en polypropylène de 5,0 mL (environ 15mm x 60mm), avec fond conique, bouchon vissable, stérile jetable.

Exemple : Marque Sarstedt #60.558.001 ou marque BioBasic #BT693-SN

Pour liquide : Ne pas remplir le contenant jusqu'à ras bord



Requête d'analyse et formulaire justificatif doivent impérativement être complétés

- Requête du LSPQ (FO-LSPQ-221) et formulaire justificatif dûment complétés :

Le formulaire justificatif est disponible sur le site du répertoire des analyses du LSPQ au <https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/lspq/formulaire-justificatif-16s.pdf>

- Indiquer éventuellement le pathogène suspecté et le résultat éventuel de la coloration de Gram, dans la section « **AGENT ÉTIOLOGIQUE PRÉSUMÉ OU RECHERCHÉ** ».
- Indiquer le type d'échantillon prélevé et tous les renseignements relatifs à ce dernier dans la section « **NATURE DE L'ÉCHANTILLON** ».

- Inscrire «**TAAN 16S culture négative**» dans la section « **ANALYSE(S) DEMANDÉE(S)** »
- Remplir tous les éléments du formulaire justificatif et le joindre à la requête

Pour les spécimens non paraffinés, congeler le spécimen à une température de -20°C jusqu'à leur envoi pour analyse. Expédier dans un emballage contenant de la glace sèche.
Pour les spécimens paraffinés, envoyer à température ambiante

Méthodes utilisées et interprétation des résultats

Ce test comporte des étapes d'extraction de l'ADN du spécimen clinique avec une trousse commerciale, suivi d'un PCR amplifiant un fragment du gène de l'ARNr 16S.

Lorsque le PCR est positif, le fragment d'ADN obtenu est séquencé avec la méthode de Sanger suivi d'une analyse phylogénétique de la séquence nucléotidique pour identifier le pathogène.

L'analyse est effectuée une fois par semaine et débute le mercredi.

Temps réponse

Les résultats sont transmis au plus tard dans 7 jours.
Excepté pour les spécimens qui requièrent une reprise ou pour lesquels le formulaire justificatif est manquant.

Commentaires :

Le séquençage du gène de l'ARNr 16S ne détecte que les bactéries.
Pour cette analyse, limiter au strict minimum le nombre de spécimens cliniques envoyés par site de prélèvement.

Personnes contacts :

Personnel technique du secteur Identification bactérienne : (514) 457-2070, **poste 2221 ou 2223.**

Responsable de l'analyse : Marc-Christian Domingo, **poste 2335.**