|  |  |
| --- | --- |
| Rédigé par :  | Jeannot DumaresqAlexis Danylo |
| Révisé par : | Jeannot Dumaresq |

# Objectif / but de l’analyse

Cette procédure s’applique uniquement aux bouteilles d’hémocultures positives remplissant les conditions suivantes :

* • La bouteille a été ensemencée avec du **sang**, du **liquide synovial** (articulaire ou de bourse), ou du liquide **pleural**;
* La coloration de Gram révèle la **présence non équivoque d’un morphotype bactérien unique**.

# Principe de la méthode / contexte / domaine d’application

Les bouteilles d’hémocultures positives avec une **coloration de Gram homogène (un seul morphotype bactérien)** sont traitées comme suit :

* Sous-culture sur 1 gélose chocolat supplémentaire avec **5 gouttes**.
* Déposer les gouttes au même endroit dans l’équivalent d’un seul quadrant, et étaler sur l’ensemble de la gélose avec une anse stérile dans 2 sens perpendiculaires :
* Incuber les géloses dans une étuve à 35 ± 2°C.
* Pour les bactéries à **Gram négatif** :
* Procéder à l’identification rapide seulement pour une série d’hémoculture par jour.
* Après **2 heures** d’incubation, **seulement si un tapis de croissance bactérienne est visible**, écouvillonner **le centre** de la gélose en faisant un passage (une strie) à l'aide d'une anse en plastique, anse qui est ensuite appliquée sur un puits d'une plaque VITEK MS. S'il n'y a aucun matériel visible sur le puits, un autre passage sur la gélose est effectué avant d'appliquer à nouveau l'anse sur le puits de la plaque VITEK MS. Cette étape est répétée, au besoin, jusqu'à ce que du matériel soit visible sur le puits.
* Si aucune croissance n’est visible ou si l’identification échoue à 2 reprises avec le VITEK MS après 2 heures d’incubation, répéter l’étape précédente **après 4 heures** d’incubation.
* Pour les bactéries à **Gram positif :**
* Procéder à l’identification pour chaque série d’hémoculture.
* Après **4 heures** d’incubation, **seulement si un tapis de croissance bactérienne est visible**, écouvillonner **le centre** de la gélose en faisant un passage (une strie) à l'aide d'une anse en plastique, anse qui est ensuite appliquée sur un puits d'une plaque VITEK MS. S'il n'y a aucun matériel visible sur le puits, un autre passage sur la gélose est effectué avant d'appliquer à nouveau l'anse sur le puits de la plaque VITEK MS. Cette étape est répétée, au besoin, jusqu'à ce que du matériel soit visible sur le puits.
* Si aucune croissance n’est visible ou si l’identification échoue à 2 reprises avec le VITEK MS après 4 heures d’incubation, répéter l’étape précédente après **8 heures** d’incubation.
* Si le résultat obtenu donne un degré de confiance inférieur à **99.9%,** l’analyse est répétée une deuxième fois.
* S’assurer que le résultat obtenu concorde avec la coloration de Gram effectuée. Ne pas rapporter les résultats discordants et en aviser le microbiologiste de garde au laboratoire.
* Envoyer immédiatement par télécopie un rapport préliminaire avec le nom de l’espèce tel qu’il doit être rapporté selon la liste de correspondance des espèces, avec le message suivant : « Identification préliminaire; confirmation et antibiogramme à venir. »
* Aviser le microbiologiste de garde au laboratoire de toute discordance une fois l’identification définitive obtenue.

# Précautions / mesures de sécurité

## Situations où une bactérie comportant des risques pour le personnel de laboratoire doit être suspectée :

* Très petits coccobacilles Gram négatif qui ne montrent aucune croissance visible à l’œil nu sur la gélose chocolat après 4 heures d'incubation : sous une enceinte de sécurité biologique, il faut éliminer Brucella sp ou Francisella tularensis avant de procéder à l’identification par MALDI-TOF, en se référant au document du LSPQ "Suspicion de bactéries de groupe de risque 3 (GR3)", dont les fiches sont disponibles au laboratoire.
* Gros bacilles Gram positif ou Gram variable détectés après moins de 24 heures d'incubation dans la bouteille d’hémoculture : sous une enceinte de sécurité biologique, il faut éliminer Bacillus anthracis avant de procéder à l’identification par MALDI-TOF, en se référant au document du LSPQ "Suspicion de bactéries de groupe de risque 3 (GR3)", dont les fiches sont disponibles au laboratoire.
* Cocci Gram négatif ou Gram variable : la préparation des lames pour identification par MALDI-TOF doit s’effectuer sous une enceinte de sécurité biologique car il pourrait s’agir d’un isolat de Neisseria meningitidis.

# Diffusion

Selon les procédures de votre laboratoire.

# Versions

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Versions** | **Date** | **Auteurs** | **Modifications**  |
| 1.0  | 2019-01-24 | Jeannot DumaresqAlexis Danylo  | Création |
| 1.1 | 2019-05-28 | Jeannot Dumaresq | Ajout d’une section précautions/mesures de sécurité (section 3.1) |

Algorithme