

CNRP



La spectrométrie FT-IR, une nouvelle méthode de typage des pneumocoques

Jameel BATAH¹, Guillaume BOIS-SALVARO² et
Emmanuelle VARON¹

¹Centre National de Référence des Pneumocoques,
Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil.

²Bruker France SAS.



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Typage capsulaire des pneumocoques

- Outil épidémiologique indispensable
 - Evaluer l'impact de la politique vaccinale sur la distribution des sérotypes circulants.
 - L'investigation des cas groupés d'infections invasives à pneumocoque
- Capsule composée de polysaccharides
 - > 93 types capsulaires
- La méthode de référence Quellung (labo spécialisés, CNR)
 - Fastidieuse
 - Coûteuse
 - Nécessitant un panel de plus de 100 antisérums



FT-IR (Fourier Transformation-Infrared Spectroscopy)

- Principe : mesure de l'absorption de la lumière IR par la substance étudiée
- Technique permettant l'analyse de la composition en **hydrates de carbone**
 - Directement à partir de colonies
 - Temps d'analyse court (**1 min/spot**)
- Travaux préliminaires : 23 sérotypes vaccinaux
Burckhardt *et al.* ESPID 2018
- Objectif de cette étude
 - Évaluer le pouvoir discriminant de FT-IR pour les principaux polysides de capsule des pneumocoques



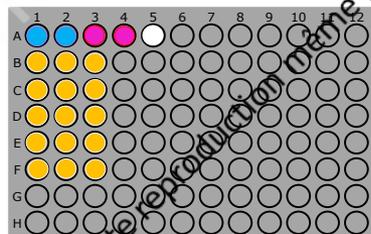
IR Biotyper BRUKER

Matériel et méthode

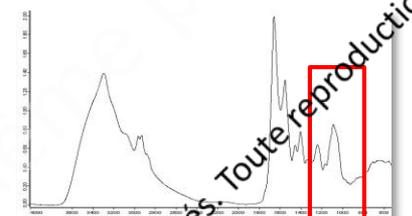
- Collection de 59 souches de pneumocoque de génotype (MLST) distinct
 - 58 sérotypes dont les 23 vaccinaux
 - 1 souche non typable



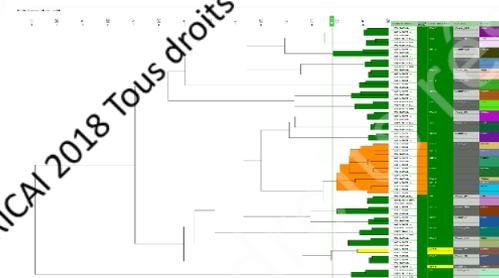
Gélose COH



Silicon sample plate

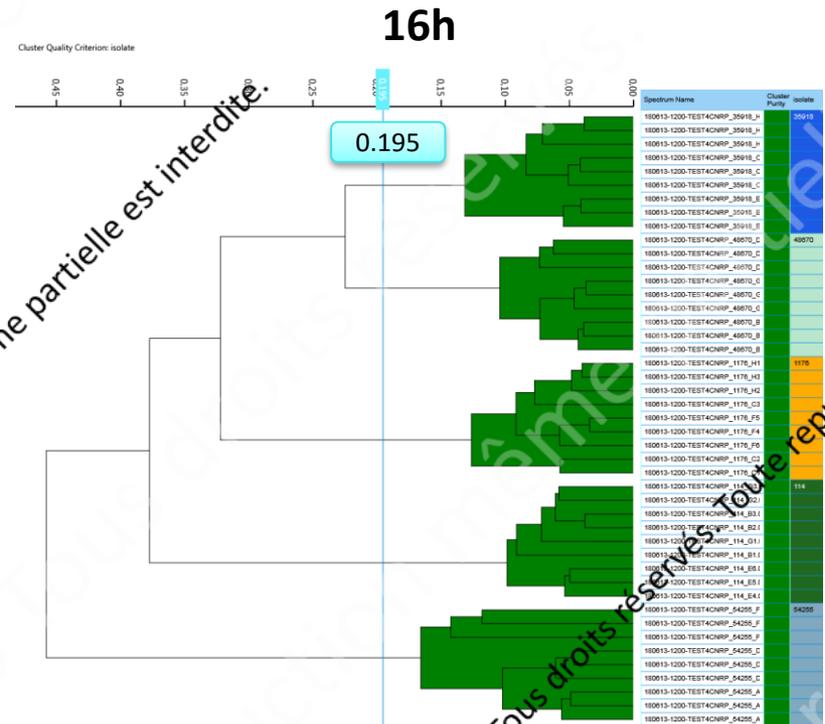
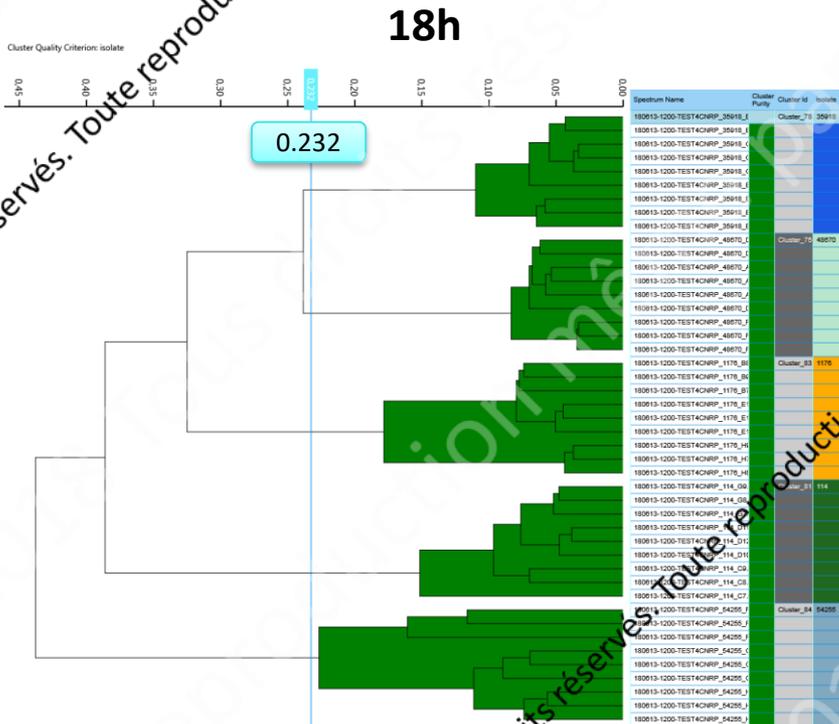


1300 - 800 cm⁻¹



Durée d'incubation optimale

- 3 charges pour 5 souches
- Incubation : 2 durées

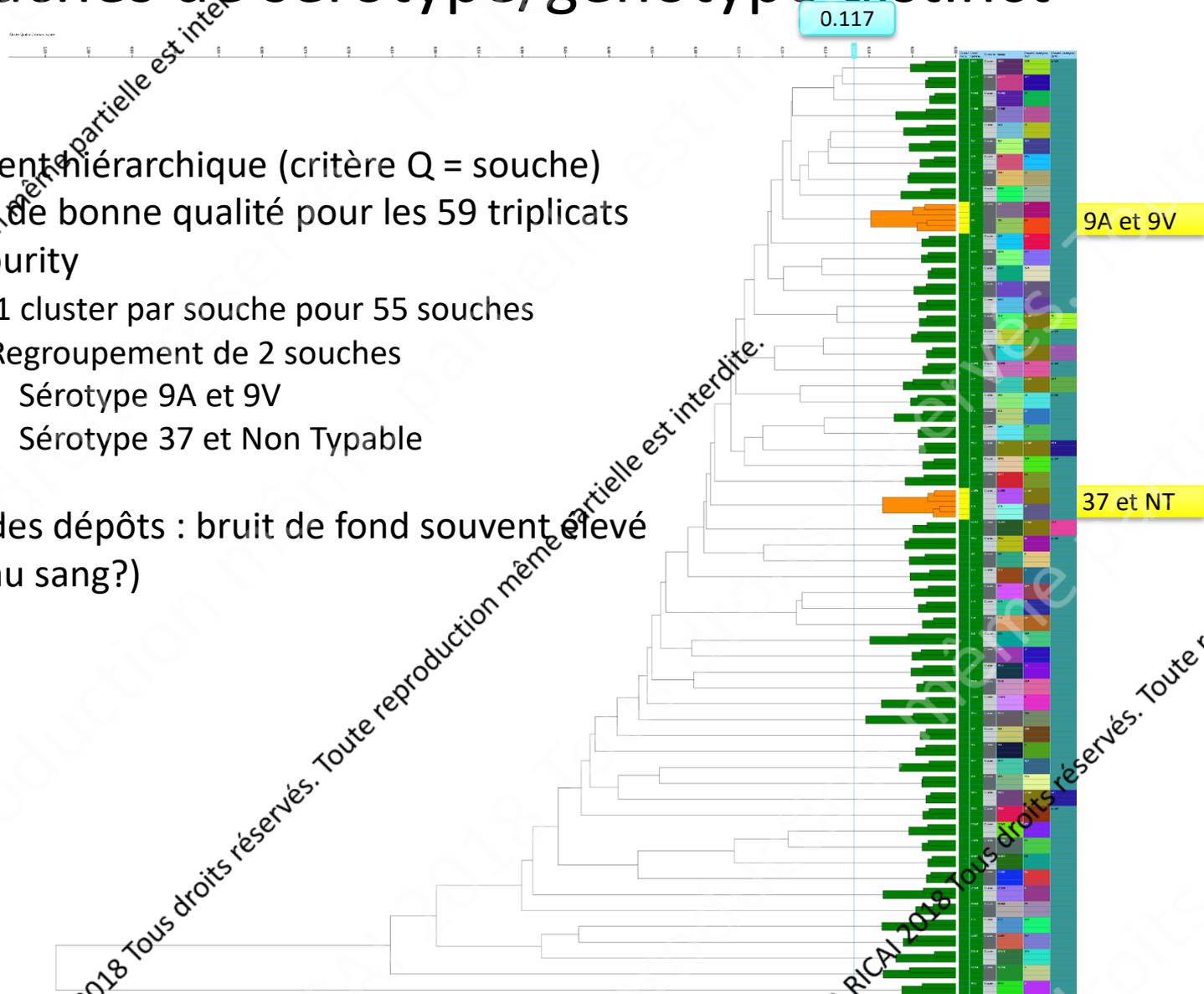


→ Durée d'incubation 16 h

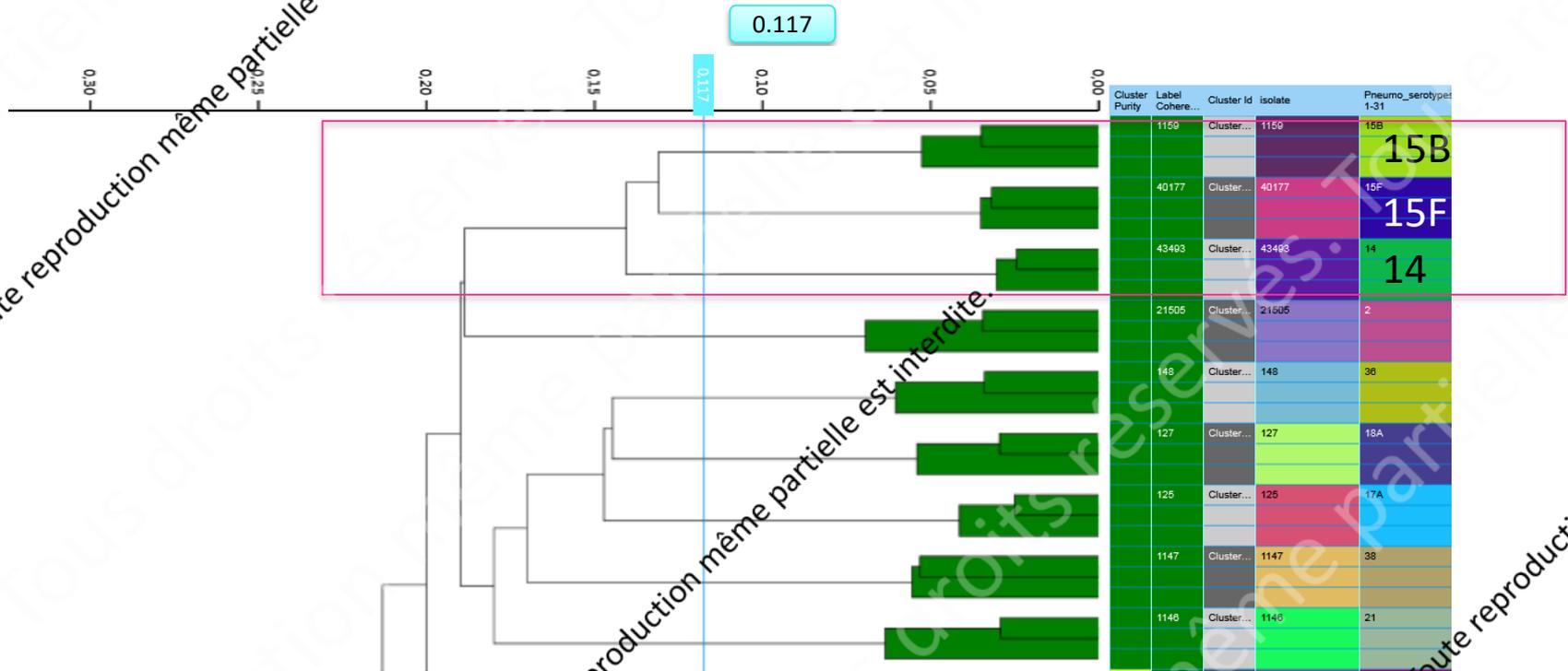
59 souches de sérotype/génotype distinct

Regroupement hiérarchique (critère Q = souche)

- Spectres de bonne qualité pour les 59 triplicats
- Cluster purity
 - 1 cluster par souche pour 55 souches
 - Regroupement de 2 souches
 - Sérotype 9A et 9V
 - Sérotype 37 et Non Typable
- Qualité des dépôts : bruit de fond souvent élevé (gélose au sang?)



Cohérence du regroupement sérotypes 14, 15B, 15F



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

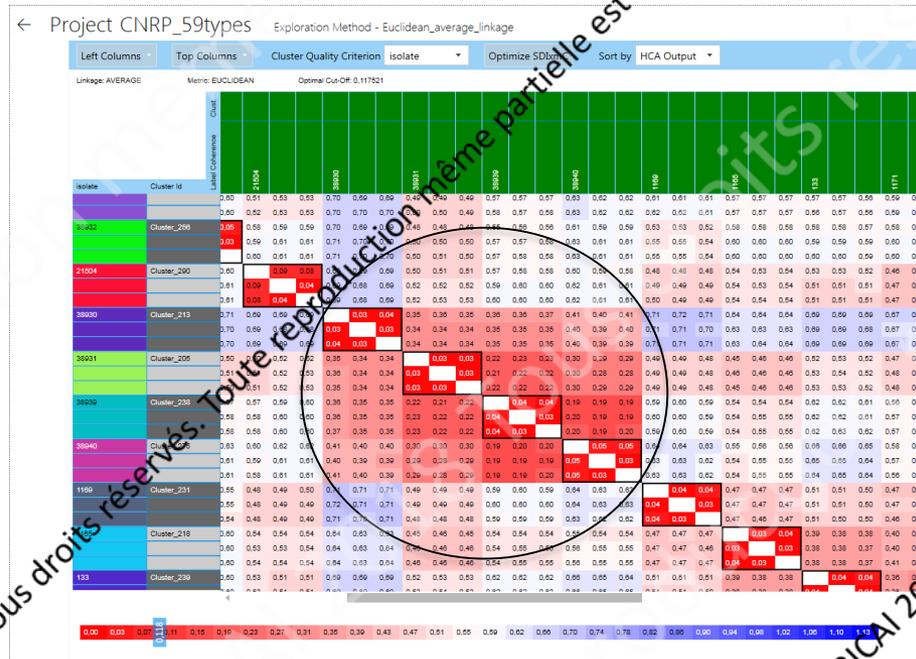
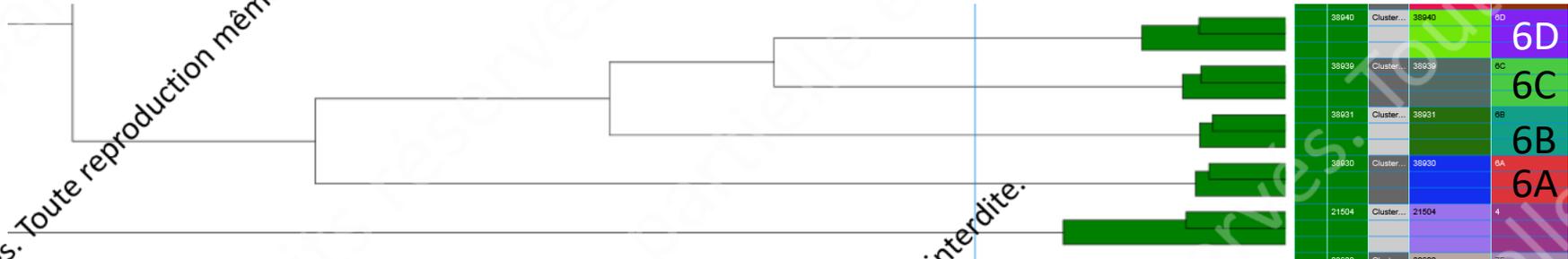
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Discrimination des 6A, 6B, 6C, 6D

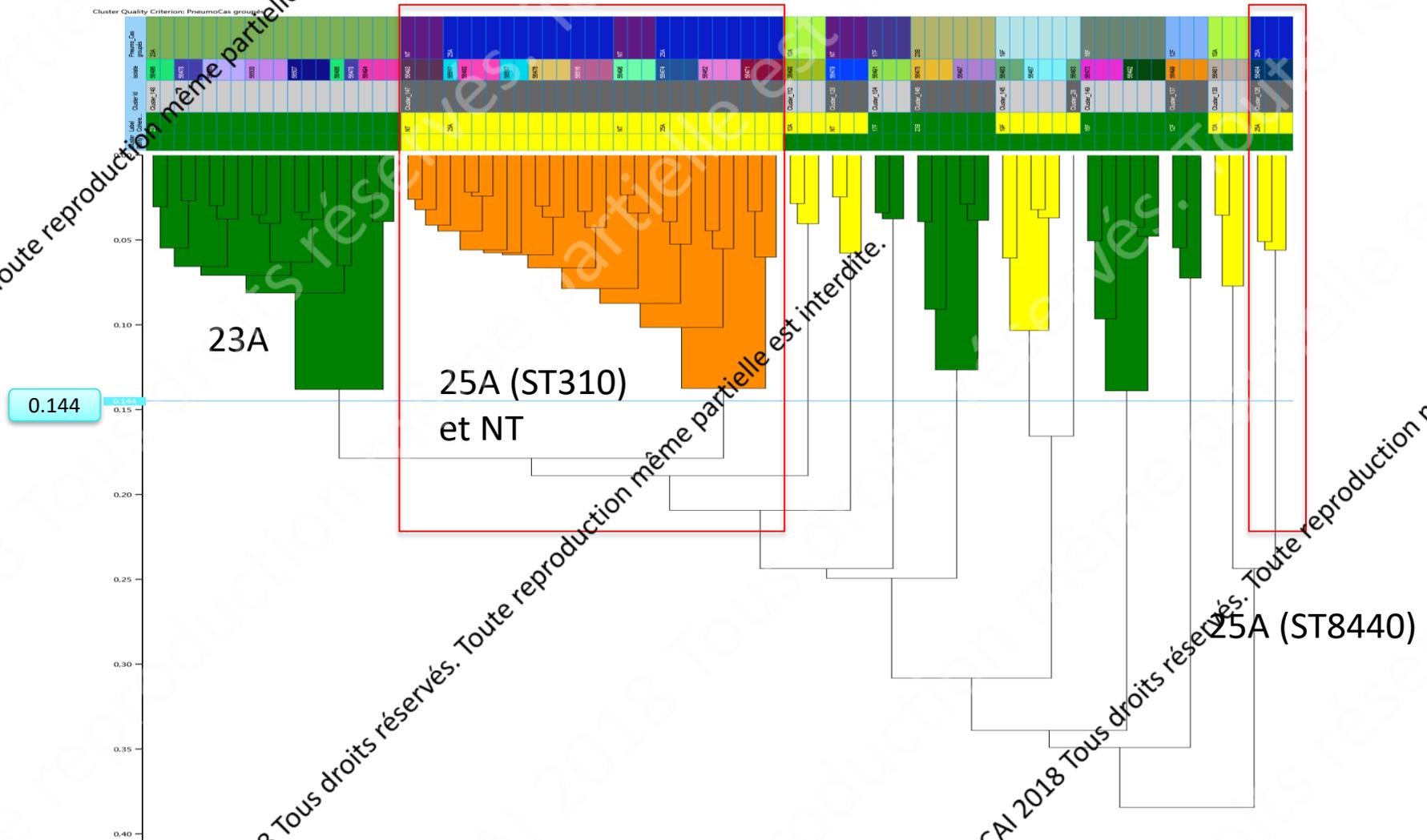
Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Investigation de cas groupés

28 souches, 10 sérotypes



Conclusion

- Première étude à avoir analysé autant de sérotypes de pneumocoques
- La spectroscopie FT-IR apparaît comme une technique de typage efficace prometteuse, capable de discriminer les pneumocoques en fonction leur type capsulaire, voire en fonction de leur MLST, de façon simple et rapide
- Intérêt pour analyser finement la composition de capsules d'un type donné
- Améliorer la qualité des dépôts (diminuer bruit de fond)
- Si des conditions standardisées n'affectant pas la lecture du signal peuvent être trouvées, il sera possible de constituer une base de spectres afin de déterminer le type capsulaire d'une souche de pneumocoque

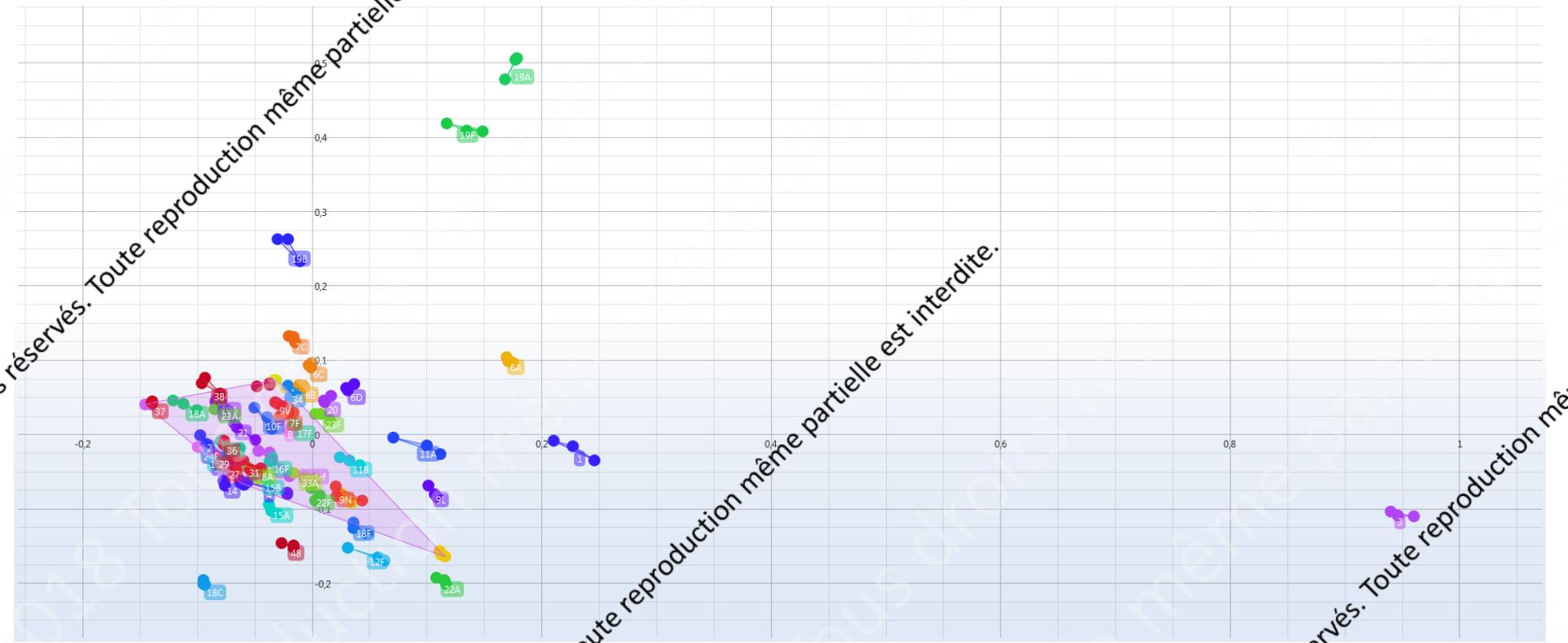


Remerciements

- Société Bruker
 - Renaud Joly
 - Guillaume Bois-Salvaro
- HEGP
 - Isabelle Podglajen
 - Loan Bordas
- CNRP
 - Jameel Batah



PCA pour les 59 souches de genotype distinct



© RICA I 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICA I 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

