

Caractérisation d'agents pathogènes par spectrométrie de masse MALDI-TOF : application à l'espèce *Tenacibaculum maritimum*

Sébastien Bridel^{1,2,3}, Frédéric Bourgeon⁴, Arnaud Marie², Pierre-Yves Moalic², Jean-François Bernardet¹, Sophie Pasek⁵ et Eric Duchaud¹



¹ VIM, INRA, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France ; ² Labofarm, Finalab, 22603 Loudéac, France ; ³ Université de Versailles Saint-Quentin-En-Yvelines, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France ; ⁴ Bio Chêne Vert, Finalab, Rue Blaise Pascal, 35220 Châteaubourg ; ⁵ Institut de Systématique Evolution, Biodiversité, ISYEB, UMR 7205 CNRS MNHN UPMC EPHE, Paris, France.

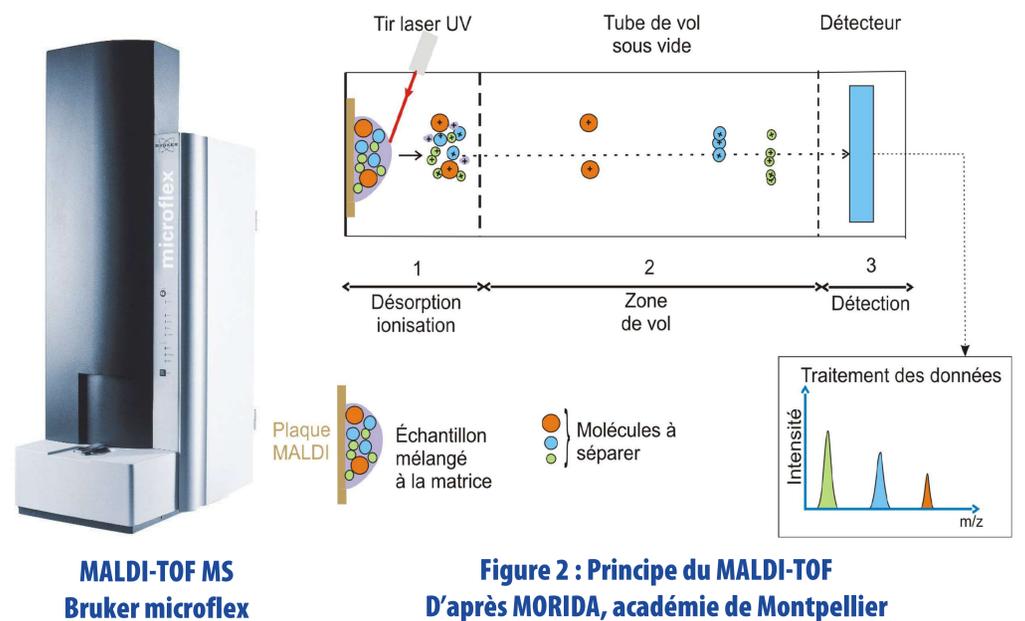
Parmi les pathologies retrouvées en pisciculture marine, celles regroupées sous le terme générique de ténacibaculoses (ou flexibactérioses marines) frappent régulièrement de nombreux élevages dans le monde entier (Fig. 1).

Les espèces bactériennes responsables, appartenant au genre *Tenacibaculum*, sont aujourd'hui mal décrites et leur identification est encore difficile. Notre étude avait pour objectif de proposer un outil de diagnostic fiable, rapide et bon marché permettant d'une part d'identifier l'espèce responsable d'un épisode infectieux et d'autre part de caractériser plus finement les isolats au sein de l'espèce la plus prévalente, *T. maritimum*.



Figure 1 : Saumon atlantique (*Salmo salar*) atteint de ténacibaculose
Photo : Carlos Sandoval

MATÉRIELS & MÉTHODES



MALDI-TOF MS
Bruker microflex

Figure 2 : Principe du MALDI-TOF
D'après MORIDA, académie de Montpellier

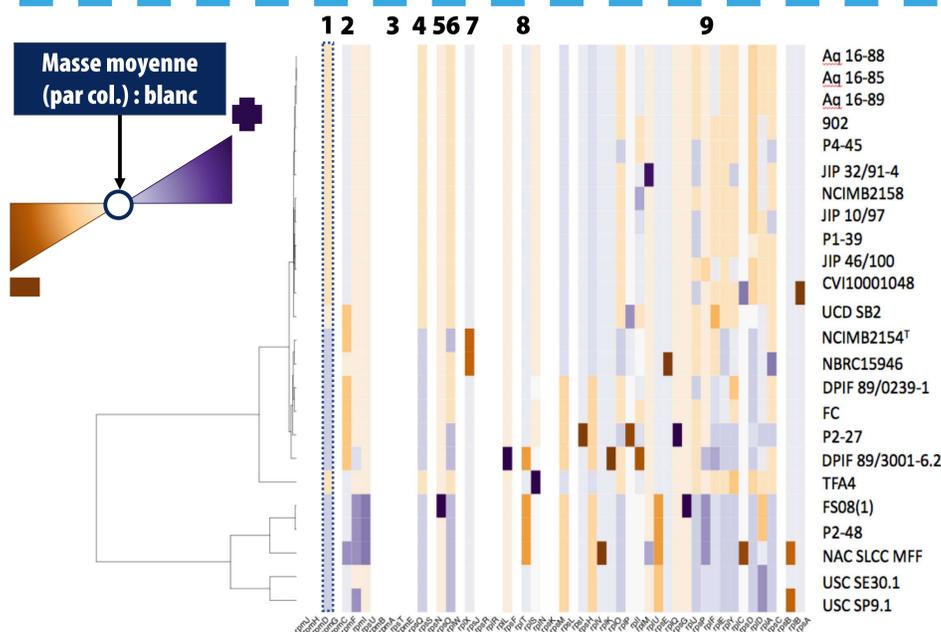


Figure 3 : Analyse *in silico* du polymorphisme des 54 sous-unités protéiques ribosomiques de l'espèce *T. maritimum* (24 génomes)

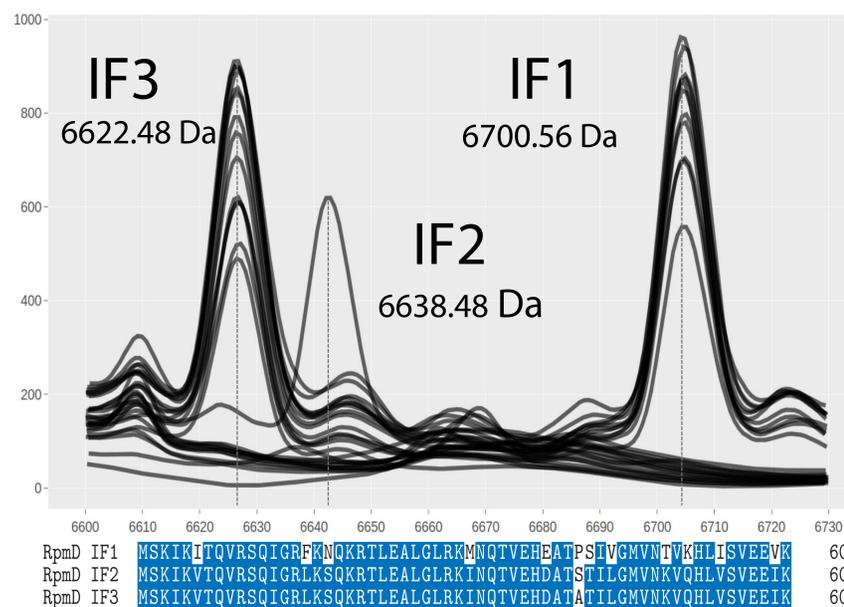


Figure 4 : Aperçu du *peak shift* correspondant au biomarqueur RpmD (50S ribosomal protein subunit L30)

Comment choisir des biomarqueurs pertinents ?

Combiner l'information génomique et les données spectrales

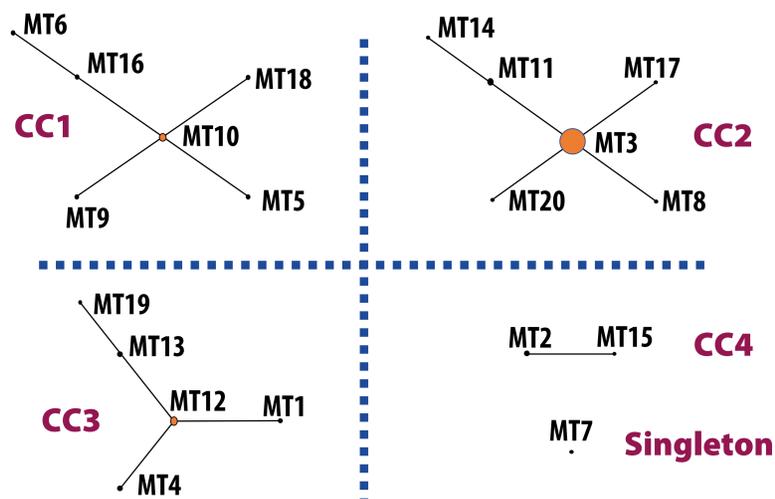


Figure 5 : Relation entre les 130 isolats, les 20 MALDI-types identifiés et les 4 complexes clonaux (réseau eBurst)

RÉSULTATS

Nous avons évalué le potentiel de la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Fig. 2) pour classer les isolats de *T. maritimum*. À partir de l'analyse croisée des données génomiques et des données spectrales, 9 biomarqueurs polymorphes ont été retenus (Fig. 3). Chaque biomarqueur possède 2 à 5 isoformes (IF) différentes. À chacune de ces IFs correspond une masse spécifique, identifiable dans les empreintes moléculaires (Fig. 4). Un isolat possède une combinaison spécifique de ces 9 IFs. Chaque combinaison spécifique est définie comme un MALDI-type (MT). Sur une centaine d'isolats de terrain, nous avons pu observer 20 MTs différents groupés en 4 complexes clonaux (Fig. 5).

CONCLUSION

La spectrométrie de masse MALDI-TOF et le schéma *Multi Peak Shift Typing* (MPST) peuvent constituer une méthode pertinente pour l'analyse des isolats de *T. maritimum* dans les études épidémiologiques à grande échelle. Le MALDI-type est un équivalent des *sequence type* (ST) et des types électrophorétiques (ET) définis respectivement par MLST et MLEE. Cette approche devrait permettre de faciliter la gestion des agents pathogènes dans les élevages. La stratégie développée pourrait également être transposée à d'autres espèces.

