

Comparaison de deux méthodes d'extraction d'ADN à partir de souches bactériennes

Saoussene Hamrouche^{1,2}, Nabila Benamrouche^{1,3}, Souad Boucelma¹, Sarah Sihem Zemam¹, Soraya Sadat¹

¹Laboratoire des Entérobactéries et Autres Bactéries Apparentées, Institut Pasteur d'Algérie

²Faculté de Pharmacie, Université Alger I

³Faculté de Médecine, Université Alger I

Introduction

L'extraction d'ADN est une étape critique dans les méthodes de biologie moléculaire. Actuellement, de nombreux protocoles sont disponibles pour l'extraction de l'ADN à partir de souches bactériennes.

Objectif

Le but de notre étude est de comparer deux méthodes d'extraction d'ADN, la première utilise un kit de lyse commercialisé et la deuxième, une méthode par ébullition, technique « maison », non commercialisée et largement utilisée dans notre laboratoire.

Méthodes

- Différentes souches bactériennes ont été testées : des bacilles à Gram négatif (n=27), bacille à Gram positif (n=1) et des cocci à Gram positif (n=02).
- Le kit commercial « Sample Release Reagent » (SRR) (Sansure, Changsha, China) a été utilisé pour l'extraction d'ADN par la méthode de lyse, selon les recommandations du fabricant et la méthode de l'ébullition a été réalisée selon le protocole validé au niveau de notre laboratoire (Figures 1 et 2).
- L'extraction a été faite après 2h puis 24h d'incubation à 35°C d'une suspension bactérienne correspondant à 10⁸ UFC/ml (0,5 Mac Farland).
- Une visualisation des extraits d'ADN obtenus a été faite par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8%.
- Le dosage des extraits d'ADN obtenus a été effectué par spectrométrie avec l'appareil NanoDrop (Thermoscientific, Madison, USA) (concentration et rapport de pureté). Le rapport de pureté (A260/A280) doit être compris entre 1,7 et 2.
- Le logiciel statistique IBM SPSS version 23, a été utilisé pour l'analyse des résultats. Le seuil de significativité de 5% a été utilisé.

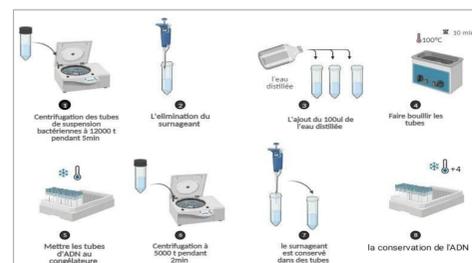


Figure 1. Protocole d'extraction de l'ADN par ébullition

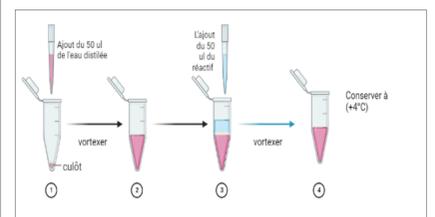


Figure 2. Protocole d'extraction de l'ADN avec un kit commercial

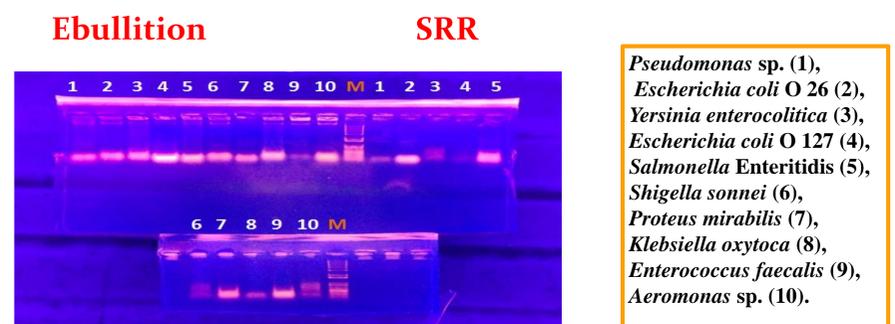


Figure 3. Résultat de la visualisation de l'ADN par électrophorèse sur gel d'Agarose 0,8%

Résultats

- La visualisation des extraits d'ADN obtenus par ébullition et par SRR sur gel d'agarose est illustrée dans la **figure 3**.
- Comparaison des moyennes** : les moyennes des dosages de l'ADN extrait par ébullition après 2h et 24h d'incubation était respectivement **656,7** et **817,6 µg/ml**. Les moyennes des dosages de l'ADN extrait par le kit SRR après 2h et 24h d'incubation était respectivement **503,7** et **1784,8 µg/ml**.
- L'étude de la corrélation par calcul du **coefficient de Pearson** a montré un résultat **non significatif** : égal à **0,324** et **0,366** après 2h et 24h d'incubation respectivement (**figure 4**).

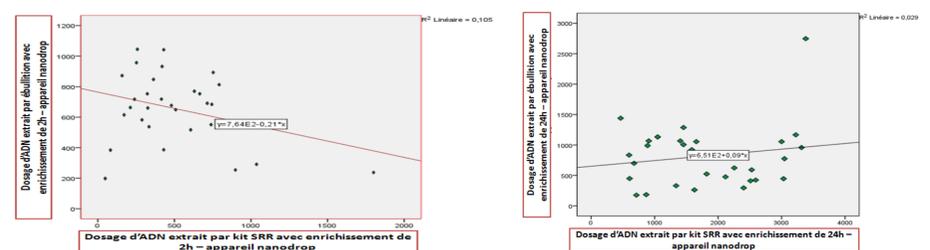


Figure 4. Dispersion des concentrations d'ADN extrait par les deux techniques après 2h et 24h d'enrichissement.

- Comparaison des ratios de pureté** : pour la méthode d'ébullition, les échantillons de bonne qualité (ratio de pureté entre 1,7 et 2) après 2h et 24h d'incubation étaient de **11 (36,67%)** et **5 (16,67%)** respectivement. Pour le kit SSR, les échantillons de bonne qualité étaient au nombre de **deux (6,67%)** et **9 (30%)** respectivement.
- La comparaison des ratios, utilisant le **coefficient kappa** a montré une **mauvaise concordance** entre les deux techniques (**-0,127** et **2,571** respectivement).

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude ne sont **pas concluants**, ceci peut être du au **faible nombre** d'échantillons, néanmoins nous avons observé un léger avantage pour la technique d'ébullition concernant le rapport de pureté. Une étude plus étendue avec un nombre d'échantillons plus important et des améliorations dans les deux techniques est recommandée afin que l'étude soit plus performante.

Références

- Dimitrakopoulou, M.-E., Stavrou, V., Kotsalou, C., & Vantarakis, A. (2020). Boiling Extraction Method VS Commercial Kits for Bacterial DNA Isolation from Food Samples. Journal of Food Science and Nutrition Research, 03(04). <https://doi.org/10.26502/jfsnr.2642-11000057>
- Dashit, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M., & Dashit, H. M. (2009). Heat Treatment of Bacteria : A Simple Method of DNA Extraction for Molecular Techniques. KUWAIT MEDICAL JOURNAL.