

UTILISATION DE LA PCR MULTIPLEX POUR LA CARACTERISATION DE *SALMONELLA ENTERICA* SER. TYPHIMURIUM CHEZ LA PALOURDE *RUDITAPES DECUSSATUS*

S. El Mejri ¹, M. El Bour ¹, I. Boukef ^{1*}, N. Al Gallas ², O. Bahri ³, R. Mraoua ¹ and A. Boudabbous ⁴

¹ laboratoire de Microbiologie et de Pathologies des animaux aquatiques-INSTM-Salambôo-Tunisie - imen.boukef@lycos.com

² Laboratoire de contrôle des eaux et des denrées alimentaires-Institut Pasteur -Tunisie

³ Laboratoire de virologie clinique-Institut Pasteur de Tunis-Tunisie

⁴ Laboratoire de Microbiologie et des molécules bioactives-Faculté des Sciences de Tunis-Tunisie

Abstract

Salmonella enterica ser.Typhimurium a été identifiée par utilisation de la technique PCR Multiplex chez la palourde *Ruditapes decussatus* et comparée aux souches de référence C52 et LT2. Leur virulence a été mise en évidence par tests de cytotoxicité. D'après les résultats obtenus, un même sérotype présente deux profils différents de pathogénicité et le titre de cytotoxicité chez les Salmonelles Typhimurium isolées du milieu naturel demeure relativement élevé.

Keywords: *Bacteria, Bivalves, Gulf Of Gabes*

Introduction

Un nombre considérable de gènes (de l'ordre de quelques centaines) doivent être mobilisés par *Salmonella* Typhimurium pour échapper aux mécanismes de défense de l'hôte. Les facteurs de virulence spécifiques sont codés par des îlots de pathogénicité (un à plusieurs gènes associés à la virulence), en plus des îlots génomiques [1], [2]. Cette étude décrit l'identification de *S. Typhimurium* par des gènes de virulence, grâce à la technique de PCR multiplex.

Matériel et méthode

Extraction de l'ADN chromosomique: L'extraction de l'ADN génomique est effectuée selon le procédé de « boiling method » à partir de cultures bactériennes de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium dont six sont isolées à partir de la palourde *Ruditapes decussatus* et deux sont des souches de référence respectivement *S. Typhimurium* C52 et *S. Typhimurium* LT2 [3].
L'amplification génique par PCR multiplex : trois paires d'amorces ont été choisies, PhoP, Hin et Hli, donnant respectivement des bandes de 299 pb, 236 pb et 173 pb. **Test de cytotoxicité :** le surnageant des cultures bactériennes qui contient les toxines est mis en contact avec des Cellules Vero, cette suspension est incubée à 37°C dans une atmosphère à 5% de CO₂ pendant 48 à 72 h [3].

Résultats et Discussion

Les résultats de la caractérisation moléculaire de *Salmonella* Typhimurium sont résumés dans le tableau 1. L'amorce PhoP amplifie une région de 299 pb, cette amorce non spécifique des Salmonelles, caractérise également la présence de coliformes. Les amorces Hin et Hli, spécifiques des gènes impliqués dans le contrôle du système de variation de phase chez les Salmonelles, amplifient respectivement une région de 236 pb et 173 pb. Une seule de ces bandes suffit pour détecter une *Salmonella* Sp. (Figure 1). Ces résultats sont concordants avec les travaux de Ben Salem [4] et l'étude de Way *et al.* [5].

Tab. 1. Caractérisation de *Salmonella* Typhimurium isolées à partir de la palourde *Ruditapes decussatus*

| Souche | H3 | H4 | H5 | H6 | H9 | H10 | C52 | H10 |
|--------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Titre de cytotoxicité (CFU/ml) | 10 ⁸ | 10 ^{7.5} | 10 ⁸ | 10 ⁷ | 10 ⁸ | 10 ^{8.5} | 10 ^{7.5} | 10 ⁷ |
| Profil de Pathogénicité | bandes (299-236-17300) | bandes (299-236-23600) | bandes (299-236-17300) | bandes (299-236-23600) | bandes (299-236-17300) | bandes (299-236-17300) | bandes (299-236-17300) | bandes (299-236-17300) |

Nota : H3, H4, H5, H6, H9, H10 : *Salmonella Typhimurium* isolées à partir de la palourde ; C52, LT2 : *Salmonella Typhimurium*

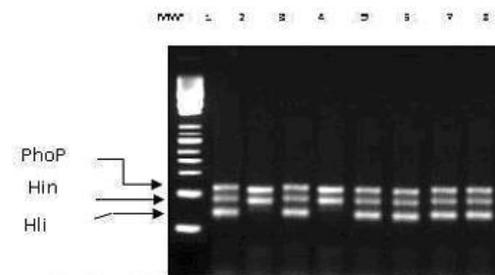


Fig. 1. Profil électrophorétique des îlots de pathogénicité de *Salmonella* Typhimurium. 1-6: *S. Typhimurium* isolées de la palourde; 7: *S. Typhimurium* C52; 8: *S. Typhimurium* LT2

References

- 1 - Doublet B., Boyd D., Mulvay M., Cloeckart A., 2005. The *Salmonella* genomic island is an integrative mobilizable element. *Mol. Microbiol.* 55 (6): 1911-1924.
- 2 - Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U., Hacker J., 2004. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 414-424.
- 3 - Al Gallas N., Olfa Bahri, Ridha Ben Aissa., 2006. Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in a Diarrheagenic Tunisian Population, and the Report of Isolating STEC O157:H7 in Tunis. *Cur. Microbiol.* 53: 483-490.
- 4 - Ben Salem I. 2008. Detection des Salmonelles dans les aliments par multiplex PCR. Mastère. Fac. Phar. Monastir. 110p.
- 5 - Way J.S., Josephson K.L., Pillai S.D., Abbaszadegan M., Gerba C.P., Pepper I.L., 1993. Specific detection of *salmonella* spp. by multiplex polymerase Chain Reaction. *App. Environ. Microbiol.* 59: 1473-1479.