

BIN-08

Typage moléculaire par mlst des espèces du genre *tsukamurella*

Oulmi L., Boulahrouf A. et Kitouni M.

Laboratoire de Génie-Microbiologique et Applications, Faculté S.N.V. Université Frères Mentouri

Constantine1

oulmilamia@yahoo.fr

Résumé

En infectiologie, la prise en charge précoce et adaptée des patients est influencée par le diagnostic microbiologique et l'identification précise du microorganisme en cause. L'identification des espèces par les techniques microbiologique classique, et les séquences de l'ARN 16s trouvent leur limites d'où la nécessité d'utiliser d'autres alternatives comme le typage moléculaire par *multi-locus séquence typing* (MLST) basée sur le séquençage de plusieurs gènes de ménage. L'objectif du présent travail est la discrimination entre les espèces du genre *Tsukamurella*. L'étude a porté sur l'ensemble des souches type du genre *Tsukamurella* décrites en plus de la souche *Tsukamurella* sp. 1534 isolée d'une sécrétion pulmonaire d'un patient hospitalisé. Pour cela, quatre gènes de ménage ont été sélectionnés : le *rpoA*, *rpoB*, *lepA*, *ftsZ*. Afin d'amplifier ces derniers, la conception des amorces a été réalisée après l'alignement des séquences des gènes de la souche *Tsukamurella paurometabola* avec les souches *Rhodococcus equi*, *Nocardia farcinica* et *Mycobacterium tuberculosis*. Les amplicons ont été analysés par électrophorèse capillaire automatisée QIAxcel. Les produits de PCR ont été purifiés et séquencés selon le protocole du bigDYE terminator. Les électrophorégrammes bruts des gènes sont analysés et assemblés par le logiciel chromas pro 1.5. Les séquences consensus sont traduites en séquences d'acides aminés des protéines correspondantes. Les alignements multiples des séquences des gènes et les séquences compilées ont été réalisés à l'aide du logiciel Clustal. Les arbres phylogénétiques ont été construits en utilisant méga 5. Les résultats des alignements multiples des séquences nucléotidiques des cinq gènes des 12 souches montrent un polymorphisme inter-espèces suffisant pour l'identification de l'ensemble des espèces du genre et que le gène présentant le plus de polymorphisme en séquence nucléotidique est le gène *ftsZ*. Résultats, confirmés par les arbres phylogénétiques construits à partir des séquences compilées.

Mots-clés : Diagnostic microbiologique, MLST, PCR, Actinobactérie, *Tsukamurella*.