

PROTOCOL



TECHNIQUE D'EXTRACTION DE L'ADN PLASMODIAL A PARTIR DE LA SALIVE PAR LA METHODE DU CHELEX 100

TECHNIQUE FOR THE EXTRACTION OF PLASMODIAL DNA FROM SALIVA BY THE CHELEX 100 METHOD

| Oléfongo Dagnogo ^{1,2} | Gueyraud Rolland Kipré ^{1*} | Coulibaly Baba ² | and | Allico Joseph Djaman ^{1,2} |

¹. Université Félix Houphouët-Boigny | UFR Biosciences | Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique | Abidjan | Côte d'Ivoire

². Institut Pasteur de Côte d'Ivoire | Abidjan | Côte d'Ivoire |

| Received 09 June 2019 |

| Accepted 22 July 2019 |

| Published 28 July 2019 |

| ID Article | Dagnogo-Ref.9-ajira090719 |

RESUME

Introduction : La biologie moléculaire a modifié considérablement le diagnostic de routine des maladies infectieuses. Toute étude de génétique moléculaire implique la disposition d'échantillons d'acides nucléiques. Lors de l'extraction de l'ADN de *Plasmodium* à partir de confettis de salive de paludéens, des efforts doivent être déployés pour éviter la contamination, prévenir la dégradation et préserver l'intégrité moléculaire. **Objectif :** L'objectif de ce travail est de décrire une méthode d'extraction simplifiée de l'ADN plasmodial à partir des confettis de la salive par la méthode du Chelex 100. **Conclusion :** Cette technique permet d'obtenir de l'ADN plasmodial non dégradé en solution.

Mots-clés: ADN, Chelex 100, Salive.

ABSTRACT

Introduction: Molecular biology has significantly altered the routine diagnosis of infectious diseases. Any molecular genetic study involves the provision of nucleic acid samples. When extracting Plasmodium DNA from malarial saliva confetti, efforts should be made to avoid contamination, prevent degradation and preserve molecular integrity. **Objective:** The objective of this work is to describe a simplified method of extraction of plasmodial DNA from saliva by the Chelex 100. **Conclusion:** This technique made it possible to obtain undegraded plasmodial DNA in solution.

Keywords: DNA, Chelex 100, Saliva.

1. INTRODUCTION

Les pays endémiques adoptent de plus en plus d'outils moléculaires pour le typage, l'identification et la surveillance efficaces du parasite du paludisme dans le cadre de leurs programmes de lutte [1,2]. Cependant, pour établir durablement ces approches précises dans la recherche opérationnelle afin de renforcer les efforts de lutte l'élimination du paludisme, des méthodes avec des réactifs et équipement nécessaire, sont essentielles [3,4]. Nous présentons ici une technique simple à base de Chelex 100 pour l'extraction de l'ADN de *Plasmodium* à partir de confettis de salive de paludéens.

Principe

La résine Chelex 100 piège les contaminants, laissant l'ADN en solution. La résine Chelex arrête les cations tels que Mg^{2+} , un cofacteur important pour l'action de DNase, protégeant ainsi l'ADN de la dégradation.

2. MATERIEL ET METHODOLOGIE

2.1 Matériel

- Confettis de salive de paludéens,
- Poudre de Chelex 100,
- Tube Eppendorf,
- Incubateur,
- Vortex,
- Microcentrifugeuse.

2.2 Méthode

- Préparer une solution de Chelex 5% (P/V),
- Pipeter 180µL de solution de Chelex 5% dans un tube Eppendorf,
- Incuber à 100°C pendant 5 minutes,
- Ajouter les pointes du confetti contenant la salive séchée de paludéen,
- Bien fermer le tube et vortexer pendant 30 secondes,
- Incuber de nouveau le tube à 100°C pendant 10 minutes,
- Centrifuger le tube à 12000 rpm (tour par minute) pendant 1 minute 30 secondes,
- Recueillir le surnageant dans un nouveau tube Eppendorf
- Centrifuger à 12000 rpm pendant 1 minute 30 secondes,
- Recueillir le surnageant (contenant l'ADN plasmodial) dans un nouveau tube Eppendorf,
- Conserver le tube à -20°C (ou réaliser immédiatement la PCR avec le surnageant).

3. RESULTATS

La méthode Chelex simplifiée a permis l'extraction d'ADN de qualité de *Plasmodium* à partir de confettis de salive de paludéens. Cet extrait d'ADN plasmodial est utilisable pour à diverses applications PCR.

Les avantages de la technique Chelex simplifiée comprennent la simplicité, moins de réactifs et donc moins de coûts, la sécurité et un temps de traitement plus court (moins de 20 min) que les protocoles standard tels que la méthode saline et la méthode au phénol-chloroforme.

4. CONCLUSION

La méthode du Chelex 100 est rapide et évite l'utilisation de solvants organiques contrairement à la méthode saline et à la méthode d'extraction au phénol chloroforme. Cette méthode de préparation de l'ADN permet de procéder à la lyse cellulaire et à la purification du matériel génétique dans un seul tube.

5. REFERENCES

1. Bonnet M, Roper C, Félix M, Coulibaly L, Kankolongo GM, and Guthmann JP. Efficacy of antimalarial treatment in Guinea: *in vivo* study of two artemisinin combination therapies in Dabola and molecular markers of resistance to sulphadoxine-pyrimethamine in N'Zerekore. *Malar J.* 2007; 6: 54. doi:10.1186/1475-2875-6-54.
2. Harris I, Sharrock WW, Bain LM, Gray KA, Bobogare A, Boaz L, Lilley K, Krause D, Vallely A, Johnson ML, Gatton ML, Shanks GD, Cheng Q. A large proportion of asymptomatic Plasmodium infections with low and sub-microscopic parasite densities in the low transmission setting of Temotu Province, Solomon Islands: challenges for malaria diagnostics in an elimination setting. *Malar. J.* 2010. 9: 254. doi:10.1186/1475-2875-9-254.
3. Birx, D., de Souza, M., and Nkengasong, J.N. Laboratory challenges in the scaling up of HIV, TB, and malaria programs: The interaction of health and laboratory systems, clinical research, and service delivery. *Am J Clin Pathol.* 2009; 131: 849-851. doi: 10.1309/AJCPGH89QDSWFONS.
4. The malERA Consultative Group on Vector Control. A research agenda for malaria eradication: vector control. *PLoS Med.* 2011; 8: e1000401. doi:10.1371/journal.pmed.1000401.



Cité cet article: Oléfongo Dagnogo, Gueyraud Rolland Kipré, Coulibaly Baba and Allico Joseph Djaman.

TECHNIQUE D'EXTRACTION DE L'ADN PLASMODIAL A PARTIR DE LA SALIVE PAR LA METHODE DU CHELEX 10. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2019; 9(2): 139-140.

This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>