

P-041

Séquençage long-read optimisé de *Nocardia cyriacigeorgica*

Athénaïs LE MARCHAND¹, Brune JOANNARD^{1,2}, Jean-Philippe VERNADET^{3,4}, Guislaine REFREGIER^{3,4}, Richard CHALVIGNAC⁵, Charlotte GENESTET², Elisabeth HODILLE^{1,2}, Oana DUMITRESCU^{1,2}

¹ Laboratoire de biologie médicale de référence (LBMR) des Nocardioses, Institut des Agents Infectieux, HCL, Lyon, France,
² CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, Lyon, France
³ Université Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France; Ecologie Systématique Evolution
⁴ Université Paris-Saclay, CNRS, AgroParisTech, UMR ESE, 91405, Orsay, France
⁵ GenEPI Sequencing platform, Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

 athnaiss@hotmail.fr 0760745191



Avec le soutien de l'Association
des Internes et des Anciens Internes

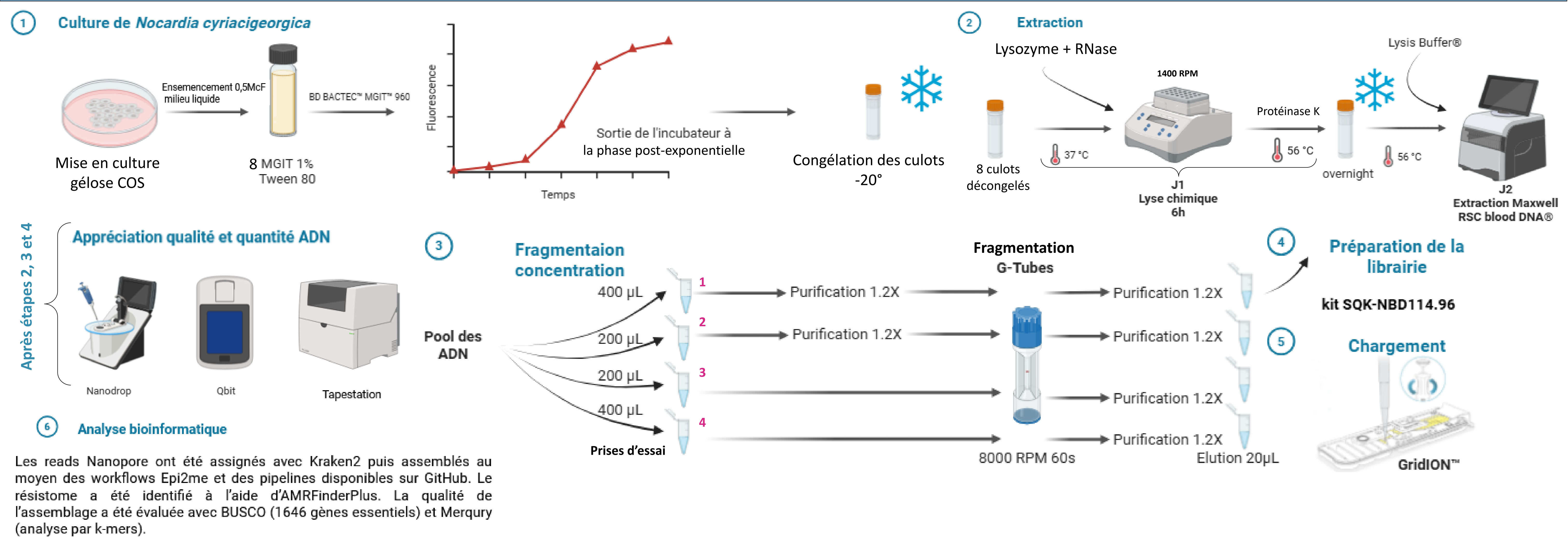
Introduction

Le genre *Nocardia* (>100 espèces) inclut des pathogènes opportunistes tels que *N. cyriacigeorgica*. La nocardiose, rare mais sévère, présente une morbi-mortalité élevée. Sa prise en charge est compliquée par la variabilité de sensibilité aux antibiotiques selon les espèces et la difficulté des tests phénotypiques. Les données génomiques restent limitées (une centaine de génomes classés complets), contraintes par la diversité, la complexité de la paroi cellulaire, le taux de GC et les régions répétées.

Objectifs

Nous présentons ici une méthode optimisée d'extraction d'ADN et de séquençage long-read appliquée à une souche clinique de *N. cyriacigeorgica*, permettant l'obtention d'un génome complet, contribuant à une meilleure connaissance des bases moléculaires de *Nocardia*, l'étude de son résistome, et plus particulièrement de la présence de gènes codant pour des bêta-lactamases.

Méthodes



Résultats

Conditions	1	2	3	4
Prise d'essai	400µL	200µL	200µL	400µL
Nombre de purification	2	2	1	1
Quantité ADN ng/µL	32.8	13.7	50.0	25.2

Enrichir la prise d'essai en utilisant un volume de 400µL permet d'augmenter la concentration d'ADN finale donc disponible pour le séquençage. Les tailles moyennes des fragments d'ADN obtenues pour ces 4 conditions sont similaires selon la présence ou l'absence de purification avant fragmentation.

Mean read lenght	916,9
Mean read quality	16,6
Median read lenght	542,0
Median Read quality	17,3

Number of reads	1 930 171
Read length N50	1,382
Total bases	1 769 775 032
> Q10	100%
> Q15	79%
> Q20	18%
> Q25	2.3%

scores Phred

Conclusion et perspectives

La méthode a permis d'assembler le génome complet avec des critères de qualité satisfaisants mais elle peut être faillible en cas de présence de plasmide. L'absence de plasmide mis en évidence peut être biaisée par une taille moyenne de fragments trop faible ou un biais de construction de librairie qui ne permet pas de travailler sur des ADN circulaires non fragmentés comme ceux des plasmides. Pour analyser cela, d'autres conditions de fragmentation seront étudiées afin d'optimiser la taille des fragments. Ensuite, ce protocole sera réalisé sur environ 100 souches appartenant à 9 espèces (*N. cyriacigeorgica*, *farctica*, *nova*, *transvalensis*, *brasiliensis*, *pseudobrasiliensis*, *otidivarium*, *abscessus*, *wallacei*) et ces données génomiques seront associées aux données de CMI par dilution en milieu liquide, notamment pour la corrélation entre les gènes de résistance aux bêta-lactamines et la résistance in vitro.