

التوصية الصادرة عن هيئة تدابير الصحة النباتية: تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء كأداة
تشخيص لأغراض الصحة النباتية

إطار الحالة

لا يشكل هذا جزءاً رسمياً من المعيار، وسوف تعدله أمانة الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات بعد اعتمادها.	
تاريخ صدور الوثيقة	2018-12-6
فئة الوثيقة	مشروع توصية لهيئة تدابير الصحة النباتية
المرحلة الحالية للوثيقة	إلى الدورة الرابعة عشرة لهيئة تدابير الصحة النباتية (2019)
المراحل الرئيسية	<p>03-2018 اقترح ضمّ موضوع الجيل الجديد من تكنولوجيات تحديد التسلسل كأداة تشخيص لغايات الصحة النباتية في برنامج الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات بناءً على توصية مقدمة إلى هيئة تدابير الصحة النباتية من أستراليا ومنظمة وقاية النباتات في أوروبا والبحر الأبيض المتوسط ونيوزيلندا.</p> <p>04-2018 أضافت الهيئة في دورتها الثالثة عشرة موضوعاً إلى برنامج عمل الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات لتقدم توصية بشأنه إلى الهيئة.</p> <p>05-2018 تمّ تعديله إثر انعقاد الدورة الثالثة عشرة للهيئة.</p> <p>05-2018 تم عقد مشاورات (15 مايو/أيار - 15 أغسطس/آب 2018).</p> <p>09-2018 تمّ تنقيحه إثر فترة المشاورات.</p> <p>10-2018 مكتب هيئة تدابير الصحة النباتية.</p> <p>12-2018 مكتب هيئة تدابير الصحة النباتية.</p>
الملاحظات	<p>هذا مشروع وثيقة وقد تمّ عرضه خلال فترة المشاورات باللغة الإنكليزية فقط.</p> <p>08-2018 تمّ تعديل العنوان استجابةً إلى المشاورات (تمّ تغيير العنوان من "الجيل الجديد من تحديد التسلسل" إلى "تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء"</p> <p>10-2018 تمّ تحريره.</p> <p>12-2018 تمّ تحريره (في جزء منه).</p>

المعلومات الأساسية

تقرّر هيئة تدابير الصحة النباتية (الهيئة) بأن تشخيص الآفات بشكل دقيق وفي الوقت المناسب يدعم إصدار الشهادات للصادرات، وعمليات تفتيش الواردات، وتطبيق تدابير الصحة النباتية المناسبة.¹ ومن المسلمّ به على نطاق واسع أن القدرة على الكشف عن آفات النباتات وتحديد هويتها تختلف باختلاف دقة أدوات الكشف وإمكانية استئصالها وخصائصها.

¹ انظر أيضاً التوصية الصادرة عن الهيئة R-07: أهمية تشخيص الآفات (<https://www.ippc.int/en/publications/84234/>)

وقد شكلت تكنولوجيايات تحديد التسلسل العالي الأداء، المعروفة أيضاً بالجيل الجديد من تحديد التسلسل أو تكنولوجيايات تحديد التسلسل العميق، بديلاً فعالاً عن الوسائل التقليدية للكشف عن الكائنات الحية وتحديد هويتها (مثل البكتيريا، والفطريات، والمواد الحيوية، والفيروسات وأشباه الفيروسات). وقد لا تقتزن نتائج التشخيص القائمة على تحديد التسلسل العالي الأداء بالأدلة على وجود آفات حية أو أضرار تلحقها هذه الكائنات الحية بالنباتات أو المنتجات النباتية. وبالتالي، ينبغي توخي الحذر لدى تفسير نتائج هذه التكنولوجيايات الحساسة للغاية، مثل تحديد التسلسل العالي الأداء، للكشف عن الآفات وتحديد هويتها. وينبغي بصورة خاصة إيلاء الاعتبار الواجب للمخاطر والتداعيات الناجمة عن تطبيق نتائج التشخيص القائم على تحديد التسلسل العالي الأداء عند تنفيذ تدابير الصحة النباتية. وعلاوةً على ذلك، قد لا تلائم تكنولوجيايات تحديد التسلسل العالي الأداء جميع المنظمات الوطنية لوقاية النباتات نظراً إلى الكلفة العالية للمنصة ذات الصلة والتكاليف التشغيلية الأخرى. وتجدر الإشارة أيضاً إلى أنه يجوز لكل منظمة وطنية لوقاية النباتات استخدام منصة مختلفة لتحديد التسلسل العالي الأداء.

ويرد مزيد من التفاصيل بشأن تكنولوجيايات تحديد التسلسل العالي الأداء في المرفق 1.

هذه التوصية موجهة إلى

الأطراف المتعاقدة والمنظمات الإقليمية لوقاية النباتات.

التوصيات

تخطط الهيئة علماءاً بالتحديات القائمة وبضرورة العمل بشكل أكبر في مجال تكنولوجيايات تحديد التسلسل العالي الأداء للكشف عن الآفات وتحديد هويتها باعتبارها منطلقاً لتطبيق اللوائح الخاصة بالصحة النباتية. كذلك، يجب مواصلة التحقيق في النتائج القائمة على تكنولوجيايات تحديد التسلسل العالي الأداء لكائنات حية دقيقة غير معروفة من أجل إظهار إمكانية أن تكون هذه الكائنات الحية الدقيقة آفة نباتية، وتدخل بالتالي ضمن فئة الآفات الخاضعة للوائح.

وحيث يقترح طرف متعاقد ما استخدام تكنولوجيايات تحديد التسلسل العالي الأداء ونتائجها كمنطلق لتطبيق لوائح الصحة النباتية الملائمة، فإن الهيئة تشجع الأطراف المتعاقدة على القيام بما يلي:

- (أ) وضع خطوط توجيهية بشأن الإجراءات الواجب اتخاذها بعد الكشف عن كائنات حية دقيقة غير معروفة (مثل الفطريات أو البكتيريا أو الفيروسات) أو الكشف عن كائنات حية غير قابلة للحياة في المواد النباتية؛
- (ب) ضمان وجود البنية التحتية والاستثمارات الملائمة في تكنولوجيا المعلومات والمعلوماتية الأحيائية، والتنقيف والتدريب على المعلوماتية الأحيائية، لتخزين البيانات وتفسير نتائج الاختبارات بشكل ملائم، وضمان التنفيذ الفعال لهذه التكنولوجيايات؛
- (ج) توحيد وتطبيق الخطوط التوجيهية التشغيلية لأفضل الممارسات في مجال تحديد التسلسل العالي الأداء، بما في ذلك التفسير المناسب للنتائج وتدابير مراقبة الجودة (مثل الضوابط الخاصة بالإجراءات) التي تضمن أن تكون

- البيانات المنبثقة عن تحديد التسلسل العالي الأداء متينة ودقيقة، وأن تكون ذات دلالة بيولوجية في سياق الصحة النباتية، وأن تُنقذ بصورة متسقة؛
- (د) التحقق من موثوقية تحديد التسلسل العالي الأداء ودقته عن طريق القيام بتجارب تقارن هذا التسلسل ببرامج تشخيص أخرى قائمة؛
- (هـ) نقل المعلومات بشأن تفسير نتائج تحديد التسلسل العالي الأداء، لا سيما في ما يتعلق بالنتائج الخاصة بمخاطر الصحة النباتية للكائنات الحية التي تم الكشف عنها، إلى المنظمة الوطنية لوقاية النباتات في البلد المصدر؛
- (و) تنفيذ برامج التدريب على تحديد التسلسل العالي الأداء، بما في ذلك توفير أفضل الدورات عبر الإنترنت حول الممارسات المخبرية، وتنسيق اختبارات الأهلية الدولية من أجل تقييم القدرات المخبرية بشكل مستقل؛
- (ز) نشر بروتوكولات تحديد التسلسل العالي الأداء (التي يتم وضعها لمنصات تحديد التسلسل العالي الأداء الموازية)، وتبادل الخطوط التوجيهية والمواد التدريبية لغرض الشفافية؛
- (ح) نشر المعلومات بشأن الترابطات البيولوجية غير المتوقعة للكائنات الحية الحجرية في النباتات والمنتجات النباتية التي يكشف عنها تحديد التسلسل العالي الأداء.

التوصية (أ أو التوصيات) التي حل محلها ما ورد أعلاه

لا توجد.

هذا المرفق هو لأغراض مرجعية فقط وليس جزءاً إلزامياً من توصية هيئة تدابير الصحة النباتية

المرفق 1

المعلومات الأساسية

في ديسمبر/كانون الأول 2017، نظر مكتب هيئة تدابير الصحة النباتية في وثيقة أعدتها لجنة المعايير وتناولت نقاشات فريق الخبراء الفني المعني بإعداد بروتوكولات التشخيص التابع للاتفاقية الدولية لوقاية النباتات حول الفرص والتحديات المتصلة باستخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء كأداة تشخيص لأغراض الصحة النباتية. وطلب إلى المكتب الموافقة على أن تُعرض وثيقة المعلومات الأساسية على الدورة الثالثة عشرة لهيئة تدابير الصحة النباتية مع التماس إشارة هذه الأخيرة إلى التحديات المتصلة باستخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء ومواصلة العمل على هذه التكنولوجيات للكشف عن الآفات وتحديد هويتها.

وأعدت لجنة المعايير وثيقة بشأن استخدام تكنولوجيات الجيل الجديد من تحديد التسلسل كأداة تشخيص لأغراض الصحة النباتية بالاستناد إلى مناقشات فريق الخبراء الفني المعني بإعداد بروتوكولات التشخيص التابع للاتفاقية الدولية لوقاية النباتات حول الفرص والتحديات المتصلة باستخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء.

وفي ديسمبر/كانون الأول 2017، طلب إلى مكتب الهيئة الموافقة على عرض وثيقة المعلومات الأساسية على الدورة الثالثة عشرة للهيئة مع التماس إشارة هذه الأخيرة إلى التحديات المتصلة باستخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء ومواصلة العمل على هذه التكنولوجيات للكشف عن الآفات وتحديد هويتها.

ووافق المكتب على أنه بالنظر إلى الطابع المستجد لهذه المسألة، فهي ستكون موضع اهتمام الأطراف المتعاقدة، وينبغي وضع توصية لإسداء المشورة والتوجيهات في مجال السياسات إلى الأطراف المتعاقدة والمنظمات الإقليمية لوقاية النباتات بشأن استخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء كأداة تشخيص لأغراض الصحة النباتية.

وقدم كل من أستراليا ونيوزيلندا ومنظمة وقاية النباتات في أوروبا والبحر الأبيض المتوسط مشروع توصية خلال الدورة الثالثة عشرة للهيئة، وأُتفق على إدراج هذا الموضوع ضمن برنامج عمل الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات من أجل رفع توصية إلى الهيئة بشأن "تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء كأداة تشخيص لأغراض الصحة النباتية".

ما هو تحديد التسلسل العالي الأداء وكيف يختلف عن أساليب الاختبار الأخرى؟

يتيح تحديد التسلسل العالي الأداء، المعروف أيضاً بالجيل الجديد من تحديد التسلسل أو تكنولوجيات تحديد التسلسل العميق، تحديد سلسلة الجينوم الكاملة ويمكن استخدامه لجميع أنواع الكائنات الحية التي تتسم بأهمية خاصة بالنسبة إلى الكائنات الحية غير القابلة للاستزراع (مثل الفيروسات وأشباه الفيروسات، وبعض البكتيريا، والفطريات البيضية والفطريات). ويمكن استخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء كذلك للكشف عن آفات مستهدفة خاضعة

للووائح، كما أنها تسمح بالكشف عن كائنات حيّة غير معروفة (أي من غير معرفة مسبقة بشأها). وتتيح تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء وضع تسلسل للمواد الوراثية التي يمكن استخدامها لتحديد جينوم الكائنات الحيّة الدقيقة ذات أهمية من حيث الصحة النباتية، والتي لم يتم الكشف عنها من خلال التكنولوجيات التقليدية. وقد أدى تطبيق هذه التكنولوجيات مؤخراً إلى اكتشاف كائنات حيّة دقيقة لم يتم الكشف عنها مسبقاً، مثل الفطريات، والبكتيريا، والمادة الأحيائية وبخاصة في مجال الفيروسات حيث استخدام التكنولوجيا متطور أكثر من مجال الأمراض الأخرى (تناول الأمثلة الواردة في هذه الوثيقة الفيروسات وأشباه الفيروسات). وسيوصل الباحثون واختصاصيو التشخيص الذين يستخدمون تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء، تحديد أنواع جديدة ووصفها بسبب الكمية الكبيرة من الكائنات الحيّة التي لم يتم اكتشافها بعد، والتي ينبغي للمنظمات الوطنية لوقاية النباتات اتخاذ قرارات صعبة وسريعة بشأنها بالاستناد إلى معلومات محدودة جداً وإلى المخاطر المحتملة على صعيد الصحة النباتية لم يجر تقييمها بشكل دقيق (Olmos وآخرون، 2018). وبالتالي، تتيح هذه التكنولوجيات اعتماد نهج جديد وشامل للكشف عن الآفات الممكنة وتحديد خصائصها في عيّنة بيولوجية ما.

ويعتمد في الوقت الراهن اختبار الصحة النباتية للكشف عن الفيروسات وأشباه الفيروسات في النباتات والمنتجات النباتية على مزيج من النهج المحددة (الجزئية والمصلية) والعامّة (البصرية، والمجهر الإلكتروني، والمؤشرات البيولوجية أو الاختبارات الأحيائية). وفي حين أن هذه الأساليب هي أفضل ما هو متاح حالياً، وتستخدم على نطاق واسع في مختبرات تشخيص الآفات النباتية، إلا أنها تتسم بعدد من نقاط الضعف الكامنة. إذا تتطلب الاختبارات المحددة عادةً وجود معرفة مسبقة عن الأمراض الفيروسية المستهدفة ويحتاج كل اختبار إلى التطوير والتحقق منه (بما في ذلك التحقق من الاختبار لمجموعات آفات/عوائل مختلفة)، ما يفرض قيوداً على موارد المنظمات الوطنية لوقاية النباتات. كذلك، يمكن لهذه الاختبارات المحددة أن تكشف أيضاً عن آثار الحمض النووي أو البروتين لجزيئات الأمراض المفككة، بما يؤدي إلى تقدير مفرط للوجود الفعلي للممرضات. وإن نطاق عوائل العديد من الأمراض ليس محددًا تحديداً جيداً وقد لا يتم الكشف عن الفيروسات وأشباه الفيروسات الغريبة في مجموعات الآفات/العوائل الجديدة. وفي حين أن الاختبارات الأحيائية كانت تستخدم تقليدياً للكشف عن الفيروسات غير المعروفة، إلا أنه يلزم عادةً إجراء المزيد من الاختبارات الجزئية والمصلية للتأكد من هوية العامل السببي عندما تظهر عوارض المرض. وتعتمد الاختبارات الأحيائية إلى حد كبير على الظروف البيئية للتعبير عن الأعراض وتنبثق عنها في الكثير من الأحيان نتائج ملتبسة مثل النتائج الإيجابية الخاطئة والنتائج السلبية الخاطئة.

ويعني الوقت المخصص للاختبارات الأحيائية أن النباتات تقضي فترات طويلة من الزمن في محطات الحجر ما بعد الدخول، ما يزيد إلى حد كبير من التكاليف والتأخير بالنسبة إلى المستوردين. ومن أوجه القصور الأخرى المتعلقة بالاختبارات الأحيائية أنه قد لا يتم اكتشاف السلالات إن لم تكن مصحوبة بالأعراض الظاهرة على العائل الدال. وقد أثبتت الدراسات التي أجريت حتى الآن أن تحديد التسلسل العالي الأداء يساوي اختبارات الفهرسة البيولوجية أو هو أفضل منها في الكشف عن الفيروسات وأشباه الفيروسات ذات الأهمية الزراعية (Barrero وآخرون، 2017؛ Mackie وآخرون، 2017؛ Rott وآخرون، 2017 و Rwahnih وآخرون، 2015). والأهم من ذلك هو أن الدراسات تبين أن تحديد التسلسل العالي الأداء قادر على إعطاء نتائج في وقت أسرع بكثير من ذلك الذي تتطلبه الاختبارات البيولوجية.

غير أن تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء تُستخدم إلى جانب اختبارات أخرى قائمة ولا تحل محل ضرورة التأكيد على الدلالة البيولوجية للكائن الحي الذي يتم الكشف عنه.

ونظراً إلى محدودية أساليب التشخيص التقليدية، هناك حاجة إلى أساليب جديدة وقوية وموثوقة وفعالة من حيث التكلفة لمسح النباتات والمنتجات النباتية بسرعة وبطريقة موثوقة من أجل الكشف عن الفيروسات وأشباه الفيروسات، وعن آفات أخرى غير قابلة للاستزراع أو دقيقة؛ وتتيح تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء هذه الإمكانيات. كما أنه يوجد للرموز الشريطية أو لتكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء المطبقة على أمبليكونات تفاعل البوليميراز التسلسلي في منطقة الرمز الشريطي للحمض النووي تطبيقات تشخيصية لأغراض الصحة النباتية. وما عدا الفيروسات، قد يكون هذا النهج في تحديد التسلسل العالي الأداء هو الأكثر ترجيحاً في أن يكون له تطبيق تشخيصي.

وفي التشخيصات الروتينية، تتمثل بعض الفرص والإمكانات لاستخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء في (1) فهم حالة الآفات في الإقليم عن طريق برامج المراقبة، (2) إصدار الشهادات للمخزون النووي ومواد إكثار النباتات، (3) اختبارات الحجر (بعد الدخول)، (4) ورصد السلع المستوردة للكشف عن أي مخاطر محتملة جديدة لوجود آفات. ويوفّر تحديد التسلسل العالي الأداء مجموعة واسعة من المنافع لجميع هذه التطبيقات (Al Rwahnih وآخرون، 2015؛ Hadidi وآخرون، 2016؛ Rott وآخرون، 2017). غير أن التحديات مرتبطة أيضاً بتنفيذ هذه التكنولوجيات، مثل متطلبات للبنية التحتية للمختبرات، والمعلوماتية الأحيائية، وتبادل البيانات والمصادقة عليها (Olmos وآخرون، 2018).

التحديات التنظيمية والعلمية

بموازاة توافر أنواع جديدة من التكنولوجيا، تظهر تحديات ملازمة ومصاحبة لها. وتواجه تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء تحديات مماثلة لتلك التي تواجهها تكنولوجيات أخرى للكشف الجزيئي أو تكنولوجيات الكشف القائمة على التسلسل. إنما يترتب عن نتائج البحوث القائمة على تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء تأثيرات كبيرة جداً في إطار الصحة النباتية. وعلى سبيل المثال، هناك احتمال أن يتم تقييد حركة المواد النباتية بسبب ملاحظة وجود كائن دقيق (غير معروف مسبقاً) يحتمل ألا يكون قادراً على التسبب بالمرض لهذه المادة النباتية. فليست جميع الكائنات المتصلة بالنباتات من الآفات بل هي عوضاً عن ذلك جزء من مجموعة ميكروبات البنية؛ وقد يكون بعضها من الندامي التي تأتي بالمنفعة للنبات العائلة، أو من العوامل المعيشية. بالتالي، يشكل ضمان اتخاذ القرارات التنظيمية بشأن الآفات معياراً رئيسياً لاعتماد تسلسل الجينوم الكامل باعتباره أداة تشخيص. وهناك أيضاً مسألة كشف تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء عن الكائنات غير القابلة للعيش، كما هي الحال مع الأساليب غير المباشرة الأخرى.

ويمثل الكشف الصحيح لتسلسلات الجينوم الكامل أو التنبؤ بالآفات منها تحديين منفصلين إنما هامين في استخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء. ويُعدّ تفسير النتائج بطريقة صحيحة من التحديات الرئيسية الأخرى التي يفرضها استخدام تحديد التسلسل العالي الأداء. ويلزم توافر قواعد بيانات كبيرة وحسنة التنظيم للجينومات الكاملة أو للرموز الشريطية الخاصة بالآفات والكائنات الدقيقة المعروفة، باعتبارها مرجعاً للمقارنة مع بيانات التسلسل التي يولدها تحديد التسلسل العالي الأداء. ونظراً إلى ارتفاع وتيرة اكتشاف الكائنات الدقيقة، سوف تواجه المنظمات الوطنية لوقاية

النباتات تحدي صنع القرارات المتعلقة بالأهمية البيولوجية لاستنتاج معيّن، مثل قدرة كائن دقيق ما على إضرار النباتات أو المنتجات النباتية، بالاستناد إلى تحليل بيانات الحمض النووي من دون معلومات كاملة (أو حتى من دون توفر المعلومات). وهذه العملية لاتخاذ القرارات، لتحديد ما إذا كان الكائن آفة أم لا، يبعد نتائج التشخيص عن أي تحليل للقدرة الإراضية ويطرح تساؤلات بشأن البت في ما إذا كانت البيانات مرتبطة بالوجود الفعلي لكيان بيولوجي ممرض وقابل للحياة يكون آفة حرجية أم لا. ولكن يظهر هذا التحدي بالذات في أساليب التسلسل الجزيئي وتسلسل الجيل الأول، لا سيما بالنسبة إلى الفيروسات التي لا يعرفها العلماء، وبالتالي فإنه ليس بالمشكلة الجديدة. ويشير Martin وآخرون (2016)، Massart وآخرون (2017) و Olmos وآخرون (2018) إلى تحديات أخرى تعترض استخدام الجيل الجديد من تحديد التسلسل لأغراض تنظيمية.

ولتعزيز ثقة المنظمات الوطنية لوقاية النباتات في اعتماد تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء من أجل تشخيص الآفات، هناك حاجة إلى نهج متناسقة على الصعيد الدولي تشمل تطوير خطوط توجيهية تشغيلية لأداء تحديد التسلسل العالي الأداء بطريقة موثوقة ومتكررة، بما في ذلك مراقبة الجودة والتحقق من البيانات لتفسير نتائج هذا التسلسل (Boonham وآخرون، 2014). وهناك حاجة أيضاً إلى التحقق من صلاحية التكنولوجيا مقارنة بالأساليب القائمة، الأمر الذي يأخذ في الاعتبار حدود الإجراءات الحالية. ويجب التحقق من تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء بشكل مفصل بالنسبة إلى كل آفة ومصفوفة مستهدفة بما يبيّن أنها صالحة للغرض الذي أعدت له. كذلك، ينبغي أن تتوفر البروتوكولات الخاصة بالمختبرات، إلى جانب وصف كيفية إعداد العينات، وعملية تحليل البيانات وقواعد البيانات التي سيتم استخدامها.

التعاون على المستوى العالمي

هناك عدد من المبادرات الجارية في أقاليم مختلفة من العالم التي تبحث في استخدام تكنولوجيات تحديد التسلسل العالي الأداء كأداة تشخيص لأغراض الصحة النباتية (مثلاً في المنطقة الأسترالية الآسيوية وأوروبا وأمريكا الشمالية). وتشمل هذه المبادرات المناقشات حول السياسات ذات الصلة التي يمكن تطويرها. وينبغي تنسيق نتائج هذه المبادرات للنهوض بتطوير المعايير المتناسقة دولياً في الوقت المناسب من أجل استخدام تحديد التسلسل العالي الأداء في بيئة تنظيمية.

المراجع

- Al Rwahnih, M., Daubert, S., Golino, D., Islas, C. & Rowhani, A. 2015. Comparison of next-generation sequencing versus biological indexing for the optimal detection of viral pathogens in grapevine. *Phytopathology*, 105(6): 758–763.
- Barrero, R.A., Napier, K.R., Cunnington, J., Liefing, L., Keenan, S., Frampton, R.A., Szabo, T., *et al.* 2017. An internet-based bioinformatics toolkit for plant biosecurity diagnosis and surveillance of viruses and viroids. *BMC Bioinformatics*, 18: 26.
- Boonham, N., Kreuze, J., Winter, S., van der Vlugt, R., Bergervoet, J., Tomlinson, J., & Mumford, R. 2014. Methods in virus diagnostics: from ELISA to next generation sequencing. *Virus Research*, 186: 20–31.
- Hadidi, A., Flores, R., Candresse, T. & Barba, M. 2016. Next-generation sequencing and genome editing in plant virology. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1325.

- Mackie, J., Liefiting, L., Barrero, R.A., Dinsdale, A., Napier, K.R., Blouin, A.G., Woodward, L. et al.** 2017. Comparative diagnosis of viral pathogens using side-by-side trials of existing post entry quarantine and small RNA next generation sequencing methods. Abstract, Plant Biosecurity Cooperative Research Centre conference on Science Protecting Plant Health, 23–28 September 2017, Brisbane, Australia. Available at <http://apps-2017.p.yrd.currinda.com/days/2017-09-26/abstract/4017> (last accessed 21 October 2018).
- Martin, R.R., Constable, F. & Tzanetakis, I.E.** 2016. Quarantine regulations and the impact of modern detection methods. *Annual Review of Phytopathology*, 54: 189–205.
- Massart, S., Candresse, T., Gil, J., Lacomme, C., Predajna, L., Ravnikar, M., Reynard, J.-S. et al.** 2017. A framework for the evaluation of biosecurity, commercial, regulatory and scientific impacts of plant viruses and viroids identified by NGS technologies. *Frontiers in Microbiology*, 8: 45.
- Olmos, A., Boonham, N., Candresse, T., Gentit, P., Giovani, B., Kutnjak, D., Liefiting, L., et al.** 2018. High-throughput sequencing technologies for plant pest diagnosis: challenges and opportunities. *EPPO Bulletin*, 48: 219–224.
- Rott, M., Xiang, Y., Boyes, I., Belton, M., Saeed, H., Kesanakurti, P., Hayes, S., et al.** 2017. Application of next generation sequencing for diagnostic testing of tree fruit viruses and viroids. *Plant Disease*, 101: 1489–1499.