



# COMMISSION DES MESURES PHYTOSANITAIRES

## Treizième session

Rome, 16-20 avril 2018

**Recommandations de la CMP – L'application des technologies de séquençage nouvelle génération pour la diagnose des organismes nuisibles aux végétaux dans le contexte phytosanitaire**

**Point 8.6 de l'ordre du jour**

**Préparé par l'Australie, l'OEPP et la Nouvelle-Zélande.**

## I. Généralités

1. En décembre 2017, le Bureau a examiné un document rédigé par le Comité des normes faisant état des discussions du Groupe technique sur les protocoles de diagnostic pour des organismes nuisibles spécifiques concernant les possibilités et les défis associés à l'utilisation des technologies de séquençage nouvelle génération (SNG) comme outil diagnostique à des fins phytosanitaires. Le Bureau a été invité à approuver la présentation du document d'information à la treizième session de la CMP et à appeler la Commission à prendre note des défis associés à l'utilisation des technologies de SNG ainsi que des travaux supplémentaires qui s'imposent sur ces technologies avant d'en faire la seule méthode de détection et d'identification des organismes nuisibles.

2. Comme il s'agit d'une question émergente susceptible d'intéresser les Parties contractantes, le Bureau a décidé qu'une recommandation serait rédigée afin de fournir à la CMP des orientations et des conseils relativement aux politiques qui visent l'utilisation des technologies de SNG comme outil diagnostique à des fins phytosanitaires.

## II. Qu'est-ce que le SNG et en quoi diffère-t-il des autres méthodes d'essai?

3. Les technologies de séquençage nouvelle génération (SNG) permettent de séquencer l'intégralité du génome de tout type d'organisme. Les technologies de SNG peuvent servir à la détection ciblée d'organismes nuisibles réglementés tout comme à détecter des organismes inconnus sur lesquels il n'existe pas encore de données. Ces technologies ont récemment permis de découvrir des microorganismes jamais détectés auparavant, notamment des virus, pour lesquels les applications sont

*Le tirage du présent document est limité pour réduire au maximum l'impact des méthodes de travail de la FAO sur l'environnement et contribuer à la neutralité climatique. Les délégués et observateurs sont priés d'apporter leur exemplaire personnel en séance et de ne pas demander de copies supplémentaires. La plupart des documents de réunion de la FAO sont disponibles sur Internet, à l'adresse [www.fao.org](http://www.fao.org).*

plus avancées que pour d'autres pathogènes (les exemples cités dans le présent document s'appliquent à des virus ou viroïdes). Dans la mesure où un grand nombre d'organismes restent à découvrir, les chercheurs et les opérateurs chargés de la diagnose qui font appel aux technologies de SNG continueront d'identifier et de décrire de nouveaux taxons. Ces technologies constituent donc un moyen nouveau et exhaustif de détecter et de caractériser les organismes nuisibles présents dans un échantillon biologique.

4. Pour l'heure, les essais phytosanitaires visant à détecter les virus et les viroïdes qu'abritent les plantes et les produits végétaux déplacés d'un bout à l'autre de la planète reposent sur une combinaison d'approches spécifiques (moléculaires et sérologiques) et générales (évaluation visuelle, microscope électronique, indicateurs biologiques et bioessais). Bien que ces méthodes soient les meilleures disponibles aujourd'hui, elles accusent plusieurs faiblesses intrinsèques. Dans le cas des essais spécifiques, il est généralement nécessaire d'avoir des connaissances préalables sur les pathogènes viraux ciblés, et chaque essai exige des efforts de mise au point et de validation (y compris la validation de l'essai pour différentes combinaisons organisme nuisible/hôte) qui pèsent sur les ressources des organisations nationales de la protection des végétaux (ONPV). La gamme de plantes hôtes de nombreux pathogènes demeure mal connue, et il se peut que les virus ou les viroïdes qui infectent de nouvelles espèces végétales ne soient pas détectés quand se forment des combinaisons organisme nuisible/hôte inédites.

5. Les bioessais sont traditionnellement utilisés pour détecter les virus inconnus, mais il faut généralement les compléter par des analyses moléculaires ou sérologiques afin de confirmer l'identité de l'agent étiologique lorsque des symptômes sont observés. Les bioessais dépendent fortement des conditions environnementales, qui influencent l'expression des symptômes, si bien que ces essais aboutissent souvent à des résultats ambigus ou à de faux positifs ou faux négatifs. En outre, les plantes passent de longues périodes en station de quarantaine post-entrée, ce qui alourdit considérablement les coûts et allongent les délais pour les importateurs. Les bioessais présentent encore un inconvénient: il arrive que les souches ne soient pas détectées si l'infection est asymptomatique sur l'hôte qui sert d'indicateur. Du fait des limites des méthodes de diagnose classiques, de nouvelles méthodes robustes, fiables et peu coûteuses sont nécessaires pour le dépistage rapide et fiable des virus et des viroïdes dans les produits végétaux.

6. Les études menées jusqu'à présent ont prouvé que le SNG est aussi au moins aussi performant que les essais d'indexation biologique s'agissant de détecter les virus et les viroïdes importants sur le plan agronomique (Rott *et al.*, 2017; Rwahni *et al.* 2015; Mackie *et al.*, 2017; Barrero *et al.* 2017). Il en ressort principalement que le SNG peut livrer des résultats dans des délais notablement plus courts que les bioessais.

### III. Défis réglementaires et scientifiques

7. Les découvertes réalisées grâce aux technologies de SNG peuvent avoir des conséquences importantes sur le plan phytosanitaire. À titre d'exemple, les déplacements de matériel végétal risquent d'être limités après la détection d'un microorganisme (comme un virus) qui n'est pas forcément pathogénique pour son hôte. Les organismes présents dans les plantes ne sont pas tous nuisibles, et certains d'entre eux peuvent entretenir des interactions mutualistes ou commensales favorables à l'hôte. Par ailleurs, à l'instar d'autres méthodes indirectes, les technologies de SNG détectent les organismes non viables.

8. L'interprétation correcte des résultats constitue donc un défi majeur de l'utilisation du SNG dans le contexte phytosanitaire. Il faudra s'appuyer sur des bases de données très vastes et bien gérées regroupant des références sur les organismes nuisibles et les microorganismes connus pour les comparer aux résultats obtenus par SNG. Les ONPV devront fonder leurs décisions sur l'analyse des données et non sur les informations relatives à l'importance biologique et à la capacité d'infection. Les diagnoses ainsi obtenues s'éloignent des analyses de la pathogénicité, si bien qu'on peut s'interroger sur l'interprétation des données s'agissant de déterminer si une entité biologique peut être considérée comme un organisme de quarantaine. Cela étant, le problème n'est pas nouveau: les mêmes difficultés

se posent avec les méthodes de séquençage moléculaire actuelles, en particulier dans le cas de virus encore inconnus. Massart *et al.* (2017) et Martin *et al.* (2016) ont souligné d'autres défis liés à l'utilisation du SNG à des fins réglementaires.

9. Pour que les ONPV se fient aux technologies de SNG pour la diagnose des organismes nuisibles, il convient d'adopter des approches harmonisées en élaborant notamment des directives opérationnelles qui permettent de réaliser des SNG de manière fiable et répétable et prévoient des contrôles de la qualité et des données de validation pour interpréter les résultats du SNG (Boonham *et al.*, 2014). Il est également nécessaire de valider les technologies de SNG au regard des méthodes existantes, en tenant compte des limites des procédures en place.

#### **IV. Collaboration mondiale**

10. Plusieurs initiatives internationales sont en cours pour étudier le recours aux technologies de SNG comme outil diagnostique à des fins phytosanitaires (par exemple en Australasie, en Europe et en Amérique du Nord). Parmi elles figurent des discussions sur les politiques pouvant être élaborées en lien avec ces technologies. Ces initiatives doivent être coordonnées si l'on entend progresser rapidement dans l'élaboration de normes internationales harmonisées encadrant l'utilisation du SNG à des fins réglementaires.

11. La recommandation de la CMP (pièce jointe 1) intitulée «L'application des technologies de séquençage nouvelle génération comme outil diagnostique à des fins phytosanitaires» permettra de mettre l'accent sur ces efforts, et est présentée à la CMP pour examen.

#### **V. Recommandations**

12. La CMP est invitée à:

- 1) *prendre note* des défis associés à l'utilisation des technologies de séquençage nouvelle génération (SNG) et du fait que ces technologies doivent faire l'objet de travaux supplémentaires avant d'être considérées comme la seule méthode de détection des organismes nuisibles;
- 2) *adopter* la recommandation de la CMP concernant «L'application des technologies de séquençage nouvelle génération comme outil diagnostique à des fins phytosanitaires» (pièce jointe 1);
- 3) *créer* une équipe spéciale internationale comprenant des experts du SNG, des représentants des autorités de réglementation et des membres du Groupe technique sur les protocoles de diagnostic afin de recenser les avantages, les inconvénients ou les contraintes liés à l'adoption des technologies de SNG à des fins réglementaires.

## Bibliographie

Barrero R. A., Napier K. R., Cunnington J., Liefting L., Keenan S., Frampton R. A., Szabo T., Bulman S., Hunter A., Ward L., Whattam, M. et Bellgard, M. (2017). An internet-based bioinformatics toolkit for plant biosecurity diagnosis and surveillance of viruses and viroids. *BMC Bioinformatics*, 18:26. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5225587/>

Boonham N., Kreuze J., Winter S., van der Vlugt R., Bergervoet J., Tomlinson J. et Mumford R. (2014). Methods in virus diagnostics: from ELISA to next generation sequencing. *Virus Res.* 24 186:20-31. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24361981>

Mackie J., Liefting L., Barrero, R. A., Dinsdale, A., Napier, K. R., Blouin, A.G., Woodward, L., Khan S., Bellgard, M. I., Ward L. et Whattam, M. (2017). Comparative diagnosis of viral pathogens using side-by-side trials of existing Post Entry Quarantine and small RNA next generation sequencing methods. Résumé de la conférence PBCRC Science Protecting Plant Health 2017 <http://apps-2017.p.yrd.currinda.com/days/2017-09-26/abstract/4017>

Martin, R. R, Constable, F. et Tzanetakis, I. E. (2016). Quarantine Regulations and the Impact of Modern Detection Methods. *Ann. Rev. Phytopath.* Vol. 54:189-205 <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-phyto-080615-100105>

Massart S., Candresse T., Gil J., Lacomme C., Predajna L., Ravnkar M., Reynard J. S., Rumbou A., Saldarelli P., Škorić D., Vainio E. J., Valkonen J. P., Vanderschuren H., Varveri C., Wetzels T. (2017). A framework for the evaluation of biosecurity, commercial, regulatory and scientific impacts of plant viruses and viroids identified by NGS technologies. *Front Microbiol.* 2017 Jan 24;8:45 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28174561>

Rott, M., Xiang, Y., Boyes, I., Belton, M., Saeed, H., Kesanakurti, P., Hayes, S., Lawrence, T., Birch, C., Bhagwat, B. et Rast, H. (2017). Application of Next Generation Sequencing for Diagnostic Testing of Tree Fruit Viruses and Viroids. *Plant Disease* 101:1489-1499

<https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-03-17-0306-RE>

Rwahnih M. A., Daubert, S., Golino, D., Islas, C. et 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 <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-06-14-0165-R>

**Pièce jointe 1****TEXTE DE LA RECOMMANDATION*****Recommandation visant:***

***L'application des technologies de séquençage nouvelle génération comme outil diagnostique à des fins phytosanitaires***

**CONTEXTE**

La Commission des mesures phytosanitaires (CMP) reconnaît qu'une diagnose des organismes nuisibles fiable et rapide sous-tend la certification des exportations, les inspections à l'importation et l'application des traitements phytosanitaires appropriés<sup>1</sup>. Il est largement admis que la capacité à détecter et à identifier un organisme nuisible infectant une plante dépend de la qualité et de la spécificité des outils de détection.

Les technologies de séquençage nouvelle génération (SNG), également appelées séquençage à haut débit, constituent une nouvelle option puissante pour détecter et identifier les organismes sur lesquels on dispose déjà d'informations. Cependant, le SNG peut fournir la diagnose d'un organisme dont on ne détecte aucun individu vivant dans l'hôte ou qui n'engendre aucune dégradation avérée de la plante ou du matériel végétal qui l'abrite. Ainsi, les technologies hautement sensibles telles que le SNG doivent être introduites avec précaution pour la détection et l'identification des organismes nuisibles aux végétaux, et il convient d'examiner soigneusement les risques et les conséquences liés à l'emploi de ces outils diagnostiques dans la réglementation des risques phytosanitaires.

**À L'INTENTION**

Des Parties contractantes et des organisations régionales de la protection des végétaux.

**RECOMMANDATIONS**

La Commission note que les découvertes obtenues grâce au SNG concernant un microorganisme inconnu doivent être complétées par des analyses supplémentaires pour en démontrer le potentiel nuisible pour les végétaux et le classer éventuellement comme organisme nuisible réglementé. La Commission prend acte des défis actuels et des travaux supplémentaires qui s'imposent sur les technologies de SNG avant que ces outils puissent être considérés comme la seule méthode de détection des organismes nuisibles.

En vue d'améliorer la capacité et l'aptitude des Parties contractantes à adopter les technologies de SNG, la Commission *encourage* ces Parties et les organisations régionales de la protection des végétaux à:

- a) *envisager et décider* la création d'une équipe spéciale internationale comprenant des experts du SNG, des représentants des autorités de réglementation et des membres du Groupe technique sur les protocoles de diagnostic afin de recenser les avantages, les inconvénients ou les contraintes liés à l'adoption de ces technologies à des fins réglementaires,
- b) *examiner et décider* l'établissement d'un calendrier spécifique défini par l'équipe spéciale et fixant des échéances précises assorties d'objectifs visant l'adoption internationale du SNG pour les activités de routine de dépistage phytosanitaire des virus et des viroïdes;
- c) *lancer et soutenir activement* les initiatives internationales d'élaboration et de mise au point de directives opérationnelles normalisées sur le SNG précisant l'interprétation correcte des résultats et

---

<sup>1</sup> Voir aussi la recommandation de la CMP R-07: L'importance de la diagnose des organismes nuisibles (<https://www.ippc.int/fr/publications/84234/>)

comprenant des mesures de contrôle de la qualité approuvées afin d'assurer la robustesse et l'exactitude des conclusions qui découlent des données obtenues par SNG;

d) *prêter appui* aux efforts internationaux pour produire davantage de preuves scientifiques de la fiabilité et de l'exactitude du SNG au moyen d'essais comparant le SNG aux autres outils diagnostiques existants;

e) *échanger* leurs connaissances et leur expertise avec d'autres pays, lorsque c'est possible, et soutenir l'élaboration de programmes de formation au SNG, y compris des cours en ligne sur les pratiques de laboratoire optimales, et la coordination d'essais d'aptitude internationaux visant à évaluer les capacités des laboratoires;

f) *partager* le matériel pédagogique et les protocoles internationaux sur le SNG approuvés sur la page consacrée aux ressources phytosanitaires de la CIPV, une fois qu'ils sont achevés.

#### **RECOMMANDATION(S) REMPLACÉE(S) PAR LA RECOMMANDATION CI-DESSUS**

Aucune.