



联合国
粮食及
农业组织

Food and Agriculture
Organization of the
United Nations

Organisation des Nations
Unies pour l'alimentation
et l'agriculture

Продовольственная и
сельскохозяйственная организация
Объединенных Наций

Organización de las
Naciones Unidas para la
Alimentación y la Agricultura

منظمة
الأغذية والزراعة
للأمم المتحدة

C

植物检疫措施委员会

第十三届会议

2018 年 4 月 16–20 日，罗马

植检委建议—在植物检疫中应用下一代测序技术 进行植物有害生物诊断

议题 8.6

澳大利亚、欧洲和地中海植保组织及新西兰起草

I. 背景

- 2017 年 12 月，主席团审议了标准委员会（标准委）编写的一份文件，文件反映了国际植保公约诊断规程技术小组有关下一代测序技术用作植物检疫诊断工具的机遇和挑战的讨论情况。标准委请主席团同意向植检委第十三届会议提交这份背景文件，同时请植检委注意使用下一代测序技术带来的挑战，并注意有必要就下一代测序技术进一步开展工作，之后才能将其视作唯一的有害生物检测鉴定方法。
- 主席团同意，鉴于这是一个缔约方会感兴趣的新问题，应起草一份植检委建议，就下一代测序技术用作植物检疫诊断工具向植检委提供政策咨询和指导。

II. 什么是下一代测序，它与其他测试方法有何不同？

- 下一代测序技术能对整个基因组进行测序，可用于各类生物。下一代测序技术可用于针对性地检测限定性有害生物，还能检测未知生物（即没有先验知识）。确实，这项技术的应用近来促成发现了此前没有检测到的微生物，尤其是在病毒领域，这项技术的使用比在其他病原体（本文件所举示例为病毒和类病毒）领域

为尽量减轻粮农组织工作过程对环境的影响，促进实现对气候变化零影响，本文件印数有限。敬请各位代表、观察员携带文件与会，勿再索取副本。
粮农组织大多数会议文件可从互联网 www.fao.org 网站获取。

更加超前。研究和诊断人员使用下一代测序技术将不断鉴定和描述新的分类群，因为迄今尚未发现的生物数量非常庞大。因此，这项技术可以创新和全面地检测鉴定生物样本中的有害生物。

4. 目前，全球流动的植物和植物产品的病毒和类病毒植物检疫测试有赖结合采用特定（分子学和血清学）和通用（视检、电镜以及生物学指标或生物测定）方法。尽管这些方法目前是可用的最佳方法，但它们本身仍有若干不足。特定测试通常要求事先了解病毒性病原体对象，每次测试都要专门设计和验证（包括针对不同有害生物/寄主组合验证测试），这样就在资源上制约了国家植物保护机构（国家植保机构）。很多病原体的寄主范围没有确切界定，感染新植物物种的外源病毒和类病毒可能不会在新的有害生物与寄主组合中检测出来。

5. 尽管生物测定历来用于检测未知病毒，但观察到病害症状后，还需要进一步的分子学或血清学测试来确定病原身份。生物测定非常依赖环境条件来观察症状表现，并且往往给出模棱两可的结果，例如假阳性和假阴性。植物长期滞留入境后植物检疫站，大大增加了进口商的成本和延误。生物测定还有一处不足，指示寄主若无症状，那就检测不出菌株。鉴于传统的诊断方法有局限性，必须使用健全、可靠和具有成本效益的新方法，快速和可靠地给植物和植物产品作病毒和类病毒筛查。

6. 迄今开展的研究证明，在严重影响农艺的病毒和类病毒检测领域，下一代测序相当于或优于传统的生物学标引测定（Rott 等，2017；Rwahnih 等，2015；Mackie 等，2017；Barrero 等，2017）。最重要的是，研究正在证明，下一代测序给出结果的速度远快于生物测定所需时间。

III. 管控和科学挑战

7. 依托下一代测序技术的研究成果可能会在植物检疫领域产生重大影响。例如，植物材料的流动会因疑似携带某种微生物（如病毒）而受限制，而后者可能不会造成寄主致病。植物携带的微生物并不都是有害生物；有些可能是共生生物，利于寄主植物或共生媒介。如同其他间接方法一样，下一代测序技术还有将检出无活性生物的问题。

8. 结果的正确解读是在植物检疫中使用下一代测序面临的一大挑战。必须建立非常庞大和精心组织的已知有害生物和微生物的序列数据库，作为与下一代测序生成的序列数据进行比较的参考依据。国家植保机构的决策需要依据数据分析，而不是生物学意义和感染能力方面的信息。这就使诊断结果不同于任何致病性分析，会在确定数据是否描述了实为检疫性有害生物的生物实体方面提出疑问。不过，目前的分子测序方法也面临这项挑战，尤其是对“科学界新发现的”病毒，因此

这不是一个新问题。Massart 等（2017）和 Martin 等（2016）指出了使用下一代测序进行管控方面的其他挑战。

9. 为在采用下一代测序技术进行有害生物诊断方面给予国家植保机构信心，必须采取协调一致的方针，例如编制操作准则，便于可靠和重复地进行下一代测序，包括进行质量控制和数据验证来解读下一代测序的结果（Boonham 等，2014）。还需对照也考虑到了现行程序局限的现有方法对这项技术进行验证。

IV. 全球协作

10. 全球正在采取一系列举措，探索下一代测序技术用作植物检疫诊断工具（如在澳大利亚、欧洲和北美洲）。其中包括就可能制定的相关政策展开讨论。必须协调这些举措取得的成果，从而推进及时制定国际统一标准，以便在管控中使用下一代测序。

11. 关于“下一代测序技术用作植物检疫诊断工具”的植检委建议（附件 1）将为这项活动确定重点，并已提交植检委审议。

V. 建议

12. 提请植检委：

- (1) 注意使用下一代测序技术带来的挑战，并注意有必要就下一代测序技术进一步开展工作，之后才可能将其视作唯一的有害生物检测方法；
- (2) 通过关于“下一代测序技术用作植物检疫诊断工具”的植检委建议（附件1）；
- (3) 设立一个国际工作组，吸纳下一代测序主题领域的专家、政策制定者和诊断规程技术小组成员，从管控角度确认采用这项技术的益处以及障碍或制约。

参考文献

- Barrero RA、Napier KR、Cunnington J、Liefting L、Keenan S、Frampton RA、Szabo T、Bulman S、Hunter A、Ward L、Whattam, M 和 Bellgard, M (2017) 病毒和类病毒的植物生物安全诊断和监视的互联网生物信息学工具箱。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 和 Mumford R. (2014) 病毒诊断方法：从酶联免疫吸附法到下一代测序。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 和 Whattam, M. (2017) 使用现有入境后植物检疫和小分子 RNA 下一代测序方法并行试验的病毒性病原体比较诊断。2017 年植物生物安全合作研究中心“科学保护植物健康”会议摘要 <http://apps-2017.p.yrd.currinda.com/days/2017-09-26/abstract/4017>
- Martin, R.R、Constable, F 和 Tzanetakis, I.E. (2016) 检疫法规和现代检测方法的影响。Ann. Rev.。Phytopath. 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、Ravnikar M、Reynard JS、Rumbou A、Saldarelli P、Škorić D、Vainio EJ、Valkonen JP、Vanderschuren H、Varveri C、Wetzel T. (2017)。下一代测序技术鉴定的植物病毒和类病毒的生物安全、商业、管控和科学影响评价框架。Front Microbiol. 2017 年 1 月 24 日; 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 和 Rast, H. (2017) 下一代测序用于木本水果病毒和类病毒诊断测试。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 和 Rowhani, A. (2015) 为葡萄病毒性病原体最优检测比较下一代测序与生物学标引。Phytopathology 105: 6: 758-763 <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-06-14-0165-R>

附件 1

建议内容

建议事项：

下一代测序技术用作植物检疫诊断工具

背景

植物检疫措施委员会（植检委）认识到，准确而迅速的有害生物诊断，为出口认证、进口检验和应用适当植检措施奠定基础¹。公认的是，植物有害生物检测鉴定能力因检测工具质量和特性而异。

下一代测序技术又称高通量测序，为检测鉴定事先了解的生物提供了一种强大的替代方法。不过，其诊断结果可能无法提供证据证明存在活体有害生物或这类生物对植物或植物产品有害。因此，使用下一代测序之类的高灵敏度技术进行植物有害生物检测鉴定必须谨慎，同时要适当考虑运用诊断结果来管控植物检疫风险带来的风险和后果。

对象

缔约方、区域植物保护组织。

建议

植检委注意到，有必要进一步调查基于下一代测序技术就某种未知微生物得出的结果，以便证明该种微生物可能是植物有害生物并将达到限定性有害生物的标准。植检委注意到，目前存在挑战，有必要就下一代测序技术进一步开展工作，之后才可能将其视作唯一的有害生物检测方法。

为提高缔约方采用下一代测序技术的能力和力量，植检委鼓励缔约方和区域植物保护组织：

- (a) 考虑和商定设立一个国际工作组，吸纳下一代测序主题领域的专家、政策制定者和诊断规程技术小组成员，从管控角度确认采用这项技术的益处以及障碍或制约；
- (b) 考虑和商定确立由上述工作组提出的一个具体时限，明确清晰的里程碑，以期促成国际上在病毒和类病毒的例行植物检疫筛查中采用下一代测序；

¹ 另见植检委建议 R-07：有害生物诊断的重要性（<https://www.ippc.int/en/publications/84234/>）

- (c) 积极参与和支持国际上制订和完成标准化的下一代测序操作准则，包括正确解读结果和商定的质量控制措施，从而确保下一代测序数据结果健全准确；
- (d) 支持国际上开展试验，对照现有诊断平台比较下一代测序，从而获取更多有关下一代测序可靠性和准确性的科学证据；
- (e) 尽可能与其他国家分享知识和专门知识，并支持制定下一代测序培训计划，包括在线开办最佳实验室做法课程，并协调国际能力测试，以便独立评估实验室能力；
- (f) 一经完成，即在国际植保公约植物检疫资源网页上分享商定的国际下一代测序规程和培训材料。

取代的建议

无。