



NOUVELLE APPROCHE MOLÉCULAIRE POUR LA DÉTECTION SIMULTANÉE DES VIRUS PATHOGÈNES AUX FRAMBOISIERS ET AUX FRAISIERS



En partenariat avec l'Université Laval et le Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ (LEDP), nous avons comparé les détections de virus par approches conventionnelles (CONV) ou par séquençage à haut débit (SHD) sur des prélèvements de feuille de fraisier, de framboisier et de pomme de terre. Des protocoles de SHD ont été développés pour les plateformes NextSeq d'Illumina et MinION d'Oxford Nanopore Technologies (ONT). Finalement, nous avons développé une base de données contenant les signatures virales de 284 génomes viraux d'intérêt pour les cultures de référence. De plus, nous avons amassé une collection de tissus virosés pour les trois cultures. Nos résultats montrent le fort potentiel de l'approche SHD pour identifier une vaste gamme de virus dans les cultures ciblées. Le SHD ouvre la possibilité de dépistage et de suivi de l'apparition de nouveaux virus (novovirus). Une plateforme web (PhytoSHD) a été développée pour faciliter le traitement, le stockage et la visualisation des résultats par le personnel du LEDP. PhytoSHD intègre une interface visuelle conviviale pour faciliter le processus de détection et d'identification des virus (PDIV) à l'aide des données obtenues par SHD. Cette plateforme est évolutive et il sera possible d'y ajouter de nouveaux modules d'analyse selon les besoins du LEDP.

Objectifs

L'objectif général du projet vise à développer une méthodologie de détection moléculaire rapide, fiable et sensible qui assure l'identification des virus des framboisiers et des fraisiers. Ce processus de détection et d'identification des virus (PDIV) combine les techniques de SHD à des outils d'analyses bio-informatiques pour aider le phytopathologiste à faire un diagnostic. Les techniques SHD peuvent être basées sur la plateforme NextSeq d'Illumina ou MinION d'ONT selon des considérations techniques, économiques et d'efficacité diagnostique. Les objectifs spécifiques sont:

- Développer une collection d'échantillons de fraisiers et de framboisiers sains et virosés ainsi que de séquences génomiques de chaque virus ciblé;
- Comparer l'efficacité des méthodes diagnostiques ELISA et RT-PCR actuellement utilisées par le LEDP à celles d'un PDIV basé sur des techniques SHD. Ultimement, le PDIV conduira au développement d'un outil d'aide à la décision (OAD) pour le diagnosticien;
- Comparer les coûts d'implantation et d'utilisation des méthodes diagnostiques actuellement utilisées par le LEDP à ceux du PDIV + OAD;
- Former le personnel du LEDP et d'autres utilisateurs potentiels à l'emploi du PDIV, de sa base de données et de son interface conviviale, l'OAD.

Méthodologie

Étape 1: Observations et analyses moléculaires

Cas d'un diagnostic	Analyse du diagnosticien Observations et échantillons	Extraction des ARNt Feuille	Librairie et séquençage Indexation, SHD
---------------------	--	--------------------------------	--

Étape 2: Traitement informatique et visualisation des résultats

Séquences (fichiers fastq par cas)	Interface d'accueil Choix d'options Hôte, base de données séquences virales	Identification des signatures virales K-mers	Visualisation des résultats Scores, couverture du génome viral
------------------------------------	---	---	---

Résultats

- Sur les cas traités dans le cadre de ce projet, près de 88% sont conformes entre l'approche CONV et l'approche SHD
- La BD virale contient les signatures virales de 284 génomes viraux présents chez la fraise, la framboise et la pomme de terre ainsi que les virus des cultures botaniquement liées à ces plantes ou à proximité de ces cultures au Québec
- L'application web PhytoSHD permet de traiter, stocker et visualiser les données issues du SHD. (Figures 2)
- Les approches SHD sont adaptées pour offrir le service de détection de virus (comme la méthode actuelle), pour la confirmation de cas négatifs obtenus par la méthode actuelle et enfin pour le dépistage virus infectant des cultures au Québec permettant le dépistage et le suivi de l'évolution de novovirus.
- Le module virus de l'application PhytoSHD peut traiter les données issues de plusieurs technologies SHD (NextSeq, MinION)



Figure 2. Accueil de la plateforme PhytoSHD avec en premier plan la visualisation d'un cas de fraise.

Impacts et retombées du projet

Ce projet avait pour objectif d'évaluer le potentiel des nouvelles approches de séquençage à haut débit pour l'identification des virus affectant les cultures de fraiser, de framboisier et de la pomme de terre. Nous avons démontré que l'approche par SHD permet au LEDP d'accroître la gamme de virus détectables dans les cultures d'intérêts. De plus, il sera possible d'effectuer une veille de l'apparition de nouveaux virus au Québec. Comme démontré, il est possible de retraiter des analyses SHD avec de nouvelles bases de données et valider la présence de novovirus. Si une veille

annuelle est effectuée, il sera possible de revenir parmi les résultats des années précédentes et valider si le nouveau virus était présent. L'application PhytoSHD a été conçue de façon modulaire, il sera possible de la faire croître selon les besoins futurs du LEDP. Le module inclus dans l'application, dans le cadre de ce projet, renforce les capacités d'identification d'un laboratoire de diagnostic par son interface conviviale et l'assistance d'un modèle prédictif pour interpréter les résultats de SHD.

Partenaire financier



Partenaires de réalisation



Équipe de réalisation :

Richard Hogue, IRDA
Joël D'Astous-Pagé, IRDA
Thomas Jeanne, IRDA
Arnaud Droit, CRCHUL
Émeric Texeraud, CRCHUL
Antoine Dionne, MAPAQ

Début et fin du projet

02/2019 au 12/2023

Pour information

richard.hogue@irda.qc.ca
joel.page@irda.qc.ca
thomas.jeanne@irda.qc.ca