



PPS-jaarrapportage 2019

De PPS-en die van start zijn gegaan onder aansturing van de topsectoren dienen jaarlijks te rapporteren over de inhoudelijke en financiële voortgang. Voor de inhoudelijke voortgang dient dit format gebruikt te worden. Voor PPS-en die in 2019 zijn afgerond is een apart format "PPS-eindrapportage" beschikbaar.

De jaarrapportages worden integraal gepubliceerd op de websites van de TKI's/ topsector. Zorg er s.v.p. voor dat er geen vertrouwelijke informatie in de rapportage staan.

De PPS-jaarrapportages dienen voor 1 maart 2020 te worden aangeleverd bij de TKI's via info@tkitu.nl of info@tki-agrifood.nl. Voor Wageningen Research loopt de aanlevering via een centraal punt.

| Algemene gegevens | |
|---|---|
| PPS-nummer | TU18079 |
| Titel | Standaardisatie diagnostiek met Next Generation Sequencing |
| Thema | T&U Duurzame Plantaardige Productie |
| Uitvoerende kennisinstelling(en) | WUR, BU Biointeracties & Plantgezondheid |
| Projectleider onderzoek (naam + emailadres) | Dr. Theo van der Lee, theo.vanderlee@wur.nl |
| Penvoerder (namens private partijen) | Dr. M. Ebskamp, Naktuinbouw, m.ebskamp@naktuinbouw.nl |
| Adres projectwebsite | https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksprojecten-LNV/Expertisegebieden/kennisonline/Standaardisatie-diagnostiek-met-Next-Generation-Sequencing.htm H |
| Startdatum | 1-1-2019 |
| Einddatum | 31-12-2022 |

Goedkeuring penvoerder/consortium

De jaarrapportage dient te worden besproken met de penvoerder/het consortium. De TKI's nemen graag kennis van eventuele opmerkingen over de jaarrapportage.

| | |
|---|--|
| De penvoerder heeft namens het consortium de jaarrapportage | <input checked="" type="checkbox"/> goedgekeurd <input type="checkbox"/> niet goedgekeurd |
| Eventuele opmerkingen over de jaarrapportage: | |

Inhoudelijke samenvatting van het project

| | |
|----------------------|--|
| Probleemomschrijving | Het snel en efficiënt opsporen van mogelijke ziekteverwekkers of plaagorganismen is belangrijk om verspreiding te voorkomen en gezond uitgangsmateriaal te garanderen. Nederland is een belangrijke producent van plantaardig uitgangsmateriaal. Een zeer snel opkomende innovatieve groep van technologieën, gezamenlijk Next Generation Sequencing (NGS) genoemd, biedt voor het opsporen van ziekteverwekkers of plaagorganismen zeer goede mogelijkheden. Bij NGS worden de sequenties van miljoenen DNA fragmenten tegelijkertijd bepaald waarna de analyse van al deze sequenties in een bio-informatica pijplijn plaatsvindt. NGS is een methode die ingezet kan worden voor zeer veel verschillende applicaties (tests). Het voordeel/verschil ten opzichte van andere methoden is dat bij NGS de data in één keer gegenereerd worden en daarna tegelijkertijd gescreend kunnen worden op alle mogelijke ziekteverwekkers of |
|----------------------|--|

| | |
|------------------------|--|
| | <p>plaaorganismen. Vanwege dit generieke karakter is het gebruik van NGS een logische en effectieve keuze voor een breed scala aan diagnostische toepassingen binnen plant gezondheid. Om fyto-sanitair onderzoek en diagnostiek aan planten maximaal te kunnen laten profiteren van deze nieuwe ontwikkelingen is harmonisatie van de NGS procedures en validatie van de NGS gebaseerde testen echter dringend gewenst, zeker gelet op de rol van Nederland als producent en importeur/exporteur van plantaardig materiaal. In deze PPS zullen belangrijke Nederlandse spelers op het gebied van NGS diagnostiek in het kader van plant gezondheid samenwerken om te komen tot standaardisatie van op NGS methode en validatie van op NGS gebaseerde testen. Het gaat hierbij om (i) Referentie gebaseerde NGS in met name gezond materiaal en (ii) NGS op ziek plantmateriaal waarbij naast bekende ziekteverwekkers ook gekeken zal worden naar nieuwe, mogelijk onbekende pathogenen op te sporen.</p> |
| Doelen van het project | <p>In dit project worden standaard operating procedures voor het genereren en analyseren van NGS data geformuleerd met een duidelijke communicatie naar de eindgebruiker.</p> <p>Deze geoptimaliseerde en kwaliteits-geborgde procedures zullen vervolgens gebruikt worden voor de validatie zoals beschreven in EPPO standaard EPPO PM7/98(2) van een select aantal op NGS gebaseerde testen op basis van een Test Performance Study (TPS) zoals beschreven in EPPO standaard EPPO PM7/122.</p> <p>Ook is het de bedoeling studenten kennis te laten maken met deze nieuwe ontwikkelingen zodat in Nederland een betere kennisbasis voor NGS diagnostische toepassingen binnen plant gezondheid beschikbaar komt.</p> |

| Resultaten | |
|-------------------------|---|
| Beoogde resultaten 2019 | <p>Werkpakket 1: NGS dataproductie</p> <p>Inventarisatie wensen van de partners voor targets en matrix combinaties.</p> <p>Inventarisatie monsters gekarakteriseerd met klassieke diagnostiek (visueel, uitplaten, PCR, ELISA).</p> <p>Vaststelling te borgen stappen in de NGS data productie en ontwikkeling van lijn-controles</p> <p>Verzamelen van 100 diagnostische monsters met NGS geanalyseerd worden waarvan er een twintigtal vervolgens wordt geselecteerd voor NGS data productie bij in totaal drie verschillende NGS service providers.</p> <p>Werkpakket 2: Data analyse</p> <p>Standard operating procedures voor referentie data sets voor identificatie inclusief labelen (quarantaine organisme, pathogeen, host)</p> <p>Opbouw van een referentie-set van monsters van om eerder geanalyseerde datasets, milestones/deliverables zijn standaard operation procedure voor de analyse met lijncontroles die de kwaliteit borgen..</p> <p>Werkpakket 3: Rapportage en visualisatie van de resultaten naar de eindgebruiker. Om de data compleet, interactief maar toch ook overzichtelijk aan eindgebruikers weer te geven is een inventarisatie</p> |

| | |
|--------------------------|--|
| | <p>gemaakt van de verschillen mogelijkheden. Deze visualisaties zijn bij voorkeur onafhankelijk van het door gebruikers gekozen computer platform (Windows, Linux, Mac). Specialisten op het gebied van plantenziekten (b.v. virologen, bacteriologen en mycologen) zouden</p> |
| Behaalde resultaten 2019 | <p>Werkpakket 1: NGS dataproductie Inventarisatie wensen van de partners voor targets en matrix combinaties. Inventarisatie beschikbare monsters gekarakteriseerd Vaststelling te borgen stappen in de NGS data productie Voorbereiding van standaard operating procedures, en distributie van materiaal voor bemonstering. Preparatie van een MTA voor uitwisselen van materialen Design van lijn-controles microbial reference set en criptic virussen in tuinboon.</p> <p>Werkpakket 2: Data analyse We hebben een eerste referentie data set samen gesteld van NGS data van tomaat (blad, stengel, wortel) geïnfecteerd met virus. Samenstelling van referentie databases</p> <p>Werkpakket 3: Rapportage en visualisatie van de resultaten naar de eindgebruiker. Beoogde eindgebruikers hebben aangegeven dat de rapportages/visualisaties overzichtelijk moeten zijn in ieder geval een lijst moeten bevatten met de gevonden targets. Daarnaast is het van belang de lijnscontroles goed te kunnen beoordelen. Ook is aangegeven dat het gewenst is om meerdere monsters in een vergelijking mee te nemen. Op basis hiervan is het platform pavian geselecteerd (https://ccb.jhu.edu/software/pavian/).</p> |
| Beoogde resultaten 2020 | <p>Werkpakket 1: NGS dataproductie Verzamelen van monsters NGS van geselecteerde monsters Uitwerken en verificatie van lijncontroles</p> <p>Werkpakket 2: Data analyse Analyse van de referentie sets met de gestandaardiseerde pijplijn en databases. Ontwikkeling van de digitale lijn controles</p> <p>Werkpakket 3: Rapportage en visualisatie van de resultaten naar de eindgebruiker. Customized Pavian visualisatie tool. Selectie van targets op basis van significantie in vergelijkingsanalyse</p> |

| |
|--|
| <p>Opgeleverde producten in 2019 (geef de titels en/of omschrijvingen van de producten / deliverables of een link naar de producten op de projectwebsite of andere openbare websites)</p> |
| <p><u>Wetenschappelijke artikelen:</u> Niet van toepassing</p> |
| <p><u>Externe rapporten:</u> Niet van toepassing</p> |
| <p><u>Artikelen in vakbladen:</u> Niet van toepassing</p> |
| <p><u>Inleidingen/posters tijdens workshops, congressen en symposia:</u> Niet van toepassing</p> |

TV/ Radio / Social Media / Krant:

Niet van toepassing

Overig (Technieken, apparaten, methodes etc.):

- Verbeterde protocollen voor bemonstering
- Referentie
- Nieuwe referentie databases
- Opbouw visualisatie tools