



AVIS SUR L'UTILISATION DES ANALYSES CIBLÉES D'ADN ENVIRONNEMENTAL (ADNe) POUR LA GESTION DES ESPÈCES AQUATIQUES ENVAHISSANTES ET DES ESPÈCES EN PÉRIL



Figure 1. Échantillonnage aux fins d'analyse de l'ADNe au large de la baie de Fundy.

Contexte :

L'utilisation des méthodes d'ADN environnemental (ADNe) pour mener la surveillance biologique et pour appuyer la mise en œuvre des lois fédérales, provinciales et territoriales (p. ex. le Règlement sur les espèces aquatiques envahissantes et la Loi sur les espèces en péril) suscite de plus en plus d'intérêt. Toutefois, l'absence de lignes directrices et de normes solides en matière de rapports sur l'ADNe a créé de l'incertitude chez les gestionnaires des ressources naturelles concernant l'application des résultats de l'ADNe à l'appui des mesures de gestion.

Pêches et Océans Canada, par l'intermédiaire des programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril, et le Comité national sur les espèces aquatiques envahissantes (CNEAE) dirigé par les gouvernements fédéral, provinciaux et territoriaux, ont identifié le besoin de directives sur l'utilisation de l'ADNe pour appuyer les décisions de gestion et fournir des indications sur la distribution des organismes aquatiques. Les programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril, de concert avec le CNEAE, ont présenté, en 2019, une demande officielle d'avis scientifique sur l'ADNe.

Le présent avis scientifique découle de la réunion nationale d'examen par les pairs du 6 au 8 juillet 2020 sur les Lignes directrices pour l'utilisation ciblée des analyses d'ADN environnemental (ADNe) pour la gestion des Espèces Aquatiques Envahissantes et des Espèces en Péril. Toute autre publication découlant de cette réunion sera publiée, lorsqu'elle sera disponible, sur le [calendrier des avis scientifiques de Pêches et Océans Canada](#).

SOMMAIRE

- Dans le présent document, l'ADN environnemental (ADNe) désigne l'ADN extrait d'échantillons environnementaux (p. ex. eau, biofilms, air, sédiments, contenu du tube digestif, matières fécales) et analysé aux fins de suivi et de surveillance biologiques. Le présent avis est axé sur des approches en matière d'ADNe cible qui permettent de détecter de façon sélective l'ADN d'organismes aquatiques qui présentent un intérêt du point de vue de la gestion. Étant donné que la PCR quantitative (qPCR) est actuellement l'approche d'ADNe cible la plus courante et la plus largement utilisée, elle sera au cœur même du présent avis.
- Lorsque les méthodes d'analyse de l'ADNe cible sont adéquatement validées, elles peuvent être utilisées pour déduire indirectement la présence ou l'absence d'organismes cibles. Pêches et Océans Canada (MPO) et les clients du MPO utilisent de plus en plus des approches fondées sur l'ADNe pour la surveillance des programmes et la prise de décisions.
- Le présent avis constitue un premier pas vers une communication cohérente et transparente entre les utilisateurs finaux de l'ADNe et les fournisseurs de services (p. ex. la Direction des sciences du MPO ou une tierce partie), de même que vers la production de rapports à cet égard. Le présent avis vise à favoriser l'élaboration de normes et de consensus nationaux et internationaux en matière de rapports.
- Les nombreuses forces des approches en matière d'ADNe (p. ex. non destructives, non intrusives, sensibles) en font un outil de gestion idéal pour la détection et la surveillance d'organismes qui sont souvent difficiles à détecter au moyen de méthodes conventionnelles de surveillance, comme les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril.
- Le présent avis comprend un document d'orientation sur l'ADNe et un modèle de rapport. Sans être trop normatifs, ils peuvent servir d'outils complémentaires pour appuyer le bien-fondé des décisions basées sur la science et accroître la confiance dans les études sur l'ADNe, car ils fournissent l'information nécessaire pour que les gestionnaires comprennent bien la conception, la mise en œuvre et l'interprétation des études sur l'ADNe.
- La validité des données et des résultats relatifs à l'ADNe repose sur un plan d'étude rigoureux, qui est propre aux objectifs du projet et qui est le plus efficace lorsqu'il est élaboré tôt dans le processus et en consultation avec les gestionnaires et les utilisateurs finaux, les écologistes ou les chercheurs, et les fournisseurs de services d'ADNe. Le plan d'étude devrait comprendre un échantillonnage sur le terrain suffisant et approprié sur le plan écologique pour les organismes cibles, la prévention de la contamination, et l'utilisation appropriée des mesures de contrôle sur le terrain et en laboratoire pour vérifier les erreurs potentielles.
- Pour assurer l'uniformité des rapports et l'interprétation appropriée des données, le document d'orientation comprend une échelle de validation de l'ADNe aux fins d'évaluation de la rigueur des tests d'ADNe et un exemple d'arbre décisionnel pour la détection de l'ADNe en vue de faciliter l'interprétation des résultats de la qPCR.
- Les résultats de l'ADNe doivent être interprétés dans le contexte des objectifs de gestion et de la tolérance au risque. Les critères d'interprétation doivent être choisis en consultation avec les gestionnaires et les utilisateurs finaux des ressources, les spécialistes de l'ADNe,

les écologistes et d'autres experts dans le domaine, et en tenant compte des facteurs environnementaux pertinents.

INTRODUCTION

Les méthodes conventionnelles de surveillance biologique (p. ex. relevés visuels, chalutage) peuvent exiger un grand nombre de ressources, être difficiles sur le plan logistique et être destructrices pour les espèces ou les écosystèmes à l'étude. La détection de l'ADN environnemental (ADNe) est un domaine en rapide évolution qui offre la possibilité de relever et de surmonter bon nombre des défis ou des limites inhérentes liés aux méthodes conventionnelles. Dans le présent document, l'ADNe fait référence au matériel génétique extrait d'échantillons environnementaux (p. ex. eau, biofilms, air, sédiments, contenu du tube digestif, matières fécales) et analysé aux fins de suivi et de surveillance biologiques.

À l'échelle mondiale, les approches en matière d'ADNe sont de plus en plus intégrées aux programmes de suivi et de surveillance biologiques. Les programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril du MPO, ainsi que le Comité national sur les espèces aquatiques envahissantes (CNEAE) dirigé par les gouvernements fédéral, provinciaux et territoriaux, ont été parmi les premiers à adopter et à utiliser les approches d'ADNe pour la surveillance biologique et la détection précoce, ainsi que pour appuyer les exigences législatives (p. ex. le *Règlement sur les espèces aquatiques envahissantes* et la *Loi sur les espèces en péril* du gouvernement fédéral); c'est toutefois un défi d'intégrer les résultats de l'ADNe dans les processus décisionnels de gestion. Compte tenu de l'absence de méthodes d'analyse de l'ADNe normalisées et validées, les utilisateurs finaux sont préoccupés ou incertains quant à la validité des preuves d'ADNe, surtout lorsqu'il existe un risque élevé de répercussions économiques, sociales et politiques associées à la prise de mesures fondées sur les preuves d'ADNe (Sepulveda *et al.* 2020). De nombreux groupes à l'échelle régionale, nationale et internationale reconnaissent la nécessité d'établir des pratiques normalisées, et leur absence est considérée comme une limite à la gestion et à l'adoption de règlements. Toutefois, la normalisation est difficile à établir en raison des progrès technologiques rapides dans la détection de l'ADNe et de la complexité des échantillons environnementaux (Goldberg *et al.* 2016).

Bien que des efforts nationaux et mondiaux visant la normalisation de l'ADNe soient en cours (p. ex. CSA 2019), il faut établir des directives claires à l'intention des utilisateurs finaux qui utilisent ou envisagent d'utiliser les résultats de l'ADNe à l'appui de la prise de décisions quotidienne. Les gestionnaires des programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril ont consulté la Direction des sciences du MPO afin d'obtenir un avis scientifique visant à favoriser la production de rapports uniformes sur les méthodes, et à améliorer l'échange des résultats d'ADNe entre les utilisateurs finaux et les scientifiques. Comme l'indique le cadre de référence, le présent processus d'avis scientifique vise à produire des lignes directrices examinées par les pairs sur les méthodes d'analyse de l'ADNe, sur la terminologie normalisée pour les termes et concepts relatifs à l'ADNe, ainsi que sur les exigences minimales en matière de rapports pour les études d'ADNe; il s'agit là d'une première étape vers l'adoption de pratiques normalisées.

ANALYSE

Considérations contextuelles

La capacité d'utiliser l'ADN environnemental (ADNe) de façon uniforme et fiable aux fins de la prise de décisions et de la réglementation s'améliorera avec le temps, et grâce à l'expérimentation et à une expérience accrue de l'intégration des résultats d'ADNe dans les décisions de gestion. Les méthodes d'analyse de l'ADNe sont relativement nouvelles et encore en développement (Goldberg *et al.* 2016; Lawson *et al.* 2019). Le présent avis porte principalement sur les approches en matière d'ADNe cible (c.-à-d. les approches d'ADNe qui détectent de façon sélective l'ADNe d'une seule espèce ou d'un seul taxon) qui sont plus établies et moins complexes que les approches semi-ciblées (c.-à-d. les méthodes d'évaluation de communautés entières, comme le métabarcoding de l'ADNe) qui sont plus récentes et plus complexes sur le plan expérimental. Bien qu'il existe plusieurs technologies pouvant être utilisées dans les études d'ADNe cible, le présent avis porte surtout sur la réaction en chaîne par polymérase quantitative (qPCR), car il s'agit de l'approche en matière d'ADNe cible la plus courante et la plus largement utilisée, en raison de sa rentabilité et de son accessibilité actuelle.

Il est important de reconnaître que l'ADNe constitue une approche indirecte pour surveiller la présence des espèces, et que la détection de l'ADNe diffère de l'observation directe des espèces (Lacoursière-Roussel et Deiner 2019). Dans ce processus d'avis scientifique, la détection de l'ADNe est une mesure de la présence de l'ADNe cible dans un échantillon, et non de la présence de l'espèce ciblée. Cependant, avec une reproduction et une reproductibilité spatiales et temporelles suffisantes, les résultats de l'ADNe peuvent être utilisés pour déduire qu'une espèce était probablement présente dans une zone donnée. Il est également possible de déduire l'absence d'une espèce à l'aide de l'ADNe. Toutefois, comme les méthodes conventionnelles de surveillance, la détermination de l'absence d'une espèce exige un échantillonnage exhaustif et répété, souvent en combinaison avec d'autres sources d'information biologique et d'avis d'experts.

Il y a à la fois des avantages et des limites à ce que l'ADNe soit une mesure indirecte de la présence ou de l'absence d'une espèce. Les approches en matière d'ADNe cible présentent de nombreux avantages pour la surveillance efficace et fiable de la biodiversité actuelle et passée dans les systèmes aquatiques (Thomsen et Willerslev 2015). Dans le cadre de l'échantillonnage de l'ADNe, on évite généralement de manipuler, de perturber ou de tuer des macroespèces cibles (p. ex. les poissons et les moules); les répercussions sur l'habitat d'une espèce sont souvent nulles ou limitées. Les approches en matière d'ADNe sont sensibles et précises, et sont donc bien adaptées et souvent rentables pour les espèces qui sont difficiles à surveiller (p. ex. les espèces rares ou cryptiques) à l'aide de méthodes conventionnelles (Sigsgaard *et al.* 2015). Pour certaines espèces, la détection de l'ADNe sera la seule option viable pour l'étude de l'espèce (p. ex. dans les régions éloignées ou pour les espèces en péril, la détection précoce et les études à grande échelle). Une détection réussie de l'ADNe peut également aider à orienter les travaux futurs dans d'autres écosystèmes. Les données génétiques générées par les approches d'ADNe complètent, mais ne remplacent pas nécessairement, les méthodes conventionnelles qui ont leurs propres forces et limites. En ce qui concerne les limites, les approches d'ADNe sont sujettes à plusieurs des mêmes pièges inférentiels que les méthodes conventionnelles de surveillance, ainsi qu'aux mêmes problèmes associés aux variations environnementales ou expérimentales; par conséquent, il faut assurer la gestion des erreurs. De faux positifs (détection de l'ADNe d'une espèce lorsque cette espèce est en réalité absente) et de faux négatifs (échec de détection de l'ADNe d'une espèce lorsque cette espèce est en

réalité présente) peuvent se produire et avoir une incidence sur la fiabilité des résultats (voir le tableau 1 pour de plus de détails).

Document d'orientation sur l'ADNe

Pour répondre à la demande d'avis scientifique, un document d'orientation, rédigé dans un langage normalisé et respectant les exigences minimales en matière de rapports pour les flux de travail ADNe-qPCR, a été élaboré comme outil de communication et ressource pour les utilisateurs finaux des programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril. Les scientifiques de l'ADNe peuvent aussi utiliser le présent document pour mieux communiquer les résultats, lever les incertitudes et établir la confiance chez les utilisateurs finaux. Le document d'orientation est utilisé de manière optimale lorsque les utilisateurs finaux et les experts scientifiques travaillent ensemble pour évaluer la manière de réduire l'incertitude tout au long d'une étude d'ADNe.

Les concepts, la terminologie et les exigences minimales en matière de rapports énoncés dans le document d'orientation sont importants pour réduire l'incertitude dans l'interprétation des résultats, dans la mesure où des lignes directrices normalisées en matière de rapports réduiront au minimum la variation des mesures et des paramètres déclarés (chez les fournisseurs de services d'ADNe). En fin de compte, cela facilitera l'interprétation des résultats de la part des divers utilisateurs finaux ou fournisseurs de services d'ADNe. Le document d'orientation englobe les connaissances de la Direction des sciences du MPO et l'expertise scientifique externe, l'état des connaissances sur l'ADNe tirées de la documentation scientifique, et les pratiques exemplaires nationales et internationales. Il s'appuie sur un document antérieur du MPO décrivant l'état des connaissances en matière d'ADNe (Baillie *et al.* 2019) et pourrait favoriser le développement des normes nationale et internationale et fournir un modèle permettant d'améliorer l'utilisation des résultats de l'ADNe dans la prise de décisions. Le flux de travail ADNe-qPCR comporte quatre étapes principales (figure 2). L'état des connaissances pour les étapes de 1 à 3, qui comprennent la conception, la réalisation et l'analyse des résultats d'ADNe, est mieux établi que pour l'étape 4, qui comprend l'interprétation des résultats aux fins de la gestion. Par conséquent, le document d'orientation sur l'ADNe accompagnant le présent avis scientifique porte sur les étapes 1 à 3.

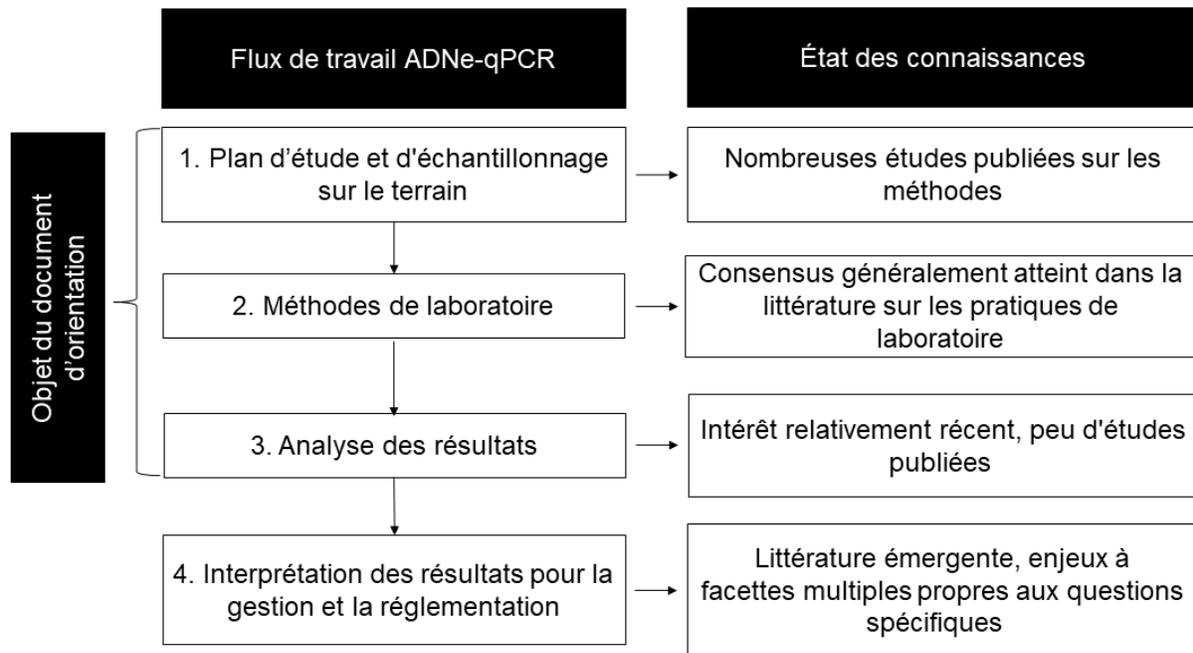


Figure 2. Contenu du document d'orientation sur l'ADNe axé sur l'état des connaissances des quatre principales étapes du flux de travail qPCR-ADNe.

L'étape 4, au cours de laquelle les résultats de l'ADNe sont interprétés aux fins de gestion ou de réglementation, est difficile à normaliser, car la déduction de la présence ou de l'absence d'un organisme cible diffère grandement selon les applications individuelles. Bien que les résultats de la qPCR puissent indiquer de façon fiable si l'ADNe de l'organisme cible a été détecté ou non dans un échantillon testé, il n'existe pas de critères établis pour la proportion minimale d'échantillons ou de réplicats nécessaires pour déduire la présence ou l'absence d'un organisme (Goldberg *et al.* 2016). Puisque l'interprétation des données est propre à l'espèce et à l'écosystème, il est conseillé aux utilisateurs finaux de consulter des experts de l'ADNe, des écologistes et d'autres experts au cas par cas afin d'optimiser la détection des espèces et de discuter des incertitudes dans l'interprétation des résultats de l'ADNe.

Les exigences minimales en matière de rapports énoncées dans le document d'orientation et le modèle de rapport sur l'ADNe sont conçues pour tenir compte d'un large éventail de protocoles d'échantillonnage et d'analyse de l'ADNe à l'aide de la qPCR, et se concentrent sur les éléments qui doivent être déclarés, sans être prescriptifs quant aux méthodes particulières. Les utilisateurs finaux devraient s'assurer que toutes les exigences minimales en matière de rapports sont respectées, car il s'agit des critères essentiels qui démontrent l'intégrité scientifique d'une étude d'ADNe. Des rapports améliorés et cohérents permettront d'entreprendre des études comparatives, ce qui pourra faire progresser davantage les méthodes d'ADNe aux fins de prise de décisions et de réglementation.

Les termes et les concepts fournis dans le glossaire du document d'orientation permettront aux utilisateurs finaux de comprendre les méthodes et résultats de l'ADNe. Les scientifiques de l'ADNe devraient utiliser les termes du glossaire de la façon la plus uniforme possible lorsqu'ils communiquent les résultats. Les termes ambigus comme « positif faible » ou « positif

soupçonné » qui ne sont pas inclus dans le document d'orientation devraient être définis comme une « détection non concluante » pour les utilisateurs finaux et être évités.

Considérations liées au plan d'étude

La première étape du flux de travail ADNe-qPCR est le plan d'étude. Bien que le prélèvement d'échantillons environnementaux puisse être simple, des considérations complexes doivent être prises en compte pour optimiser le plan d'étude. Il est conseillé aux utilisateurs finaux des programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril de discuter de leurs buts ou objectifs d'étude avec des fournisseurs de services d'ADNe et d'autres experts en ADNe au début de l'élaboration du projet, dans le cadre d'un plan de communication visant à assurer une bonne conception de l'étude et le recours aux méthodes appropriées.

Déterminer les fournisseurs de services d'ADNe appropriés

L'ensemble du flux de travail d'une étude d'ADNe peut comprendre diverses composantes réalisées par des entités, des organisations ou des équipes distinctes. Aux fins de la communication et de la production de rapports, le terme « fournisseur de services d'ADNe » désigne le gestionnaire de projet (p. ex. scientifique du MPO, consultant tiers) responsable de communiquer les résultats à l'utilisateur final qui a demandé l'étude.

Les fournisseurs de services de laboratoire doivent être en mesure de démontrer qu'ils possèdent les qualifications, l'expérience et les conditions de laboratoire propre requises. Le respect des bonnes pratiques de laboratoire (BPL; voir OCDE 1998) ou les études d'ADNe menées conformément à d'autres normes de BPL avec de solides mesures d'assurance et de contrôle de la qualité (AQ/CQ) peuvent accroître la probabilité d'une détection précise. Les utilisateurs finaux qui demandent des services d'ADNe devraient évaluer, avec un haut niveau de rigueur, les aptitudes des fournisseurs de services potentiels et communiquer avec des experts d'ADNe et d'autres experts, au besoin, au cours de l'étape d'évaluation du processus de passation de marchés. Il est à noter qu'un fournisseur de services d'ADNe peut seulement participer au point de livraison des résultats du test de la qPCR ou aider à l'interprétation des résultats d'ADNe.

Les exigences minimales en matière de rapports énoncées dans le document d'orientation peuvent être utilisées par les utilisateurs finaux pour encourager les fournisseurs de services d'ADNe à produire des rapports cohérents sur les composantes essentielles du flux de travail ADNe-qPCR. L'objectif est ici de faire comprendre aux fournisseurs de services que certains renseignements seront considérés comme des connaissances essentielles, surtout lorsque les décisions de gestion fondées sur les résultats d'ADNe et les répercussions de ces décisions sont importantes. Par conséquent, avant de conclure un accord avec un fournisseur de services, il faut établir s'il y a ou non des obstacles à la diffusion des connaissances essentielles (p. ex. protocoles et méthodes) pour des raisons de propriété intellectuelle. Si des éléments clés du rapport sont manquants ou manquent de clarté, l'utilisateur final devrait les confirmer et les clarifier auprès du fournisseur de services d'ADNe.

Plan de communication

Il est recommandé d'élaborer un plan de communication avant le début d'une étude. Un plan de communication résume le flux d'information qui devrait circuler entre toutes les parties à une étude d'ADNe, du plan de l'étude à l'avis sur les résultats d'ADNe. Un élément clé d'un plan de communication consiste à échanger de l'information et à établir des rôles, des responsabilités et des attentes claires entre les utilisateurs finaux, les fournisseurs de services d'ADNe et d'autres

experts scientifiques de soutien (p. ex. les écologistes, les taxonomistes). Le plan de communication devrait intégrer la tolérance au risque des utilisateurs finaux en fonction des répercussions des résultats, car elle aura une incidence sur les critères, les seuils et la période d'avis pour déterminer si l'ADNe cible a été détecté ou non.

Considérations relatives à l'échantillonnage sur le terrain

L'échantillonnage sur le terrain comprend la collecte, le traitement (p. ex. la filtration) et la préservation des échantillons environnementaux. Les échantillons environnementaux sont souvent conservés jusqu'à ce que l'ADN puisse en être extrait et analysé en laboratoire ou sur le terrain à l'aide de dispositifs portatifs ou automatisés. L'échantillonnage sur le terrain est essentiel si l'on veut optimiser la probabilité de prélever de l'ADNe cible dans les milieux aquatiques. Le nombre d'échantillons (et de répliqués), les lieux d'échantillonnage et les méthodes choisies pour recueillir et préserver l'ADNe auront une incidence directe sur la probabilité de détection de l'espèce, et donc sur la validité des résultats. Les objectifs de gestion et la tolérance au risque sont des facteurs importants de l'échantillonnage sur le terrain, et les utilisateurs finaux devraient transmettre ces facteurs aux fournisseurs de services d'ADNe au début de l'étude. L'expérience et les études antérieures devraient, en fin de compte, guider et éclairer le choix de la méthode. Une étude pilote est recommandée pour chaque nouvelle application de l'ADNe (p. ex. un nouvel emplacement géographique ou une nouvelle saison) afin de valider le plan d'étude, les protocoles d'échantillonnage sur le terrain et le test qPCR, ainsi que la pertinence de l'utilisation de contrôles pour détecter l'ADNe cible.

La figure 3 montre les influences environnementales et biologiques sur le rythme auquel l'ADNe persiste, se disperse, se dégrade et s'accumule dans un environnement. La biologie des espèces d'intérêt et les facteurs environnementaux sont des éléments clés à prendre en considération au moment de choisir les lieux d'échantillonnage, la fréquence, le moment et les méthodes. La variabilité temporelle, spatiale et saisonnière de la répartition, du comportement et de l'abondance des espèces aura une incidence sur la probabilité de détection de l'ADNe (Harrison *et al.* 2019; Jerde *et al.* 2019). Les facteurs environnementaux influencent la probabilité de détection en influant à la fois sur la biologie des espèces et sur l'ADNe lui-même. Les protocoles d'échantillonnage et le traitement peuvent différer selon les espèces et les lieux d'échantillonnage. Les lieux d'échantillonnage devraient être choisis avec soin afin d'optimiser la probabilité de détection selon l'écologie des espèces ciblées et la variabilité environnementale. Dans le cas des espèces aquatiques envahissantes, les lieux d'échantillonnage peuvent refléter des vecteurs naturels ou anthropiques, ou des domaines des voies biologiques par lesquelles les espèces envahissantes sont introduites dans de nouveaux environnements.

Contraintes logistiques

Comme pour toute étude, l'échantillonnage sur le terrain et l'effort d'échantillonnage sont souvent limités par des contraintes logistiques. L'accès au site, la disponibilité et l'expérience de l'équipe, l'éloignement du site et les conditions dangereuses ou difficiles sont des considérations importantes pour les études d'ADNe. Ces facteurs influent souvent sur le moment et les lieux de l'échantillonnage, le choix et la disponibilité de l'équipement, le volume d'échantillons, ainsi que la profondeur des échantillons et leur stockage, ce qui, en retour, a une incidence sur le rendement et la probabilité de détection de l'ADNe (Jerde *et al.* 2019). Par exemple, l'augmentation du volume ou du poids de l'échantillon environnemental améliore le rendement de l'ADNe et la probabilité de détecter l'ADNe des organismes cibles, ce qui réduit le risque de faux négatifs (Hunter *et al.* 2019). Cependant, il existe de nombreuses applications

particulières où de petits volumes d'échantillons sont appropriés ou réalisables sur le plan logistique (p. ex. les contraintes logistiques ou le recours à des véhicules autonomes). Le taux de dégradation de l'ADNe a également une incidence sur la qualité de l'échantillon et augmente la probabilité de faux négatifs; par conséquent, le temps pris pour traiter et conserver les échantillons d'ADNe doit être déclaré. Un échantillonnage sur le terrain non optimal en raison de contraintes logistiques aura des conséquences sur l'interprétation des résultats.

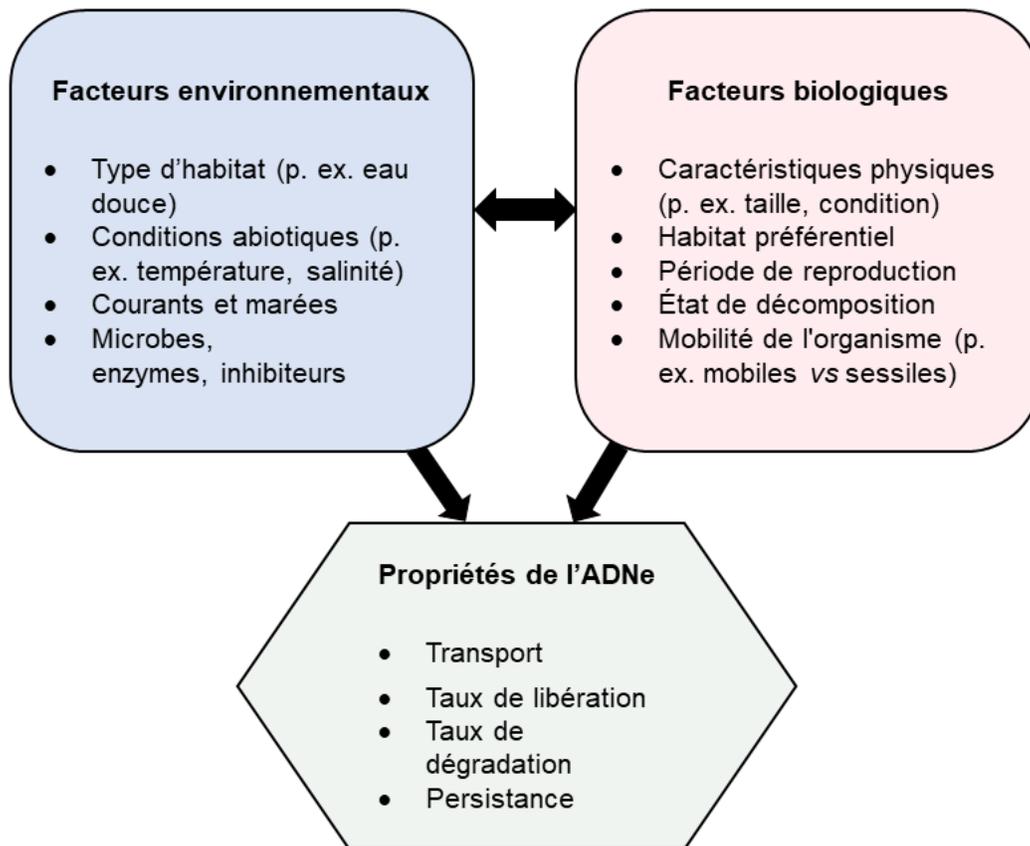


Figure 3. Considérations environnementales et biologiques qui interagissent et affectent les propriétés de l'ADNe. Ces facteurs devraient être pris en compte pendant l'échantillonnage sur le terrain.

Réplication et reproductibilité

La réplication sert à accroître la fiabilité des résultats et à évaluer la reproductibilité nécessaire pour de nombreuses applications de modélisation statistique. Le choix du nombre de réplicats d'échantillons requis dépend de l'application particulière. Une plus grande réplication augmente généralement la détection des espèces et la fiabilité des résultats; cependant, cela accroît aussi l'effort d'échantillonnage et le coût. Bien que la réplication soit recommandée à la plupart des étapes du flux de travail (p. ex. échantillonnage, station, site, test qPCR), elle n'est pas forcément nécessaire à toutes les étapes, selon les objectifs de gestion, les contraintes logistiques et la tolérance au risque.

Contrôles

Les contrôles sont un élément essentiel du plan d'étude de l'ADNe; sans contrôles, les résultats de l'ADNe ne peuvent pas être interprétés de façon significative. Il est important d'inclure des contrôles dans chaque étude ou enquête d'ADNe, et de les inclure à toutes les étapes du flux de travail lorsque cela est faisable sur le plan logistique; toutefois, le nombre précis de contrôles requis dépendra de l'application particulière et des objectifs de l'étude (Bohmann *et al.* 2014). Des contrôles doivent être inclus pour détecter et signaler les risques de faux positifs et de faux négatifs. Les contrôles positifs garantissent que les protocoles fonctionnent efficacement pour détecter les faux négatifs possibles, tandis que les contrôles négatifs peuvent être utilisés pour cerner les sources de contamination et détecter les faux positifs. Un contrôle positif comprend généralement l'ajout d'une concentration connue d'ADNe avec une séquence différente de l'ADNe cible dans un échantillon blanc à différents points du flux de travail durant les projets d'ADNe. Les contrôles négatifs ou « blancs » ne contiennent pas d'ADNe d'intérêt et sont également inclus tout au long du flux de travail.

Les résultats des contrôles devraient être décrits de façon suffisamment détaillée pour que les utilisateurs finaux puissent comprendre le niveau d'incertitude avant de prendre une décision de gestion. Une attention particulière doit être portée à la réussite ou à l'échec des contrôles. Il n'y a pas de consensus clair sur les critères d'évaluation des contrôles pour les approches d'ADNe, et les critères peuvent varier d'un fournisseur de services d'ADNe à l'autre. En général, dans de nombreux laboratoires, si un contrôle positif échoue (c.-à-d. aucune détection), cette étape du protocole est répétée jusqu'à ce qu'elle soit optimisée et réussie. S'il y a amplification inattendue de l'ADNe dans un contrôle négatif, il arrive que tous les échantillons associés soient omis des résultats. Dans d'autres laboratoires, cependant, le niveau d'amplification le plus élevé du contrôle négatif peut être traité comme un seuil minimal, et seule l'amplification au-dessus de ce niveau dans les échantillons sera interprétée comme une détection. À l'heure actuelle, une pratique exemplaire consiste à demander à ce que les résultats des contrôles soient décrits de façon transparente et cohérente.

Méthodes d'analyse de l'ADNe en laboratoire

L'analyse en laboratoire des échantillons d'ADNe commence par l'extraction de l'ADN – une méthode pour purifier ou isoler l'ADN à l'aide de méthodes physiques ou chimiques. Les différents protocoles d'extraction de l'ADN varient quant à leur capacité de recueillir l'ADNe cible. La technique d'isolation de l'ADN devrait mener à une extraction efficace avec une bonne quantité et qualité d'ADN pour l'analyse qPCR. La qPCR est une technique utilisée pour amplifier de façon sélective un segment cible de l'ADN en l'associant à des marqueurs génétiques conçus pour l'espèce ou le taxon d'intérêt. L'un des avantages de la qPCR par rapport à la PCR traditionnelle est qu'elle peut être utilisée à la fois pour détecter l'ADN à de faibles concentrations et quantifier l'ADN dans un échantillon.

Une validation scientifique rigoureuse qui précède la mise en œuvre de tout outil d'analyse de l'ADNe fondée sur la qPCR dans la prise de décisions de gestion est essentielle pour réduire au minimum l'incertitude, et pour permettre une application et une interprétation significatives des analyses d'ADNe (Bustin *et al.* 2009; Sepulveda *et al.* 2020). Un test d'ADNe fondé sur la qPCR, et sa validation, comprend un ensemble complet de protocoles allant de l'échantillonnage sur le terrain à l'analyse en laboratoire et à l'interprétation des résultats. Pour assurer une interprétation appropriée des données, le document d'orientation comprend une échelle de validation à cinq niveaux, élaborée par Thalinger *et al.* (PRÉIMPRESSION 2020), qui classe l'exactitude, la sensibilité et la fiabilité des méthodes d'analyse d'ADNe pour la détection

**Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADNe
pour la gestion des espèces aquatiques
envahissantes et des espèces en péril**

Région de la capitale nationale

de l'ADNe cible (figure 4). La confiance dans le rendement du test qPCR s'améliore le long de l'échelle, mais d'autres facteurs sont également pertinents, comme la répétabilité des méthodes et la reproductibilité des résultats. Il est important de reconnaître que le niveau de validation des tests d'ADNe fondés sur la qPCR est étroitement lié aux composantes sur le terrain et varie d'une espèce à l'autre; par conséquent, les tests de validation doivent être effectués à l'emplacement géographique et dans le substrat où le test d'ADNe sera utilisé pour les décisions de gestion.

La validation de niveau 1 et de niveau 2 représente les phases initiales de tests *in silico* (conception de l'amorce par ordinateur) et *in vitro* (optimisation de l'amorce en laboratoire), respectivement, mais pas les phases de tests *in situ* (échantillonnage sur le terrain de l'ADNe) pour un test ADNe-qPCR. Ces deux premiers niveaux sont axés sur le développement et la conduite de tests des marqueurs génétiques pour s'assurer qu'ils sont propres à l'organisme d'intérêt (c.-à-d. qu'ils n'amplifient pas les espèces ou sous-espèces indésirables). À ces stades, le test n'a pas atteint un niveau de validation suffisamment élevé pour déterminer si l'ADNe cible est présent ou absent.

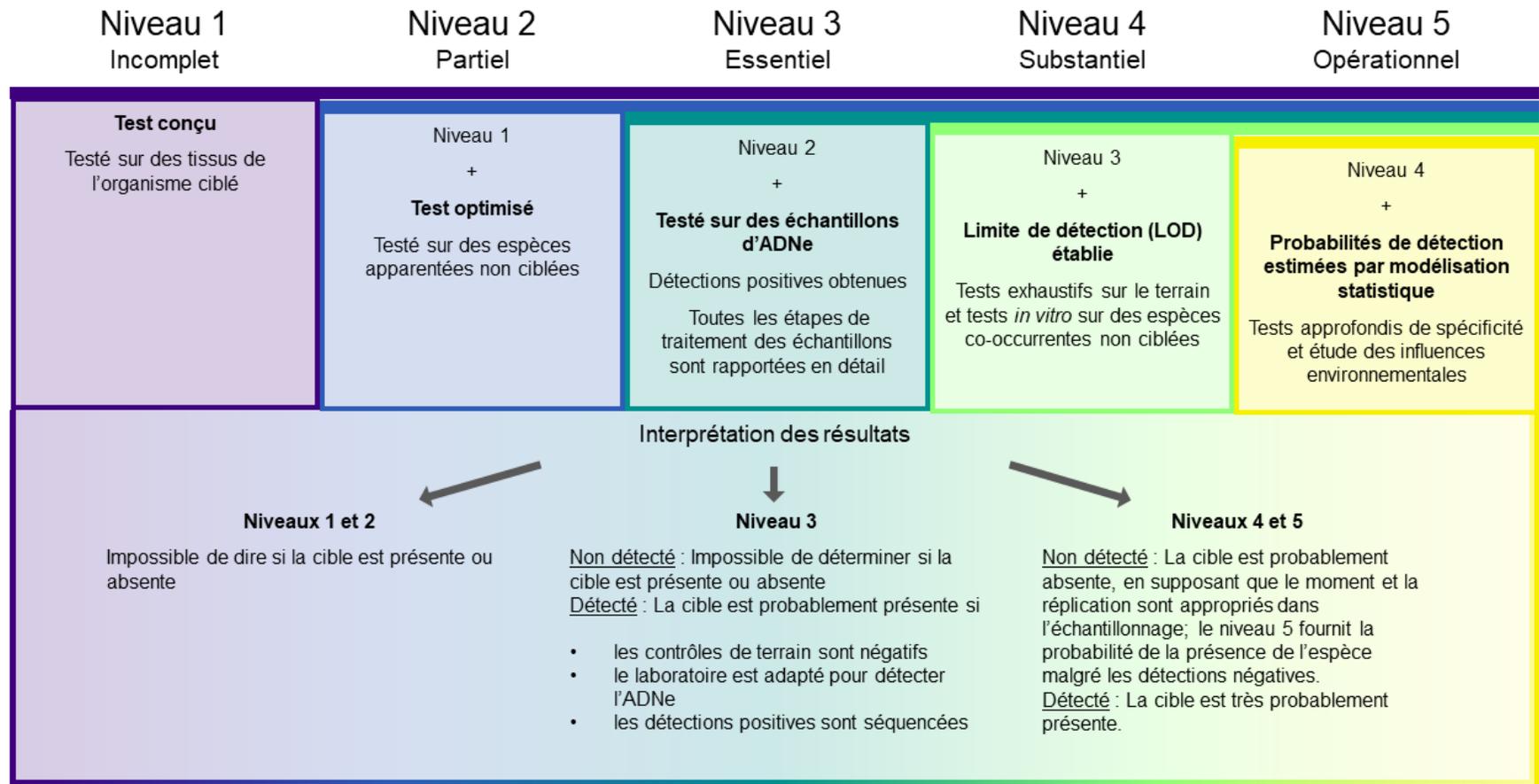


Figure 4. Une échelle de validation à cinq niveaux a été élaborée par Thaling et al. 2020 (PRÉIMPRESSION) pour faciliter l'évaluation des tests d'ADNe et l'interprétation appropriée des résultats. Pour chacun des niveaux, les principales réalisations du processus de validation et l'interprétation appropriée des résultats sont fournies. Voir Thaling et al. 2020 pour les critères minimaux à chaque niveau.

La validation de niveau 3 exige que les tests soient effectués sur des échantillons d'ADNe prélevés sur le terrain (*in situ*) dans des zones où l'on sait que l'organisme cible est présent ou absent pour évaluer le rendement de la méthode dans des conditions naturelles. Si le test d'ADNe permet de détecter l'organisme cible *in situ*, ce test devient alors opérationnel (c.-à-d. il devient possible de déterminer si l'ADNe d'un organisme d'intérêt peut être détecté dans la zone d'étude) tant que le flux de travail et les procédures d'utilisation standards sont strictement suivis. Par conséquent, la validation de niveau 3 est une étape essentielle pour déterminer si l'ADNe cible est présent ou absent. Pour les études qui sont plus exploratoires ou qui éclairent les décisions de gestion à faible risque, la validation de niveau 3 peut être suffisante pour déterminer si l'ADNe cible est probablement présent dans une zone donnée.

Pour la validation de niveau 4, la limite de détection (LOD), qui est la plus faible concentration d'ADNe cible pouvant être détectée avec un niveau de confiance (le taux de détection de 95 % est le niveau de confiance standard), est recommandée comme critère de détection minimum (Klymus *et al.* 2019). La limite de quantification (LOQ) est une autre mesure de qPCR qui peut être utilisée avec ou au lieu de la limite de détection lorsqu'un critère de détection plus élevé est nécessaire (c.-à-d. une tolérance au risque plus faible; voir Klymus *et al.* 2019). L'utilisation d'un seuil de détection de l'ADNe pour la limite de détection ou la limite de quantification signifie qu'un test de niveau 4 peut être considéré comme hautement validé, et qu'il représente un niveau de confiance plus élevé dans les résultats de l'ADNe que celui d'un test de niveau 3. La validation de niveau 4 est suffisante pour déterminer si la présence de l'ADN cible est improbable dans une zone donnée.

La validation de niveau 5 est considérée comme entièrement opérationnelle pour la présence ou l'absence d'une espèce ou d'un taxon, et elle est idéale pour appuyer la prise de décisions ayant des conséquences importantes sur le plan sociopolitique ou sur le plan des ressources; toutefois, il n'y a que quelques exemples où les tests ciblés propres à une espèce ont atteint le niveau 5 (p. ex. le US Asian Carp Program, USFWS, 2019). La validation de niveau 5 n'est pas une destination statique et peut diminuer si les variables environnementales changent au fil du temps (Thalinger *et al.* 2020). Le temps et les ressources nécessaires pour obtenir la validation du niveau 3 au niveau 5 varient grandement selon l'échelle et la portée de l'étude. S'il n'y a pas de marqueurs génétiques disponibles pour une espèce cible, ils devront être conçus, mis au point et testés comme il est indiqué à chaque niveau de validation. Dans certains cas, plusieurs mois sont nécessaires pour valider un test de niveau 2 et plusieurs années pour obtenir un test validé de niveau 3. Par comparaison, la validation de niveau 4 inclut souvent de nombreuses études et une expérimentation intensive pour comprendre comment améliorer la détection de l'ADNe dans la zone d'étude. Le passage du niveau 4 au niveau 5 exige plusieurs années de tests et des ressources considérables. Si des marqueurs génétiques ou un flux de travail ADNe-qPCR sont disponibles, il est toujours important de tester et de valider un test qPCR dans la zone d'étude prévue.

Analyse des résultats du test qPCR pour la détection de l'ADNe

Bien qu'il n'y ait pas de consensus sur la façon dont les résultats de la qPCR devraient être analysés, deux approches principales sont utilisées pour analyser les résultats : i) les arbres décisionnels de détection, et ii) les approches statistiques. Pour les deux approches, le fournisseur de services d'ADNe doit définir soigneusement les critères pour qu'un échantillon soit considéré comme « détecté » ou « non détecté », et pour toute autre classification qui peut être requise dans une étude particulière, à chaque niveau de réplication (p. ex. site, station). Il

**Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADNe
pour la gestion des espèces aquatiques
envahissantes et des espèces en péril**

Région de la capitale nationale

est recommandé que l'approche utilisée pour la détection de l'ADNe soit élaborée dans le cadre d'un plan de communication, en particulier pour les études ayant une faible tolérance au risque.

Dans le cadre du présent processus d'avis scientifique, des renseignements et critères minimaux recommandés ont été choisis pour améliorer l'interprétation et la transparence des résultats des tests qPCR, tout en reconnaissant que les méthodes d'analyse de l'ADNe évoluent. Des détails sur tous les contrôles positifs et négatifs doivent être communiqués afin que les utilisateurs finaux puissent comprendre la robustesse de l'étude, quelles que soient sa discipline et son expérience avec l'ADNe. Un aperçu des résultats du test qPCR devrait être fourni aux utilisateurs finaux afin de permettre une évaluation indépendante de celle du fournisseur de services d'ADNe. Il est considéré comme acceptable qu'un fournisseur de services d'ADNe limite ses rapports à l'analyse d'AQ/CQ, mais ce dernier peut également fournir une analyse ou une interprétation des résultats du test qPCR.

Pour aider les gestionnaires, un exemple d'arbre décisionnel de détection a été élaboré (figure 5). Cet exemple montre les composantes clés d'un arbre décisionnel de détection et est complémentaire aux autres arbres décisionnels élaborés pour des applications ou des programmes d'ADNe particuliers. Veuillez noter que l'exemple d'arbre décisionnel ne constitue pas une norme pour une étude de détection d'ADNe donnée. Le nombre de réplicats de la qPCR (encadré supérieur, figure 5) et le nombre d'échantillons, de stations et de sites (encadré inférieur, figure 5) pourraient être fixés à n'importe quel nombre minimal convenu et pourraient changer au fil du temps, à mesure que l'on en apprend davantage sur le système d'étude.

Dans l'arbre décisionnel de l'exemple, la validation du niveau 4 au niveau 5 (voir la figure 4) est le niveau minimum qui doit être atteint pour permettre de désigner un statut de « détection » ou d'« absence de détection », car les critères de détection ont été choisis comme le niveau de détection qui respecte ou dépasse les paramètres de la limite de détection au niveau de l'échantillon, du site et de la station. Le terme « détection non concluante » est utilisé lorsque l'échantillon a été amplifié, mais que son signal était inférieur à la limite de détection (c.-à-d. que le poids de la preuve ne correspond pas au niveau de détection) et qu'il faut poursuivre le travail (p. ex. rééchantillonnage, tests répétés).

Les résultats à n'importe quelle étape d'une étude d'ADNe ou du flux de travail du test qPCR peuvent comprendre des erreurs de faux positifs et de faux négatifs (tableau 1). Le document d'orientation et les exigences minimales en matière de rapports visent à aider à traiter les sources d'erreur, de façon à ce que les utilisateurs finaux disposent de l'information nécessaire pour comprendre comment les erreurs ont pu survenir et comment elles peuvent être réglées. Les désignations de statut des études d'ADNe (« détecté », « non concluant » ou « non détecté ») peuvent varier selon les objectifs de l'étude, les résultats et la tolérance au risque des utilisateurs finaux; par conséquent, il est impossible de fournir des directives précises sur l'interprétation des résultats des tests d'ADNe aux fins de gestion ou d'utilisation réglementaire. Selon la désignation du statut d'une étude, un échantillonnage plus approfondi et des tests d'ADNe répétés, avec le même plan d'étude ou un avec un plan d'étude modifié, peuvent être nécessaires pour corroborer les données probantes disponibles afin d'accroître la fiabilité des résultats. La confirmation des résultats de l'ADNe peut être requise au moyen d'autres méthodes d'enquête axées sur les sites de détection de l'ADNe, le rééchantillonnage, ou l'utilisation d'un test qPCR supplémentaire ou de séquençage de l'ADNe d'un sous-ensemble de produits qPCR.

**Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADNe
pour la gestion des espèces aquatiques
envahissantes et des espèces en péril**

Région de la capitale nationale

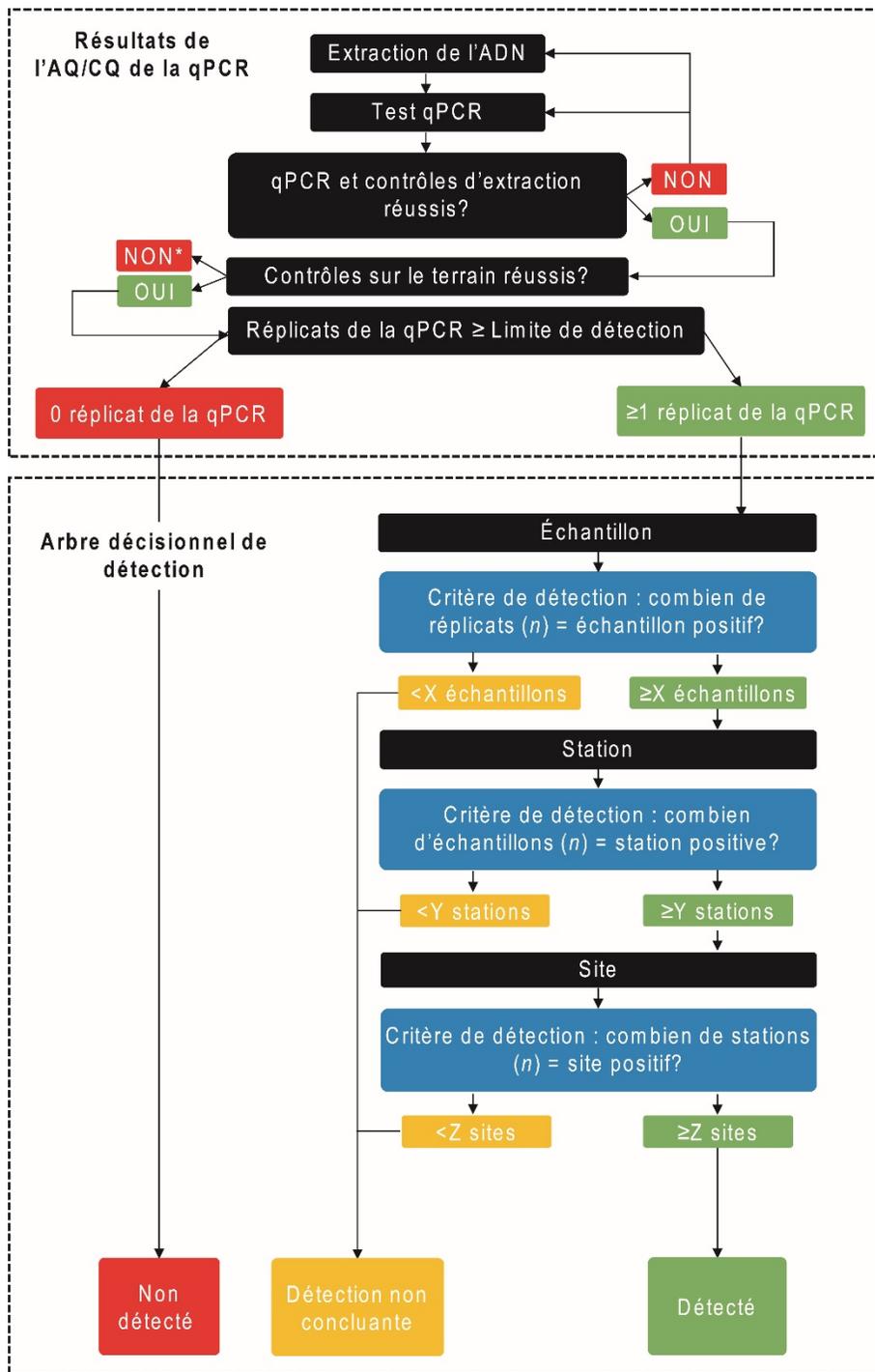


Figure 5. Exemple d'arbre décisionnel pour interpréter les résultats du test qPCR de l'ADNe. Dans la boîte en pointillés supérieure, les résultats finaux de la qPCR sont générés en vérifiant les contrôles. La boîte en pointillés du bas est un arbre décisionnel de détection, dans lequel les critères appliqués sont variables (comme l'indiquent X, Y et Z) et peuvent ou non différer pour chaque niveau, car ils seront établis en fonction des objectifs de l'étude et de la tolérance au risque de l'utilisateur final. L'astérisque associé aux contrôles sur le terrain qui n'ont pas été réussis indique la nécessité d'une discussion entre l'utilisateur final et le fournisseur de services d'ADNe.

Tableau 1. Désignations possibles du statut pour les résultats de l'ADNe selon la présence ou l'absence de l'espèce cible. Ces désignations devraient faire l'objet de discussions dans le contexte des objectifs de gestion et de la tolérance au risque.

	ADNe non détecté	Détection de l'ADNe non concluante	ADNe détecté
Espèce présente	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons environnementaux n'ont pas été prélevés au bon moment ou au bon endroit pour l'organisme ciblé. • L'ADN s'est dégradé sur le terrain, pendant l'entreposage ou entre l'extraction et l'amplification. • L'ADN n'a pas été extrait des échantillons environnementaux de manière efficace. • Échec de l'amplification (p. ex. inhibition). 	<ul style="list-style-type: none"> • L'amplification sporadique ne permet pas d'atteindre les seuils de détection, ce qui peut être causé par une faible abondance de la cible résultant des processus physiques et biologiques (c.-à-d. distance de la source, faible taux d'ADN libéré, faible abondance de l'organisme ciblé, composés inhibiteurs, dégradation de l'ADN). 	✓
Espèce absente	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons peuvent avoir été contaminés sur le terrain ou en laboratoire. • Amplification de l'ADN d'une espèce apparentée. 	<ul style="list-style-type: none"> • L'ADNe libéré par un organisme mort (p. ex. dans l'eau de ballast) a été amplifié. • L'ADNe a persisté depuis un événement d'introduction antérieur où l'espèce ne s'est pas établie (c.-à-d. signal de reliques). • L'ADNe a été transporté d'une source éloignée. • Contamination sur le terrain ou en laboratoire. • Amplification de l'ADN d'une espèce apparentée.

Sources d'incertitude

L'ADN environnemental (ADNe) est une mesure indirecte de la présence ou de l'absence de l'ADN cible et ne permet pas de faire la distinction entre les organismes vivants et les organismes morts (p. ex. matière fécale, restes digérés de prédateurs). La certitude dans la déduction de la présence ou de l'absence peut être améliorée par un échantillonnage temporel et spatial répété de la zone, et par une attention particulière pour documenter tout organisme mort observé ou toute source extérieure possible d'ADNe. En parallèle, le fait de ne pas détecter l'ADNe n'indique pas nécessairement l'absence d'une espèce cible; l'ADNe cible pourrait ne pas avoir été prélevé même lorsqu'il est présent, l'espèce peut avoir un faible taux d'ADN sécrété, ou des problèmes techniques peuvent s'être produits.

Il existe plusieurs sources analytiques d'incertitude liées à l'extraction de l'ADN, à la validation et à l'opérationnalisation du test qPCR, et à l'interprétation des résultats. L'incertitude peut être introduite pendant l'échantillonnage sur le terrain si le nombre ou le volume des échantillons est insuffisant, si l'échantillonnage spatial ou temporel n'est pas suffisant pour détecter avec succès les organismes cibles, ou s'il y a contamination. La sensibilité des méthodes d'analyse de l'ADNe exige de bonnes pratiques de laboratoire méticuleuses, des procédures d'AQ/CQ et des tests rigoureux pour réduire les sources de contamination croisée de l'ADN et accroître la confiance dans la détection de l'ADNe.

Les autres sources d'incertitude comprennent les lacunes dans les connaissances sur la persistance et la distribution de l'ADNe de différentes sources dans différents environnements. Pour atteindre un niveau de certitude élevé, il faut effectuer des relevés et des tests de façon continue dans un système écologique donné à un endroit donné.

CONCLUSIONS ET AVIS

L'ADN environnemental (ADNe) est particulièrement bien adapté pour la détection rapide des espèces aquatiques envahissantes, des espèces en péril et des autres espèces qui sont souvent sous-estimées ou sous-représentées au moyen des méthodes conventionnelles de surveillance. L'analyse de l'ADN environnemental a de nombreuses applications rentables. Elle peut fournir aux gestionnaires et aux décideurs de l'information qui complète d'autres méthodes conventionnelles de surveillance et qui appuie la conservation des espèces aquatiques et des écosystèmes.

Les approches ciblées d'ADNe-qPCR peuvent fournir des méthodes de détection efficaces et fiables pour obtenir l'ADNe des organismes aquatiques lorsqu'elles sont bien conçues, rigoureusement validées et systématiquement déclarées par les utilisateurs finaux et les fournisseurs de services d'ADNe. Les exigences minimales en matière de rapports et le langage normalisé énoncés dans le document d'orientation en font un outil de communication et une ressource complète pour guider les utilisateurs finaux des programmes sur les espèces aquatiques envahissantes et les espèces en péril tout au long du flux de travail de l'ADNe-qPCR. Les exigences minimales en matière de rapports ont été conçues pour que les utilisateurs finaux comprennent bien les critères qui sont importants aux fins de la désignation du statut de l'étude d'ADNe, et pour encourager les fournisseurs de services d'ADNe à produire des résultats de façon uniforme. Des rapports cohérents sur les études d'ADNe permettront d'entreprendre davantage d'études comparatives, qui peuvent aider à combler les lacunes en matière de connaissances et à faire progresser les méthodes d'analyse d'ADNe aux fins de prise de décisions et de réglementation.

**Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADNe
pour la gestion des espèces aquatiques
envahissantes et des espèces en péril**

Région de la capitale nationale

Le domaine de l'ADNe est relativement nouveau et en rapide évolution, stimulé par ses nombreuses applications bénéfiques. Le présent processus d'avis scientifique permet au MPO de parvenir à une normalisation et à un consensus nationaux et internationaux en matière de production de rapports, ce qui représente un premier effort vers une communication uniforme et transparente des résultats de l'ADNe.

Il a été conclu que si la plupart ou la totalité des pratiques susmentionnées concernant la conception d'une étude sur l'ADNe et la production de rapports étaient en place, les résultats de l'ADNe devraient être pris en compte dans les mesures relatives aux politiques et à la gestion, et l'ADNe devrait être un autre outil pour la détection, la surveillance et la gestion des espèces d'intérêt.

AUTRES CONSIDÉRATIONS

D'autres méthodes d'analyse de l'ADNe qui ne sont pas incluses dans cette demande d'avis, comme la PCR digital en gouttelettes (ddPCR), peuvent être aussi valides que les approches de la qPCR et avoir leurs propres critères de détection, étapes de validation et extraits qui devraient être déclarés le plus en détail possible. Certaines des exigences minimales en matière de rapports décrites ici concernant l'échantillonnage et l'analyse sur le terrain peuvent s'appliquer à d'autres approches d'analyse de l'ADNe.

LISTE DES PARTICIPANTS DE LA RÉUNION

Nom	Organisme d'appartenance
Abbott, Cathryn	Pêches et Océans Canada, région du Pacifique
Baillie, Shauna (coprésidente)	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Bajno, Robert	Pêches et Océans Canada, région de l'Ontario et des Prairies
Carpentier, Julie	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Coulson, Mark	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Cowell, Sara	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Dietrich, Charise	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Duncan, Willie	Scottish Environmental Protection Agency (SEPA)
Ferrante, Jason	United States Geological Survey (USGS)
Foster, Sophie (coprésidente)	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Gagne, Nellie	Pêches et Océans Canada, région du Golfe

**Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADNe
pour la gestion des espèces aquatiques
envahissantes et des espèces en péril**

Région de la capitale nationale

Nom	Organisme d'appartenance
Gertzen, Erin	Pêches et Océans Canada, région du Pacifique
Hamilton, Lorraine	Pêches et Océans Canada, région des Maritimes
Hanner, Bob	Université de Guelph
Howland, Kimberley	Pêches et Océans Canada, région de l'Ontario et des Prairies
Kristmanson, James	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Lacoursière-Roussel, Anaïs	Pêches et Océans Canada, région des Maritimes
Leblanc, Francis	Pêches et Océans Canada, région du Golfe
May-McNally, Shannan	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Morisette, Jeffrey	US Department of the Interior
Parent, Geneviève	Pêches et Océans Canada, région du Québec
Robert, Karine	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale
Sepulveda, Adam	United States Geological Survey (USGS)
Silverio, Cassandra	Gouvernement de la Colombie-Britannique
Valentin, Alexandra	Pêches et des Océans Canada, région du Québec
Walker, Sherry	Pêches et Océans Canada, région de la capitale nationale

SOURCES DE RENSEIGNEMENTS

Le présent avis scientifique découle de la réunion nationale d'examen par les pairs du 6 au 8 juillet 2020 sur les Lignes directrices pour l'utilisation ciblée des analyses d'ADN environnemental (ADNe) pour la gestion des espèces aquatiques envahissantes et des espèces en péril. Toute autre publication découlant de cette réunion sera publiée, lorsqu'elle sera disponible, sur le [calendrier des avis scientifiques de Pêches et Océans Canada](#).

Baillie, S.M., McGowan, C., May-McNally, S., Leggatt, R., Sutherland, B.J.G., and Robinson, S. 2019. Environmental DNA and its applications to Fisheries and Oceans Canada: National needs and priorities. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 3329: xiv + 84p.

Bohmann, K., Evans, A., Gilbert, M.T.P., Carvalho, G.R., Creer, S., Knapp, M., Douglas, W.Y., and De Bruyn, M. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends Ecol. Evol.* 29(6): 358-367.

**Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADNe
pour la gestion des espèces aquatiques
envahissantes et des espèces en péril**

Région de la capitale nationale

- Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellems, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G.L., Vandesompele, J., and Wittwer, C.T. 2009. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin. Chem.* 55(4): 611– 622. doi:10.1373/clinchem.2008.112797.
- CSA 2019. [Environmental DNA standardization needs for fish and wildlife population assessments and monitoring](#). Canadian Standards Association Report. 41 p.
- Goldberg, C.S., Turner, C.R., Deiner, K., Klymus, K.E., Thomsen, P.F., Murphy, M.A., Spear, S.F., McKee, A., Oylar-McCance, S.J., Cornman, R.S., Laramie, M.B., Mahon, A.R., Lance, R.F., Pilliod, D.S., Strickler, K.M., Waits, L.P., Fremier, A.K., Takahara, T., Herder, J.E., and Taberlet, P. 2016. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods Ecol. Evol.* 7: 1299-1307. doi:10.1111/2041-210X.12595.
- Harrison, J.B., Sunday, J.M., and Rogers, S.M. 2019. Predicting the fate of eDNA in the environment for studying biodiversity. *Proc. Biol. Sci.* 286(1915): 20191409. doi:10.1098/rspb.2019.1409
- Hunter, M.E., Ferrante, J.A., Meigs-Friend, G., and Ulmer, A. 2019. Improving eDNA yield and inhibitor reduction through increased water volumes and multi-filter isolation techniques. *Sci. Rep.* 9(1): 1-9.
- Jerde, C., Welsh, A., Wilson, C., Docker, M., and Locke, B. 2019. [Guidance for environmental DNA sampling design and effort](#). Great Lakes Fishery Commission. 5 p.
- Klymus, K.E., Merkes, C.M., Allison, M.J., Goldberg, C.S., Helbing, C.C., Hunter, M.E., Jackson, C.A., Lance, R.F., Mangan, A.M., Monroe, E.M., Piaggio, A.J., Stokdyk, J.P., Wilson, C.C., and Richter, C.A. 2019. Reporting the limits of detection and quantification for environmental DNA assays. *Environmental DNA* 00: 1-12. doi:10.1002/edn3.29.
- Lacoursière-Roussel, A. and Deiner, K. 2019. Environmental DNA is not the tool by itself. *J. Fish Biol.* doi:10.1111/jfb.14177
- OECD 1998. [OECD series on principles of good laboratory practice and compliance monitoring](#). Organisation for Economic Co-operation and Development. Paris. 41p.
- Sepulveda, A.J., Nelson, N.M., Jerde, C.L., Luikart, G., 2020. Are environmental DNA methods ready for aquatic invasive species management? *Trends Ecol. Evol.* 35(8): 668-678. doi.org/10.1016/j.tree.2020.03.011.
- Sigsgaard, E.E., Carl, H., Møller, P.R., and Thomsen, P.F. 2015. Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples. *Biol. Conserv.* 183: 46-52. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.023.
- Thalinger, B., Deiner, K., Harper, L.R., Rees, H.C., Blackman, R.C., Sint, D., Traugott, B., Goldberg, C.S., and Bruce K. 2020. PREPRINT A validation scale to determine the readiness of environmental DNA assays for routine species monitoring. *bioRxiv* 2020.04.27.063990. doi:10.1101/2020.04.27.063990.
- Thomsen, P.F. and Willerslev, E. 2015. Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol. Conserv.* 183: 4-18. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.019.
- USFWS 2019. [Quality assurance project plan eDNA monitoring of bighead and silver carps](#). U.S. Fish and Wildlife Service Midwest Region. Bloomington, MN. 160 p.

CE RAPPORT EST DISPONIBLE AUPRÈS DU :

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)
Région de la capitale nationale
Pêches et Océans Canada
200 rue Kent,
Ottawa (Ontario) K1A 0E6
Téléphone : 613-990-0293
Courriel : csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca
Adresse Internet : www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/

ISSN 1919-5117

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, 2020



La présente publication doit être citée comme suit :

MPO. 2020. Avis sur l'utilisation des analyses ciblées d'ADN environnemental (ADNe) pour la gestion des espèces aquatiques envahissantes et des espèces en péril. Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2020/058

Also available in English:

DFO. 2020. Advice on the Use of Targeted Environmental DNA (eDNA) Analysis for the Management of Aquatic Invasive Species and Species at Risk. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Advis. Rep. 2020/058