

Test ELISA sur les tubercules de pommes de terre: peut-on automatiser les prélèvements de jus?

R. SCHWÄRZEL, Station fédérale de recherches en production végétale de Changins, CH-1260 Nyon 1

Résumé

Un prototype de robot a été construit pour automatiser le prélèvement du jus de tubercules de pommes de terre pour le test ELISA. Cette machine prélève le jus à la base des germes à la couronne des tubercules. La cadence de travail est deux à quatre fois moins rapide que le prélèvement manuel. Le taux de réussite pour les prélèvements de jus a finalement atteint 80% en moyenne.

Introduction

La détermination du taux de virus dans les plants de pommes de terre se fait par le test immuno-enzymatique ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Ce test est appliqué couramment pour la certification des plants de pommes de terre (SCHWÄRZEL et GEHRIGER, 1989). Les contrôles virologiques se font généralement au mois de septembre, sur un échantillon de tubercules pour chaque lot de plants certifiés. Pour le test, un extrait de jus de tubercules est prélevé par une fraise à la base des germes de la couronne (GUGERLI, 1979).

Les stations fédérales testent chaque année en laboratoire près d'un demi-million de tubercules pour la certification et 200 000 tubercules pour différents essais. Ce travail minutieux s'effectue à la main, à l'aide d'une fraise. Une personne peut prélever le jus d'environ 2500 tubercules par jour. Pour éviter les contaminations par les virus,

la fraise est rincée à l'eau et séchée avec un jet d'air comprimé après chaque tubercule. Il s'agit d'une activité répétitive et monotone qui doit être réalisée en un mois, pour se terminer à la fin de septembre.

A l'initiative de M. P. Gugerli, virologue à la Station de Changins, le groupe «*Computer vision*» de l'Université de Genève et un groupe de l'Institut de microtechnologie de l'Ecole polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL) ont construit un prototype de robot. Le but était d'automatiser le prélèvement du jus des tubercules. Dans un premier temps, la faisabilité de l'extraction du jus à la couronne des tubercules par un robot a été démontrée. Cette expérience est un défi pour la robotisation à cause de la haute variabilité naturelle des objets à tester: forme des tubercules, couleur, texture et position des germes.

Matériel et méthodes

Depuis le lancement du projet, les groupes de l'Université de Genève et de l'EPFL ont travaillé leurs sujets d'une manière indépendante jusqu'à l'assemblage du robot.

A Changins, de nombreux travaux sur la croissance des virus, sur leur comportement dans les tubercules et sur la détection par le test ELISA ont été réalisés auparavant (GUGERLI, 1979; GEHRIGER, 1986). Il en ressort qu'après la levée de la dormance des tubercules, la plus grande concentration des particules de virus de la mosaïque grave (PVY) se trouve sous les germes. On sait par ailleurs que la majorité des germes se situent à la couronne du tubercule (fig. 1).

Le groupe «*Computer vision*» de l'Université de Genève a expérimenté d'abord

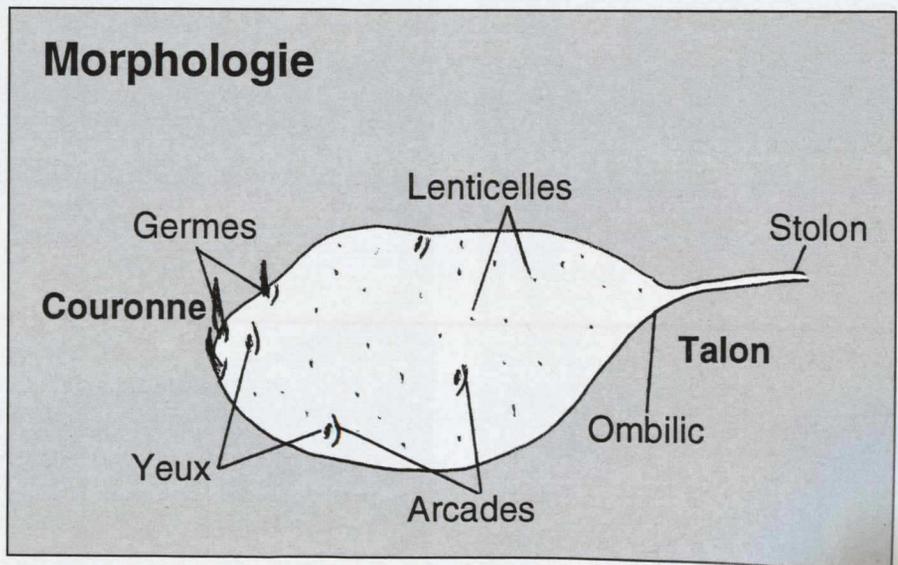


Fig. 1. Le tubercule est une tige renflée.

deux approches de reconnaissance visuelle des points de prélèvement (LEFEBVRE, 1992): la première se base sur des images en trois dimensions et la seconde sur la thermographie, le but consistant à localiser l'endroit du prélèvement qui se trouve à la base des germes de la couronne, là où la concentration de virus est la plus forte. Finalement, deux méthodes ont été testées sur ce prototype. L'une tire parti d'une vue de profil en saturation, l'autre d'une vue de profil en fluorescence. Lorsque le germe est détecté, on utilise pour les deux méthodes une vue de face en fluorescence: il est en effet connu que les germes reflètent en fluorescence une autre longueur d'onde que les tubercules.

L'Institut de microtechnique de l'Ecole polytechnique fédérale de Lausanne a construit un prototype de robot capable de guider une caméra et une fraise. Au préalable, les tubercules sont transportés et alignés pour le prélèvement du jus (BAUR, 1994). Les tubercules doivent être présentés un par un devant la caméra (fig. 2), ce qui peut se faire au moyen d'un tapis roulant en forme de V. Un deuxième tapis avance un peu plus vite et sépare les tubercules les uns des autres. Les tubercules sont enfourchés et pivotent jusqu'à ce que le prélèvement du jus puisse se faire à l'endroit localisé par la caméra (fig. 3). Cette partie du travail a été réalisée par le groupe de l'Université de Genève. Vingt millilitres de jus sont aspirés,

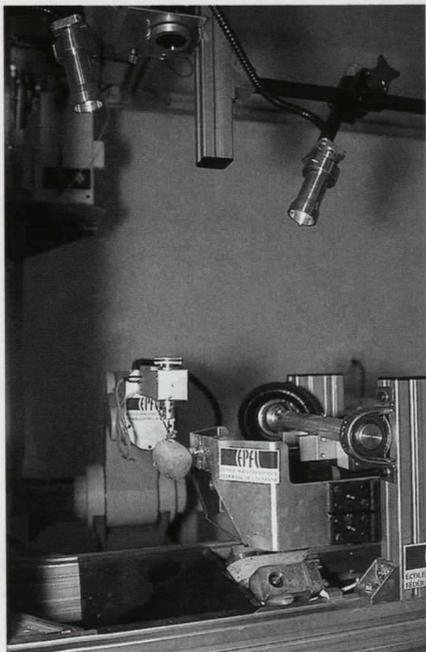


Fig. 2. La caméra chargée de la reconnaissance visuelle localise la plus grande concentration de germes, qui se trouve généralement à la couronne du tubercule (photo M. Kaufmann).

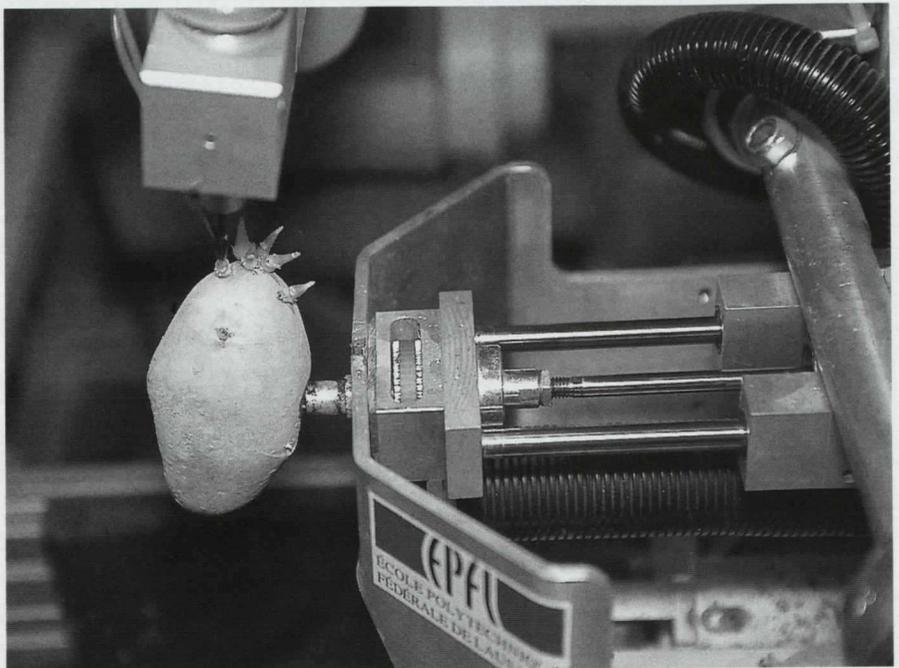


Fig. 3. La fraise du bras du robot s'incline pour prélever du jus de tubercules sous les germes (photo M. Kaufmann).

transportés et refoulés dans le puits d'une plaque ELISA; ensuite, la fraise passe à la station de lavage (fig. 4).

Résultats

En Suisse, une vingtaine de variétés de pommes de terre sont certifiées chaque année. Lors de l'évaluation du robot, plus de 2000 tubercules de douze variétés ont été testés (NGUYEN, 1994). Il faut souligner que la qualité du travail du robot a été améliorée tout au long de l'évaluation. Le taux de réussite du pré-

lèvement de jus de tubercules à la couronne a été de 78% pour les variétés Charlotte et Eba et de 58% pour Nicola et Désirée. La réflexion des longueurs d'ondes fluorescentes par les germes varie d'une variété à l'autre.

Dans une autre série de tests, la méthode qui visualise le profil en saturation et ensuite la face par fluorescence atteint une réussite moyenne de 80% contre 77% avec le profil et la face en fluorescence. La première méthode utilise aussi moins de prises de vue, ce qui rend la lecture plus rapide. Les principales raisons d'échecs ont été des erreurs de

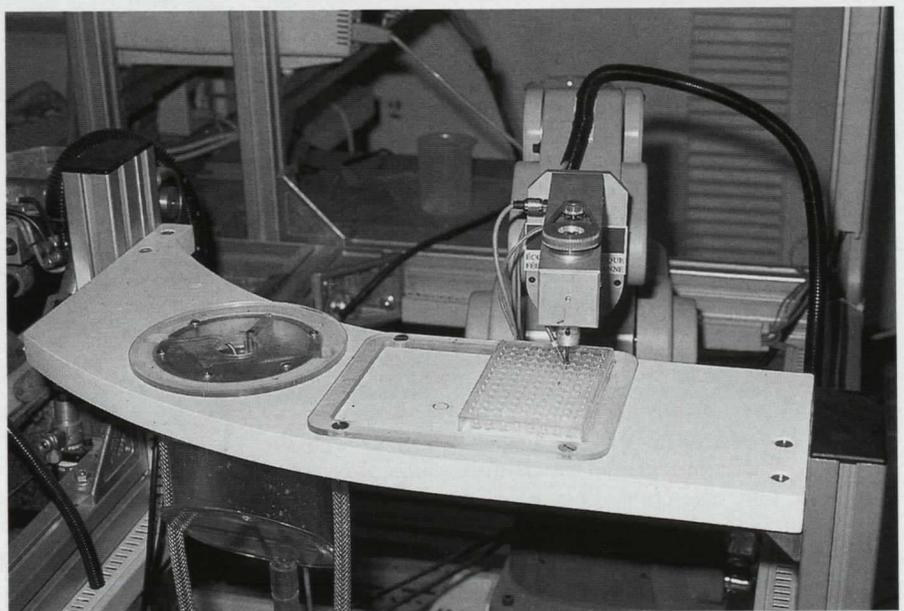


Fig. 4. Le jus de tubercules est déposé dans l'alvéole d'une plaque ELISA. La fraise passe ensuite à la station de lavage puis à l'extraction suivante (photo M. Kaufmann).

vision: soit le germe était trop long ou collé contre le tubercule, soit la profondeur du prélèvement n'était pas suffisante.

La cadence des prélèvements s'est révélée deux à quatre fois plus lente que la cadence manuelle (environ 40 à 70 minutes pour 90 tubercules). La qualité du travail était moins bonne avec le robot, car les prélèvements de jus n'étaient pas toujours suffisants pour le test ELISA. Par contre, il n'y a pas eu de contamination de virus entre les prélèvements, ce qui se produit parfois avec les prélèvements manuels.

Discussion et conclusion

Les constructeurs de ce premier prototype de robot ont démontré qu'il est possible d'automatiser le prélèvement du jus des tubercules pour les tests ELISA. A l'heure actuelle, cette machine a une cadence encore trop lente par rapport au prélèvement manuel à la fraise. C'est la partie de reconnaissance visuelle qui prend beaucoup de temps et également la mise en place du tubercule et le mouvement du bras du robot pour atteindre la plaque ELISA. Le taux de réussite est très variable selon la variété de pomme de terre. Une version améliorée de construction pourrait tenir compte des défauts observés sur le prototype. L'utilisation du même robot pour d'autres tests permettrait de mieux rentabiliser un tel investissement. Il pourrait par exemple être adapté au prélèvement de cônes pour le contrôle de la pourriture brune (*Pseudomonas solanacearum*), de la pourriture annulaire (*Clavibacter michiganensis*) ou au prélèvement de la chair pour déterminer la présence d'*Erwinia*.

Remerciements

Ce projet a été financé par le Fonds national suisse pour la recherche scientifique. Nous remercions tous les participants pour leur engagement et leur collaboration fructueuse, en particulier M. P. GUGERLI qui a encadré le projet pour la partie RAC et assuré les contacts avec l'Université de Genève et l'EPFL, sans oublier M. Ch. FIVAZ qui a préparé tous les échantillons nécessaires à l'expérimentation durant quatre ans.

Bibliographie

- BAUR C., NATONEK E., ZIMMERMAN T. and PUN T., 1994. The potato operation. Robotic apparatus for handling and testing natural objects. Rapport interne. Institut of Microengineering, Swiss Federal Institute of Technology (EPFL), Ecublens, CH-1015 Lausanne.
- GEHRIGER W., 1986. Le test ELISA sur tubercules: tests de routine pour la certification des plants de pommes de terre. *Revue suisse Agric.* 18 (1), 5-11.
- GUGERLI P., 1979. Le test immuno-enzymatique (ELISA) et son application pour le diagnostic rapide des viroses de la pomme de terre. *Revue suisse Agric.* 11 (6), 253-260.

Zusammenfassung

ELISA-Tests von Kartoffelknollen: Kann man die Saftentnahme durch einem Roboter automatisieren?

Ein Roboterprototyp wurde hergestellt um die Entnahme von Knollensaft beim ELISA-Test zu automatisieren. Diese Maschine war fähig, Knollensaft in der Kronengegend unter den Keimen selbständig zu entnehmen. Das Arbeitstempo war aber zwei bis viermal langsamer als die Entnahme von Hand. Eine erfolgreiche Saftentnahme erreichte schliesslich die Maschine im Durchschnitt bei 80% der Knollen.

Summary

ELISA-tests on potatoes: could tuber juice be extracted automatically by a robot?

A robot prototype was constructed for automatic juice sampling of potato-tubers of ELISA tests. This machine was able to extract juice under the largest sprouts at the extremities of the tubers called the rose-end. The speed was two to four times less than by manual extraction. The average of successful juice sampling reached at last about 80%.

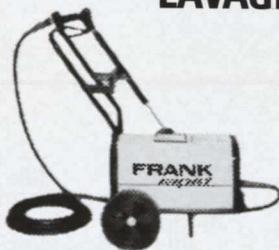
Riassunto

Test ELISA su tubercoli di patate: sarebbe possibile estrarre automaticamente il sugo dei tubercoli con un robot?

Un prototipo di robot è stato costruito per un'estrazione automatica del sugo dei tubercoli di patate per il test ELISA. Questa macchina preleva il sugo alla base dei germi della corona dei tubercoli. La cadenza di lavoro è di due a quattro volte meno rapida in confronto ad un prelievo manuale. Il tasso di riuscita per i prelievi del sugo ha finalmente raggiunto in media l'80%.

Pour une meilleure technique de nettoyage

LAVAGE HAUTE PRESSION FRANK



Prix
Qualité
Compétence

Eau froide - Eau chaude - Vapeur
220 et 380 volts
hydrosablage

R. BÖNZLI 1023 CRISSIER 021/635 53 65

Voilà...

Vous avez lu ce petit mot, c'est bien la preuve que la publicité est remarquée dans notre revue, même sur un petit format!

Renseignements: Tél. (022) 736 68 06
Fax (022) 786 04 23