

CYTO-3D VINS

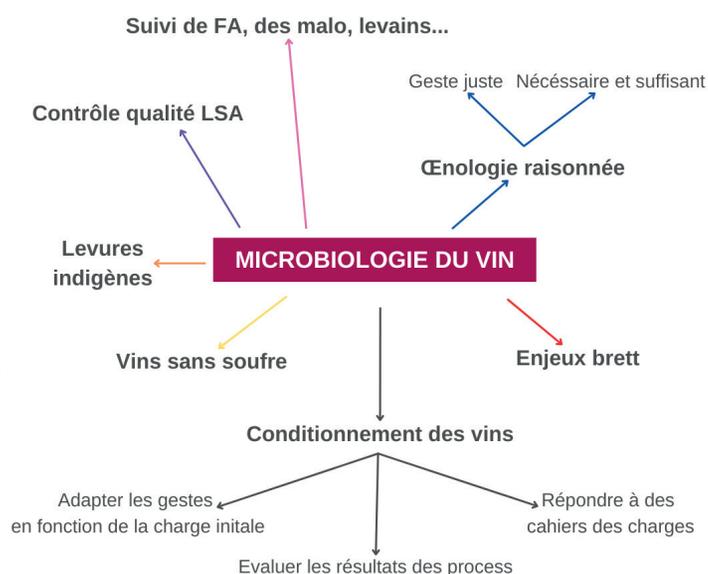
Comprendre et maîtriser la microbiologie des vins

HISTOIRE DE L'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DU VIN

D'un point de vue analytique, le vin est un produit issu de la chimie et de la biologie. Si nous avons connu ces dernières années énormément de progrès dans la productivité de l'analyse chimique, la microbiologie est quant à elle restée à l'ère de Pasteur, avec les boîtes de Petri ! Si d'autres technologies sont apparues plus récemment, comme la PCR, ces techniques restent des méthodes adaptées à la recherche mais pas à l'analyse de routine en termes de rapidité et compétitivité.

De la vendange au conditionnement, il y a pourtant un réel intérêt à suivre la microbiologie du vin, à diverses étapes du processus de production.

Il nous apparaissait donc essentiel de développer un ensemble d'applications innovantes et précises afin d'ensivager, enfin, l'analyse microbiologique en routine, à la manière des autres paramètres physico-chimiques du vin.



LA CYTOMETRIE

La cytométrie en flux est une technique de comptage et de mesure des états des cellules. Un premier système fluidique permet de faire passer à travers une cannelure très fine des cellules mises en suspension dans un fluide, permettant d'aligner une à une ces cellules devant un (ou plusieurs) laser(s). Chaque cellule émet alors des signaux lumineux analysés par un système optique : fluorescence émise par la particule, réfraction / obscurité de la lumière, taille structure... A partir de ces paramètres, un système électronique interprète ces signaux et établit un cytogramme, permettant d'identifier la nature des cellules.

La cytométrie en flux n'est pas une méthode récente : les premières publications en œnologie sur le sujet datent de 1994. Mais les limites de la technique (sensibilité au bruit de fond, limites de quantification élevées, nécessité de concentrer les échantillons et surtout, une difficulté à distinguer Saccharomyces et Brettanomyces) ont réduit son utilisation et sa diffusion en œnologie de terrain.

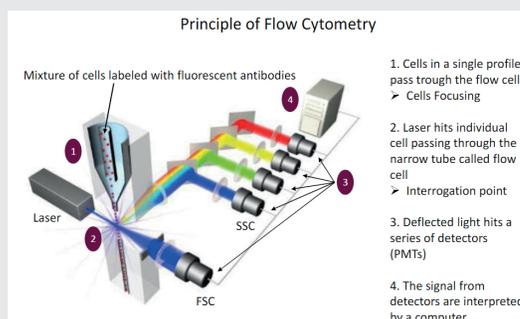
LES INNOVATIONS DES LABORATOIRES DUBERNET

Le triple marquage cellulaire activé par fluorescence (technique FACS)

Les micro-organismes sont mis en présence de fluorochromes (colorants ayant des propriétés fluorescentes). Les fluorochromes absorbent ces colorants de manière différente selon leur nature et leur état physiologique. Inédite à cette échelle, cette technique permet une stratégie originale de « gating » associée au marquage triple utilisé, la discrimination des levures Brettanomyces et Saccharomyces dans les vins, ainsi que la quantification des levures et bactéries en une seule analyse.

Des cytomètres de haute performance

Les nouveaux cytomètres sont dotés de détecteurs de très haute résolution et d'une haute cadence. Ces cytomètres de dernière génération permettent un débit élevé de flux et sont également équipés de plusieurs lasers, multipliant le nombre d'informations portées sur chaque particule. Nous investissons constamment dans des équipements de haute technologie : nous avons récemment acquis le Cytpix : un cytomètre doté d'un appareil photo et d'un quatrième laser : ces améliorations permettent d'être plus précis dans la perception du microbiote, notamment dans la différenciation des bactéries lactiques et acétiques.

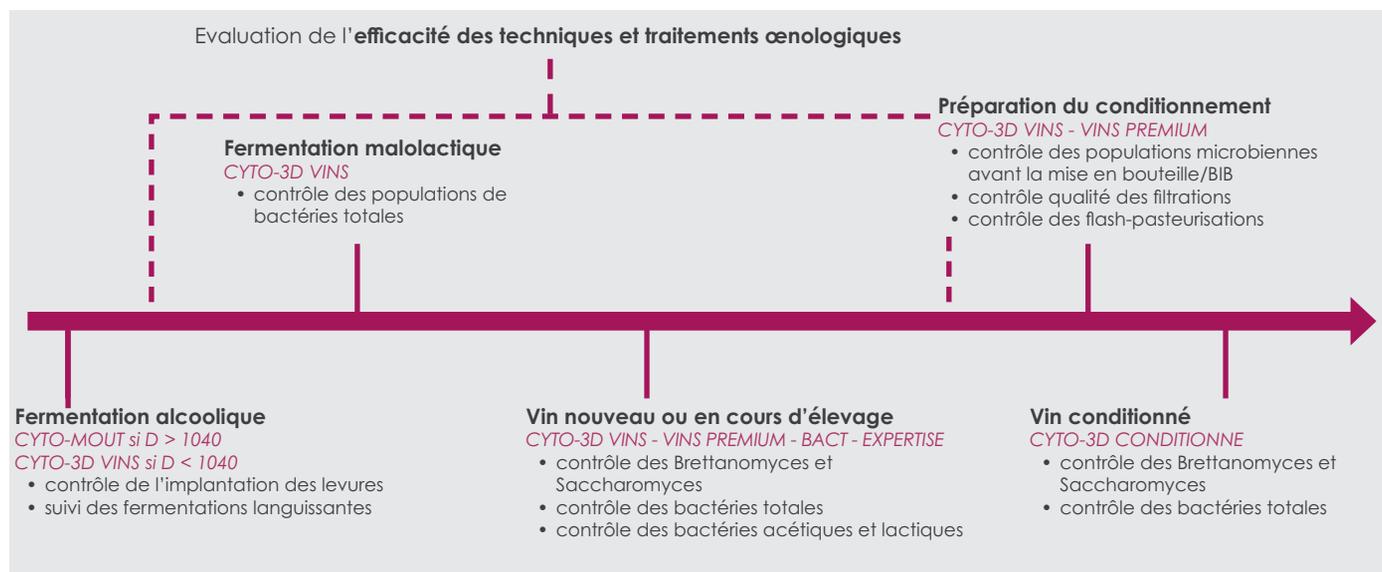


CYTO-3D VINS

APPLICATION CONCRETE DANS LE CYCLE DU VIN

Avec Cyto-3D vins, nous vous proposons une méthode innovante, exclusive et brevetée, capable de répondre aux enjeux du terrain. L'analyse microbiologique devient l'outil incontournable d'une œnologie précise et préventive :

- des résultats rapides en moins de 48 heures,
- un contrôle de toutes les étapes de la production du vin.



NOS MENUS D'ANALYSES

CODE ANALYSE	PARAMETRES ANALYSES	ECHANTILLON NECESSAIRE	DELAI
CYTO-MOÛT	Levures totales Populations vivantes-vitales, VMI et mortes & bactéries vivantes-vitales	200 ml	48 h
CYTO-3D VINS (forfait) CYTO-3D VINS PREMIUM (acte)	Brettanomyces, Saccharomyces & bactéries totales Populations vivantes-vitales, VMI et mortes		
CYTO-3D BRETTIS	Brettanomyces Populations vivantes-vitales, VMI et mortes		
CYTO-3D BACT	Bactéries lactiques & bactéries acétiques Populations vivantes-vitales, VMI et mortes		
CYTO-3D EXPERTISE	Brettanomyces, Saccharomyces Bactéries lactiques & bactéries acétiques Populations vivantes-vitales, VMI et mortes		
CYTO-3D CONDITIONNE	Brettanomyces, Saccharomyces & bactéries totales Populations vivantes-vitales, VMI et mortes	Vin conditionné	

Définition VMI : Viables Métaboliquement Inactifs (absence d'activité estérase).

UNE METHODE ACCREDITEE

Depuis Octobre 2021, les analyses Cyto-3D sont réalisées sous accréditation COFRAC selon la norme NF EN ISO 17025.

Accréditation n°1-0207
Portée disponible sur www.cofrac.fr
Site de Montredon-Corbières

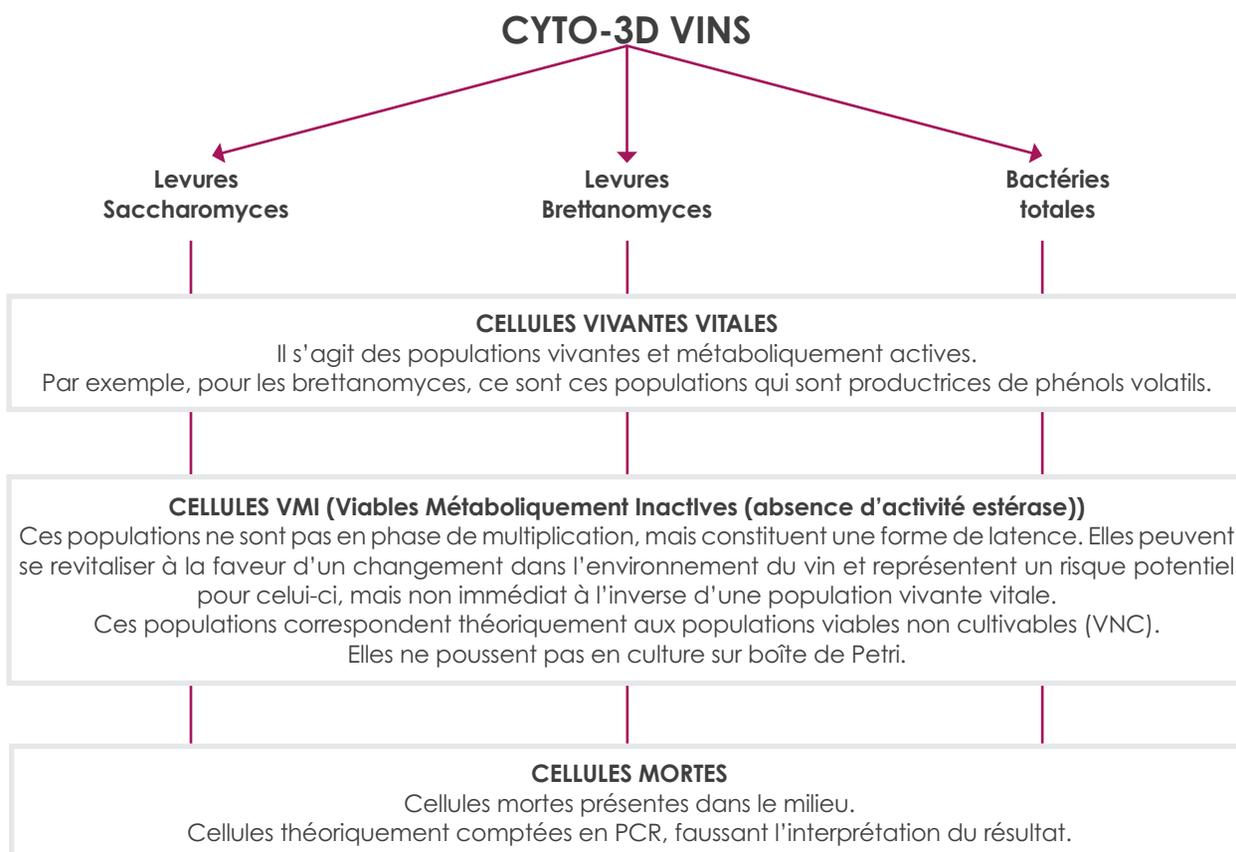
Accréditation n°1-5833
Portée disponible sur www.cofrac.fr
Site d'Orange



CYTO-3D VINS

INTERPRETER LES RESULTATS DE CYTO-3D

Cyto-3D vins réalise le comptage direct et spécifique des différentes populations microbiennes dans le vin, ainsi que leurs états :



LIRE LE RAPPORT D'ANALYSE

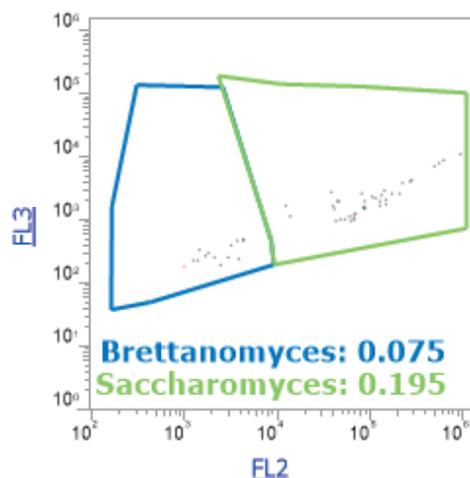
Par convention en microbiologie, les résultats sont exprimés en écriture scientifique, pour une meilleure lisibilité.

Par exemple, $2,5e+04$ événements/mL signifie $2,5 \cdot 10^4$ événements/mL ou encore 25 000 événements/mL.

Signification des paramètres figurant sur le rapport :

Type de micro-organisme	Sacch = Saccharomyces Brett = Brettanomyces Bact = Bactéries totales
Etat du micro-organisme	VV = Vivants Vitaux VMI = Viables, Métaboliquement Inactifs (absence d'activité estérase)
	nd = non détecté (< à la limite de détection)

LevuresBF - Echantillon



Cytogramme illustrant la séparation des levures Brettanomyces et Saccharomyces suivant l'axe FL2.

CYTO-3D VINS

FOCUS : L'ETUDE DES BRETTANOMYCES

En passant de 5 000 à 30 000 analyses microbiologiques annuelles, la cytométrie en flux nous a permis d'accumuler une base de données conséquente pour l'étude des Brettanomyces.

Les Brettanomyces sont des levures présentes dans les moûts et les vins. Elles sont dotées d'un pool enzymatique capable de métaboliser certains acides phénols naturellement présents dans les vins (acide p-coumarique et acide caftarique), en phénols volatils malodorants (respectivement 4-Éthyl-phénol et 4-Éthyl-gaïacol). Ces phénols volatils confèrent au vin un caractère aromatique "animal" typique, considéré aujourd'hui comme un défaut rédhibitoire par la majorité des acteurs du vin et des consommateurs.

Une levure environnementale de l'écologie naturelle des vins

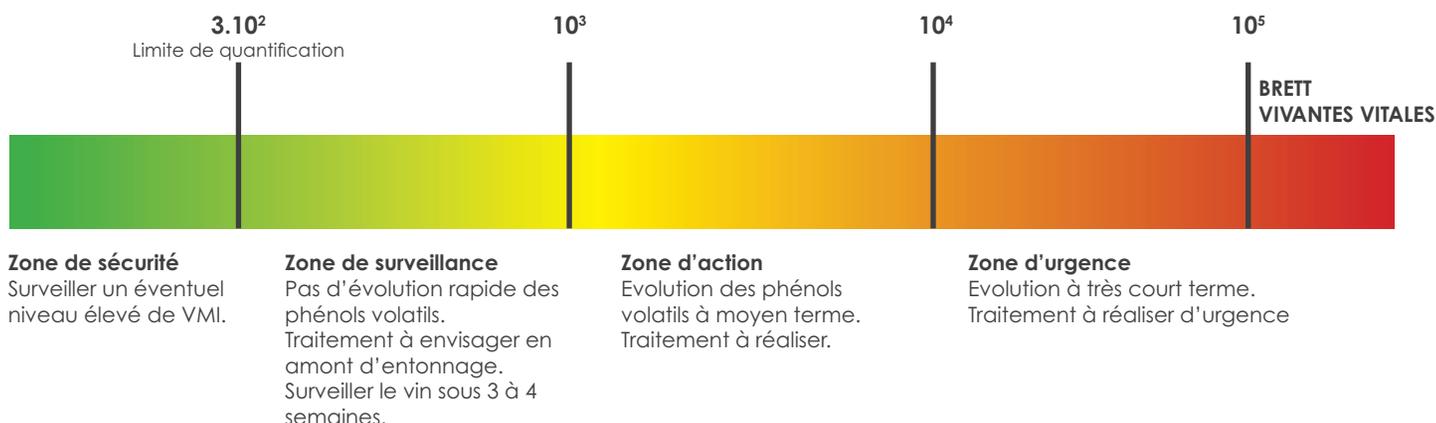
90% des vins rouges analysés contiennent des populations de Brettanomyces vivantes vitales et/ou des populations VMI. La présence de Brettanomyces est naturelle, quasi-systématique et ces levures peuvent se développer à toutes les étapes de la vie du vin : on les trouve au vignoble comme sur le matériel vinicole.

Certains gestes œnologiques aggravent le risque Brettanomyces

Macération pré-fermentaires à froid, longues phases de latence pré-fermentaires, FA languissantes ou arrêtées, traces de glucose/fructose en fin de FA, hygiène vinaire mal adaptée, températures non maîtrisées en élevage, niveaux faibles de SO₂ actif, populations microbiologiques non maîtrisées au conditionnement...

La maîtrise des Brettanomyces passe donc par la surveillance de la taille des populations, en particulier celle des cellules vivantes vitales aptes à produire des phénols volatils : un pilotage rendu possible grâce au suivi mensuel Cyto-3D.

Nos observations ont permis d'établir des seuils d'interprétation représentés ci-dessous :



GROUPE LABORATOIRES DUBERNET • www.dubernet.com

ZA du Castellas • 35 rue de la Combe du Meunier 11100 MONTREDON-CORBIERES • +33 (0)4 68 90 92 00 • labo.dubernet@dubernet.com

Rhône Sud • 2260 rte du Grès 84100 ORANGE • +33 (0)4 88 60 04 00 • labo.orange@dubernet.com

Rhône Nord • 485 av. des Lots 26600 TAIN L'HERMITAGE • +33 (0)4 82 77 02 32 • labo.tain@dubernet.com