

Les levures *Brettanomyces* peuvent contaminer les vins en cours de fermentation et/ou pendant l'élevage.

Biofilm de *Brettanomyces*

# Une élimination rendue plus difficile

Le Service technique d'Inter Rhône mène un projet de recherche avec l'Institut universitaire de la vigne et du vin de Dijon afin de mieux comprendre le "mode de vie biofilm" des *Brettanomyces* et le lien avec la résistance aux agents de nettoyage.

**L**a levure du genre *Brettanomyces*, communément appelée "Brett" est le micro-organisme d'altération le plus retrouvé dans le vin. *Brett* peut contaminer les vins en cours de fermentations et/ou pendant l'élevage. Capable de survivre dans des conditions stressantes, notamment en formant un "biofilm", elle devient plus difficile à éliminer.

La capacité à former un biofilm est en effet une stratégie de résistance développée par certaines levures. Les biofilms sont définis comme une mince couche de micro-organismes adhérant à une surface. C'est

sans doute le mode de vie majoritaire des micro-organismes. De plus, la persistance des cellules en biofilm sur des surfaces est démontrée.

Les procédés de désinfection des chais de vinification sont au cœur de la gestion des contaminations microbiennes. Actuellement, le procédé le plus couramment utilisé pour nettoyer le matériel de cuverie consiste à appliquer un mélange de solutions chimiques diluées contenant des détergents alcalins et des solutions acides. Des alternatives écologiques et efficaces pour lutter contre toutes contaminations sont recherchées afin de réduire l'utilisation de produits chimiques dans la production du vin.

Dans ce contexte, nous avons comparé l'impact de deux méthodes de nettoyages sur des souches de *Brettanomyces* développées en biofilm.

Une première méthode, celle dite "de référence", utilise une solution de soude caustique moussante et de peroxyde à 5%. La deuxième méthode permet de tester une solution alternative à base d'acide lactique 5%. Pour réaliser cette étude, cinq souches de *Brettanomyces* d'origines différentes ont été utilisées. Pour chacune de ces souches, des biofilms âgés de quatorze jours ont été formés sur des coupons en acier inoxydable dans un milieu nutritif

adapté à la croissance de la levure. Les méthodes de désinfection ont ensuite pu être testées sur les biofilms formés.

## La méthode de référence, efficace mais pas sur toutes les souches

La technique de nettoyage utilisée en routine dans la cave expérimentale d'Inter Rhône consiste à appliquer une solution de soude caustique moussante et de peroxyde d'hydrogène à 5%. Les biofilms ont été traités avec cette solution pendant 15 minutes. Les populations sur le coupon ont ensuite été déterminées à la fin du processus de nettoyage par méthode de dénombrement classique sur milieu gélosé pour obtenir la population cultivable mais également par cytométrie en flux pour connaître la population viable. Aucune cellule n'a été dénombrée sur le coupon après le traitement pour trois souches, démontrant ainsi l'efficacité de la solution chimique sur ces souches. Cependant, pour les deux autres souches, des cellules restantes viables ont été détectées par cytométrie en flux, révélant l'entrée dans un état viable mais non cultivable (VBNC). L'état VBNC est une stratégie de réponse à un stress dans lequel les cellules conservent une activité métabolique mais ne peuvent pas se développer tant que le stress n'est pas levé.

## L'acide lactique, un produit prometteur

Une procédure alternative de nettoyage du matériel de chai dans une approche écologique a été testée. Les biofilms ont été traités par une solution d'acide lactique à 5 % pendant 15 minutes et les populations sur coupons en acier inoxydable ont été déterminées comme décrit précédemment. Les résultats montrent une réduction significative de la population de cellules cultivables sur les coupons d'acier après le traitement à l'acide lactique pour quatre souches sur cinq. Cependant, ce traitement ne permet pas une élimination totale des cellules.


Les résultats de l'enquête montrent une réduction significative de la population de cellules cultivables.

L'étude montre que toutes les souches testées, quelle que soit leur origine, sont capables de former des biofilms sur de l'acier inoxydable (environ  $10^6$  cellules/cm<sup>2</sup>) après 14 jours d'incubation en milieu de culture. Différents comportements souche-dépendants en fonction du traitement utilisé ont été mis en évidence. L'une des souches semble être plus tolérante à l'acide lactique quand deux autres souches sont plus tolérantes à la méthode chimique. En revanche, des levures en état VBNC font leur apparition suite à l'application de la solution soude - peroxyde. Cet état est extrêmement risqué pour la qualité



Les *Brettanomyces* sont capables de survivre dans des conditions stressantes, notamment en formant un biofilm.

du vin puisqu'à la disparition du stress, ces cellules pourront reprendre leur croissance et possiblement engendrer une altération. La solution d'acide lactique, dans les conditions testées, n'est pas suffisante pour

éradiquer *Brett*, mais elle représente une approche prometteuse bien que perfectible. De prochaines expérimentations seront mises en œuvre pour tester un temps de contact plus long et une concentration plus élevée. 

**AVEC**



**PRÉSERVEZ LE POTENTIEL DE VOTRE VIGNOBLE**



**PROTECTION NATURELLE CONTRE L'ESCA DE LA VIGNE**

> Action antifongique sur les bois

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
BARRIÈRE PROTECTRICE	LIMITATION DE LA SPORULATION	NEUTRALISATION DES TOXINES

> Application au plus proche de la taille à **30 KG/HA**

> Efficacité prouvée en laboratoire 

> Synthèse de 8 essais plein champ

Dép. 16, 33, 63

Nombre de pieds atteints (symptômes et apoplectiques)



**100% CHARBON ARGILEUX**

SUBSTANCE DE BASE SELON LE RÈGLEMENT (CE) 1107/2009

APPLICATION SANS CONTRAINTE DE TEMPÉRATURE ET SANS Z.N.T

INTÉRÊT ÉCONOMIQUE ATTEINT DÈS LES PREMIERS % D'EFFICACITÉ

Pour plus de renseignements, contactez-nous



Leader sur le marché des barrières minérales insectifuges

Tel : 05 53 04 59 42 - Fax : 05 53 54 39 03

[www.agrisynergie.com](http://www.agrisynergie.com)