

1- Généralité

Brettanomyces est une levure connue depuis bien longtemps, mais qui fait couler beaucoup d'encre depuis peu. Cette levure qui appartient à la famille des *Saccharomycetaceae* (comme *Saccharomyces*) existe dans les vins à travers l'espèce *bruxellensis*.

Ce micro-organisme est souvent présenté comme une « levure de contamination » ; ce terme laisse penser que sa présence est anormale et exceptionnelle dans les vins, ce qui est un peu abusif. En fait cette levure est présente dans tous les environnements fermentaires ou presque, vin compris.

Que sait-on de *Brettanomyces Bruxellensis* dans les vins?

- C'est une Levure naturellement présente sur le raisin mais en quantité faible (sauf cas des vendanges botrytisées).
- Elle est adaptée au milieu vin (bonne tolérance à l'alcool, à des pH faibles et peu exigeantes en nutriments).
- Elle est peu présente, voire absente dans de bonnes conditions de fermentation car les levures de fermentation et les bactéries se multiplient normalement plus rapidement..

MAIS

De par les caractéristiques de son métabolisme, au premier accident fermentaire, elle peut coloniser très rapidement le milieu et provoquer différentes altérations comme :

- ➡ La synthèse de phénols volatils (odeur d'écurie, cuir, gouache)
- ➡ La production d'Acidité volatile

La source première de contamination comme pour les autres microorganismes à l'origine de la transformation du vin est le plus souvent le matériel vinicole!

2- Facteurs et pratiques influençant le développement de *Brettanomyces* dans les vins

Le tableau ci-dessous liste des facteurs et pratiques les plus souvent cités dans les problématiques liées à *Brettanomyces* (il peut y en avoir d'autres)

Facteurs et pratiques favorables	Solutions pour limiter les risques
Macération pré fermentaire à froid	<ul style="list-style-type: none"> - Réserve à une vendange saine (moins polluée par <i>Brettanomyces</i> qu'une vendange botrytisée cf. §1) - Sulfitage adaptée à cette pratique > 5 g/hl ou bio-protection (levures non-saccharomyces ou saccharomyces) à dose adaptée - Maitrise de la température pendant la macération < 10°C
Ralentissement ou arrêt de fermentation alcoolique (FA)	<ul style="list-style-type: none"> - Connaître l'état de maturité de la vendanges (Minimum : TAV , AT, pH et azote assimilable) pour faire les corrections nécessaires au bon déroulement et à l'accomplissement de la FA. - Ensemencer avec une levure sélectionnée (LSA). - Faire le suivi de la courbe de densité pour détecter un éventuel ralentissement. - Contrôler analytiquement la fin de FA afin d'avoir une teneur en sucres résiduels < 1 g/L
Phase de latence trop importante entre la fin de FA et le Début de la Fermentation malolactique (FML)	<ul style="list-style-type: none"> - connaître l'équilibre du vin en fin de FA pour apporter les corrections nécessaires au déclenchement rapide de la FML (Niveau de SO₂, AT, pH teneur en acide malique) - Ensemencement en bactéries lactiques du commerce ⇒ voir note fiche Vinification sur la FML
Facteur environnementaux : pH > 3.5 Température d'élevage >15°C	<ul style="list-style-type: none"> - Correction d'acidité sur la vendange dans le respect de la législation - maîtrise des températures en élevage (en vinification c'est plus problématique car il faut des températures plutôt proche de 20°C pour que la FA et la FML se déroulent convenablement). - sauf pour dans le cas de vinification sans soufre la maîtrise d'un bon niveau de soufre
Élevage sous bois	<ul style="list-style-type: none"> - Nettoyage efficace des barriques (chimique, vapeur et ultrasons...) combiné avec un bon méchage. Détail dans paragraphe suivant. - Contrôle analytiques des populations de <i>Brettanomyces</i> au cours de l'élevage.
Vinification sans intrants	<p>l'absence de toute possibilité de correction sur la vendange et sur le vin rend cette pratique très risquée. Elle demandera une vigilance particulière, avec un suivi analytique (Snif Brett®, PCR ou culture sur milieu) et gustatif régulier afin de pouvoir intervenir le plus rapidement possible. C'est avant tout l'équilibre de la vendange qui offrira les meilleures chances de réussite (éviter la surmaturité)</p>

3- Moyens Préventifs de lutte contre Brettanomyces.

* Au vignoble d'abord!!!

En effet un déséquilibre d'alimentation minérale de la vigne et notamment l'excès de potassium conduit à une élévation du pH des moûts, puis des vins. ***Dans ce cas il faudra corriger au plus tôt l'acidité des moûts pour ensuite avoir une bonne efficacité du SO₂.***

A l'inverse une fertilisation insuffisante, une concurrence excessive (enherbement non maîtrisé) ou stress hydrique important, peut produire des raisins difficiles à fermenter (risques de fermentations lentes et incomplètes). ***Dans ce cas, il faudra faire les apports nécessaires pendant la phase fermentaire pour garantir une fermentation rapide et totale.***

* Le Sulfitage

Le dioxyde de soufre est un antiseptique puissant. Toutefois la levure *Brettanomyces* est relativement résistante à celui-ci.

Rappel : seul le SO₂ moléculaire actif (SO₂ actif) possède des propriétés antiseptiques et sa teneur dépend principalement de la teneur en SO₂ et du pH (-0.2 Unité pH = +50% de SO₂ actif), et dans une moindre mesure de la température et l'alcool. Il faut une teneur entre 0.7 et 0.8mg/L de SO₂ actif pour avoir une action létale si la température n'est pas trop basse également.

On voit donc bien que l'acidité du vin est un paramètre essentiel pour une bonne efficacité du SO₂ dans la lutte contre la contamination par Brettanomyces tout au long de l'élaboration des vins.

Egalement lors ***des élevages sous bois il faudra bien surveiller la teneur en SO₂, le ouillage.***

Compte tenu de tous ces éléments, il faut donc considérer le sulfitage comme un moyen de lutte préventive et non pas curatif.

* La Bioprotection

La bio-protection consiste à apporter un micro-organisme pour coloniser le milieu et limiter le développement de Brettanomyces pendant la phase pré-fermentaire

Un levurage dès l'encuvage pour les rouges soit avec des levures non saccharomyces, soit avec la souche de Saccharomyces choisie pour réaliser la fermentation. Le choix et la dose sera adapté en fonction de l'itinéraire de vinification.

Certaines souches de levures non-saccharomyces peuvent même être utilisées directement à la vigne. Celles-ci n'ont alors aucun pouvoir fermentaire (attention dans ce cas il faudra apporter ensuite des levures saccharomyces sélectionnées pour réaliser la fermentation alcoolique)

*** Hygiène et désinfection du matériel vinaire**

Le matériel de cave et les contenants (cuves , futs foudres...) sont une source importante de contamination par Brettanomyces dans la cave. C'est à partir de matériels mal nettoyés , qu'une contamination au départ très limitée peut se propager à l'ensemble du volume lors des mouvements de vins (transfert, filtration...). Le nettoyage et la désinfection du matériel sont donc des étapes importantes du contrôle , de ces germes et plus généralement de la flore de contamination.

Il est important de rappeler ici qu'une désinfection ne sera efficace qu'après un bon nettoyage. ON NE DESINFECTERA JAMAIS UNE SURFACE SOUILLEE !! (exemple : cuve entartée, dépôt de matière colorante....)

Vous trouverez ci-dessous des exemples de protocole d'hygiène (produit DIVERSEY) en fonction de la surface à traiter (non exhaustif). Le bois sera de loin la surface la plus délicate à traiter car il faut utiliser des techniques qui n'entraînent pas sa dégradation . Vous rapprocher du laboratoire pour toute question sur le sujet

Type de contenant	fréquence	Produit nécessaire	concentration	Température	Application et Temps de contact
Cuves (suivant support)	Après utilisation	Alcalin + Péroxyde (produit selon support : Breltak ou Divoflow 50, Divosan oméga HP)	À adapter suivant la quantité de souillure (exemple en fonction de l'épaisseur de tartre)	A Température ambiante	*A préparer au dernier moment *Utilisation en circuit fermé *entre 10 à 20 min
	Juste avant utilisation	Acide peracétique : MULTIPLY	1 %	A Température ambiante	*A préparer au dernier moment *20 min
Matériel de vinification (pressoir, tuyau, raccord, bennes...)	Avant , pendant et après utilisation	Alcalin + peroxyde : POWERFAOM+ BOOSTER	5 à 10 % dans eau froid + BOOSTER 2 % dans la solution POWERFAOM	A Température ambiante	
Contenant bois	Détartrage avant remplissage	Alcalin (soude poudre ou liquide) : Breltak ou softsafe	Tartre <2mm Softsafe 10 à 30 g/L Tartre >2mm Breltak 10 à 100 g/L	A Température ambiante	Circuit fermé 20 min (jusqu' 40 min tartre >2 mm)
	Désinfection après détartrage	Acide peracétique : DIVOSAN PLUS	1 à 2 %	A Température ambiante	30 min en circuit fermé

3- Moyens de lutte curatif.

* Les traitements physiques

Le traitement thermique du vin, encore appelé flash-pasteurisation, est une technique efficace pour la destruction de tous les types de microorganismes. Les conditions de traitement doivent être adaptées aux caractéristiques de résistance de chacun. Les caractéristiques de destruction thermique de *Brettanomyces* sont connues et dépendent des conditions du milieu. Le temps de réduction décimal (DT) est de 0,3 à 0,4 min à 55° quelque soit l'état physiologique de la cellule ; le facteur Z, qui permet de réduire le DT par 10, est de 5°C. Ces paramètres peuvent aussi être appliqués à la désinfection thermique des barriques. Une fois traité, le vin peut se contaminer à nouveau facilement. En outre, l'élévation de la température à haute température pendant quelques secondes suivit de son refroidissement doit être réalisé parfaitement à l'abri de l'air pour ne causer aucune oxydation préjudiciable. Ce procédé est intéressant pour bloquer un développement fulgurant sur des vins jeunes, éventuellement sucrés et difficiles à filtrer.

La filtration permet également d'élimination des micro-organismes. La qualité de son résultat dépend de la porosité du media filtrant qui doit être adapté aux microorganismes ciblés. Dans le cas de *Brettanomyces*, *a fortiori* si on s'adresse à des vins en fin d'élevage, les cellules sont de petite taille et imposent une filtration avec un seuil de coupure inférieur à 1 µm (et idéalement inférieur à 0,65 µm) si on veut garantir une élimination totale. La filtration est recommandée avant la mise en bouteille lorsque le vin présente un profil à risque ou qu'une population de *Brettanomyces* a été détectée lors du contrôle .

* Utilisation du Chitosane (utilisable en vin bio si produit pur)

Le chitosane est un polymère naturel de N-acétylglucosamine, dérivé de la chitine. La chitine se rencontre notamment dans les carapaces des crustacés, des céphalopodes et dans la paroi des champignons filamenteux. Le traitement de la chitine produit le chitosane. Seul le chitosane d'origine fongique, est autorisé en œnologie. Le mode d'action du chitosane demeure inconnu. On sait que ce polymère cationique se lie aux parois des levures *Brettanomyces*/*Dekkera* de manière relativement spécifique et provoque une altération de l'intégrité de la membrane ; sans que les levures *Saccharomyces* sp. ne soient pas affectée (contrairement aux bactéries lactiques) . Il est par conséquent utilisable en cours de fermentation alcoolique (dose 10 g/HL)

Attention Toutefois , le traitement n'est donc pas recommandé en FA pour les vins où la fermentation malolactique est souhaitée.

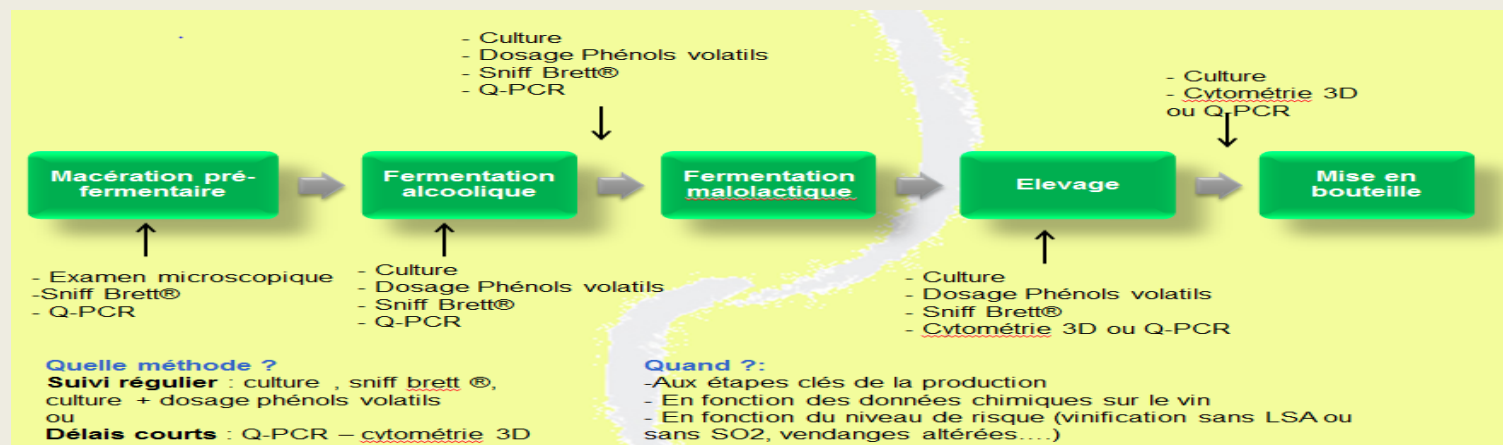
Au cours de l'élevage, le chitosane à la dose de 4 à 6 g/hl permet de détruire en quelques jours des populations importantes de *Brettanomyces* ; les cellules détruites ne peuvent plus former d'éthyl-phénols.

* Utilisation du diméthyl-dicarbonat (DMDC)

A part le dioxyde de soufre, le seul antiseptique chimique utilisable dans le vin est le diméthyl-dicarbonat. Ce produit (Velcorin™) s'hydrolyse rapidement dans le vin et ne présente donc un intérêt que pour la « stérilisation à froid » en remplaçant la filtration ou le traitement thermique avant l'embouteillage. L'un des produits d'hydrolyse, le méthanol, limite la dose maximum utilisable pour ne pas dépasser la concentration maximale autorisée dans les vins. Ce produit n'est utilisable que par un personnel formé, et uniquement sur des vins sucrés (>5 g/L)

4- Moyens de détection

Pour un bon suivi il faut choisir la bonne méthode d'analyse et le bon moment pour réaliser le prélèvement. Voir ci – dessous les suivis possibles (le détail des méthodes et leurs spécificités sont donnés dans le tableau page 8)



technique	Niveau de détection	Type détecté	Avantage	inconvenients
Observation microscopique directe	Mauvais (seuil de détection 10^5 cellules/ml)	Cellules viables et mortes	-Rapide -Coût faible - facile à mettre en œuvre	- Pas de distinction cellules mortes/vivantes -Seuil de détection élevé et manque de précision
Culture sur milieu spécifique	Très bon 1UFC/ml	Cellules viables pas de différenciation stricte de Brettanomyces	-Sensible -Coût faible	-Mains d'œuvre qualifiée -Délai long -Ne quantifie pas le VNC et pas de différenciation stricte de Brettanomyces
Test SNIFF BRETT®	1/20 ml (annoncé)	Phénols volatils + trouble	-Facile à mettre en œuvre. -Coût faible - Spécificité : avec la production phénols volatils	-Délai long -Besoin d'être sensible (phénols volatils) pour apprécier le niveau de contamination -moyennement sensible
PCR quantitative	Très bon 5 UFC/ml	Cellules viables, VNC et mortes	-Sensibilité détection des cellules Viables et VNC -Spécificité -Rapidité	-Mains d'œuvre qualifiée -Coût élevé
Cytométrie de flux	100 à 200 cellules /ml	cellules viables et VNC	-Détection des Cellules viables et VNC -Rapidité -Coût moyen et niveau de qualification moyen	-Niveau de qualification moyen - Spécificité variable suivant la sonde - Sensibilité moyenne