



Gros plan sur le kit Bretta : une méthode de détection spécifique des levures *Brettanomyces* par immunofluorescence

Par Vincent GENTY - Amarok Biotechnologies

Tél. : +33 (0)2 99 81 08 09 - contact@amarokbiotech.com

http://amarokbiotech.com

Par Gilles MARTIN - Vect'Oeur

Tél. : +33 (0)3 80 26 34 80 - vectoeur@vectoeur.fr

http://vectoeur.com

Les *Brettanomyces* sont des levures d'altération du vin et du cidre, apportées initialement par les fruits et les moûts. Elles sont à l'origine de mauvais goûts et d'altération des arômes de ces boissons, mais également utilisées comme auxiliaires de fermentation par les brasseurs. Très bien adaptées aux conditions de fermentation, elles peuvent survivre et se multiplier dans un milieu carencé, acide, alcoolisé et sulfité. Les *Brettanomyces* peuvent donc être présentes du fruit à la mise en bouteille.

De la nécessité de détecter les *Brettanomyces* le plus tôt possible...

Les déviations organoleptiques occasionnées par les *Brettanomyces* proviennent de la transformation des acides phénoliques en vinylphénol, vinyl-gaiacol et vinyl-catéchol puis en phénols volatils : éthyl-phénol, éthyl-gaiacol et éthyl-catéchol. Ces trois molécules donnent un caractère phénolé, ou « Bretté », dont le seuil de perception varie avec le type de molécule et la structure aromatique du produit initial.

Les phénols volatils ne se retrouvent pas directement en sortie de pressoir ; en revanche, les acides phénoliques présents dans les fruits et ceux produits par les moisissures et les bactéries sur les fruits altérés, vont servir de précurseurs à la production de ces composés. Les levures de fermentation et les *Brettanomyces* vont transformer

ces acides en vinyl-phénols. Seules les *Brettanomyces* sont capables de transformer ces vinyl-phénols en éthyl-phénols, porteurs des altérations les plus importantes.

L'idéal est donc de détecter les *Brettanomyces* le plus tôt possible afin d'éviter leur développement et la synthèse de ces molécules qui ne pourront être éliminées par la suite. Seul un suivi régulier en cours de production permet d'obtenir une vue d'ensemble de l'évolution d'une fermentation et garantir la qualité organoleptique finale du produit. Jusque-là, ce suivi était difficile à mettre en œuvre car les techniques de détection rapide disponibles manquaient de spécificité ou donnaient une réponse incomplète aux deux questions essentielles : y a-t-il présence de *Brettanomyces* et, si oui, sont-elles vivantes ou mortes ? Pour le savoir avec certitude, les sociétés Amarok Biotechnologies et Vect'Oeur ont mis au point une méthode de détection spécifique de ces levures par immuno-cytométrie, le Bretta Test, qui est maintenant commercialisé par la société Vect'Oeur spécialisée dans le secteur de l'œnologie

Les avantages de Bretta Test sur les techniques actuelles

Bretta Test est une méthode de détection spécifique des *Brettanomyces* par immunofluorescence. Elle utilise un anticorps, développé par Amarok Biotechnologies, produit à partir de



Brettanomyces d'origines géographiques différentes et couplé avec un marqueur de viabilité. C'est ainsi la première méthode permettant de détecter dans le même temps les *Brettanomyces* et les *non-Brettanomyces*, et de déterminer la viabilité de ces levures. En moins de deux heures, Bretta Test permet de caractériser les levures vivantes et mortes dans l'échantillon. Couplé à la cytométrie, l'analyse d'une population cellulaire importante en un laps de temps réduit augmente l'efficacité d'identification des contaminants et permet de limiter les erreurs d'interprétation.

Comparons les autres techniques aujourd'hui disponibles au Bretta Test :

→ **La culture microbiologique**, technique historique utilisant des milieux de culture gélosés spécifiques, nécessite un temps moyen de cinq à sept jours pour l'obtention d'un résultat confirmé. Les levures viables non cultivables sont par ailleurs perdues. Avec Bretta Test, moins de deux heures suffisent pour caractériser l'ensemble des levures vivantes et mortes.

→ **La microscopie**, autrement dit la visualisation des micro-organismes grâce à l'aspect des cellules, est

« utilisateur dépendante » et seul un faible nombre de cellules peut être identifié. A l'inverse, Bretta Test, couplé à la cytométrie, permet de dénombrer plusieurs milliers de cellules en quelques secondes et donc d'identifier de petites populations. Couplée à la microscopie, il apporte la spécificité de détection.

→ **Les méthodes d'identification génétique**, intégrant notamment la technologie PCR, sont les plus spécifiques. Elles nécessitent cependant des laboratoires organisés en marche en avant (l'extraction n'est pas réalisée au même endroit que l'amplification) et ne font pas la distinction entre les vivantes et les mortes. C'est également la technique la plus coûteuse. En comparaison, Bretta test est une méthode spécifique, à un prix abordable, permettant d'identifier les levures les plus dangereuses pour votre production : les *Brettanomyces* vivantes.

→ **Les méthodes d'analyses** n'utilisant que les colorants physiologiques, et en particulier la cytométrie avec colorant de viabilité seul, permettent de suivre les évolutions d'une production mais sans apporter de spécificité à ce qui est observé. Bretta test vous donne l'information de viabilité en plus d'une identification spécifique.



Contact :
Odemi SAS
6 Rue Brunner
77166 Grisy
Tél : 09 62 56 06 27
Fax : 01 60 02 58 45
Mail : odemi@orange.fr
Web : www.evoqua.com/en/life-sciences/lab-water/products-row/Pages/default.aspx

RETROUVEZ NOUS A FORUM LABO 2015 DU 31 MARS AU 2 AVRIL 2015 STAND F 4



- Odemi, représentant exclusif en France de la marque SIEMENS WATER avec :
 - La gamme **UltraClear RO** destinée aux applications du laboratoire, pour des besoins pouvant aller de quelques litres à 350 l/h, d'eau pure et ultra pure.
 - En exclusivité les gammes **LaboSTAR** pour des besoins faibles en quantité. Petits par la taille mais une qualité XXL.
 - La gamme **UltraClear**, dédiée aux laboratoires possédant de l'eau déjà purifiée et exigeant une qualité LA PLUS PURE.
 - La gamme **Protegra** pour les installations centralisées à haut débit de l'industrie et de l'hôpital.
- Odemi c'est aussi du service...
 - une **EQUIPE EXPERIMENTEE** de spécialistes de l'eau pure et ultra pure.
 - une identification de vos besoins.
 - des solutions techniques et économiques
 - un **SERVICE DE DEMINERALISATION**, régénérations des résines quelque soit le contenant
 - colonnes résistantes à tous les environnements
 - logistique personnalisée.
 - un **SERVICE DE MAINTENANCE**, interventions préventives / curatives
 - contrats d'entretiens
 - contrôles qualité

Eau Pure et Ultra pure pour labos et industries.
Distributeur exclusif **SIEMENS**

Installée à la pépinière d'entreprises le Cap de Saint Malo, Amarok Biotechnologies est à la fois un laboratoire d'essai et un laboratoire de recherche privé. La société travaille pour des industriels qui ont besoin de valider leurs produits ou leurs méthodes, pour l'essentiel dans le domaine médical, mais aussi pour le secteur agroalimentaire, la biologie des plantes...

Lancé il y a quelques mois, le kit Bretta Test a déjà été lauréat du concours Sival innovation 2015 dans le cadre du salon international SIVAL, organisé à Angers en janvier dernier. L'entreprise vient par ailleurs d'obtenir 100 000 € auprès de Logoden participation, une association de Business Angels d'Ille-et-Vilaine. Le Crédit Mutuel de Bretagne (CMB Arkéa) est aussi partie prenante dans le projet en apportant une participation bancaire équivalente de 100 000 €. Cette opération est principalement destinée à financer d'industrialisation du Bretta Test. La start-up compte quatre salariés et espère à terme étendre la surface de ses installations en emménageant dans les bâtiments Odysée de la zone Atalante de Saint-Malo.