

La gestion de la microbiologie des vins est un des aspects majeurs de la recherche constante de la qualité. La rapidité des diagnostics microbiologiques est une clé pour éviter de futurs problèmes organoleptiques.

Dénombrer les micro-organismes par cytométrie en flux

Le marché du vin impose aujourd'hui de fortes exigences en matière de qualité et de rapidité. Conscient de cet enjeu, Inter Rhône a choisi de s'équiper d'un cytomètre en flux afin de pouvoir aider les œnologues et les vignerons à mieux maîtriser le devenir de leurs produits. La cytométrie en flux est une technologie rapide d'analyse, largement répandue dans les milieux pharmaceutiques et alimentaires. Inter Rhône a fait le choix audacieux de s'associer avec un spécialiste de cette discipline, MÊTiS Biotechnologies. Ce choix a permis de s'équiper, grâce à l'aide de la région Provence Alpes Côte d'Azur et de FranceAgriMer, d'un appareil performant capable de dénombrer et caractériser en quelques heures des levures mais également des bactéries.

Un cytomètre en flux est constitué de plusieurs composantes : fluïdique, optique, électronique et informatique. Les cellules microbiennes sont entraînées par un flux laminaire et sont séparées les unes des autres avant de passer devant un laser. La

lumière est alors diffractée dans plusieurs directions, ce qui permet de qualifier plusieurs paramètres simultanément. La lumière diffractée dans l'axe du laser permet d'obtenir des informations sur la taille de la cellule, alors que la lumière diffractée à 90° permet d'obtenir des informations sur la granularité de la cellule et sur sa fluorescence (**Erreur! Source du renvoi introuvable.**). En effet, des marqueurs fluorescents sont utilisés afin d'obtenir des informations sur l'état métabolique et physiologique de la cellule. Ces signaux lumineux sont ensuite récupérés par des détecteurs qui vont convertir le signal lumineux en signal électronique qui sera analysé informatiquement.

NOMBREUX DÉVELOPPEMENTS EN COURS

La première année d'expérimentation a porté sur l'étude des levures. Il a été possible d'analyser une grande variété de matrices, ce qui a conforté l'adéquation de cette méthode d'analyse avec les vins de

la Vallée du Rhône. Au-delà du dénombrement, la fluorescence des cellules grâce aux marqueurs ajoutés renseigne sur leur état de viabilité. De façon très schématique, plus l'intensité du signal fluorescent est forte, plus la levure est viable. Cette information, bien que complexe à exploiter, est précieuse. L'objectif est d'utiliser ce résultat pour analyser des moûts en fermentation et "surveiller" les levures : en détectant de façon précoce une variation de viabilité, il est possible d'envisager de prédire le déroulement d'une fermentation. Concrètement, une levure en perte de viabilité subit un stress et cela se traduira par un ralentissement voire un arrêt de fermentation. Avec cette analyse, le vigneron garde une longueur d'avance sur ces éventuels problèmes.

D'autres développements sont en cours, comme l'analyse des bactéries. Bien plus petits que les levures, ces micro-organismes sont plus difficiles à détecter. Les premiers résultats sont encourageants et des travaux supplémentaires sont menés afin de pouvoir proposer prochainement un dénombrement des bactéries en quelques heures. Enfin, la dernière thématique est le dénombrement spécifique des levures du genre *Brettanomyces*. Une technique rapide (24-48 h), la PCR quantitative, est déjà disponible depuis plusieurs années, mais la cytométrie apporte une automatisation qui permettrait de proposer une analyse tout aussi rapide mais à moindre coût.

Le développement de la cytométrie en flux en microbiologie est une évolution importante, car elle augmente la rapidité des analyses tout en offrant un prix compétitif. Ceci permet donc plus d'anticipation et de réactivité, pour une meilleure maîtrise de la stabilité des vins.

Laurent Massini & Virginie Serpaggi
(Microbiologistes à Inter Rhône)

Schématisme de l'analyse des particules par cytométrie en flux

