

► **Les facteurs favorisant son développement :**

- la présence de sucres résiduels (plus il y a de sucres résiduels, plus la production de phénols volatils sera importante) ;
- une faible couverture en  $\text{SO}_2$  libre ;
- une température supérieure à 12-13°C ;
- les pH élevés ;
- les degrés faibles ;
- la présence d'oxygène.

**L**es *Brettanomyces*, ou *Brett* pour les intimes, sont à l'origine de déviations organoleptiques fréquentes dans tous les vignobles du monde, caractérisées par des notes d'écuries, de sueur de cheval, de gouache... parfois (souvent) assimilées au « terroir ». Ce caractère dit « phénolé » est en réalité lié à des composés appelés phénols volatils, produits par ces levures d'altération. C'est au cours de l'élevage que l'apparition de ce caractère est le plus fréquent. Une meilleure compréhension de la physiologie de ces microorganismes doit permettre de lutter contre leur développement et donc contre la production de phénols volatils au cours de la vie du vin.

## 1 UN POINT SUR LA VIE DES BRETT

*Brettanomyces bruxellensis* est une espèce de levures présente naturellement sur la pruine du raisin et d'une grande diversité génétique. Ces levures sont robustes, résistantes au degré alcoolique élevé, au  $\text{SO}_2$  (parfois même à des niveaux élevés de  $\text{SO}_2$  actif seul efficace contre ces levures). Elles sont également peu exigeantes sur le plan nutritif : quelques mg/l de sucres résiduels peuvent suffire à leur développement. Leur rythme de croissance peut être très lent dans un milieu peu favorable.

Lorsqu'elle se trouve dans des conditions favorables, cette population va croître et former à partir de certains composés phénoliques du vin (plus précisément l'acide p-coumarique et l'acide férulique) des phénols volatils. Son développement peut également engendrer la production d'acide acétique et un dégagement de  $\text{CO}_2$ . L'éthyl-4-phénol et l'éthyl-4-gaïacol sont les deux principaux phénols volatils formés. Leurs seuils de perception sont respectivement de l'ordre de 400 µg/l et 80 µg/l. A des concentrations inférieures à ces seuils, ces composés peuvent tout de même entraîner une perte de qualité en masquant le fruit.

## 2 MIEUX VAUT PRÉVENIR QUE GUÉRIR

Pour empêcher ou limiter la multiplication des populations, il faut dans un premier temps, lutter contre les sources potentielles de contamination (c'est le rôle de l'hygiène) et dans un second temps, éviter les facteurs propices à la croissance.

### • HYGIÈNE

Une hygiène rigoureuse en cave doit permettre d'éliminer la majeure partie des levures présentes dans la cave. Le détartrage et la désinfection sont essentiels pour tout le matériel de cave. L'hygiène des fûts est un point critique : les *Brettanomyces* se développent très facilement dans le bois, et particulièrement le bois neuf, car elles y trouvent une source d'alimentation : la cellobiose. De plus, l'oxygénation étant meilleure dans les fûts neufs, ce milieu est donc plus favorable à la croissance levurienne.

Les fûts usagés, s'ils sont mal entretenus, peuvent être une source de contamination : les *Brettanomyces* s'incrustent profondément dans le bois (jusqu'à 1cm). Le nettoyage à la vapeur reste le traitement le plus efficace pour éliminer les microorganismes en profondeur. Pour plus de précision sur le nettoyage de la fûtaille, se référer à la fiche OE 03.

### • MOYENS DE PRÉVENTION

Ils sont à mettre en relation avec les conditions favorables au développement des *Brettanomyces*. Des actions peuvent être mises en oeuvre tout au long de la vie du vin pour éviter sa contamination.

### 1 Vinification

• L'utilisation des levures sèches actives participera à limiter l'implantation des populations indigènes (dont fait partie *Brettanomyces*) et assurer un bon déroulement de la fermentation alcoolique (éviter la présence de sucres résiduels favorables à *Brettanomyces*).

• Les macérations préfermentaires à froid favorisent leur développement. Attention donc aux conditions dans lesquelles vous les réalisez (température,  $\text{SO}_2$ ,...). Cette opération est à éviter dans les caves où la pression *Brettanomyces* est forte.

• Le temps de latence entre fermentation alcoolique et fermentation malolactique doit être limité (absence de protection en  $\text{SO}_2$ ).

### 2 Elevage

• Contrôler régulièrement le niveau de  $\text{SO}_2$  libre de tous les contenants et réaliser les ajustements nécessaires. Un niveau de  $\text{SO}_2$  actif de l'ordre de 0,4 à 0,6 mg/l est nécessaire pour limiter la croissance même si certaines souches sont plus sensibles que d'autres au  $\text{SO}_2$ . Il faut être particulièrement vigilant dès que les températures montent.

• Contrôle analytique et gustatif mensuel : permet de contrôler la couverture en  $\text{SO}_2$ , la teneur en  $\text{CO}_2$  (une évolution à la hausse peut être le signe d'un développement de *Brettanomyces*), la conformité gustative de chaque lot.

• Effectuer des soutirages réguliers : les levures se trouvent principalement dans les lies et en fond de cuve, le soutirage permet donc de diminuer la charge microbienne. Attention aux apports d'oxygène : ils doivent être limités car ils favorisent le développement de *Brettanomyces*.

• Coller les vins est également un moyen d'éliminer une partie de la population de *Brettanomyces*.

• En complément de ces mesures prophylactiques « de bon sens » nous disposons d'un nouvel outil de prévention : le chitosane. Il peut être utilisé sur des lots à risque (historique de la cave, élevage en barriques) à une dose de 4 à 10 g/hL. Dans cet usage préventif, mieux vaut laisser le vin en contact du chitosane (le traitement a une durée maximale d'efficacité d'environ 6 mois).

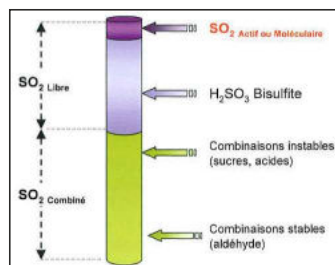
### 3 Mise en bouteilles

• Pour les vins à risque (présence de sucres résiduels, pH élevé,...), des traitements préventifs sont à envisager : microfiltration tangentielle ou flash pasteurisation.

• Réaliser une filtration soignée. C'est un moyen mécanique de retenir les levures pour ne pas les retrouver dans la bouteille.

• Bien ajuster le  $\text{SO}_2$  libre, tout particulièrement sur les vins édulcorés ou à sucres résiduels. Les levures peuvent se développer facilement en bouteilles dès que des facteurs favorables apparaissent.

• Éviter de stocker les vins embouteillés à des températures supérieures à 16°C et pendant des durées trop longues (combinaison progressive du  $\text{SO}_2$  libre).



Le  $\text{SO}_2$  actif est calculé en fonction de la teneur en  $\text{SO}_2$  libre, du pH et du TAV : la part de  $\text{SO}_2$  actif diminue lorsque le pH augmente. Selon le pH, la valeur de  $\text{SO}_2$  libre nécessaire varie donc de 30 à 50 mg/l.

### 3 DÉCELER UNE CONTAMINATION

Pour vérifier une suspicion de contamination, il existe différents moyens d'analyses microbiologiques afin d'évaluer les populations de *Brettanomyces* présentes :

| Technique                                     | spécificité Brett | mise en évidence                                                 | sensibilité | rapidité | coût   |
|-----------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------|-------------|----------|--------|
| Epifluorescence                               | +/-               | vivantes                                                         | --          | +++      | modéré |
| culture Boîte de Pétri (méthode de référence) | +                 | vivantes                                                         | +++         | -        | faible |
| Cytométrie de flux                            | ++                | vivantes<br>+ viables non cultivables<br>+ mortes indépendamment | -           | ++       | faible |
| PCR quantitative                              | ++                | vivantes<br>+ viables non cultivables<br>+ mortes confondues     | +           | ++       | élevé  |

Ces outils analytiques se sont démocratisés et le coût de ces analyses est désormais très abordable. Un suivi régulier peut être mis en place dans une démarche prophylactique. N'hésitez pas à en discuter avec votre œnologue.

NB : Quelle que soit la méthode d'analyse retenue pour déceler une éventuelle contamination, nous insistons sur l'importance de la qualité du prélèvement : de préférence dans le tiers bas de la cuve, robinet ou vanne bien purgés.

Le dosage des phénols volatils peut également mettre en évidence une contamination active de *Brettanomyces* lorsqu'il révèle une augmentation de la teneur en ces composés (cas de suivi analytique spécifique).

Il faut distinguer la contamination active en *Brettanomyces* et la présence de phénols volatils : lorsque l'analyse microbiologique ne révèle pas de *Brettanomyces* actifs malgré des teneurs en phénols volatils significatifs (perceptibles à la dégustation) cela indique une activité passée de *Brettanomyces*. La population n'est plus viable lors de l'analyse microbiologique mais son activité passée a produit les phénols volatils responsables de l'altération gustative perçue.

### 4 COMMENT TRAITER

#### • Les *Brettanomyces* actifs :

Un vin contaminé (présence d'une population active) doit dans un premier temps être débarrassé de ses *Brettanomyces*. Plusieurs options sont alors possibles :

- sulfitage massif et collage
- microfiltration tangentielle (autorisé en Bio)
- flashpasteurisation (interdit en Bio)
- traitement au chitosan (autorisé en Bio), prévoir une dose de 10 g/hL en usage curatif.

Le chitosan est une solution particulièrement adaptée aux petits volumes pour lesquels les traitements physiques restent onéreux.

#### • La perception phénolée :

Le vin stabilisé (débarrassé des *Brettanomyces* actifs) peut ensuite être intégré, plus ou moins facilement, à un assemblage plus large, selon l'intensité du défaut.

Un nouveau procédé membranaire comportant une filtration et un passage sur résine d'adsorption spécifique des phénols volatils est autorisée depuis 2017.

Il permet d'abaisser la concentration en phénols volatils et est aujourd'hui proposé par quelques prestataires locaux (Cf. Prestafiche 05 - filtration). **Ce traitement est interdit en bio.**

#### ► Focus sur les 3 états de *Brettanomyces*

##### Les microorganismes dans tous leurs états

Les microorganismes ont développé des réponses physiologiques pour s'adapter aux conditions du milieu dans lequel ils évoluent. Les modifications de ce milieu (fluctuation de la température, du pH, de la teneur en alcool) peuvent engendrer un stress conduisant à la mort cellulaire. Il existe un troisième état entre vivant et mort : l'état viable non cultivable ou VNC. Ce ne sont pas des levures zombie, cela s'apparente à une forme de dormance. Ces microorganismes attendent des conditions plus favorables pour « ressusciter » et repasser à l'état « vivant ». Ces trois états, différenciés par la cytométrie de flux sont détaillés ci-dessous :

|                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| cellule vitale                       | Cellule active métaboliquement c'est à dire qu'on peut détecter son activité enzymatique. Elle est cultivable sur boîte de Pétri. Les microorganismes vivants se développent, consomment certains éléments et en produisent d'autres.                                                                                                      |
| cellule viable non cultivable ou VNC | Cellule en dormance car le milieu n'est pas favorable à son développement. Elle n'est pas cultivable sur boîte de Pétri. Elle n'a pas d'incidence sur son milieu. Par exemple, une <i>Brettanomyces</i> dans cet état ne produit pas de phénols volatils. Le SO <sub>2</sub> est connu pour faire entrer <i>Brettanomyces</i> en état VNC. |
| cellule morte                        | Il y a d'abord un arrêt du métabolisme puis une destruction de la cellule. Elle ne peut pas être cultivée mais est détectable par cytométrie.                                                                                                                                                                                              |