

RÉSOLUTION OIV/OENO 329/2009

CODEx- LEVURES SECHES ACTIVES - modification

L'ASSEMBLEE GENERALE,

vu l'Article 2, paragraphe 2 iii de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin,

SUR PROPOSITION du groupe d'experts « Microbiologie » et la Sous-commission « Méthodes d'analyse »,

DECIDE de remplacer dans le Codex œnologique international la monographie existante (Oeno 16/2003) par la monographie suivante dans ledit Codex et d'adapter en conséquence la résolution (17/2003)

LEVURES SECHES ACTIVES (L.S.A.) *Saccharomyces spp.*

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les levures sont utilisées pour l'ensemencement des moûts ou des vins. Elles se présentent sous forme déshydratée.

Le taux d'ensemencement est laissé à l'appréciation de l'utilisateur.

Les levures utilisées doivent avoir été isolées des raisins, des moûts ou des vins ou le résultat d'hybridation, ou dérivées de ces mêmes levures. L'utilisation de levures œnologiques génétiquement modifiées doit être soumise à l'autorisation préalable des autorités compétentes. Les levures œnologiques doivent être conservées dans les conditions qui favorisent leur stabilité génétique.

2. ETIQUETAGE

Doivent figurer sur l'étiquette:

- Le nom du genre, la ou les espèces ainsi que la ou les références des souche dans le cas où il existe un organisme d'enregistrement
- Entité de l'obteneur ou du sélectionneur
- Le mode d'emploi ou la méthode et le milieu de réactivation préconisé par le fabricant.

- Le nombre minimum de cellules revivifiables par gramme (UFC déterminé selon l'annexe) de poudre qui est garanti par le fabricant, à une température de conservation en dessous de 15°C
- Le numéro de lot de fabrication, la date d'expiration et les conditions de stockage
- Le cas échéant, l'indication que les levures ont été obtenues par modifications génétiques ainsi que le ou les caractères modifiés.
- Les additifs, y compris les substances utilisées lors des opérations de séchage

3. CARACTÈRES

Elles sont présentées **typiquement** sous forme de granules ronds ou vermiculés obtenus par séchage d'une culture concentrée de levures.

4. LIMITES ET METHODES D'ESSAIS

4.1. Humidité

Mesurée par la perte de poids de 5 g de produit, séché à 105 °C jusqu'à poids constant (environ 3 heures).

La teneur maximale doit être inférieure à 8 %.

4.2. Plomb

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international

La teneur doit être inférieure à 2 mg/kg de matière sèche.

4.3. Mercure

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international

La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.4. Arsenic

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international

La teneur doit être inférieure 3 mg/kg de matière sèche.

4.5. Cadmium

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.6. Levures revivifiables

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Le nombre doit être supérieur ou égale à 10^{10} UFC/g.

NB : Ce dénombrement ne s'applique pas quand les levures commercialisées ne sont pas des *Saccharomyces spp.* ou bien sont des mélanges de *Saccharomyces spp.* et *non Saccharomyces*.

4.7. Levures d'une espèce différente de celle de la souche indiquée sur l'étiquetage

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international

Le nombre doit être inférieur à 10^5 UFC/g.

4.8. Moisissures

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Le nombre doit être inférieur à 10^3 UFC/g.

4.9. Bactéries lactiques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Le nombre doit être inférieur à 10^5 UFC/g.

4.10. Bactéries acétiques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Le nombre doit être inférieur à 10^4 UFC/g.

4.11. Salmonelles

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 25 g.

4.12. Escherichia coli

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international en utilisant le milieu sélectif-différentiel pour *Escherichia coli*. TEM figurant en annexe

Une suspension mère de levures sèches actives est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de levures sèches actives pour 10 ml de solution (volume total). 2 mL de la solution mère sont transférés dans chaque plaque en utilisant 5 plaques différentes.

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g.

4.13. Staphylocoques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international. La présence de staphylocoques est évaluée par une culture d'enrichissement sur milieu liquide Giolitti et Cantoni suivi d'une confirmation sur milieu solide Baird Parker figurant en annexe

Une suspension mère de levures sèches actives est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de levures sèches actives pour 10 ml de solution (volume total). 10 ml de suspension mère sont utilisés pour inoculer un milieu Giolitti et Cantoni au Tween 80 double concentration. Les cultures sont incubées 48 h à 37 °C.

Dans le cas où des tubes de milieu Giolitti et Cantoni donnent une réponse positive, la présence de Staphylocoques est confirmée par isolement sur milieu solide Baird Parker. Une anse des milieux de culture positif sont utilisée pour inoculer des milieux solides BP de sorte à obtenir des colonies isolées.

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g.

4.14. Coliformes

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international en utilisant le milieu sélectif-différentiel pour coliformes. gélose au désoxycholate figurant en annexe.

Une suspension mère de levures sèches actives est réalisée dans une solution

Tryptone-sel à raison de 1 g de levures sèches actives pour 10 ml de solution (volume total). 2 mL de la solution mère sont transférés dans chaque plaque en utilisant 5 plaques différentes.

Le nombre doit être inférieur à 10^2 UFC/g. ^[1]

5. ADDITIFS

Ils doivent être conformes aux réglementations en vigueur.

6. CONSERVATION

Conserver à des températures inférieures à 15°C dans les paquets non ouverts.

Dans tous les cas, se référer aux prescriptions du fabricant.

Méthodes d'analyse microbiologiques (AMENDEMENT DE LA RESOLUTION 17/2003)

(à faire figurer au chapitre II du Codex œnologique international)

A : point 1

1. Réhydratation préalable des levures sèches actives (LSA)

- Peser 1 g de LSA en conditions d'asepsie;
- Ajouter stérilement 100 ml d'une solution de saccharose à 5% dans l'eau entre 30-40°C selon les indications du fabricant;
- Homogénéiser doucement à l'aide d'un barreau ou d'un agitateur magnétique pendant 5 mn;
- Arrêter l'agitation et laisser reposer pendant 20 minutes, à une température de 25-30 °C;
- Homogénéiser de nouveau à température ambiante pendant 5 mn;
- Prélever stérilement 10 ml et procéder ensuite aux contrôles microbiologiques sur la solution mère homogénéisée.

B : Dans les paragraphes « Milieu... », remplacer « Agar agar bactériologique » par

« Agar bactériologique »

C : Ajouter les paragraphes suivants :

7.2 Pour la recherche d'Acetobacter

Milieu Acb/s agar

Composition

Extrait de levure : 30 g

Vert de bromocrésol (sol. 2,2%) : 1 ml

Agar bactériologique : 2%

Eau : q.s.p. 1000 ml

Stérilisation à 120 °C pendant 20 mn

Ajouter 20ml d'alcool 95% vol.

Ajouter directement dans la boîte de Pétri 0,1 ml d'une solution de pénicilline à 0,25% dans l'alcool pur

Ajouter directement dans la boîte de Pétri 0,2 ml d'une solution hydroalcoolique de pimarinine à 25% m/v

Incuber en aérobie à 25 °C pendant 7 jours

7.3 - Pour la recherche de *Gluconobacter*

Milieu Gcb/s agar

Composition

autolysat de levure : 10 g

glucose : 3 g

CaCO₃ : 3 g

agar bactériologique : 2%

eau : q.s.p. 1000 ml

Stérilisation à 120 °C pendant 20 mn

Ajouter directement dans la boîte de Pétri 0,1 ml d'une solution de pénicilline à 0,25% dans l'alcool pur

Ajouter directement dans la boîte de Pétri 0,2 ml d'une solution hydroalcoolique de pimarinine à 25% m/v (le CaCO₃ facilite la reconnaissance des colonies de *Gluconobacter* qui le dissout en produisant une zone circulaire plus claire autour de la colonie)

Incuber en aérobie à 25 °C pendant 7 jours

ANNEXE 1

EXAMEN DES MÉTHODES DE RECHERCHE DES COLIFORMES,

Escherichia coli* et *Staphillococcus

MILIEU SÉLECTIF-DIFFÉRENTIEL POUR COLIFORMES. GÉLOSE AU DÉSOXYCHOLATE

Ingrédients/l

Peptone : 10,0 g

Lactose : 10,0 g

Désoxycholate de sodium 1,0 g : (Inhibition de la flore associée aux coliformes)

Chlorure de sodium : 5,0 g



Phosphate dipotassique : 2,0 g

Citrate ferrique d'ammonium : 1,0 g

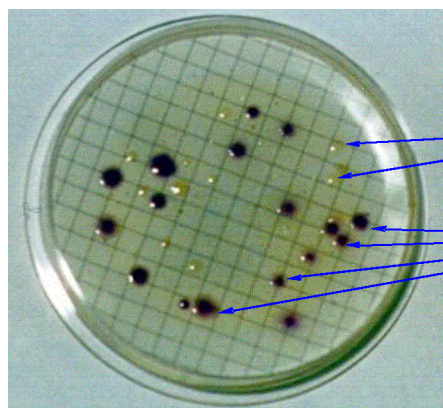
Citrate de sodium : 1,0 g

Gélose : 15,0 g

Rouge neutre : 0,03 g

MILIEU SÉLECTIF-DIFFÉRENTIEL POUR *Escherichia coli*. TEM

Le lauryl sulfate de sodium et le désoxycholate de sodium sont utilisés comme facteurs sélectifs, en raison de leurs capacités à inhiber le développement de cocci Gram + et bactéries sporulées. Le caractère différentiel de cette méthode résulte du chromogène 5-brome-6-chlore-indolyle- β -D-glucuronide.



Autres coliformes

Jaune

Escherichia coli

Magenta

MILIEU SÉLECTIF-DIFFÉRENTIEL POUR *Staphylococcus*

Milieu Giolitti et Cantoni

Composition (g) pour 1 litre de milieu :

Tryptone : 10,0.

Extrait de viande : 5,0.

Extrait autolytique de levure : 5,0.

Glycine : 1,2.

Mannitol : 20,0.

Pyruvate de sodium : 3,0.

Chlorure de sodium : 5,0.

Chlorure de lithium : 5,0.

Tween 80 : 1,0.

pH du milieu: 6,9 ± 0,2.

Milieu solide Baird Parker

Composition (g/l)

Tryptone : 10,0.

Extrait de viande : 5,0.

Extrait autolytique de levure : 1,0.

Sodium pyruvate : 10,0.

Glycine : 12,0.

Lithium chlorure : 5,0.

Agar bactériologique : 20

Emulsion de jaune d'oeuf : 47 ml.

Tellurite de potassium à 3,5% : 3 ml.

Sulfaméthazine 0,05 g/l (s'il est nécessaire d'inhiber *Proteus*)

pH du milieu : $7,2 \pm 0,2$.

^[1] Voir annexe 1