RÉSOLUTION OIV/OENO 328/2009

BACTERIES LACTIQUES - 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 du groupe d'experts « spécification des produits œnologiques » ,

DECIDE de remplacer dans le Codex œnologique international, la monographie existante (Oeno 15/2003) par la monographie suivante et d'adapter en conséquence la résolution (17/2003):

BACTERIES LACTIQUES

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les bactéries lactiques sont utilisées en œnologie pour effectuer la fermentation malolactique. Elles doivent appartenir aux genres Oenococcus (*Leuconostoc), Lactobacillus et Pediococcus* et doivent avoir été isolées des raisins, des moûts ou des vins ou être dérivées de ces bactéries.

L'utilisation de bactéries génétiquement modifiées doit être soumise à l'autorisation préalable des autorités compétentes.

Les souches de bactéries lactiques doivent être conservées dans les conditions favorisant leur stabilité génétique.

Une bactérie lactique utilisable en œnologie doit donc transformer l'acide malique du moût ou du vin en acide lactique et en dioxyde de carbone, ne devrait produire des amines biogènes qu'en quantités les plus faibles possibles, et ne doit pas donner de faux goûts.

2. ETIQUETAGE

Doivent figurer sur l'étiquette:

- Le nom du genre, la ou les espèces ainsi que la ou les références de souches dans le cas où il existe un organisme d'enregistrement

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

- L'entité de l'obtenteur ou du sélectionneur
- Le mode d'emploi ou la méthode et les éventuels additifs de réactivation préconisés par le fabricant.
- Le nombre minimum de cellules revivifiables par gramme de préparation qui est garanti par le fabricant.
- Le numéro de lot de fabrication, en plus de la date d'expiration et des conditions de stockage avec une indication par le fabricant d'une température de stockage conseillée.
- Le cas échéant, l'indication que les bactéries lactiques ont été obtenues par modifications génétiques ainsi que le ou les caractères modifiés.
- Les additifs

3. CARACTERES

Elles sont commercialisées, soit sous forme liquide, soit sous forme congelée, soit déshydratée par lyophilisation ou séchage, en culture pure ou en association de cultures pures.

4. LIMITES ET METHODES D'ESSAIS

4.1. Humidité pour les bactéries lyophilisées ou sèches

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

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

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. Bactéries lactiques revivifiables

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international (méthode en annexe de la présente résolution).

Le nombre doit être supérieur ou égal à 10^8 UFC/g ou 10^8 UFC/ml pour les bactéries lactiques sous forme liquide ou congelée.

Le nombre doit être supérieur ou égal à 10^{11} UFC/g pour les bactéries lactiques sous forme lyophilisée ou sèche.

4.7. Moisissures

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

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

4.8. Bactéries acétiques contaminantes

Procéder au dénombrement selon les méthodes figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Le nombre de bactéries acétiques doit être inférieur à 10^3 UFC/ml pour les bactéries acétiques sous forme liquide ou congelée ou 10^4 UFC/g pour les bactéries acétiques sous forme lyophilisée ou sèche. La somme *Acetobacter* + *Gluconobacter* doit être inférieure à 10^3 UFC/ml pour les bactéries acétiques sous forme liquide ou congelée ou 10^4 UFC/g pour les bactéries acétiques sous forme lyophilisée ou sèche.

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

4.9. Levures contaminantes

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

Le nombre de cellules revivifiables de levures contaminantes total doit être inférieur à 10^3 UFC/g pour les bactéries sous forme lyophilisée ou sèche ou 10^2 UFC/ml pour les bactéries sous forme liquide ou congelée.

4.10. 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.

4.11. Pseudomonas aeruginosa[1]

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 bactéries lactiques est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de bactéries lactiques 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.[2]

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 bactéries lactiques est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de bactéries lactiques 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

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

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.[3]

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 bactéries lactiques est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de bactéries lactiques 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. [4]

5. ADDITIFS

Ils doivent être conformes aux réglementations en vigueur.

6. CONSERVATION

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

Méthodes d'analyse microbiologiques

(Amendement de résolution 17/2003du chapitre II du Codex œnologique international)

A. point 1

1. Rehydration préalable des bactéries lactiques

- Peser 1 g de bactéries lactiques **en conditions d'asepsie**,
- Ajouter stérilement 100 ml de **solution de saccharose 5% dans l'eau à 36-40°C**
- Homogénéiser doucement à l'aide d'un barreau ou d'un agitateur magnétique pendant 5 mn
- Laisser ensuite pendant 20 mn toujours à température de **36-40°C** ;

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

- Homogénéiser ensuite pendant 5 mn à température ambiante
- Prélever stérilement 10 ml et procéder aux contrôles microbiologiques.

B. Remplacer le composant milieu Agar par l'Agar bactériologique

C. Ajouter les paragraphes suivants:

7.2 Pour la recherche d'*Acetobacter*

Milieu Acb/s agar

Composition

Extrait de levure : 30 g

Alcool 95% vol. après stérilisation : 20 ml

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

Agar : bactériologique 2%

Eau : q.s.p. 1000 ml

A. Stérilisation à 120 °C pendant 20 mn

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

Ajouter directement dans la boite de Pétri 0,2 ml d'une solution hydroalcoolique de pimaricine 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

$CaCO_3$: 3 g

Agar : bactériologique 2%

Eau : q.s.p. 1000 ml

Stérilisation à 120 °C pendant 20 mn

A. Ajouter directement dans la boite de Pétri 0,1 ml d'une Solution de pénicilline à 0,25% dans l'alcool pur

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

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

(le $CaCO_3$ 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*

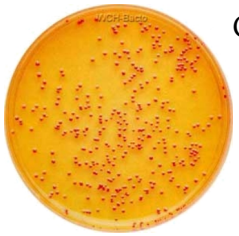
MILIEU SÉLECTIF-DIFFÉRENTIEL POUR COLIFORMES. GÉLOSE AU DÉSOXYCHOLATE

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

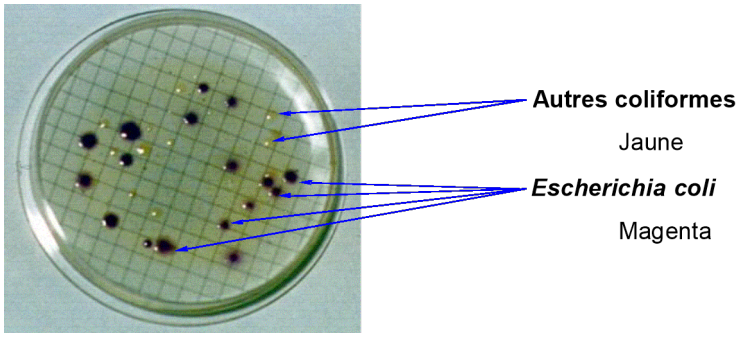
Rouge neutre : 0,03 g

MILLIEU 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-□-D-glucuronide.

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009



MILIEU SÉLECTIF-DIFFÉRENTIEL POUR Staphillococcus

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

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

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 ± 0,2.

---

[1] Point étudié ultérieurement par le groupe d'expert "Microbiologie"

[2] Annexe 1

[3] Annexe 1

[4] Annexe 1

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009