

OenoYeast™

Nom du Produit	OenoYeast™
Code N°.	05-6001
Contenu	Conditionnement de réactifs suffisants pour 30 tests: <ul style="list-style-type: none">• 20 ml de Solution 1 (Tampon de dilution)• 0,4 ml de Solution 2 (Solution de marquage)• 30 ml de Billes de calibration 3 µm (code 05-4018)

Informations Générales:

Le kit de réactifs OenoYeast™ est destiné à la détection et au comptage des microorganismes métaboliquement actifs comme les levures des genres *Dekkera/Brettanomyces* dans le vin après achèvement de l'étape de fermentation alcoolique. Les cellules obtenues des barriques ou des bouteilles de vin sont marquées directement sans autres traitements et analysées par cytométrie en flux.

Spécificité et Principe:

La méthodologie est basée sur la perméabilité membranaire du di-acétate de fluorescéine qui n'est pas fluorescent et passe librement dans les cellules de levures. Par la suite, la conversion intracellulaire par des réactions enzymatiques (estérases) en fluorescéine conduit au marquage fluorescent avec imperméabilité membranaires des cellules individuelles de levures métaboliquement actives.

Le test est approprié pour des vins dont la turbidité n'excède pas 500 NTU. Pour une meilleure précision, un niveau de turbidité de 250 NTU est recommandé.

Applications:

Numération des levures métaboliquement actives.
Numération de *Dekkera / Brettanomyces* après la fin de la fermentation alcoolique en absence de *Saccharomyces cerevisiae* actif dans le vin.

Echantillonnage:

Echantillonnage du vin en barrique durant la maturation (procédure recommandée):

- L'échantillon doit être tiré de la barrique quelque peu au-dessus de la surface du dépôt. Utiliser un dispositif spécifique jetable d'échantillonnage (seringue avec 60 cm de tube) ou autre.
- Jeter les 20 premiers ml d'échantillon et collecter 125 ml de vin dans un récipient de collection propre.
- Bien nettoyer le dispositif de collection avant le prochain échantillonnage.
- S'assurer de ne pas collecter dans la couche de dépôts des barriques (l'échantillon collecté doit apparaître clair).

Echantillonnage en bouteille (procédure recommandée):

- Bien secouer la bouteille avant ouverture.
- Ouvrir la bouteille et collecter 125 ml d'échantillon de vin dans un récipient de collection propre.

Méthode:

Avant de commencer la préparation des échantillons, laisser les Solution 1 et Solution 2 se réchauffer à température ambiante

Les échantillons de vin collectés peuvent être directement utilisés avec les tests OenoYeast™. Aucun prétraitement des échantillons n'est requis.

- Ajouter **400 µl d'échantillon de vin** dans un *tube d'échantillon Partec* neuf (code 04-2000) pour cytomètre.
- Ajouter **400 µl de Solution 1** et agiter légèrement.
- Ajouter **8 µl de Solution 2** (solution de marquage FDA) et bien agiter ou vortexer.
- Incuber les échantillons à température ambiante pendant **10 minutes** à l'obscurité.
- Analyser les échantillons de vin avec le cytomètre en flux **CyFlow® Oenolyser** ou **CyFlow® SL** de Partec.

Mise en opération du cytomètre en flux (méthode applicable au CyFlow® Oenolyser de Partec):

- Allumer le **CyFlow® Oenolyser** de Partec et attendre jusqu'à ce que le système soit prêt
- Passer un tube avec 1,5 ml de solution de nettoyage (04-4009) and sélectionner **Scripts – Run Cleaning **
- Sélectionner la configuration **Scripts – Load Config-Script – OenoYeast.scr **
- Préparer un tube test Partec avec 800 µl de billes de calibration de 3 µm (code 05-4018)



Usage non diagnostic – Pour la recherche uniquement.

Contact pour Information: partecfrance@partec.com

Développé en collaboration avec M. Dr V. Gerbaux (Institut de la Vigne et du Vin).
Partec GmbH • Otto-Hahn-Str. 32 • D-48161 Münster • Germany
Tel +49 2534 8008 0 • Fax +49 2534 8008 90 • E-mail: info@partec.com



DIN EN ISO 9001:2000
DIN EN ISO 13485:2003

- Passer les billes de calibration 3 µm sur le **CyFlow® Oenolyser** et contrôler si le signal des billes tombe au centre de la région R1 de l'histogramme (voir figure 1) – corriger la position du signal des billes en modifiant le GAIN de SSC et de FL1 si nécessaire.

Analyse des échantillons de vin:

Vérifier les conditions d'opération du cytomètre en flux:

- Vitesse (Speed) 3,0 µl/s
- Valeur du GAIN et seuil (L-L) selon la mesure effectuée avec les billes de calibration 3 µm
- Passer un tube de 1,5 ml de *solution de nettoyage* Partec (04-4009) and sélectionner *Scripts – Run Cleaning *
- Retirer le tube nettoyage et passer l'échantillon de vin préparé comme décrit dans la section **Méthode**.

Couper le bruit de fond élevé en augmentant le seuil (threshold) L-L.
Continuer l'analyse jusqu'à ce que l'instrument s'arrête automatiquement.

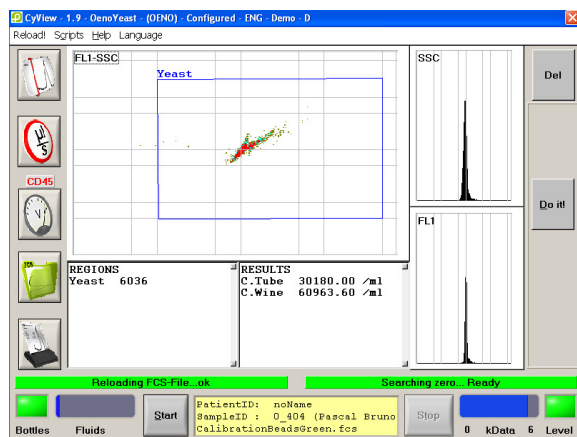


Figure 1: Billes de calibration Partec 3µm

Analyse des résultats:

- Adapter la fenêtre (gate) "Yeast" dans l'histogramme FL1 / SSC afin de couvrir toute la population de levures (voir figure 2).
- Le résultat de comptage apparaît dans **Results** pour "Yeast" en *levures/µl* ou *levures/ml* d'échantillon.
- Le comptage des Brettanomyces dans l'échantillon de vin d'origine est calculé comme :
Brettanomyces /ml = "Yeast" Count/ml x 2.02 (dilution)

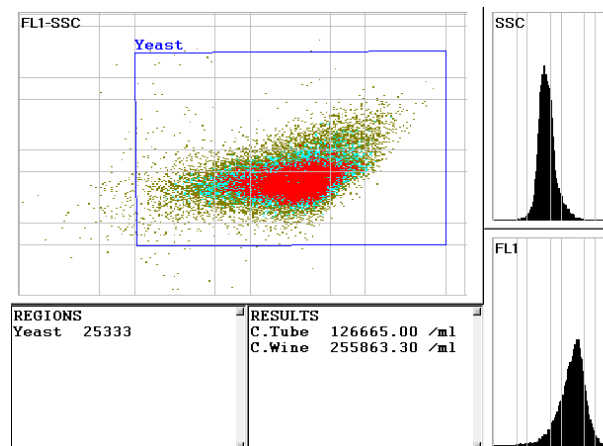


Figure 2: Comptage d'analyse des Brettanomyces

Procédure de nettoyage:

- A la fin d'une série d'analyse, passer deux tubes consécutifs de 1,5 ml de *solution de nettoyage* (04-4009) and sélectionner *Scripts – Run Cleaning *
- Finalement, passer un tube avec 1,5 ml de *liquide de gaine* Partec (04-4007) et sélectionner *Scripts – Run Cleaning *
- Après le passage du dernier tube, fixer un tube de 1,5 ml de *liquide de gaine* (04-4007) et éteindre l'instrument

Limites de la méthode:

La limite de détection basse de cette méthode est 100 cellules/ml. The détection de limite basse peut être diminué à 20 cellules/ml après centrifugation de l'échantillon (applicable seulement pour des vins clairs). La limite haute de concentration de l'échantillon est de 10⁶ cellules/ml. La concentration optimale des échantillons de 10⁴ à 10⁵ cellules/ml peut être opérée par dilution avec la Solution 1.