

# Activité antibactérienne de l'huile de tournesol ozonée : application à la maîtrise des mammites

## *Antibacterial activity of ozonized sunflower oil: application towards mastitis control*

MOUREU S. (1) (2), ALI HAIMOUD LEKHAL D. (3), BERGONIER D. (4), VIOLLEAU F. (1) (2), CALMON A. (1) (2)

(1) Université de Toulouse, INP-Ecole d'Ingénieurs de Purpan, Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, 75, voie du TOEC, BP 57611, 31076 Toulouse Cedex 03, France

(2) INRA, UMR 1010 CAI, 31030 Toulouse, France

(3) Université de Toulouse, INP-Ecole d'Ingénieurs de Purpan, Equipe Systèmes de Productions Agricoles, 75, voie du TOEC, BP 57611, 31076 Toulouse Cedex 03, France

(4) Université de Toulouse, INP-Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, UMR INRA-ENVT 1225 Interactions Hôtes-Agents pathogènes, 23, chemin des Capelles, BP 87614, 31076 Toulouse, France.

### INTRODUCTION

Le plan Ecoantibio 2017 (France) vise à réduire les risques d'antibiorésistance en développant, entre autres, des solutions alternatives à l'usage des antibiotiques. Les huiles végétales ozonées peuvent s'inscrire dans cette démarche car elles possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques intéressantes (Sechi et al. 2001; Skalska et al. 2009; Geweely 2006). Une première approche réalisée sur des souches de collection (*Escherichia coli* CIP76.24, *Staphylococcus aureus* CIP76.25 et *Streptococcus uberis* CIP105450) a permis de sélectionner les conditions optimales pour obtenir une Huile de Tournesol Ozonée (HTO) la plus efficace possible (Moureu et al. 2015). Dans le présent travail, l'effet de l'HTO est étudié sur des souches bactériennes isolées de mammites d'ovins laitiers.

### 1. MATERIEL ET METHODES

L'HTO a été obtenue en faisant buller de l'ozone (débit : 30 l/h et [O<sub>3</sub>] = 65 mg/l) pendant 4h à travers une émulsion composée de 50 g d'huile de tournesol à très haute teneur en acide oléique et de 5 g d'eau.

L'activité antibactérienne du produit obtenu a été évaluée par détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à l'aide de la méthode de microdilution (NF EN ISO 20776-1 2007) sur 25 isolats et trois souches de collection. Pour permettre la dispersion de l'HTO dans le bouillon de culture, 2 % de Tween-80 ont été ajoutés à du bouillon Mueller-Hinton lors de la préparation des solutions d'HTO (concentrations comprises entre 0,313 et 20 mg/ml). Les CMIs ont été déterminées après 24h d'incubation à 37°C. Chaque expérience a été répétée indépendamment trois fois et chaque dépôt sur les microplaques a été doublé ce qui a permis d'obtenir 6 valeurs par souche. Des témoins ont été réalisés dans les mêmes conditions mais avec de l'huile de tournesol non-ozonée sur les trois souches de collection.

### 2. RESULTATS

L'huile de tournesol non ozonée n'a montré aucune activité antibactérienne dans la gamme de concentration étudiée.

Les valeurs ou gammes de valeurs des CMIs qui ont été observées pour chacune des souches sont présentées dans le Tableau 1. Les résultats montrent que l'HTO a un effet antibactérien sur toutes les souches testées.

Globalement, les souches isolées de mammites montrent des valeurs comparables à celles des souches de collection. La majorité des espèces du genre *Staphylococcus* réagissent de la même manière avec des CMI comprises entre 1,25 et 2,5 mg/ml. Les espèces *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli* présentent des CMIs plus élevées, comprises entre 5,0 et 10 mg/ml.

### 3. DISCUSSION

Cette étude prouve l'efficacité antibactérienne *in vitro* de l'HTO sur des souches isolées de mammites et met en

évidence des différences de sensibilité en particulier d'un genre à l'autre. La suite de ce travail abordera l'évaluation de l'efficacité de l'HTO sur d'autres espèces et genres (entérocoques, coliformes..) isolés d'infections mammaires ou cutanées.

### CONCLUSION

Cette étude confirme l'intérêt des huiles ozonées dans la maîtrise des mammites et constitue une voie d'investigation prometteuse qu'il conviendra de conforter par une étude *in vivo*.

**Tableau 1 :** Valeurs des CMIs obtenues avec de l'huile de tournesol ozonée pour les différentes souches

Souche	CMI (mg/ml)
<i>Staphylococcus auricularis</i>	0,625
<i>Staphylococcus caprae</i> <i>Staphylococcus equorum</i>	0,625-1,25
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus carnosus</i>	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 76.25 <i>Staphylococcus chomogenes</i> (2) <i>Staphylococcus cohnii urealyticus</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i> <i>Staphylococcus hyicus</i> <i>Staphylococcus intermedius</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus warneri</i>	1,25-2,5
<i>Staphylococcus arlettae</i> <i>Staphylococcus cohnii cohnii</i> <i>Staphylococcus simulans</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	2,5
<i>Staphylococcus lentus</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>	5,0
<i>Staphylococcus hominis</i>	2,5-10
<i>Staphylococcus kloosii</i>	5,0-10
<i>Staphylococcus capitis</i>	10-20
<i>Streptococcus uberis</i> CIP105450	5,0
<i>Streptococcus uberis</i>	5,0-10
<i>Escherichia coli</i>	5,0-10
<i>Escherichia coli</i> CIP 76.24	10

The authors are grateful to the Midi-Pyrénées Region for funding by Grant No. 12050572.

Geweely, N.S.I., 2006. Int. J. Agric. Biol. 08, 670–675.

Moureu, S., Violleau, F., Ali Haimoud-Lekhal, D., Calmon, A., 2015. Chem. Phys. Lipids 186, 79–85.

Sechi, L.A., Lezcano, I., Nunez, N., Espim, M., Duprè, I., Pinna, A., Molicotti, P., Fadda, G., Zanetti, S., 2001. J. Appl. Microbiol. 90, 279–84.

Skalska, K., Ledakowicz, S., Perkowski, J., Sencio, B., 2009. Ozone Sci. Eng. 31, 232–237