



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Identification des bactéries responsables de mammites, aptitude à la
formation des biofilms et profils d'antibiorésistance associés**

Présenté par

LARABI Redhouane

Soutenu le 29 Juin 2025

Devant le jury :

Présidente :	Dr. Dahmani Asma	M.C.A	ISV Blida1
Examineur :	Dr. Besbaci Mohamed	M.C.A	ISV Blida1
Promoteur :	Dr. Bentayeb Lamia	M.A.B	UMMTO
Co-promoteur :	Dr. Akkou Madjid	M.C.A	ISV Blida1

Année : 2024/2025

Remerciements

Tout d'abord je remercie Dieu le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la connaissance, la force, la santé et la volonté durant la réalisation de ce mémoire.

J'exprime ma gratitude à mes encadrants Dr. BENTAYEB Lamia et Dr. AKKOU Madjid, pour leur disponibilité, conseils et orientations.

Je tiens également remercier Dr. DAHMANI Asma, Dr. BESBACI Mohamed qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je remercie tous les enseignants et tout le personnel de l'institut pour la formation durant ces cinq années.

Je remercie aussi tous ceux qui ont contribué de près ou de loin par leurs aides et conseils à finaliser ce projet.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé.

*Mes frères et sœurs : Nacer, Ayman, Salima, Hadil et Nessrine pour leur aide et
encouragements*

Mes tantes, oncles, cousins et cousines pour m'avoir accompagné.

Tous mes amis pour leur compagnie.

Enfin à tous ceux qui me sont chers et qui m'ont aidé de près ou de loin.

Résumé :

La mammite bovine est l'une des maladies les plus importantes dans l'industrie laitière et ayant un impact négatif sur l'économie et le bien-être des animaux. Les agents étiologiques incluent une variété de bactéries gram-positives et gram-négatives. Ces derniers peuvent être soit contagieux (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma spp.*) ou environnementaux (*Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus coagulase-négatif*, *Streptococcus uberis*). L'amélioration des pratiques sanitaires, notamment une hygiène rigoureuse lors de la traite, l'application de désinfectants post-traite sur les trayons, ainsi que l'entretien régulier des machines à traire, constitue une stratégie essentielle pour prévenir l'apparition de nouveaux cas de mammite. Toutefois, le traitement des cas actifs de mammite repose encore principalement sur l'usage d'antibiotiques. En outre, l'échec du traitement entraîne une utilisation accrue d'antibiotiques dans l'industrie laitière, car certains de ces cas de mammite pour des raisons inconnues ne sont pas résolus malgré le traitement antibiotique standard. Les infections chroniques par le biofilm sont connues pour être difficiles à éradiquer avec des antibiotiques et la formation de biofilm pourrait être une explication possible pour les cas de mammite qui ne sont pas résolus par un traitement standard. Cette revue donne un aperçu sur les mammites bovines sous les aspects des facteurs de risque, du contrôle et des traitements, de la formation de biofilm par les bactéries impliquées et des alternatives thérapeutiques émergentes dans le contrôle des infections intramammaires.

Mots clés : antibiotique, bactéries, biofilm, échec thérapeutique, mammite bovine, prévention.

Abstract:

Bovine mastitis is one of the most important diseases in the dairy industry and has detrimental impact on the economy and welfare of the animals. The etiological agents include a variety of gram-positive and gram-negative bacteria, and can be either contagious (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma* spp.) or environmental (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., coagulase-negative *Staphylococcus*, *Streptococcus uberis*). Improving sanitation such as enhanced milking hygiene, implementation of post-milking teat disinfection, maintenance of milking machines are general measures to prevent new cases of mastitis, but treatment of active mastitis infection is dependant mainly on antibiotics. Further, treatment failure results in increased antibiotic use in the dairy industry, as some of these mastitis cases for unknown reasons are not resolved despite standard antibiotic treatment. Chronic biofilm infections are notoriously known to be difficult to eradicate with antibiotics and biofilm formation could be a possible explanation for mastitis cases that are not resolved by standard treatment. This review provides an overview of bovine mastitis in the aspects of risk factors, control and treatments, biofilm formation of the involved bacteria and emerging therapeutic alternatives in the control of the intramammary infections.

Keywords: Antibiotic, bacteria, biofilm, bovine mastitis, prevention, treatment failure

ملخص

التهاب الضرع عند الابقار هو أحد الأمراض الأكثر أهمية في صناعة الألبان، لما له من تأثير سلبي على الاقتصاد ورفاهية الحيوانات. تشمل العوامل المسببة طيفاً واسعاً من البكتيريا موجبة وسالبة الصبغة غرام، والتي يمكن أن تكون إما مُعدية (مثل المكورات العنقودية الذهبية، والمكورات العقدية الجينية، والمفطرات) أو بيئية المنشأ (مثل الإشريكية القولونية، والمكورات المعوية، والمكورات العنقودية السالبة للتخثر، والمكورات العقدية الرئوية). ويُعد تحسين ممارسات النظافة، بما في ذلك الحرص على النظافة الصارمة أثناء الحلب، واستخدام المطهرات بعد الحلب على الحلما، بالإضافة إلى الصيانة المنتظمة لأجهزة الحلب، استراتيجية أساسية للوقاية من ظهور حالات جديدة من التهاب الضرع. ومع ذلك، لا يزال علاج الحالات النشطة يعتمد بشكل رئيسي على استخدام المضادات الحيوية. ويؤدي فشل العلاج إلى زيادة استخدام المضادات الحيوية في صناعة الألبان، إذ إن بعض حالات التهاب الضرع لا تُشفى، لأسباب غير معروفة، رغم تلقي العلاج بالمضادات الحيوية القياسية. وتُعرف العدوى المزمنة الناتجة عن تكوّن الأغشية الحيوية بأنها صعبة الاستئصال بالمضادات الحيوية، وقد يكون تكوين الغشاء الحيوي أحد التفسيرات المحتملة للحالات التي لا تستجيب للعلاج التقليدي. وتقدم هذه المراجعة نظرة شاملة على التهاب الضرع البقري من حيث عوامل الخطورة، وطرق مكافحة العلاج، وتكوين الأغشية الحيوية من قبل البكتيريا المسببة، بالإضافة إلى البدائل العلاجية الناشئة في مكافحة العدوى داخل الغدة الثديية.

الكلمات المفتاحية: مضاد حيوي، بكتيريا، غشاء حيوي، فشل علاجي، التهاب الضرع البقري، الوقاية

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumés	
Table des matières	
Liste des tableaux et des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre 1 : Physiologie de la mamelle des vaches et composition du lait	2
1. Anatomie et physiologie de la mamelle des vaches.....	2
1.1. Anatomie de la mamelle des vaches.....	2
1.2. Conformation interne de la mamelle.....	2
1.3. Alvéoles mammaires.....	3
1.4. Conformation du trayon.....	3
2. Principaux composants du lait de vache.....	4
2.1. Composition biochimique du lait de vache.....	4
2.1.1. Principaux macronutriments.....	4
2.1.2. Minéraux.....	4
2.1.3. Vitamines.....	5
2.2. Lait de vache : enjeux sanitaires et transformation.....	5
2.3. Propriétés physico-chimiques du lait.....	5
2.4. Composition microbiologique du lait.....	6
2.4.1. Bactéries lactiques.....	6
2.4.2. Bactéries saprophytes.....	7
2.4.3. Bactéries pathogènes.....	7
Chapitre 2 : Analyse des causes et des risques de mammite chez les ruminants	8
1. Définition et importance.....	8
1.1. Définition de la mammite.....	8
1.2. Importance des mammites.....	8
1.2.1. Impact sur la santé et la productivité.....	8
1.2.2. Effets sur la qualité et la sécurité du lait.....	8
1.2.3. Impact sur la santé publique.....	9
2. Classification des mammites.....	9
2.1. Mammites cliniques.....	9
2.2. Mammites subcliniques.....	9
3.Étiologie des mammites.....	10
4. Facteurs de risque.....	11
4.1. Facteurs liés à l'animal.....	11
4.2. Facteurs environnementaux.....	11
4.3. Facteurs de gestion.....	12
5. Méthodes de diagnostique.....	12
5.1. Mammites cliniques.....	12
5.2. Mammites subcliniques.....	13
6. Méthodes de prévention et de traitement des mammites.....	15
6.1. Traitement.....	15
6.1.1. Antibiothérapie.....	15
6.1.2. Phytothérapie.....	16

6.2. Stratégies de prévention et de contrôle.....	17
Chapitre 3 : Formation de biofilm et impact sur la santé mammaires	18
1. Définition de biofilm.....	18
2. Composition du biofilm.....	18
2.1. Microorganismes.....	18
2.2. Matrice.....	18
3. Formation de biofilms chez les microorganismes.....	18
3.1. Modalités de formation de biofilms.....	19
3.1.1. Conditionnement de la surface.....	19
3.1.2. Transport des bactéries vers le support.....	20
3.1.3. Adhésion.....	20
3.1.4. Croissance et maturation du biofilm.....	21
3.1.5. Dispersion et détachement du biofilm.....	22
3.2. Formation des biofilms chez les bactéries responsables de mammite.....	23
3.2.1. <i>Streptococcus agalactiae</i>	23
3.2.2. <i>Escherichia coli</i>	24
3.2.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
3.2.4. <i>Staphylococcus spp</i>	27
4. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm.....	28
4.1. Caractéristiques de la surface.....	28
4.2. Caractéristiques du milieu.....	28
4.3. Caractéristiques des microorganismes.....	28
5. Avantages et conséquences du mode de vie en biofilm.....	29
5.1. Coopérations métaboliques et échanges d'informations.....	29
5.1.1. Coopération métabolique.....	29
5.1.2. Signalisation au sein du biofilm.....	29
5.2. Transfert d'information génétique.....	29
5.3. Protection vis-à-vis des agressions de l'environnement.....	30
6. Effets bénéfiques et néfastes des biofilms.....	31
6.1. Effets bénéfiques.....	31
6.2. Effets néfastes.....	31
7. Biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> dans l'industrie alimentaire.....	32
8. Biofilms dans le secteur médical.....	32
9. Détection de la production de biofilms.....	32
9.1. Méthodes phénotypiques.....	32
9.1.1. Observation indirecte.....	32
9.1.2. Observation directe.....	35
9.2. Méthodes génotypiques.....	37
9.2.1. Détection des gènes associés au biofilm par PCR.....	37
9.2.2. Hybridation <i>in situ</i> fluorescent.....	37
Conclusion	39
Références bibliographiques	41

Liste des tableaux et figures

Désignation	Titre	Page
Tableau 1	Facteurs de virulence impliquée sur la formation du biofilm chez <i>Streptococcus agalactiae</i>	24
Figure 1	Anatomie de la glande mammaire de la vache	2
Figure 2	Techniques de diagnostics des mammites bovines	14
Figure 3	Processus régissant la formation du biofilm	19
Figure 4	Différents types de biofilms staphylococciques	22
Figure 5	Dispersion d'un biofilm mature	23
Figure 6	Présentation schématique des facteurs de virulence de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , et homéostasie du biofilm	26
Figure 7	Développement du biofilm chez <i>S. epidermidis</i>	27
Figure 8	Mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques	30
Figure 9	Principe de quantification des biofilms en microplaques	33
Figure 10	Méthode des tubes. Les deux premiers tubes à essai en polystyrène à partir de la gauche indiquent la production de biofilm, les autres tubes à essai indiquent un manque de production de biofilm	33
Figure 11	Le protocole du Biofilm Ring Test	34
Figure 12	Prétraitement des échantillons pour observation MEB	36
Figure 13	Méthode d'hybridation in situ par fluorescence	38

Liste des abréviations

CCS : Comptage des Cellules Somatiques

CMT : California Mastitis Test

RPA : amplification par recombinaise polymérase

°C : Degré Dornic

LAMP : amplification isotherme médiée par boucle

PCR : Polymerase Chain Reaction

MSCRAMM : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

EPS : Exopolysaccharides

PIA : Polysaccharide Intercellular Adhesin

Bap : biofilm associated protein

FnBPs: Fibronectin-binding proteins

PSM : phenol-soluble modulins

PSM : Phenol-soluble modulins

SGB : streptocoques de groupe B

ECPM : Escherichia coli pathogène mammaire

FimA~H : code pour les protéines fimbriaires de Type 1

LPS : lipopolysaccharide

AI : Auto-inducteurs

AI-2 : Auto-inducteur de type 2

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARNr: Acide Ribonucléique ribosomique

PCA: Rouge Congo Agar

MEB : microscope électronique à balayage

MEBE : microscopie électronique à balayage environnemental

FISH : technique d'hybridation in situ fluorescente

RmpA: Regulator of Mucoïd Phenotype A

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

SYTO9 : Marqueur fluorescent (utilisé en microscopie confocale)



Introduction

Introduction

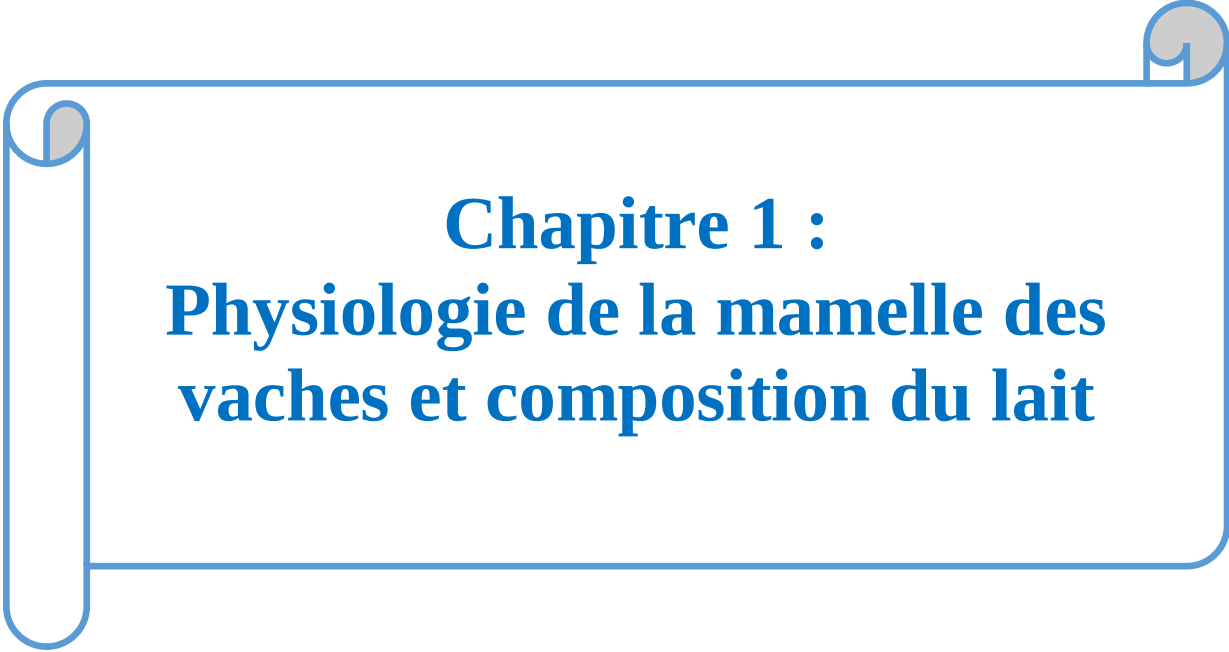
Les mammites sont les pathologies les plus coûteuses en élevage laitier et leur diagnostic est l'une des clés pour limiter leurs effets. Les pertes économiques se justifient d'une part, par le faible rendement des mamelles infectées, les traitements vétérinaires, les saisies de lait ainsi que la réforme prématurée des vaches, et d'autre part, par la baisse de la qualité hygiénique et nutritive du lait et de ses produits dérivés (Peton et Le Loir, 2014 ; Fartas *et al.*, 2017).

La mammite est une maladie multifactorielle, résultant généralement de l'interaction complexe entre plusieurs facteurs liés à l'hôte, aux agents pathogènes, à l'environnement et aux pratiques de gestion. Les causes étiologiques de cette pathologie sont nombreuses et variées, impliquant une grande diversité de microorganismes capables de provoquer une inflammation de la glande mammaire (Kibebew, 2017).

Les bactéries étant les agents pathogènes les plus fréquemment impliqués dans les cas de mammite, l'antibiothérapie constitue encore aujourd'hui le traitement le plus couramment utilisé chez les vaches laitières. Toutefois, l'efficacité de cette approche est de plus en plus compromise par l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques les plus fréquemment administrés dans ce contexte (Bengtsson *et al.*, 2009).

Un autre facteur aggravant réside dans la capacité de certaines bactéries à former des biofilms. Sous cette forme, les micro-organismes présentent une tolérance accrue aux antibiotiques et aux désinfectants, comparativement à leur forme planctonique (Yannick *et al.*, 2014 ; Pamela, 2017). Cette résistance structurelle réduit considérablement l'efficacité des traitements et complique l'élimination des infections chroniques. Ces phénomènes posent un défi majeur en matière de santé animale, de qualité du lait et de sécurité alimentaire, soulignant l'importance cruciale de la prévention, de la biosécurité et de la mise en œuvre de bonnes pratiques d'élevage dans la lutte contre la mammite.

L'objectif de ce travail est de proposer une synthèse bibliographique actualisée des connaissances relatives à l'identification des bactéries responsables des mammites bovines, à leur capacité à former des biofilms, ainsi qu'à leurs profils d'antibiorésistance.

A decorative graphic consisting of a blue-outlined scroll with a light beige background. The scroll is oriented horizontally, with its ends curled up. The chapter title is centered within the scroll.

Chapitre 1 : Physiologie de la mamelle des vaches et composition du lait

1. Anatomie et physiologie de la mamelle des vaches

1.1. Anatomie de la mamelle des vaches

Chez la vache, la mamelle est constituée de quatre trayons disposés en région inguinale, appelés quartiers, qui ensemble forment le pis. Chaque quartier est structuré autour de deux éléments principaux : un corps glandulaire et un trayon (ou papille), au bout duquel se trouve un unique orifice papillaire par lequel s'écoule le lait. Le maintien et la stabilité du pis sont assurés par un ensemble de structures de soutien appelées appareil suspenseur. Le ligament suspenseur médian, composé de tissu fibreux élastique, est l'élément de soutien principal. Il sépare les quartiers gauche et droit et joue un double rôle essentiel : maintenir le pis en position malgré son poids important pouvant atteindre plus de 50 kg chez les vaches à haut rendement et limiter la communication entre quartiers afin d'éviter la propagation d'agents pathogènes (Barone, 2001). Un ligament latéral, formé de tissu conjonctif plus rigide et moins élastique, enveloppe quant à lui la partie supérieure du pis, contribuant à la stabilité de la structure (Rémy, 2010).

1.2. Conformation interne de la mamelle

Chaque quartier mammaire abrite une glande mammaire et un réseau de conduits lactifères qui convergent vers une unique citerne lactifère (figure 1).

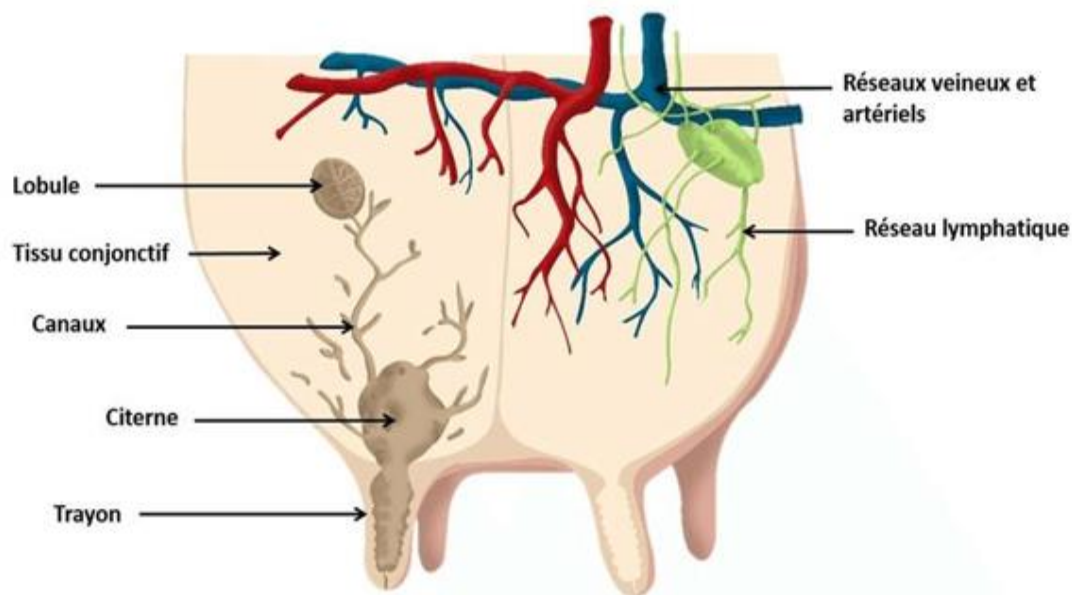


Figure 1 : Anatomie de la glande mammaire de la vache (Charton, 2016)

Cette citerne est subdivisée en deux parties : la citerne glandulaire, située dans le corps du quartier, et la citerne papillaire, située dans le trayon. La glande mammaire est constituée de lobes, eux-mêmes divisés en lobules. Chaque lobule est formé d'un ensemble d'alvéoles, qui sont les unités fonctionnelles responsables de la synthèse du lait (Barone, 2001).

1.3. Alvéoles mammaires

L'alvéole appelée aussi acini mammaire représente le tissu sécréteur de lait de la mamelle et est entourée de stroma. Il est constitué de lactocytes internes : ce sont des cellules épithéliales mammaires productrices de lait un réseau artério-veineux périphérique apportant les nutriments, un canal galactophore qui évacue le lait une fois synthétisé dans la citerne glandulaire et des cellules myoépithéliales externes dont la contraction et la production de l'ocytocine : une hormone transportée par voie sanguine provoquant la contraction des cellules myoépithéliales et sa sécrétion est stimulée par l'éjection des premiers jets (stimulation tactile du trayon). La citerne papillaire débouche directement dans le canal puis le sphincter papillaire du trayon, la porte de sortie du lait (Barone, 2001 ; Charton, 2016).

Un tissu non sécréteur (stroma) entoure et recouvre le tissu sécréteur de la mamelle. Il est constitué de tissus conjonctifs : un tissu lâche qui entoure les alvéoles et les regroupent en lobules divisés en lobes et qui joue le rôle d'un réservoir d'énergie requise pour la synthèse du lait et un autre dense qui est formé des deux ligaments médian et latéral (Charton, 2016).

1.4. Conformation du trayon

Le trayon est une structure cylindrique, creuse, mesurant généralement entre 5 et 7 cm de long pour un diamètre de 2 à 4 cm. Sa paroi, élastique et riche en fibres musculaires lisses, confère au trayon une grande souplesse, facilitant ainsi la traite (Rémy, 2010). Anatomiquement, il se situe en dessous de la citerne glandulaire et joue un rôle essentiel dans le passage et l'éjection du lait. La transition entre la citerne glandulaire et le trayon est marquée par un relief annulaire nommé cercle veineux de Fürstenberg. Celui-ci précède la citerne papillaire, qui se termine à son tour par la rosette de Fürstenberg, un anneau de tissu lymphocytaire impliqué dans la reconnaissance immunitaire des agents pathogènes (Barone, 2001).

À l'extrémité du trayon se trouve le canal du trayon, dont la paroi interne est tapissée de kératine. Cette couche kératinisée agit comme une barrière physique en retenant les bactéries et en limitant leur entrée dans la glande mammaire. Enfin, le canal se termine par le sphincter papillaire, un mécanisme de fermeture musculaire assurant l'étanchéité du trayon entre les traites (Barone, 2001).

2. Principaux composants du lait de vache

Le lait de vache est sécrété par la femelle après la mise bas, dans le but premier de nourrir son veau. Ce liquide biologique constitue également un aliment de base dans l'alimentation humaine, consommé à l'état cru ou transformé. Il présente une composition nutritionnelle complète, comprenant les trois principaux macronutriments : glucides (notamment le lactose), lipides et protéines ainsi que des sels minéraux tels que le calcium et le phosphore, et plusieurs vitamines (Grenon et al., 2004).

2.1. Composition biochimique du lait de vache

2.1.1. Principaux macronutriments

Le lait est composé à plus de 88 % d'eau, ce qui en fait un aliment très hydratant. Parmi les macronutriments du lait entier, les glucides représentent environ 43 %. Le principal glucide présent est le lactose, un disaccharide formé d'une molécule de galactose et d'une autre de glucose. Sa concentration dans le lait de vache reste très stable tout au long de la lactation, se situant entre 48 et 50 g/L.

Le lait contient environ 29 % de lipides, constitués principalement d'acides gras saturés et de cholestérol. Quant aux protéines, elles représentent environ 28 % des macronutriments. Leur concentration dans le lait est évaluée à l'aide du Taux Protéique, généralement situé entre 34 et 35 g/L (Leymarios, 2010). Parmi les protéines d'origine lactique, les caséines représentent 80% des protéines du lait de vache, les 20% restants étant des protéines dites « solubles » comme par exemple les immunoglobulines. Dans le lait les caséines forment des micelles stabilisées entre elles par des ponts de calcium. Ces protéines possèdent un certains nombre de caractères communs, tels que la présence de phosphore sous forme de groupements phosphoséryls et leurs richesses en certains acides aminés (leucine, proline, acide glutamique). Néanmoins, elles se distinguent les unes des autres par le nombre de résidus phosphoséryls, la présence ou non de cystéines et de dérivés glucidiques, et la teneur en certains acides aminés (thréonine, tyrosine, proline par exemple) (Croguennec et al., 2008).

2.1.2. Minéraux

Les minéraux ne représentent que 7 g/L de lait de vache produit, mais assurent cependant des propriétés nutritionnelles majeures. Le lait est une source de calcium (1.25g/L): 100 g (environ 100 ml), couvrent plus de 10% de l'apport nutritionnel conseillé par jour pour un adulte en calcium et en phosphore. Il contient d'autres minéraux à savoir le potassium (1,6

g/L), le phosphore (1 g/L), le chlore (1,1 g/L), le sodium (0,425 g/L) et le magnésium (0,4 g/L) (Gaucheron, 2004).

2.1.3. Vitamines

Le lait contient plusieurs vitamines essentielles, notamment les vitamines B12, B2, B3, B5, A, C et D. Une portion de 100 g de lait fournit environ 12 % des apports nutritionnels recommandés en vitamine B12, environ 10% pour les vitamines B2 et B3, ainsi qu'environ 5% des apports journaliers recommandés en vitamines A, B5 et D. Par ailleurs, après écrémage, le lait est parfois enrichi en vitamines afin de compenser la perte de certaines vitamines liposolubles (Gaucheron, 2004).

2.2. Lait de vache : enjeux sanitaires et transformation

En raison de sa richesse en nutriments, le lait est un substrat hautement périssable, particulièrement sensible à la prolifération bactérienne. Certaines bactéries, lorsqu'elles contaminent le lait, en modifient rapidement les caractéristiques physico-chimiques, notamment par la production d'acide lactique via la fermentation du lactose. Ce processus entraîne l'acidification du milieu, suivie de la coagulation des protéines, dégradant ainsi la qualité du produit. À l'état cru, le lait peut également être vecteur de bactéries zoonotiques, représentant un risque sanitaire pour l'Homme. Parmi les pathogènes les plus préoccupants figurent les agents responsables de la brucellose, de la tuberculose bovine et de la listériose (Kunda et al., 2007).

Par ailleurs, le lait contient naturellement des cellules somatiques, principalement des leucocytes, en quantité normale de 100 000 à 200 000 cellules/ml chez une vache saine. Ces cellules ne sont pas toxiques en elles-mêmes, mais leur concentration constitue un indicateur clé de la santé mammaire. Une augmentation du comptage cellulaire somatique (CCS) est généralement le signe d'un processus inflammatoire ou infectieux, tel qu'une mammite affectant un ou plusieurs quartiers de la mamelle (Clegg et al., 2013).

2.3. Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont le point de congélation, l'acidité, et la densité. Un lait de vache frais a un pH compris entre 6,6 et 6,8. Le colostrum est plus acide que le lait normal, tandis que le lait de fin de lactation et le lait mammiteux ont généralement un pH plus élevé, se rapprochant du pH du sang. Son point de congélation est situé entre -0,54 °C et - 0,55°C. Ce critère est l'une des caractéristiques physiques les plus constantes. Toute variation supérieure à -0,54°C est un indice de mouillage.

Il permet la détection du mouillage du lait à partir de 3%. L'abaissement du point de congélation peut aussi être causé par la subdivision du lactose en plusieurs molécules plus petites. Il peut aussi servir à évaluer le degré d'hydratation des protéines. La densité normale du lait de vache se situe autour de 1030 à 1035. Elle est la résultante de la densité de chacun de ces constituants. Pour le lait entier, il convient de mesurer la densité à 30°C pour que les matières grasses soient à l'état liquide, car autrement, à l'état solide, les matières grasses ont une densité supérieure et variable. S'il y a présence d'air dans le lait, la densité sera plus faible (Vignola, 2002). La densité des constituants laitiers à 30°C s'établit comme suit : matières grasses : 0,913 ; extrait sec dégraissé : 1,592 ; lactose : 1,63 ; protéines : 1,35.

.• Point d'ébullition du lait est de 100,5°C.

Comme pour le point de congélation, il est en fonction du nombre de particules en solution et par conséquent, il augmente avec la concentration du lait et diminue avec la pression. Ce phénomène est appliqué dans les procédés de concentration du lait. En revanche, l'acidité titrable d'un lait frais est de 16 à 18°Dornic (°D) (Jeantet et al., 2017).

2.4. Composition microbiologique du lait

Le lait contient une flore originelle : microbienne ou fongique d'intérêt technologique, qui contribuent positivement à sa transformation. Elle est de l'ordre de moins de 10^3 germes par ml s'il est prélevé dans de bonnes conditions et issu d'un animal sain (Guiraud, 1998). Même à la sortie de la mamelle, le nombre de germes reste faible, malgré la température du lait, sa richesse en eau et sa teneur en glucides car le lait présente un pouvoir bactériostatique d'où une multiplication quasi-inexistante pendant quelques heures suivant la traite. En revanche, il peut aussi être contaminé par des flores d'altération, qui n'ont pas de danger sanitaire pour le consommateur, ou par des flores pathogènes susceptibles d'engendrer des maladies chez l'homme (Michel et al, 2001). La présence de germes pathogènes est due à un état pathologique avec ou sans infection du pis. Il peut être le siège d'une contamination microbienne surtout à la ferme dont les sources sont multiples (fèces, sol, air, eau, animal, litière et aliments, manipulateurs, équipements de traite et de stockage du lait, insectes ...etc.) (Borreani et al, 2019).

2.4.1. Bactéries lactiques

Certaines bactéries transforment le lactose en glucose et galactose, puis en acide lactique, ce qui se produit idéalement à une température comprise entre 30 et 40°C. Lorsque la

concentration en acide lactique atteint 6 à 7 g/L, la caséine se coagule, provoquant le « tournage » du lait à température ambiante.

La mesure de l'acidité du lait est un indicateur important de sa qualité. Elle s'exprime en degré Dornic (°D), qui correspond à la quantité de décigrammes d'acide lactique par litre de lait. Un lait frais affiche généralement une acidité de 16 à 17°D, et il coagule à l'ébullition lorsque l'acidité atteint 22 à 23°D.

Parmi les bactéries lactiques les plus courantes et importantes, on trouve : *Lactococcus*, les Lactobacilles, les Streptocoques thermophiles et *Leuconostoc* (Callon et al, 2011).

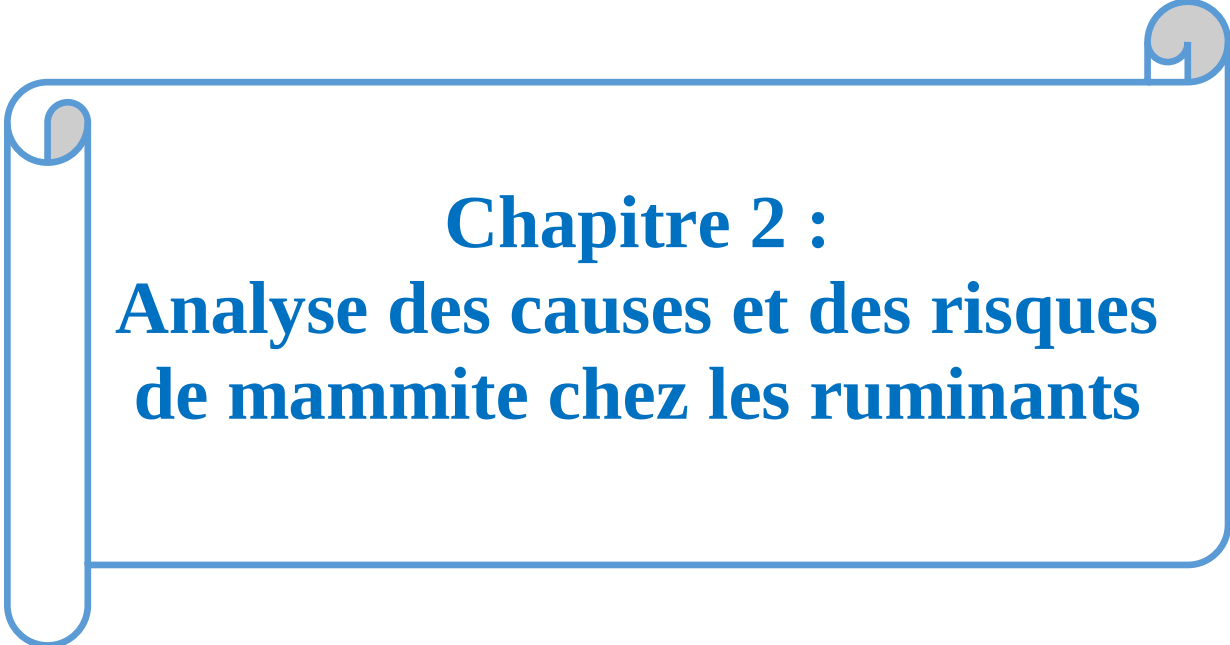
2.4.2. Bactéries saprophytes

Ces germes indésirables peuvent se multiplier en grand nombre si la collecte du lait n'est pas effectuée dans des conditions d'hygiène rigoureuses. Parmi eux, on trouve notamment les **bactéries coliformes**, qui, en raison de leur origine fécale, sont utilisées comme indicateurs de pollution. D'autres bactéries telles que *Bacillus* et *Pseudomonas* peuvent également être présentes. Ces micro-organismes peuvent provoquer des troubles digestifs, notamment des vomissements, des douleurs abdominales, et parfois des diarrhées (Vignola, 2002).

2.4.3. Bactéries pathogènes

Outre les germes saprophytes et lactiques naturellement présents dans le lait, on peut parfois y détecter des bactéries pathogènes et leurs toxines, telles que *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, entre autres. Ces micro-organismes représentent un danger pour la santé publique. C'est pourquoi il est obligatoire de les éliminer par des traitements thermiques avant toute transformation du lait cru.

Par ailleurs, d'autres contaminants posent également problème dans l'industrie laitière, notamment les résidus d'antibiotiques présents dans le lait ainsi que certaines substances chimiques toxiques telles que les dioxines, le plomb, les pesticides, etc. (Berthelot, 2018).

A decorative graphic consisting of a blue-outlined scroll with a light gray fill. The scroll is oriented horizontally, with its ends curled up. It is positioned in the center of the page, containing the chapter title.

Chapitre 2 : Analyse des causes et des risques de mammite chez les ruminants

1. Définition et importance

1.1. Définition de la mammite

La mammite est définie comme une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la glande mammaire. Elle touche principalement les animaux domestiques impliqués dans la production laitière, tels que les vaches, qui en sont les principales victimes. Dans la majorité des cas, cette affection résulte d'une infection bactérienne ascendante, pénétrant par le canal du trayon (Barlow, 2011 ; Royster et Wagner, 2015).

La mammite se manifeste par une élévation du nombre de cellules somatiques dans le lait, accompagnée de modifications physico-chimiques altérant la qualité du lait. En fonction de la présence de signes cliniques, on distingue deux formes de mammite : la mammite clinique, caractérisée par des symptômes visibles, et la subclinique, plus discrète mais non moins préjudiciable, car souvent persistante et difficile à détecter (Royster et Wagner, 2015 ; Vedrine, 2019).

1.2. Importance des mammites

1.2.1. Impact sur la santé et la productivité

Les formes sévères de mammite peuvent entraîner la mort ou la réforme anticipée des vaches atteintes. Le coût associé à la perte d'un animal dépasse souvent sa simple valeur marchande, puisqu'il inclut également la marge bénéficiaire perdue correspondant à la portion non achevée de sa lactation. À l'échelle mondiale, les taux de mortalité liés à la mammite sont particulièrement élevés dans certains contextes, notamment lorsque la prévalence d'infections à bactéries Gram-négatives en particulier les mammites colibacillaires est importante.

Sur le plan économique, la mammite constitue une charge significative pour les producteurs laitiers, car elle augmente les coûts de production tout en réduisant la productivité. Les pertes économiques engendrées peuvent être regroupées en deux grandes catégories : la diminution de la production de lait et le rejet du lait devenu impropre à la consommation (Asfaw et Negash, 2017).

1.2.2. Effets sur la qualité et la sécurité du lait

La production d'un lait de haute qualité constitue l'un des objectifs essentiels de l'élevage laitier. La mammite, en plus de réduire les rendements laitiers et les profits des producteurs, entraîne des pertes économiques importantes pour les transformateurs, en raison de la détérioration de la qualité du lait. Cette dégradation est souvent associée à une concentration

cellulaire élevée, généralement détectée lorsque le lait de tank contient plus de 400 000 cellules somatiques par millilitre. Une large gamme de produits laitiers, notamment le fromage, peut être affectée par cette mauvaise qualité. Le rejet du lait contaminé engendre également des pertes économiques considérables, comparables à celles causées par la baisse de la production laitière (Asfaw et Negash, 2017).

1.2.3. Impact sur la santé publique

Le lait, qu'il soit cru ou transformé, constitue un vecteur bien établi pour divers agents pathogènes affectant l'humain. Lorsqu'il provient de vaches infectées, il existe un risque de contamination bactérienne, rendant le lait impropre à la consommation. Cette contamination peut entraîner des intoxications alimentaires ou, plus rarement, servir de vecteur de transmission de maladies à l'homme. Des pathologies telles que la tuberculose bovine ou certaines infections à streptocoques peuvent notamment être transmises par ce biais (Asfaw et Negash, 2017).

2. Classification des mammites

2.1. Mammites cliniques

La mammite clinique se manifeste par une apparition soudaine de signes visibles d'inflammation au niveau de la glande mammaire. Elle se caractérise par un gonflement, une rougeur, une chaleur anormale et une sensibilité accrue des quartiers touchés. Ces signes locaux sont souvent accompagnés d'une diminution de la production laitière et d'une altération notable du lait, qui peut contenir des caillots, des flocons, ou présenter une consistance anormalement aqueuse. Dans les cas plus sévères, des signes systémiques peuvent apparaître, tels que de la fièvre, une perte d'appétit (anorexie) et un état général dépressif de l'animal (Khan et Khan, 2006).

2.2. Mammites subcliniques

La mammite subclinique se distingue par l'absence de signes cliniques apparents au niveau de la mamelle ou du lait. Toutefois, elle entraîne une diminution de la production laitière et une augmentation significative du nombre de cellules somatiques (CCS), indicateur clé d'inflammation. Cette forme de mammite est souvent plus marquée chez les vaches âgées que chez les génisses en première lactation.

Il existe une relation inverse bien établie entre le CCS et le rendement laitier : plus le CCS est élevé, plus la production diminue. Chez les vaches en bonne santé, le lait provenant de

quartiers non infectés contient généralement moins de 200 000 cellules somatiques par millilitre. Un CCS supérieur à 300 000 cellules/ml est considéré comme anormal et reflète une inflammation intramammaire, même en l'absence de symptômes visibles.

Les études montrent que le lait normal présente naturellement un niveau de CCS compris entre 100 000 et 150 000 cellules/ml. Toute augmentation au-delà de ces valeurs témoigne d'un déséquilibre dans le processus de sécrétion mammaire, souvent causé par une infection latente (Khan et Khan, 2006).

3. Etiologie des mammites

La mammite est une maladie multifactorielle, résultant généralement de l'interaction complexe entre plusieurs facteurs liés à l'hôte, aux agents pathogènes, à l'environnement et aux pratiques de gestion. Les causes étiologiques de cette pathologie sont nombreuses et variées, impliquant une grande diversité de micro-organismes capables de provoquer une inflammation de la glande mammaire.

Parmi ces agents infectieux, les bactéries représentent la menace principale. Elles sont souvent à l'origine de formes contagieuses de la maladie et sont largement présentes dans l'environnement des animaux laitiers. Cette large distribution augmente le risque de transmission et contribue à la forte prévalence des infections intramammaires dans les troupeaux. Selon le réservoir des germes impliqués dans les mammites, on peut distinguer la mammite contagieuse et la mammite d'environnement (Gelasakis *et al.*, 2015 ; Kibebew, 2017).

Les bactéries d'origine animale sont des colonisateurs permanents de la peau, en particulier des trayons. Ils présentent une persistance très faible à modérée dans l'environnement (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* et *Mycoplasma spp.* sont les bactéries classiquement impliquées dans les mammites contagieuses. Il est généralement admis que *S. aureus* a pour réservoir la mamelle infectée et les lésions infectées des trayons ; sa transmission est plus élevée en cas de mammites subcliniques (Gelasakis *et al.*, 2015 ; Kibebew, 2017 ; Vadrine, 2019).

Les isolats d'origine environnementale correspondent aux espèces bactériennes fréquemment isolées du sol, de la litière, de l'eau, du foin, etc. Ces bactéries telles que les coliformes, les autres entérobactéries, les entérocoques, les *Listeria spp.*, les *Bacillus*, *Pseudomonas*, présentent une persistance longue à très longue dans l'environnement extérieur (Gelasakis *et al.*, 2015).

4. Facteurs de risque

4.1. Facteurs liés à l'animal

L'âge des vaches et le stade de lactation sont deux facteurs déterminants dans l'apparition de la mammite. Chez les vaches plus âgées, le canal du trayon peut devenir plus large en raison de la fréquence des traites au fil des années, et rester partiellement ouvert de façon permanente. Cette modification anatomique augmente le risque d'infection. De plus, l'âge avancé peut altérer la perméabilité de l'épithélium mammaire, en lien avec des inflammations antérieures ayant endommagé les tissus, ce qui favorise une perméabilité accrue même après un traitement réussi.

Chez les génisses présentant une infection mammaire avant le vêlage, le risque de développer une mammite clinique après la mise bas est jusqu'à quatre fois plus élevé que chez les animaux non infectés. Le problème de la mammite clinique chez les génisses et les vaches primipares autour de la période de vêlage a été largement étudié. Les cas sont particulièrement fréquents immédiatement après la mise bas, au début de la lactation, ainsi que durant les deux à trois premières semaines de la période sèche. Ce phénomène semble étroitement lié à une augmentation du stress oxydatif et à une diminution de l'efficacité des mécanismes de défense antioxydants durant cette phase critique (Kibebew, 2017).

4.2. Facteurs environnementaux

L'environnement d'élevage joue un rôle déterminant dans la santé et le bien-être des vaches laitières. Un abri propre, sec et confortable est essentiel pour préserver la santé, la productivité et la longévité des animaux. Le niveau d'hygiène des installations peut être évalué à l'aide de divers systèmes d'analyse, notamment en quantifiant la présence de fumier sur différentes zones du corps des vaches.

Une mauvaise hygiène des lieux de vie est directement associée à un risque accru de mammite ainsi qu'à une aggravation de la boiterie. De nombreuses études ont démontré un lien étroit entre la propreté de l'environnement, la salubrité corporelle des animaux et la réduction du nombre de cellules somatiques dans le lait. Au niveau du troupeau, des facteurs tels que le type de litière, la gestion des déjections dans les allées ou le type de logement peuvent constituer des facteurs de risque majeurs influençant l'incidence de la mammite d'origine environnementale (Kibebew, 2017).

4.3. Facteurs de gestion

Le respect rigoureux des règles d'hygiène au moment de la traite joue un rôle central dans la prévention de la mammite infectieuse au sein du troupeau. Des études ont montré que dans les élevages où la traite est réalisée de manière traditionnelle, avec notamment un lavage systématique des mains avant chaque traite, l'incidence de la mammite subclinique est significativement plus faible que dans les troupeaux où cette pratique est négligée. Parmi les causes identifiées, figure le manque de reconnaissance des différents types d'encrassement du pis par les systèmes de traite, ce qui compromet l'efficacité du nettoyage et accroît le risque d'infection.

Par ailleurs, durant la période de lactation, les besoins énergétiques et nutritionnels des vaches augmentent considérablement afin de permettre la synthèse du colostrum et du lait. Lorsque l'apport alimentaire est insuffisant pour couvrir ces besoins, les vaches peuvent entrer dans un état de bilan énergétique négatif. Ce déséquilibre est souvent accompagné de carences en oligo-éléments, en acides aminés ainsi qu'en vitamines. Ces déficits entraînent une immunosuppression tant au niveau cellulaire qu'humoral, rendant les animaux plus vulnérables aux infections, notamment aux mammites, au début de la lactation (Kibebew, 2017).

5. Méthodes de diagnostique

5.1. Mammites cliniques

Le diagnostic de la mammite repose généralement sur l'évaluation de la réponse inflammatoire de la glande mammaire, tandis que celui d'une infection intramammaire nécessite l'identification précise de l'agent pathogène en cause.

- **Examen clinique**

Le diagnostic de la mammite clinique commence généralement par une inspection visuelle suivie d'une palpation minutieuse des mamelles, visant à détecter d'éventuels signes d'inflammation, de fibrose, d'infestation par des tiques, de lésions visibles, de tuméfaction des ganglions lymphatiques supra-mammaires ou encore d'atrophie tissulaire. Chez les vaches présentant des signes cliniques, la température rectale est également mesurée afin d'évaluer l'éventuelle atteinte systémique.

Par ailleurs, l'aspect et la viscosité du lait sécrété par chaque quartier mammaire sont soigneusement observés afin de détecter la présence de sécrétions anormales telles que du lait aqueux, des flocons, des caillots ou des traces de sang (Ramuada et al., 2024).

Chez les vaches atteintes de mammite, le pis peut être douloureux à la palpation, ce qui reflète les altérations vasculaires et l'augmentation du flux sanguin caractéristiques de l'inflammation mammaire.

- **Signes cliniques observés lors de la traite**

Lors de la traite, l'observation directe du lait constitue une étape essentielle du diagnostic clinique, permettant d'identifier des anomalies visibles telles que la présence de flocons, de caillots, ou de sécrétions séreuses, sanguinolentes ou excessivement aqueuses.

La détection de flocons ou de caillots s'effectue généralement en examinant les premiers jets de lait exprimés de chaque quartier dans une coupe à bande (*strip cup*) au début de la traite. La présence de telles anomalies est un indicateur courant de mammite clinique. Durant la période sèche, le lait peut également devenir plus aqueux et sa composition chimique peut se modifier, même en l'absence de signes cliniques. Dans les cas chroniques, la sécrétion mammaire présente une apparence anormale à intervalles réguliers, tandis qu'en cas de mammite aiguë, les altérations du lait sont marquées et persistantes (Kibebew, 2017).

- **Test de la coupe à bande (ou strip cup)**

Le test de la coupe à bande est une méthode simple, pratique et largement utilisée pour détecter la mammite clinique à partir de l'observation visuelle des premières gouttes de lait. Ce test repose sur la détection de particules anormales visibles dans le lait, telles que des flocons, des éclats ou des caillots.

L'outil utilisé est une plaque émaillée divisée en quatre compartiments, correspondant aux quatre quartiers mammaires. Le fond de la plaque est de couleur noire, ce qui permet de mieux faire ressortir les anomalies du lait lorsqu'on incline légèrement la plaque.

Le lait provenant de quartiers infectés apparaît généralement décoloré, plus aqueux que la normale, ou contient des flocons et des grumeaux. Ce test constitue une méthode rapide de repérage des vaches présentant des signes de mammite clinique (Kibebew, 2017).

5.2. Mammmites subcliniques

Les mammmites subcliniques chez les ruminants (en particulier les vaches laitières) ne présentent pas de signes visibles, ce qui rend leur diagnostic plus difficile que les formes

cliniques. Plusieurs méthodes de diagnostic sont utilisées, allant de tests simples à des analyses de laboratoire (Bouaziz, 2005 ; Ramuada et al., 2024).

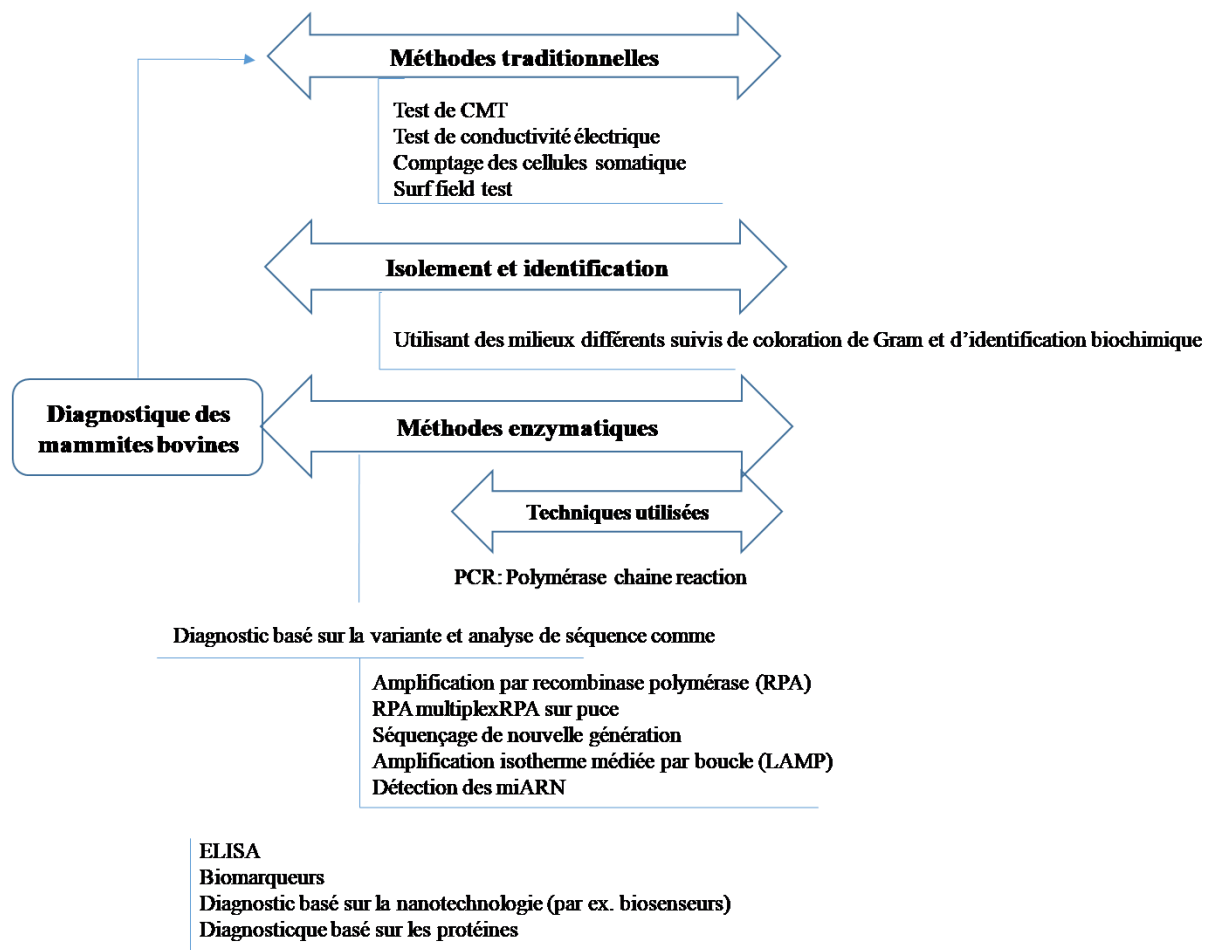


Figure 2: Techniques de diagnostics des mammites bovines (Ramuada et al., 2024)

➤ Comptage des cellules somatiques (CCS)

- Principe : Mesure le nombre de cellules somatiques (essentiellement des leucocytes) dans le lait.
- Seuil indicatif : Un CCS > 200 000 cellules/mL chez la vache indique souvent une mammite subclinique.
- Méthodes :
 - Analyse en laboratoire (Fossomatic, Bentley...)
 - Analyse automatique en salle de traite (robots de traite)

➤ California Mastitis Test (CMT)

- Test de terrain simple et rapide
- Principe : Mélange du lait avec un réactif qui provoque une gélification en présence de cellules somatiques élevées.

- Interprétation visuelle :
 - Pas de gélification : lait sain
 - Gélification légère à forte : suspicion de mammite subclinique

➤ Conductivité électrique du lait

- Principe : L'inflammation augmente la concentration de sels dans le lait, ce qui augmente sa conductivité.
- Utilisation : Intégré dans certains robots de traite ou appareils portables.
- Limites : Moins spécifique que le CCS, mais utile en surveillance continue.

➤ Culture bactérienne du lait

- But : Identifier l'agent pathogène responsable de l'infection.
- Utilisation : Complémentaire au CCS ou CMT.
- Avantage : Permet de choisir un traitement ciblé.
- Limite : Plus coûteux et demande du temps (24–48 h de culture).

➤ PCR (Polymerase Chain Reaction)

- Méthode de laboratoire avancée
- But : Détecter l'ADN des agents pathogènes dans le lait.
- Avantage : Très spécifique et rapide (6–12 h).
- Limite : Coût élevé, pas toujours accessible.

6. Méthodes de prévention et de traitement des mammites

La limitation de l'action des mammites peut se faire à l'aide d'actions préventives. Elles interviennent notamment par le biais de bonnes pratiques d'élevage afin d'éviter la contamination des trayons avant ou après la traite, mais aussi les contaminations entre vaches. Une fois que l'apparition de la mammite est observée, les actions curatives entrent alors en jeu et ont pour but d'éliminer les infections. La mise en place de différents traitements existe en fonction de la mammite ciblée (Williamson et Lacy-Hulbert, 2013).

6.1. Traitement

6.1.1. Antibiothérapie

L'antibiothérapie est le traitement le plus couramment utilisé contre la mammite chez les vaches. Néanmoins, l'efficacité de ce traitement est mise en question en raison du développement de la résistance des bactéries aux antibiotiques fréquemment utilisés dans le traitement des mammites. Dans ce contexte, de nombreuses études soulignent l'importance

d'instaurer des protocoles thérapeutiques ciblés pour suivre rapidement l'évolution de la résistance des pathogènes. Par conséquent, il est crucial de prendre en considération la sensibilité des bactéries avant d'entamer un traitement antimicrobien. De plus, il a été démontré qu'une combinaison d'antibiotiques et de médicaments anti-inflammatoires est plus efficace pour réduire les signes cliniques et guérir la mammite. Le médicament de choix dans le traitement de la mammite est celui auquel les bactéries sont sensibles et qui atteint des concentrations élevées dans la glande mammaire sans provoquer de modifications tissulaires (Bengtsson et al., 2009 ; Pamela, 2017).

Dans le cas d'une mammite subclinique, le traitement peut s'opérer durant la lactation ou au tarissement par voie intramammaire. On améliore considérablement le taux de guérison en traitant précocement et en intervenant dès l'apparition des premiers symptômes. Il faut donc avoir recours aux antibiotiques au bon moment, et avec la bonne posologie. Les actions préventives et curatives imposent donc d'avoir recours à l'utilisation d'importantes quantités de médicaments pour le contrôle des mammites. Enfin, malgré la mise en place de ces deux phases d'actions, on observe toujours une prédominance des mammites, ce qui entraîne une utilisation abusive d'antibiotiques (Oliver et al., 2011 ; Trevisi *et al.*, 2014).

6.1.2. Phytothérapie

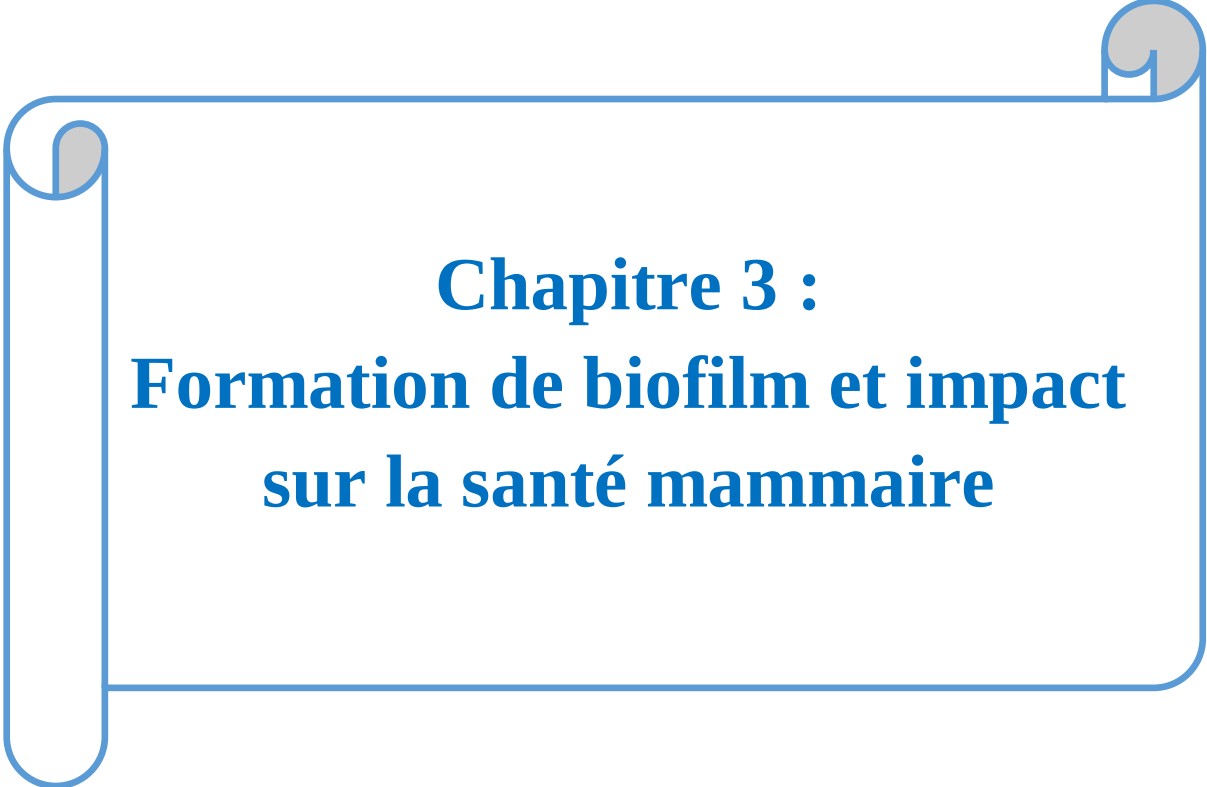
La phytothérapie est de plus en plus étudiée pour le traitement des mammites bovines en raison des préoccupations croissantes concernant l'utilisation excessive d'antibiotiques et la résistance bactérienne. Plusieurs plantes médicinales ont montré des effets antibactériens prometteurs contre les agents pathogènes couramment responsables des mammites. Parmi ces plantes, le thym et la menthe poivrée, qui ont été étudiées pour leurs effets sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, une étude a révélé que l'extrait aqueux de menthe poivrée était plus efficace que celui de thym contre *Escherichia coli*, bien que les deux aient montré un potentiel antibactérien. D'autres études ont également exploré l'efficacité de plantes comme l'ail (*Allium sativum*), le grenadier (*Punica granatum*) et le prosopis juliflora, qui ont tous montré une activité antibactérienne contre des isolats de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Corynebacterium spp.* (Tuteja et Dixit, 2009 ; Khodaei et al., 2013).

6.2. Stratégies de prévention et de contrôle

L'une des stratégies de prévention les plus cruciales pour la mammite chez les vaches est l'hygiène et les pratiques sanitaires, l'hygiène de l'équipement de traite, des pis, et de l'environnement est essentielle pour prévenir la contamination bactérienne, un nettoyage et

Chapitre 2 : Analyse des causes et des risques de mammite chez les ruminantes

une désinfection régulière de l'équipement, et des trayons peuvent réduire considérablement le risque de mammites. De plus, l'emploi de désinfectants appropriés est crucial pour diminuer la charge bactérienne, surtout contre les bactéries environnementales (Bogni et al., 2011 ; Wanjohi, 2014 ; Vargova et al., 2023). La surveillance des animaux, notamment les infestations par les tiques contribue également à la réduction des risques de mammite, une surveillance régulière de l'état de santé des vaches et l'identification précoce des infections subcliniques grâce à des tests comme le California Mastitis Test (CMT) permettent de prévenir la propagation des mammites au sein du troupeau (El Nabrawy et al., 2015 ; Geresu et al., 2021).

A decorative graphic of a scroll with a blue outline and grey shading at the top and bottom edges, framing the chapter title.

Chapitre 3 : Formation de biofilm et impact sur la santé mammaire

1. Définition de biofilm

Un biofilm peut être défini comme un ensemble de microorganismes, formé d'une seule espèce ou d'espèces différentes qui vivent en symbiose et forment une communauté (Behlou et Gilmore, 2008). Il est constitué d'un ensemble de cellules et de micro-colonies associées entre elles et à des surfaces biotiques ou abiotiques qui peuvent prendre plusieurs formes : minérales, organiques, industrielles ou médicales. C'est une structure très organisée avec de nombreuses communications intercellulaires pour assurer un équilibre et un mode de vie coopératif (Branger et al., 2007 ; Bellifa, 2014).

2. Composition du biofilm

Le biofilm est constitué essentiellement de microorganismes et de la matrice qu'ils synthétisent. Les microorganismes représentent 2 à 5 % de la matrice du biofilm selon l'espèce impliquée alors que la matrice extracellulaire représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée du biofilm (Bellifa, 2014).

2.1. Microorganismes

Seuls quelques biofilms sont composés d'un seul type de microorganisme. Ce phénomène est lié aux conditions environnantes, plus souvent qu'à la nature des microorganismes. C'est le cas de biofilms naturels, qui sont souvent composés de nombreux types de microorganismes: bactéries, protozoaires, algues, mycètes. Chaque groupe exécute des fonctions métaboliques spécialisées (Branger et al., 2007 ; Alnnasouri, 2010).

2.2. Matrice

Elle est hautement hydratée dont l'eau peut représenter jusqu'à 97% du poids humide d'un biofilm (Roux et Ghigo, 2006). Elle peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides et de cations (Karatan et Watnick, 2009 ; Flemming et al., 2016). La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance (Yannick et al., 2014).

3. Formation de biofilms chez les microorganismes

Des études *in vitro* ont montré que de nombreux agents pathogènes, tels qu'*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* et les staphylocoques, sont capables de former des biofilms. Cette capacité suggère qu'ils pourraient être impliqués dans des mammites associées à la formation de biofilm (Wallis et al., 2018).

3.1. Modalités de formation de biofilms

Les différentes études montrent que les biofilms se forment de la même manière quel que soit l'environnement qu'ils colonisent. On différencie en général cinq phases : développement d'un film conditionnant sur une surface, mouvement des bactéries planctonique vers cette surface, adhésion réversible puis irréversible des microorganismes à la surface, croissance et division des microorganismes puis formation des microcolonies et maturation du biofilm et finalement le détachement et dispersion de cellules du biofilm (Figure 3) (Haras, 2005 ; Percival et al., 2011).

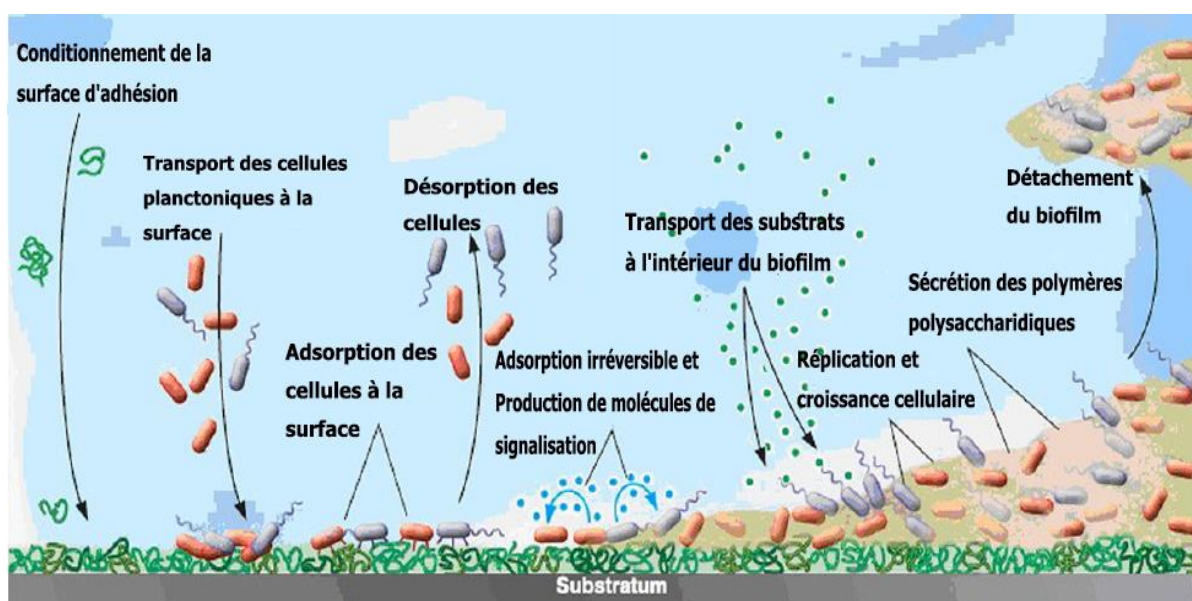


Figure 3 : Processus régissant la formation du biofilm (Breyers et Ratner, 2004).

3.1.1. Conditionnement de la surface

La surface de tout support exposé à un milieu aqueux sera inévitablement et presque immédiatement conditionnée ou recouverte de polymères provenant de ce milieu (Donlan, 2002). L'adsorption de ces molécules conduit à une modification des propriétés physico-chimiques de la surface d'origine (rugosité, polarité, caractère hydrophile/hydrophobe), ce qui a pour conséquence de favoriser ou d'inhiber l'adhésion bactérienne (Stoodley et al., 2002 ; Lorite et al., 2011). L'adsorption et l'accumulation de molécules organiques sur le support permettent une disponibilité en nutriments favorisant le chimiotaxisme et l'installation des micro-organismes sur la surface (Garrett et al., 2008).

3.1.2. Transport des bactéries vers le support

Les interactions entre les bactéries et le support nécessitent un rapprochement d'environ 50 nm tel qu'il est exprimé dans les théories de l'adhésion (Katsikogianni et Missirlis, 2004 ; Hori et Matsumoto, 2010). Pour cela, les bactéries doivent être transportées à proximité du support par un mécanisme actif ou passif. Le transport actif consiste dans le déplacement des cellules en réponse à l'attraction exercée par la couche visqueuse riche en nutriments (chimiotactisme), ce phénomène implique les organites de déplacement tels que les flagelles, mais également des récepteurs spécifiques et sensibles aux variations de concentrations des nutriments présents. Le transport passif, dépend plus du milieu dans lequel les bactéries évoluent ainsi que le mouvement de ce dernier (O'may et Tufenkji, 2007 ; Hori et Matsumoto, 2010).

3.1.3. Adhésion

L'adhésion à une surface inerte ou vivante est un processus complexe, qui est caractérisé par une phase physico-chimique initiale non spécifique (adhésion réversible), suivie par une phase moléculaire et cellulaire spécifique appelée l'adhésion irréversible (Chen et al., 2011). L'attachement de *S. aureus* aux surfaces abiotiques comme le verre, les métaux et les plastiques peuvent être non spécifiques. L'attachement aux surfaces biotiques dépend du MSCRAMM bactériens (Foster et al., 2014).

➤ Phase réversible

L'adhésion de la cellule au cours de la phase réversible dépend fortement des propriétés physicochimiques de la surface de la cellule bactérienne, mais également des propriétés physico-chimiques de la surface telles que la texture, la charge de la surface et l'hydrophobie (Abdallah et al., 2009 ; Ferreira et al., 2010 ; Nilsson et al., 2011). Elle est dominée par des interactions de longues distances, considérées comme de faible intensité. Il s'agit des forces d'attractions de Van der Waals et des interactions électrostatiques répulsives qui apparaissent lorsque la distance qui sépare les bactéries du support atteint 50 nm (Karatan et Watnick, 2009).

➤ Phase irréversible

En phase d'adhésion irréversible, l'encrage des bactéries se met en place sur de courtes distances (1 à 1,5 nm) (Garrett et al., 2008 ; Percival et al., 2011).

L'adhésion devient irréversible grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation au support (Spiers et al., 2003 ; Kuchma et al., 2005). Dans ce cas des interactions fortes s'établissent entre la bactérie et la surface avec des liaisons

de type hydrophobe et surtout grâce à des structures d'adhésion qui varient selon les types de microorganismes concernés (Beloin et al., 2005 ; Branger et al., 2007). Chez les bactéries Gram positives, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix (Van houdt et Michiels, 2005).

3.1.4. Croissance et maturation du biofilm

Une fois que la bactérie est irréversiblement adhérente à la surface, un processus appelé maturation consolide la transition de la vie bactérienne planctonique à la vie bactérienne sessile. Au cours de cette étape, la majeure partie de l'EPS (Exopolysaccharides) est formée, favorisant l'adhésion intercellulaire et permettant aux cellules de s'accumuler en plusieurs couches pour former une communauté tridimensionnelle (Kranjec et al., 2021).

Le Polysaccharide Intercellular Adhesin (PIA) est considéré comme le principal composant des biofilms staphylococciques (Mack et al., 1996). En 2001, Cucarella et ses collaborateurs ont rapporté la formation d'un biofilm par une souche de *S. aureus* d'origine animale sans PIA (Cucarella et al., 2001). Ils ont mis en évidence que les étapes d'accumulations se faisaient via un autre mécanisme impliquant la protéine de surface Bap (biofilm associated protein). Par la suite, d'autres protéines responsables de l'accumulation bactérienne dans les biofilms ont été décrites chez les staphylocoques, notamment les FnBPs chez des souches de SARM, ou la protéine SdrC chez *S. aureus* (Rohde et al., 2005 ; Feuillie et al., 2017). En effet, via la production de coagulase, la prothrombine de l'hôte est détournée pour former un complexe transformant le fibrinogène en fibrine qui est par la suite intégrée par les staphylocoques pour former leur matrice (Vanassche et al., 2013 ; Kobayashi et al., 2015). La présence de fibres amyloïdes a récemment été décrite dans les biofilms staphylococciques matures (Marinelli et al., 2016). Ces fibres proviennent des phenol-soluble modulins (PSM). En 2016, Taglialegna et ses collaborateurs ont également observé ce phénomène avec la protéine Bap (Taglialegna et al., 2016).

L'architecture complexe du biofilm se met en place avec la formation de canaux aqueux et de pores entre les microcolonies (Folkesson et al., 2008), permettant l'acheminement d'oxygène et de nutriments ainsi que l'élimination des déchets (Tenke et al., 2006).

La production et la sécrétion d'enzymes ou de toxines provoque la dégradation des résidus présents dans les surfaces environnantes et permet ainsi la libération de nutriments (Jacobsen et al., 2008).

Les staphylocoques possèdent donc plusieurs mécanismes pour l'étape de maturation. Ces mécanismes sont dépendants d'une part, des souches, et d'autre part des conditions environnementales, et conduisent à la formation de différents types de biofilms (figure 4) (Zapotoczna et al., 2016).

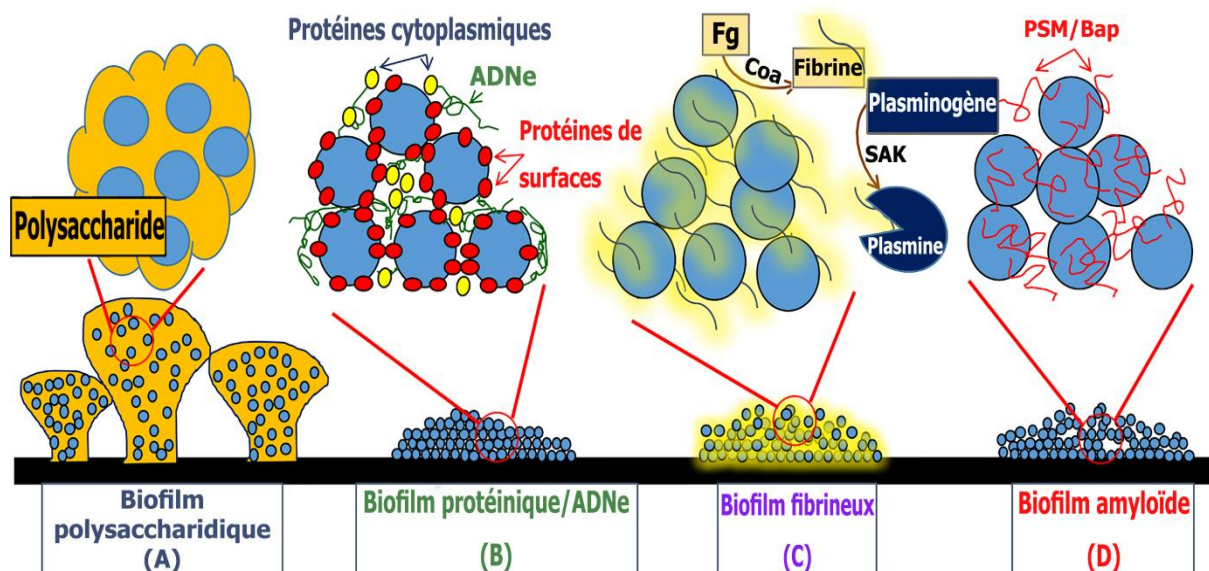


Figure 4 : Différents types de biofilms staphylococciques (Zapotoczna et al., 2016).

3.1.5. Dispersion et détachement du biofilm

Elle est également appelée phase planctonique, puisque des cellules différenciées quittent le biofilm et retournent à l'état libre perdant ainsi le phénotype biofilm, mais ont la capacité de coloniser de nouvelles surfaces et d'initier un nouveau biofilm (Donlan, 2002 ; Mcdougald et al., 2012 ; Yannick et al., 2014). La dispersion de ces micro-organismes peut être passive et/ou active, le détachement passif implique le milieu environnant et les forces que ce dernier peut appliquer sur le biofilm provoquant la dispersion des micro-organismes, tels que la perturbation mécanique, les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement (Stoodley et al., 2002 ; Haras, 2005 ; Parot, 2007).

Le détachement actif est un phénomène hautement régulé comprenant plusieurs circuits sensoriels (Karatan et Watnick, 2009). Sous l'action du *quorum sensing*, des populations bactériennes vont exprimer, sur-exprimer ou réprimer des gènes facilitant la dispersion (Stoodley et al., 2002), tels que le contrôle de la production PSM (Phenol-soluble modulins) dans les biofilms staphylococcique (Peschel et Otto, 2013).

Ces petits peptides amphiphiles possèdent des propriétés surfactantes responsables du décrochage des biofilms dont huit PSM ont été décrit chez *S. aureus* (PSM α 1, PSM α 2,

PSM α 3, PSM α 4, PSM β 1, PSM β 2, et δ -toxine) (Wang et al., 2007). Les bactéries vont ainsi produire des enzymes (protéases et nucléases) leur permettant de consommer la matrice extracellulaire qui les entourent afin de se procurer une source d'énergie et se séparer du biofilm (Stoodley et al., 2002 ; Kaplan, 2010). *S. aureus* possède deux nucléases sécrétées appelées *nuc1* et *nuc2* (Kiedrowski et al., 2014). Des protéases extracellulaires telles que SplABCDEF (Boles et al., 2008), SspA (V8) sérine protéase (Mootz et al., 2013) et auréolysine (Aur) (Boles et al., 2008 ; Abraham et Jefferson 2012) ont été associées au détachement de biofilms staphylococcique (Kranjec et al., 2021).

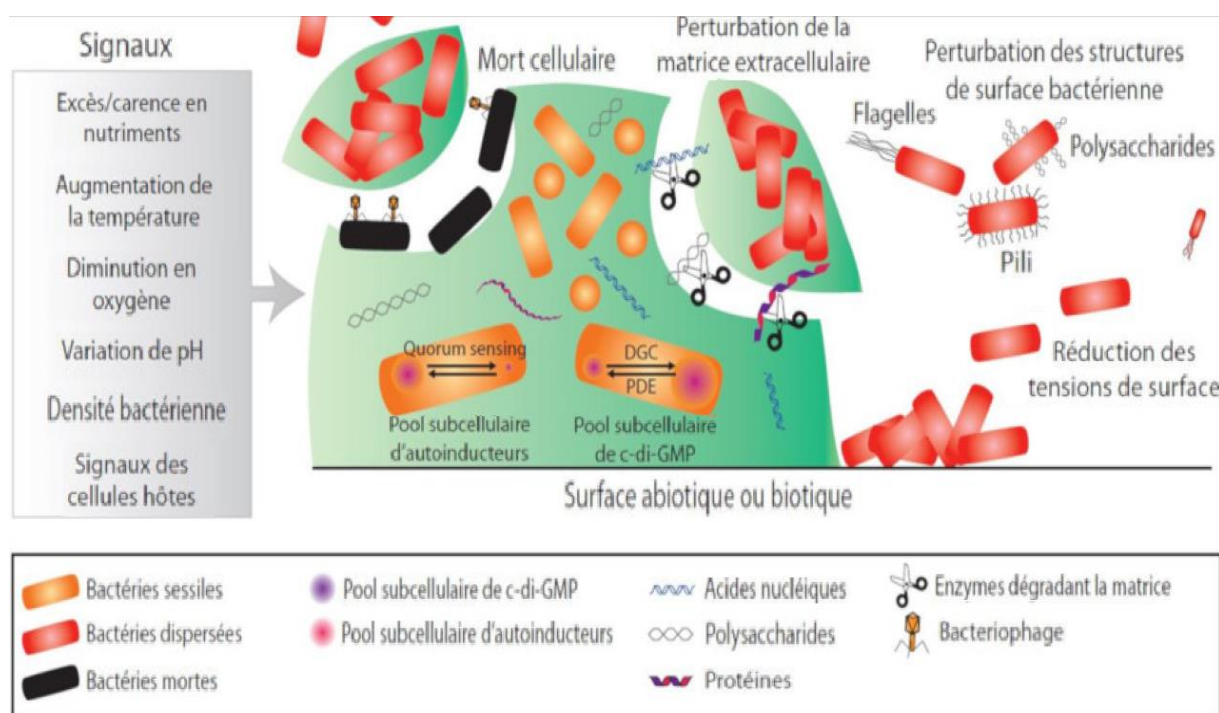


Figure 5 : Dispersion d'un biofilm mature (Aumeran et al., 2020).

3.2. Formation des biofilms chez les bactéries responsables de mammite

3.2.1. *Streptococcus agalactiae*

➤ Formation de biofilm

La formation de biofilm par les streptocoques de groupe B (SGB) étudiée *in vitro* apparaît étroitement contrôlée par les conditions environnementales. Plusieurs adhésions ont été montrées pour jouer un rôle dans la formation des structures de type biofilm GBS, parmi lesquelles se trouvent les composants protéiques des pili dépassant à l'extérieur de la surface bactérienne. Remarquablement, les anticorps dirigés contre les protéines de pilus peuvent prévenir la formation de biofilm (Rosini et Margarit, 2015).

➤ Facteurs de virulence impliqués

Tableau 1 : Facteurs de virulence impliquée sur la formation du biofilm chez *Streptococcus agalactiae* (Rosini et Margarit, 2015).

Facteur	Effet sur la formation du biofilm
Pili (PI-2a, PI-2b)	Essentiels pour l'adhésion et la structure du biofilm. Leur absence inhibe la formation.
Capsule polysaccharidique	Importante dans la structuration du biofilm, surtout en présence de plasma humain.
Système régulateur CsrRS	Régule l'expression d'adhésines. Les mutants montrent une augmentation du biofilm.
Matrice extracellulaire	Majoritairement protéique, avec une faible présence d'ADN extracellulaire et peu de polysaccharides

➤ Variabilité inter-souches

La formation de biofilm chez *Streptococcus agalactiae* varie fortement selon la souche, le sérotypes et le contexte environnemental. Les souches du type ST-17 sont particulièrement efficaces pour former du biofilm, notamment en milieu acide. Elles possèdent des combinaisons de facteurs (pili PI-1, PI-2b) qui renforcent cette capacité (Rosini et Margarit, 2015).

3.2.2. *Escherichia coli*

➤ Formation de biofilm

Escherichia coli (*E. coli*) pathogène mammaire (ECPM) représente un sous-ensemble de souches d'*E. coli* pathogènes extraintestinales. Ces bactéries présentent une affinité pour adhérer et infecter les cellules épithéliales à l'intérieur de la mamelle aux côtés d'autres agents pathogènes, aboutissant à la formation éventuelle de biofilm. Les agents pathogènes peuvent échapper au système immunitaire et se multiplier constamment dans la glande mammaire de l'hôte en formant le biofilm, provoquant des infections intramammaires persistantes. Ainsi, il devient important d'étudier le rôle des biofilms dans la pathogenèse de la mammite (Xu et al., 2024).

➤ Facteur de virulence

Fimbriae de type 1, l'un des facteurs de virulence importants et les organites adhésifs les plus courants dans les membres de la famille des Enterobacteriaceae sont principalement responsable du contact initial avec les cellules hôtes et pour les interactions hôte-pathogène. Le gène fimcluster (fimA~H) code pour les protéines fimbriaires de Type 1, où FimA (codé par fimA) sert de primaire sous-unité structurelle. De plus, la sous-unité structurelle FimH (codé par fimH) présente la capacité de faciliter l'adhésion bactérienne en engageant le

contenant de mannose récepteur de la glycoprotéine présente dans les cellules hôtes. Précédent la recherche a suggéré le rôle important des fimbriae de type 1 dans la phase initiale et l'étape de maturation du biofilm (Xu et al., 2024).

3.2.3. *Klebsiella pneumoniae*

➤ Formation de biofilm

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumonia*) est placée au premier plan des pathogènes opportunistes qui profitent de l'affaiblissement des défenses de l'organisme pour induire des pathologies infectieuses, sous la forme d'infections urinaires et respiratoires, de bactériémies et de surinfections de plaies opératoires. *Klebsiella pneumoniae* est naturellement présente à faibles concentrations dans l'environnement, mais également dans le tube digestif et les cavités naturelles de l'homme. Dans certaines situations (température, humidité), elle peut constituer des agrégats dénommés biofilms notamment sur des surfaces inertes (Bellifa, 2014).

➤ Facteurs de virulence impliqués

Quatre facteurs virulents identifiés : pili, capsule, lipopolysaccharide (LPS) et fer. *K. pneumoniae* est assemblé par des pili d'adhésines, de type 1 et de type 3, et il favorise les bactéries adhésion à l'épithélium, aux cellules immunitaires et aux surfaces abiotiques. RmpA est un plasmide localisé facteur de virulence de *K. pneumoniae*, régulant la synthèse des polysaccharides capsulaires. Porteur de RmpA les souches étaient significativement associées au phénotype à haute mucus de hvKP, et au tissu purulent infection telle qu'un abcès du foie (Wang et al., 2020).

Bien que la capsule joue un rôle vital dans la protection de *K. pneumoniae* des réponses immunitaires de l'hôte, sa virulence peut être causée par d'autres facteurs. En fait, le LPS dans les principales souches de *K. pneumoniae* peuvent être modifiées en partie, et cela conduit à ce que *K. pneumoniae* ne soit pas reconnu par la cellule hôte, tandis que d'autres souches peuvent utiliser la capsule pour camoufler le LPS afin d'éviter la détection du récepteur de type toll 4 (TLR4) (Wang et al., 2020).

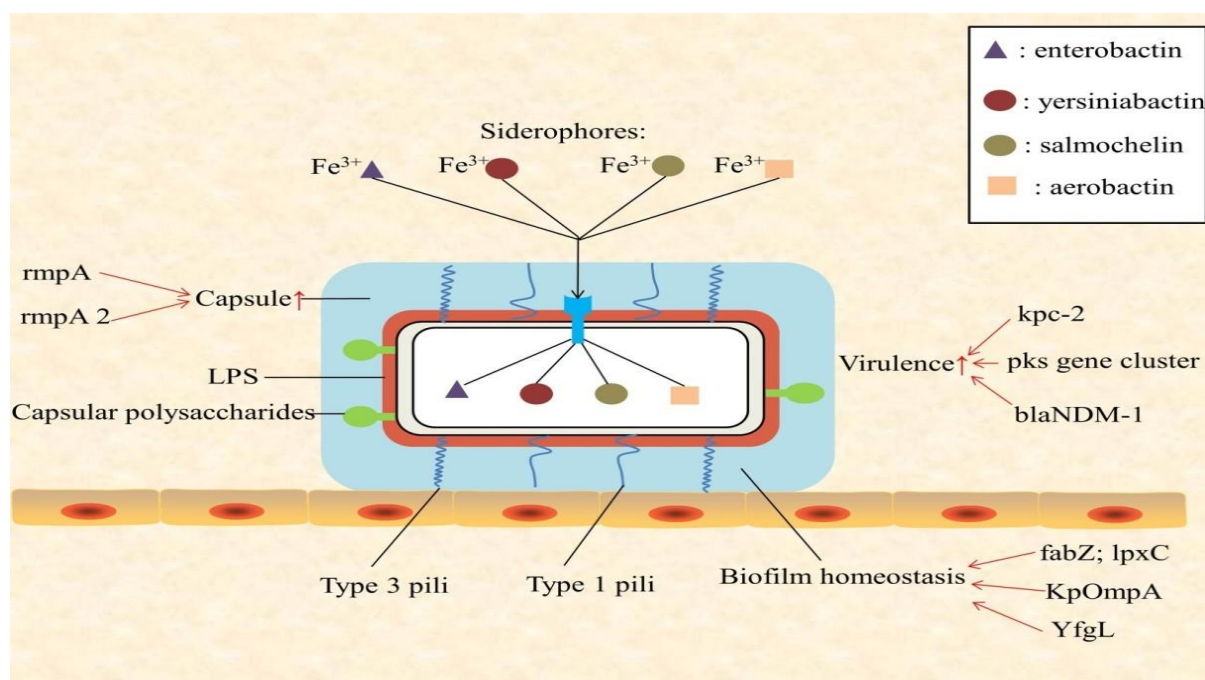


Figure 6 : Présentation schématique des facteurs de virulence de *Klebsiella pneumoniae*, et homéostasie du biofilm (Wang et al., 2020).

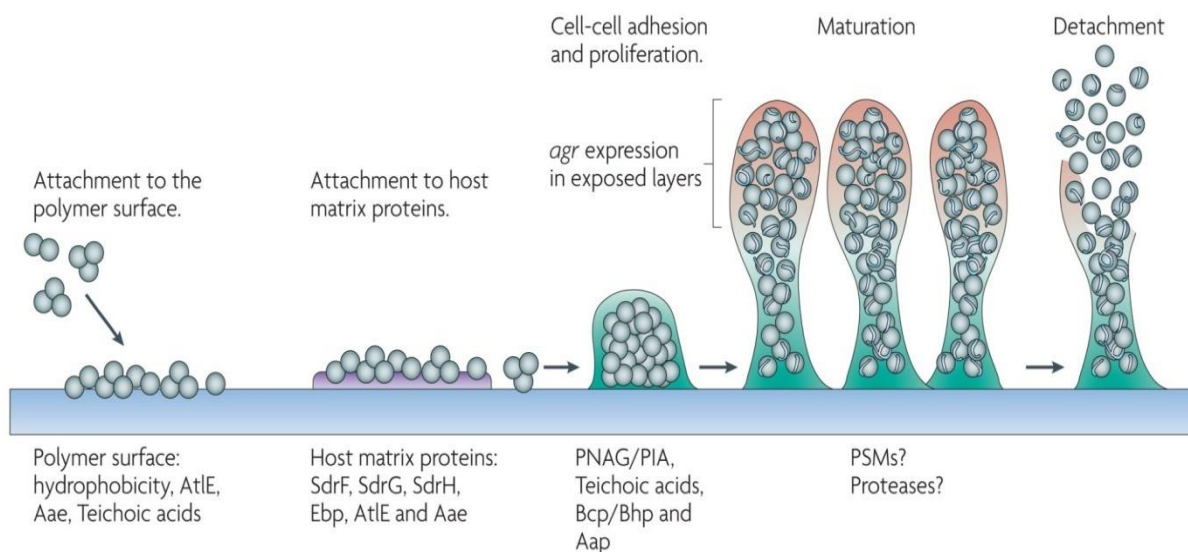
3.2.4. *Staphylococcus spp.*

Pour *S. aureus*, les modalités de formation de biofilms sont élucidées plus haut. *Staphylococcus epidermidis* montre une adaptation significative à l'échelle du génome au mode de croissance du biofilm y compris la régulation négative des processus cellulaires fondamentaux tels que l'acide nucléique, les protéines et la paroi cellulaire biosynthèse. Ces changements de régulation des gènes peuvent expliquer l'activité limitée de nombreux antibiotiques (Otto, 2020).

La formation du biofilm débute par une phase d'adhésion initiale des cellules à une surface, suivie d'une agrégation progressive en structures multicellulaires. Le développement du biofilm repose ainsi sur des forces adhésives, indispensables à la colonisation des surfaces et aux interactions intercellulaires. Parallèlement, des forces perturbatrices jouent un rôle crucial dans la formation de canaux remplis de fluide, essentiels à la distribution des nutriments au sein du biofilm et à l'acquisition de sa structure tridimensionnelle caractéristique. Ces mêmes forces sont également impliquées dans le détachement des amas cellulaires, un processus qui limite l'expansion du biofilm et peut favoriser la dissémination de l'infection dans l'hôte (Otto, 2020).

Contrairement à l'agrégation intercellulaire, les mécanismes de structuration et de détachement du biofilm chez *Staphylococcus epidermidis* demeurent peu élucidés. Il est

cependant établi que le processus de détachement est régulé par le système de quorum sensing, puisque les souches présentant une défaillance du système **agr** forment des biofilms plus épais et montrent une altération marquée de leur capacité à se détacher. Chez *Staphylococcus aureus*, un modèle a été proposé dans lequel l'expression du système **agr** est localisée aux couches superficielles du biofilm. Cette activation favoriserait le détachement de cellules ou d'amas cellulaires à partir de la surface du biofilm, contribuant ainsi à la régulation de son expansion (Otto, 2020).



Nature Reviews | Microbiology

Figure 7 : Développement du biofilm chez *S. epidermidis*

L'adhésion initiale à une surface non revêtue dépend principalement du caractère hydrophobe de la membrane cellulaire. En revanche, l'adhésion aux matériaux recouverts de composants de la matrice de l'hôte est médiée par des protéines de surface spécifiques. Une fois l'attachement établi, la cohésion entre les cellules est assurée par la production d'exopolysaccharides, de protéines spécialisées et de macromolécules accessoires.

Les processus de maturation, d'organisation et de détachement du biofilm restent encore mal compris. Toutefois, ils semblent impliquer une régulation dépendante du *quorum sensing*, avec la production de peptides aux propriétés détergentes ainsi qu'une activité protéolytique concentrée dans les couches superficielles du biofilm. Par ailleurs, l'expression génique globale dans un biofilm diffère nettement de celle observée en phase planctonique, notamment par une régulation négative de plusieurs fonctions cellulaires fondamentales (Vuong et al., 2002).

4. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm

La formation de biofilm est un processus bien organisé, qui dépend du film de conditionnement, des caractéristiques du milieu et des propriétés de la cellule microbienne (Martinez et al., 2007).

4.1. Caractéristiques de la surface

Les bactéries adhèrent aux surfaces biotiques ou abiotiques afin de les coloniser. En général, les propriétés de surface telles que la composition chimique du matériau, l'énergie libre de surface, la charge, l'hydrophobicité, la rugosité et la porosité influencent l'attachement des bactéries à cette surface et par conséquent la formation d'un biofilm (Treter et Macedo, 2011 ; Klein, 2011 ; Bellifa, 2014).

4.2. Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessitent des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clés, comprenant les conditions environnementales telles que la disponibilité de nutriments et les différents stress physicochimiques (Hamadi et al., 2004 ; Martinez et Casadevall, 2007; Goller et Romeo, 2008 ; Marchal, 2010).

4.3. Caractéristiques des microorganismes

Pour une surface de matériau donnée, différentes espèces et souches bactériennes adhèrent différemment puisque les différentes espèces et souches ont des caractéristiques physicochimiques différentes (Katsikogianni et Missirlis, 2004).

La plupart des bactéries sont chargées négativement et présentent à leur surface des zones hydrophobes, cette hydrophobicité influence l'attachement des bactéries sur une surface, moins les surfaces sont polarisées plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes (Liesse, 2012; Bellifa, 2014). Cette association stable avec la surface s'établit grâce à des structures adhésives telles que des adhésines filamenteuses (fimbriae, pili) ou non (EPS, capsule...) (Perrin, 2009).

5. Avantages et conséquences du mode de vie en biofilm

5.1. Coopérations métaboliques et échanges d'informations au sein du biofilm

5.1.1. Coopération métabolique

Des études montrent que la formation des biofilms dépend de l'accessibilité des bactéries aux nutriments car dans des conditions pauvres en nutriments, les bactéries seraient sous forme planctonique afin de se diriger vers des environnements plus favorables. Les biofilms sont généralement constitués de plusieurs espèces de bactéries dont la proximité dans le biofilm facilite les échanges et la mise en place de symbioses entre des bactéries aux besoins métaboliques différents (Shapiro, 1998 ; Stanley et Lazazzera, 2004).

5.1.2. Signalisation au sein du biofilm

La densité des bactéries et leurs contacts cellulaires facilitent la communication intercellulaire via un mécanisme appelé *Quorum sensing*, une communication chimique implique la sécrétion, la détection et la réponse à de petites molécules semblables à des hormones appelées auto-inducteurs (AI) (Ahmer, 2004 ; Christopher et Bassler, 2007).

Chez les bactéries à Gram négatif, l'auto-inducteur est un dérivé N-acylhomosérine lactone, alors que chez les bactéries à Gram positif, ce sont des polypeptides (Waters et Bassler, 2005 ; Seghir *et al.*, 2016).

Un troisième mécanisme appelé le AI-2 est proposé comme étant un système de signalisation commun à toutes les bactéries (Waters et Bassler, 2005).

Le *Quorum sensing* est impliqué dans la régulation des différentes étapes du développement du biofilm. Cette stratégie de communication empêche la surpopulation inutile et contrôle la compétition pour les nutriments, en plus des implications dans le processus infectieux, en particulier pour la diffusion et la création de nouveaux sites d'infection. Il peut aussi réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme par exemple la motilité ou certains facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases (Hornby *et al.*, 2001 ; Irie et Parsek, 2008).

5.2. Transfert d'information génétique au sein du biofilm

Les transferts horizontaux d'information génétique jouent un rôle important dans l'évolution et la diversité génétique des communautés microbiennes. L'un des principaux mécanismes de transfert génétique est celui de la conjugaison qui permet l'échange direct d'ADN par contact physique entre deux cellules via un pilus de conjugaison (Bjorklof *et al.*, 2000 ; Ghigo, 2001).

5.3. Protection vis-à-vis des agressions de l'environnement

La nature particulière de l'architecture du biofilm et les attributs physiologiques des micro-organismes situés dans le biofilm confèrent une forte résistance à diverses agressions extérieures comme les UV, les changements de pH et d'osmolarité, la prédation et les agents antimicrobiens (Drago et Toscano, 2017).

La diminution de la sensibilité aux antibiotiques n'est pas liée à un seul mécanisme de résistance (Ross, 2010). Trois hypothèses principales sont avancées afin d'expliquer les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques (Figure 8) (Stewart et Costerton, 2001). La première repose sur le fait que la matrice polymérique agit comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens (Yannick *et al.*, 2014). La seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm, dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides, pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique (Stewart et Costerton, 2001). Enfin, la dernière hypothèse s'appuie sur la modification des propriétés physiologiques des microorganismes en induisant des mécanismes de résistance connus et cela est dû à la structure du biofilm qui facilite le transfert horizontal de gènes entre les bactéries, processus impliqué dans l'acquisition des gènes de résistance aux antibiotiques (Roux et Ghigo, 2006).

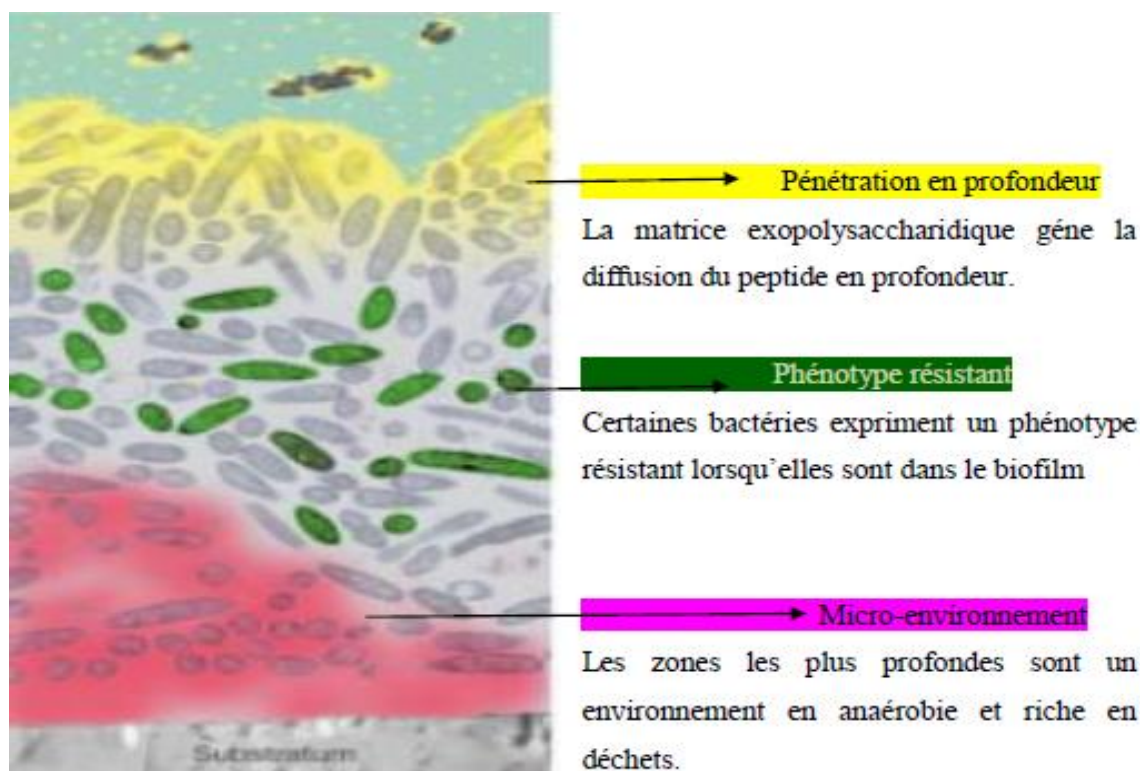


Figure 8 : Mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques (Stewart, 1996).

6. Effets bénéfiques et néfastes de biofilms

6.1. Effets bénéfiques

Les biofilms jouent un rôle positif pour notre santé, ils assurent un rôle de protection et participent au processus de digestion. Ils jouent aussi un rôle clé dans la production et la dégradation de la matière organique, dans les cycles d'azote, de soufre, ainsi dans la dégradation des polluants (Macfarlane et Dillon, 2007 ; Marchal, 2010).

Les biofilms peuvent se révéler très utiles dans le domaine agroalimentaire. La production d'éthanol dans des réacteurs dans lesquels des levures sont immobilisées sous forme de biofilms, sont utilisés également dans la production du vinaigre (acide acétique). Les réacteurs à biofilm ont également été utilisés dans la production d'antibiotiques (Alnnasouri, 2010). Ainsi, les biofilms sont employés pour traiter les eaux usées et les décharges, pour dépolluer des sites contaminés et enfin, pour mobiliser les métaux lourds d'un sol ou d'un déchet par le procédé de biolixiviation (Roux et Ghigo, 2006).

6.2. Effets néfastes des biofilms

Une estimation a révélé que 80 % des infections dans le corps humain sont dues à des microbes impliqués dans la formation de biofilms (Høiby, 2017).

Les biofilms peuvent poser un problème dans de nombreuses industries, dans l'industrie pétrolière par exemple, la colonisation des systèmes d'injection d'eau peut entraîner une acidification du pétrole qui devient alors inutilisable. La formation de biofilms dans les canalisations d'eau potable est également un problème majeur car l'ajout de chlore ne permet pas d'éliminer les bactéries fixées (Coester et Cloete, 2005). La formation des biofilms sur les métaux peut également engendrer des problèmes de corrosion susceptibles d'endommager, d'obturer et de contaminer durablement les systèmes de circulation de fluides. Dans l'industrie agro-alimentaire, les biofilms constitués d'organismes pathogènes représentent un problème sanitaire sérieux (Roux et Ghigo, 2006).

7. Biofilm de *Staphylococcus aureus* dans l'industrie alimentaire

La formation de biofilms pose des problèmes dans plusieurs filières de l'industrie alimentaire. *S. aureus* est capable de former des biofilms sur diverses surfaces : sur des surfaces dures ou sur des structures biologiques (Flemming et al., 2016). Des altérations des propriétés du substrat et des facteurs environnementaux tels que l'osmolarité, la teneur en éléments nutritifs

et la température peuvent entraîner le développement d'un biofilm staphylococcique (Rode et al., 2007 ; Pagedar et al., 2010 ; Xu et al., 2010 ; Vazquez-Sanchez et al., 2013).

Comme *S. aureus* est un composant majeur du microbiome humain, un degré élevé de manipulation peut favoriser la propagation de *S. aureus* aux aliments et aux surfaces en contact avec les aliments (Devita et al., 2008 ; Sospedra et al., 2012).

Une fois sur place, la formation de biofilms augmente la résistance de *S. aureus* aux stress agroalimentaires, tels que les agents antimicrobiens, les températures relativement élevées, les teneurs en sel élevées (Van-Houdt et Michiels, 2010; Vazquez-Sanchez et al., 2013).

8. Biofilms dans le secteur médical

La plupart des infections peuvent être traitées efficacement avec des antibiotiques, cependant il y a deux exceptions importantes : les bactéries résistantes et les bactéries qui résident dans un biofilm qui peuvent être jusqu'à 1000 fois plus résistantes au traitement d'antibiotique que les mêmes organismes planctonique (Davey et al., 2000).

9. Détection de la production de biofilms

9.1. Méthodes phénotypiques

9.1.1. Observation indirecte

➤ Microplaques de titration

La technique de microplaque de titration au cristal violet, mise au point par O'Toole et Kolter en 1998 est une technique très utilisée pour l'étude de la formation de biofilms. Les biofilms mono-espèces peuvent se former sur des supports en polystyrènes en utilisant des microplaques à 96 puits (Mathur et al., 2006).

Elle est basée sur le principe que le cristal violet se lie de manière proportionnelle à la biomasse du biofilm, permettant de visualiser les cellules qui s'attachent à la surface et se colorent en pourpre avec le cristal violet (Pratt et Kolter, 1998 ; Niu et Gilbert, 2004).

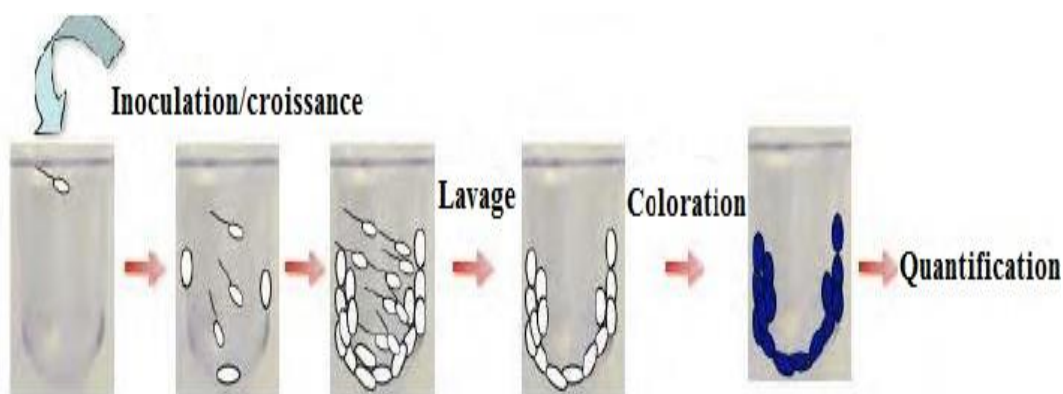


Figure 9 : Principe de quantification des biofilms en microplaques (Bellifa, 2014).

➤ Méthode du tube

La méthode du tube est un test qualitatif utilisé pour détecter la capacité d'un micro-organisme à produire un biofilm. Elle repose sur l'observation d'un film visible formé à l'intérieur d'un tube à essai en polystyrène, après une coloration à la safranine. La formation de biofilm est considérée comme positive lorsqu'un film coloré adhère aux parois et au fond du tube. En revanche, la présence d'anneaux à l'interface air-liquide n'est pas considérée comme une preuve de formation de biofilm (Figure 10) (Kirmusaoglu, 2019 ; Raksha et al., 2020).

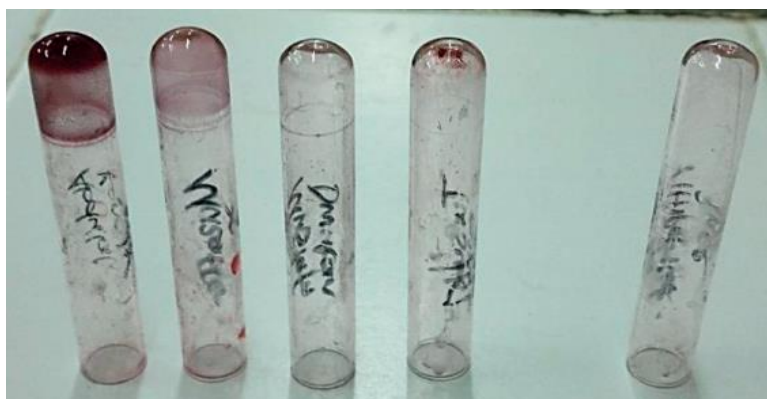


Figure 10 : Méthode des tubes. Les deux premiers tubes à essai en polystyrène à partir de la gauche indiquent la production de biofilm, les autres tubes à essai indiquent un manque de production de biofilm (Kirmusaoglu, 2019).

➤ Culture sur Rouge Congo Agar

Freeman et ses collaborateurs ont décrit un test qualitatif pour détecter les microorganismes capables de produire un biofilm, à la suite du changement de couleur des colonies inoculées sur le milieu Rouge Congo Agar. Le Rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens (PIA) formant un slime et donnant des colonies noires sur milieu RCA, contrairement aux colonies non productrices qui restent rouge (Kara Terki, 2014 ; Kirmusaoglu, 2019 ; Asghari et al., 2021).

➤ Biofilm Ring Test

Une nouvelle technique de détection et d'évaluation quantitative des biofilms décrite par Chavant et ces collaborateurs en 2007, et développé par la Société Biofilm Control, permettant de mesurer les étapes initiales de formation du biofilm sans rinçage ni coloration (Liesse Iyamba, 2012 ; Di Domenico et al., 2016).

La technique repose sur l'utilisation de microbilles magnétisables ajoutées au milieu de culture qui, après incubation, vont être soumises à l'action d'un aimant. Les billes libres dans le milieu vont alors converger vers le centre du puits, générant un spot marron/rouge visible à l'œil nu. A l'inverse, si un biofilm s'est formé au fond du puits, les billes piégées par les bactéries adhérentes et la matrice sont immobilisées, conduisant à l'absence de spot après aimantation (Huang et al., 2008).

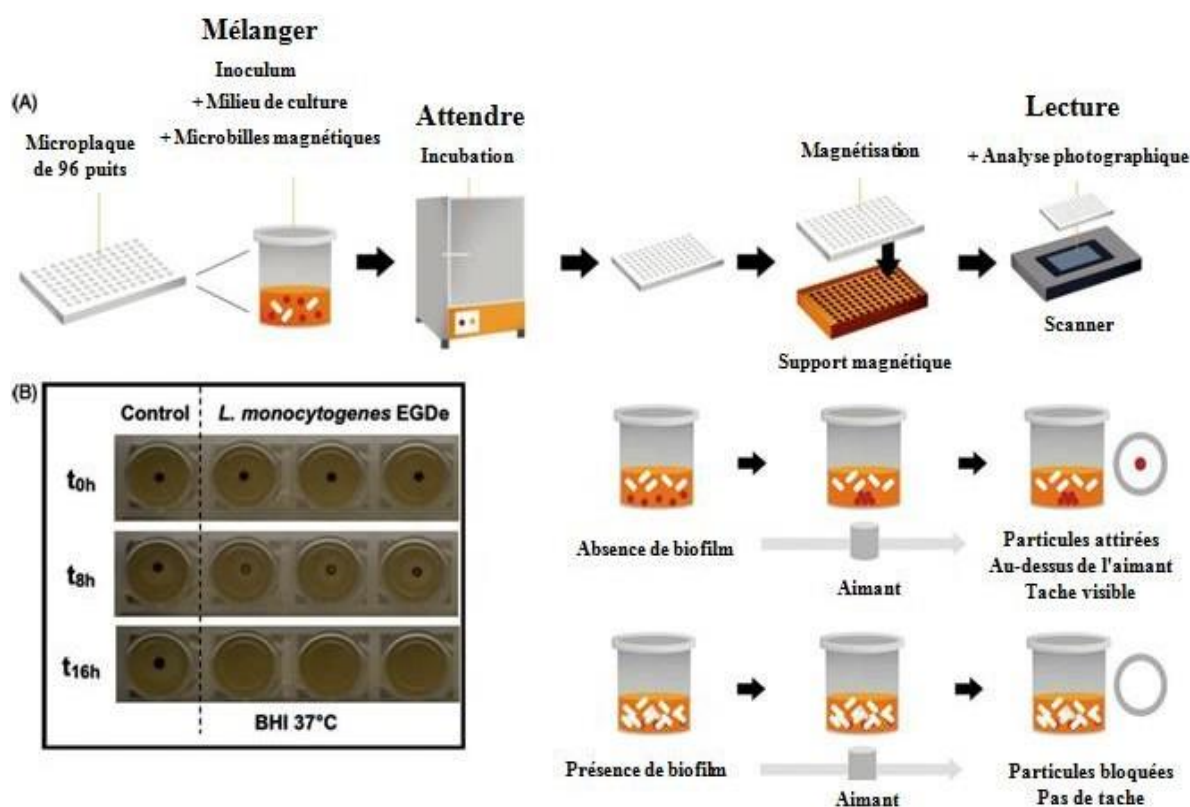


Figure 11 : Le protocole du Biofilm Ring Test (Azeredo et al., 2016).

9.1.2. Observation directe

➤ Microscopie optique

La microscopie optique est la méthode la plus simple, la moins chère, la plus pratique et la plus rapide pour observer quantitativement la morphologie des micro-organismes adhérant aux surfaces et pour estimer semi-quantitativement la quantité de micro-organismes attachés à

la surface (Kirmusaoglu, 2019). Il a été constaté que l'absorption de la lumière par les biofilms était en corrélation avec la masse cellulaire du biofilm et la masse totale du biofilm. La microscopie optique est basée sur la relation linéaire entre l'intensité d'un pixel dans les images de biofilm et le nombre correspondant de cellules. Cette relation permet le calcul de l'épaisseur du biofilm. Des colorants peuvent être utilisés parmi lesquels l'hématoxyline et l'éosine, l'acide périodique de Schiff ou la coloration de Gram de Brown and Brenn (De Carvalho et Da Fonseca, 2007 ; Davis et al., 2008).

➤ **Microscope électronique à balayage**

L'utilisation du microscope électronique à balayage pour l'étude des biofilms a permis de fournir les premières images de la surface des biofilms, révélant des structures en trois dimensions (Trinidad et al., 2010). Cette technique est réalisée en plusieurs étapes : la fixation avec de l'aldéhyde, la déshydratation avec une série d'alcool, séchage, puis la métallisation par recouvrement de l'échantillon d'une couche conductrice (tel que le platine), dont les électrons libérés par le revêtement métallique de l'échantillon sont capturés par le microscope électronique à balayage (MEB) pour la production d'images (Priester et al., 2007 ; Asahi et al., 2015 ; Kirmusaoglu, 2019).

Toutefois la déshydratation des échantillons engendre des altérations dans la structure de la matrice organique et des images déformées du biofilm sont obtenues (Priester et al., 2007, ; Trinidad et al., 2010 ; Dohnalkova et al., 2011).

Des protocoles variés sont cités dans la littérature avec des modifications visant à améliorer la visualisation des structures cellulaires par utilisation de colorants tels que le rouge de ruthénium et atténuer les déformations dues à la déshydratation de la matrice organique par des méthodes cryogéniques (Priester et al., 2007 ; Dohnalkova et al., 2011).

Comme alternative, la microscopie électronique à balayage environnemental (MEBE) consiste à déposer les échantillons dans une chambre à pression variable sans prétraitement et le glycocalyx hautement hydraté du biofilm peut être observé dans son état naturel (Williams et Bloebaum, 2010 ; Trinidad et al., 2010).

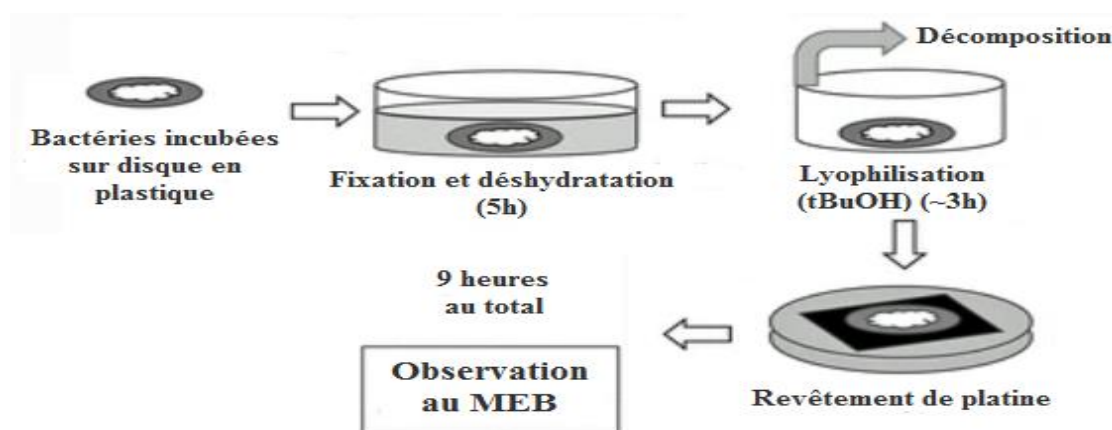


Figure 12 : Prétraitement des échantillons pour observation MEB (Asahi et al., 2015).

➤ Microscopie confocale à balayage laser

Cette technique permet d'observer aussi bien les cellules planctoniques que le biofilm. Elle permet d'aller plus loin dans la visualisation de la structure du biofilm en balayant l'échantillon en profondeur sans déformer ou abimer l'échantillon, et en multipliant les acquisitions à différentes profondeurs. Il est possible de reconstituer une image en trois dimensions du biofilm et d'acquérir des informations sur son épaisseur, sa rugosité ou son volume (Kokare et al., 2009 ; Bridier et al., 2010).

Pour l'observation du biofilm avec la microscopie confocale et les méthodes associées, le biofilm doit être fluorescent. L'emploi de différents fluorochromes permet de localiser et de décrire plus précisément les structures, la composition (polysaccharides, ADN ou protéines), et la répartition spatiale des biofilms (Kirmusaoglu, 2019).

L'utilisation d'un marquage Live/Dead composé de SYTO9 (marqueur vert allant se fixer sur l'ensemble des cellules) et d'iodure de propidium (marqueur rouge ne se fixant que sur les bactéries avec une membrane altérée) permet d'étudier la viabilité bactérienne et donc l'efficacité de traitements (Marques et al., 2015).

Il est également possible de modifier génétiquement des souches afin qu'elles expriment elles-mêmes un fluorophore comme la protéine fluorescente verte supprimant l'étape de marquage (Tolker-Nielsen et Sternberg, 2014).

La microscopie confocale peut être couplée à d'autres techniques telles que la spectroscopie Raman, l'avantage de cette combinaison réside dans la facilité de manipulation, l'échantillon ne nécessite aucune préparation ou traitement préalable, et aucun emploi de marqueur ou fluorochrome est exigé (Allakhverdiev et al., 2009).

9.2. Méthode génotypique

9.2.1. Détection des gènes associés au biofilm par PCR

Les techniques de PCR sont utilisées non seulement pour l'identification des agents pathogènes en amplifiant les séquences d'acides nucléiques spécifiques à l'espèce, mais également pour la détection des facteurs de virulence en amplifiant les gènes de virulence cibles tels que les gènes du biofilm à l'aide d'amorces spécifiques aux gènes (Kirmusaoglu, 2019).

Le gène associé au biofilm est amplifié par PCR, le produit PCR isolé est visualisé sur un gel d'agarose contenant un colorant intercalant l'ADN tel que le bromure d'éthidium pour confirmer la présence de gène amplifié. Uniquement en PCR en temps réel, l'amplicon est détecté par fluorescence à l'aide d'une paire de sondes d'hybridation spécifiques marquées au colorant de fluorescence (Madigan et al., 2015).

9.2.2. Hybridation *in situ* fluorescente

La technique d'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) est basée sur l'hybridation d'une sonde marquée par fluorescence à l'ARNr ribosomique (figure 13). Les sondes marquées avec un colorant fluorescent sont complémentaires de la séquence bactérienne de l'ARNr 16S dans les cellules bactériennes (Valpi et Bridger, 2008).

Grâce à cette méthode, des micro-organismes spécifiques présents dans une communauté de biofilm hétérogène peuvent être identifiés par la méthode des sondes d'hybridation *in situ* fluorescente (FISH). Le taux de croissance du micro-organisme dans le biofilm peut être déterminé, en raison des quantités de ribosomes existant dans un micro-organisme, qui sont directement proportionnelles à l'activité de croissance du micro-organisme (Kirmusaoglu, 2019).

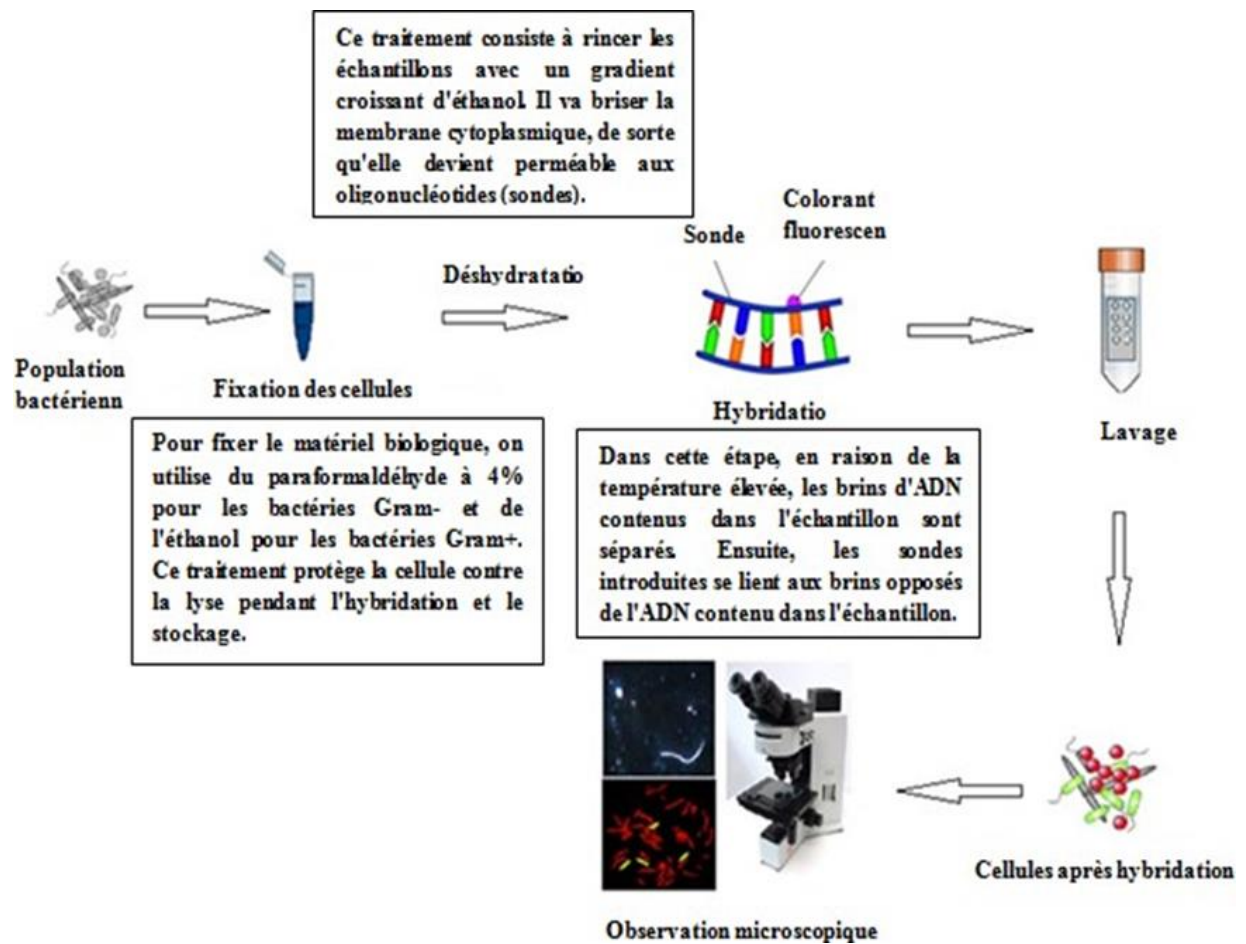
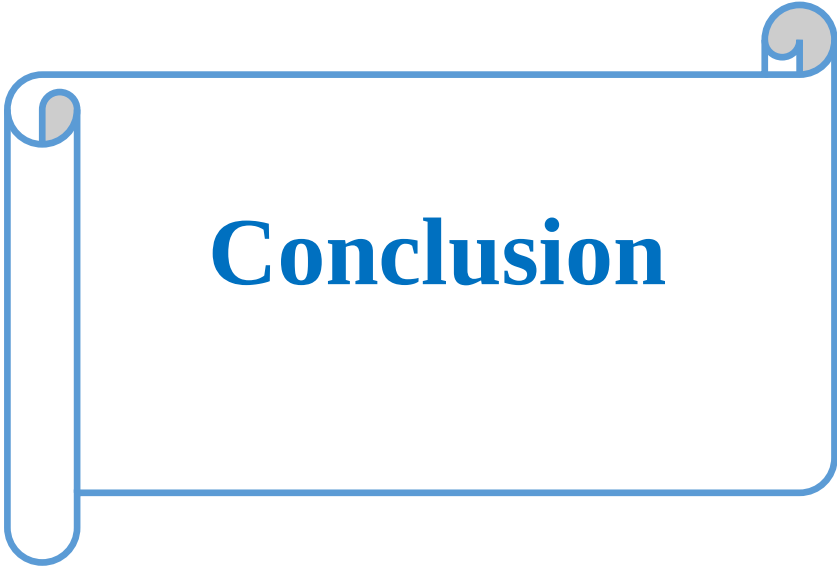


Figure 13: Méthode d'hybridation *in situ* par fluorescence (Wolf, 2017)



Conclusion

Conclusion

La mammites est une maladie endémique, reconnue comme l'une des affections les plus fréquentes et les plus coûteuses dans le secteur laitier. Elle compromet directement la qualité du lait en altérant ses caractéristiques technologiques et hygiéniques, et l'affecte également de manière indirecte en dégradant sa qualité intrinsèque. La mise en place d'une gestion rigoureuse des pratiques d'élevage et de traite est considérée comme l'un des moyens les plus efficaces pour prévenir et contrôler l'apparition de la mammites. Cette dernière est généralement causée par des agents pathogènes bactériens, classés en deux grandes catégories :

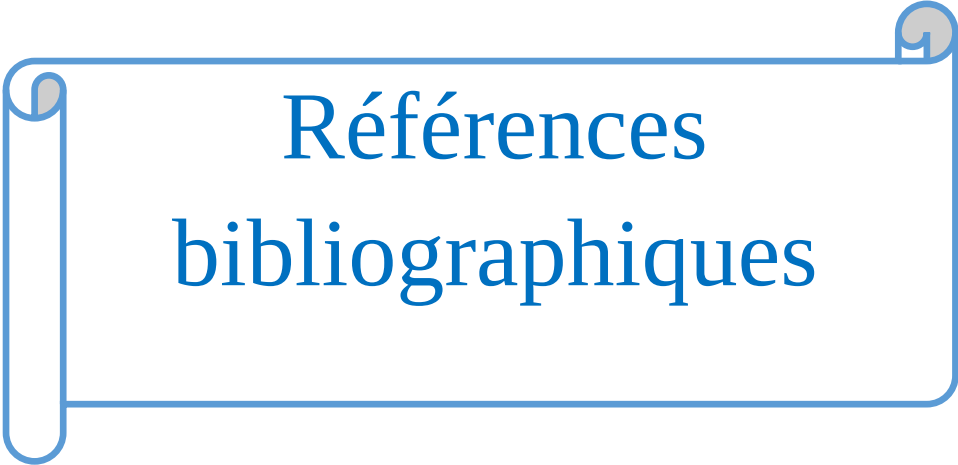
- Les agents pathogènes contagieux : tels que *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* et *Mycoplasma bovis*, colonisent principalement la glande mammaire et se transmettent essentiellement au moment de la traite.
- Les agents pathogènes environnementaux : comprennent diverses espèces de *Streptococcus* ainsi que des coliformes environnementaux, notamment des bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. D'autres bactéries à Gram négatif, comme *Serratia*, *Pseudomonas* et *Proteus*, peuvent également être impliquées dans l'infection.

La capacité de ces bactéries à former des biofilms est étroitement liée à leur aptitude à adhérer à une surface et à y constituer une couche structurée. La densité de cette couche est directement proportionnelle à la robustesse du biofilm formé. Les biofilms confèrent aux bactéries pathogènes une protection efficace contre la réponse immunitaire de l'hôte. De plus, les bactéries intégrées dans un biofilm présentent une sensibilité nettement réduite aux antibiotiques et aux désinfectants, comparativement à leurs homologues sous forme planctonique. Cette tolérance accrue repose sur plusieurs mécanismes. D'abord, la matrice polymérique extracellulaire constitue une barrière physique limitant, voire empêchant, la diffusion des substances antimicrobiennes. Les charges électrostatiques portées par cette matrice peuvent également fixer certains agents, réduisant leur efficacité. Par ailleurs, le métabolisme bactérien au sein du biofilm joue un rôle clé : la faible disponibilité en nutriments et le gradient d'oxygène induisent des états métaboliques réduits, voire de dormance, chez certaines cellules. Ces cellules dormantes seraient en grande partie responsables de la persistance du biofilm face aux traitements antimicrobiens. La forte densité cellulaire dans les biofilms favorise le transfert horizontal de gènes, notamment ceux

Conclusion

impliqués dans la résistance aux antibiotiques, contribuant ainsi à l'émergence de populations hautement résistantes (Yannick et al., 2014).

Face à la progression inquiétante des résistances antimicrobiennes et aux limites des traitements conventionnels, le recours à des stratégies alternatives devient indispensable. Parmi celles-ci, la phytothérapie, la vaccination ciblée et l'utilisation de bactériophages représentent des pistes prometteuses. Parallèlement, l'amélioration des conditions d'élevage, l'optimisation des pratiques de traite, ainsi qu'un dépistage précoce des infections restent des leviers essentiels pour limiter l'incidence de la mammite. Une approche intégrée, combinant des mesures de prévention rigoureuses, des innovations thérapeutiques et une sensibilisation accrue des éleveurs, s'avère incontournable pour assurer la santé animale, préserver la qualité du lait et garantir la durabilité de la filière laitière.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdallah, F.B., Chaieb, K., Zmantar, T., Kallel, H., Bakhrouf, A. 2009. Adherence assays and slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*. Brazilian Journal of Microbiology. 40(2), 394-398.
- Abraham, N.M., Jefferson, K.K. 2012. *Staphylococcus aureus* clumping factor B mediates biofilm formation in the absence of calcium. Microbiology (Reading). 158, 1504-1512.
- Ahmer, B.M.M. 2004. Cell-to cell signaling in *Eschericia coli* and *Salmonella enterica*. Molecular Microbiology. 52, 933-945.
- Allakhverdiev., Kerim, R., Lovera, D., Altstäedt, V., Schreier, P., Kador, L. 2009. Confocal Raman microscopy: Non destructive materials analysis with micrometer resolution. Reviews on Advanced Materials Science. 20, 77-84.
- Alnnasouri, M. 2010. Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, France.
- Asahi, Y., Miura, J., Tsuda, T., Kuwabata, S., Tsunashima, K., Noiri, Y., Sakata, T., Ebisu, S., Hayashi, M. 2015. Simple observation of *Streptococcus mutans* biofilm by scanning electron microscopy using ionic liquids. AMB Express. 5(1), 6.
- Asfaw M., Negash, A. 2017. Review on Impact of bovine mastitis in dairy production. Advances in Biological Research, 11 (3): 126-131
- Asghari, E., Kiel, A., Kaltschmidt, B.P., Wortmann, M., Schmidt, N., Hüsgen, B., Hütten, A., Knabbe, C., Kaltschmidt, C., Kaltschmidt, B. 2021. Identification of Microorganisms from Several Surfaces by MALDI-TOF MS: *P. aeruginosa* Is Leading in Biofilm Formation. Microorganisms. 9, 992.
- Aumeran, C., Balestrino, D., Forestier, C. 2020. Biofilms bactériens et santé, Encyclopédie de l'Environnement.
- Azeredo, J., Azevedo, N.F., Briandet, R., Cerca, N., Coenye, T., Costa, A.R., Desvaux, M., Bonaventura, G.D., Hébraud, M., Jaglic, Z., Kačániová, M., Knöchel, S., Lourenço, A., Mergulhão, F., Meyer, R.L., Nychas, G., Simões, M., Tresse, O., Sternberg, C. 2016. Critical review on biofilm methods, Critical Reviews in Microbiology. 43(3), 313-351.
- Barlow, J. 2011. Mastitis Therapy and Antimicrobial Susceptibility: A Multispecies Review with a Focus on Antibiotic Treatment of Mastitis in Dairy Cattle. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 16:383-407.
- Barone, R. 2001. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tom 4, Splanchnologie II. Paris : Vigot. ISBN2-7114-8188-3.896p.
- Behlou, I., Gilmore, M.S. 2008. Microbiol biofilms in ophthalmologie and infectious diseases. Archives of Ophthalmology. 126, 1572-1581.

Références bibliographiques

- Bellifa, S. 2014. Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella Pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université abou bekr belkaid, Tlemcen.
- Beloin, C., Roux, A., Svanborg, C. 2005. *Echerichia coli*, biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology. 322, 249-289.
- Bengtsson, B., Ericsson-Unnerstad, H., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Ost, M., Persson-Waller, K. 2009. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. Vet. Microbiol. 136: 142-149.
- Berthelot, V. 2018. Alimentation des animaux et qualité de leurs produits. Editions TEC & DOC. Agriculture d'Aujourd'hui, Lavoisier, pp. 442. Paris.
- Bjorklof, K., Nurmiäho-Lassila, E.L., Klinger, N., Haahtela, K., Romantschuk, M. 2000. Colonization strategies and conjugal gene transfer of inoculated *Pseudomonas syringae* on the leaf surface. Journal of Applied Microbiology. 89, 423-432.
- Bogni, C., Odierno, L., Raspanti, C., Giraudo, J., Larriestra, A., Reinoso, E., Lasagno, M., Ferrari, M., Ducrós, E., Frigerio, C., Bettera, S., Pellegrino, M., Frola, I., Dieser, S., Vissio, C. 2011. War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 483-493.
- Boles, B.R., Horswill, A.R. 2008. agr-Mediated Dispersal of *Staphylococcus aureus* Biofilms. PLoS Pathog. 4, e1000052
- Borreani, G., Ferrero, F., Nucera, D., Casale, M, Piano, S., Tabacco, E. 2019. Dairy farm management practices and the risk of contamination of tank milk from *Clostridium* spp. and *Paenibacillus* spp. spores in silage, total mixed ration, dairy cow feces, and raw milk. Journal of Dairy Science, 102: 8273-8289.
- Bouaziz, O. 2005. Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat, option: Pathologies de la reproduction. Université Mentouri de Constantine, Faculté des sciences, département des sciences vétérinaires, Algérie. 213p.
- Branger, A., Richer, M.M., Roustel, S. 2007. Quelque système microbien : les biofilms. In " Microbiochimie et alimentation". Educagri éditions, dijon,131-164.
- Breyers, J.D., Ratner, J.P. 2004. Bioinspired implant materials befuddle bacteria. ASM News. 70, 232-237.
- Bridier, A., Dubois-Brissonnet, F., Boubetra, A., Thomas, V., Briandet, R. 2010. The biofilm architecture of sixty opportunistic pathogens deciphered using a high throughput CLSM method. Journal of Microbiological Methods. 82(1), 64-70.

Références bibliographiques

- Callon, C., Duthoit, F., Delbes, C., Ferrand, M., Le Frileux, Y., De Cremoux, R., Montel, M.C. 2007. Stability of microbial communities in goat milk during a lactation year: molecular approaches. *Systematic and Applied Microbiology*, 30: 547-560.
- Charton, C., Larroque, H., Robert-Granie, C., Pomies, D., Lecler, H., Friggens, N.C., Guinard-Flament, J. 2016. Individual responses of dairy cows to a 24-hour milking interval. *Journal of Dairy Science*, 99: 3103-3112.
- Chen, Y., Busscher, H.J., van der Mei, H.C., Norde, W. 2011. Statistical analysis of long- and short-range forces involved in bacterial adhesion to substratum surfaces as measured using atomic force microscopy. *Applied and Environmental Microbiology Journal*. 77, 5065-70.
- Christopher, M-W., Bassler, B. 2007. Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 21, 319-46.
- Clegg, T.A., Lynch, P.J., O'grady, L., More, S.J. 2013. The effect of somatic cell count data adjustment and interpretation, as outlined in European Union legislation, on herd eligibility to supply raw milk for processing of dairy products. *Journal of Dairy Science*, 96: 3671-3681
- Coester, S., Cloete, T. 2005. Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. *Critical Reviews in Microbiology*. 31, 213-232.
- Croguennec, T., Jeantet, R., Brulé, G. 2008. Fondement physicochimique de la technologie laitière. Lavoisier TEC and DOC, 176p., 978-2743010331. (hal-00729142)
- Cucarella, C., Solano, C., Valle, J., Amorena, B., Lasa, Í., Penadés, J.R. 2001. Bap, a *Staphylococcus aureus* Surface Protein Involved in Biofilm Formation. *Journal of Bacteriology*. 183(9), 2888–2896.
- Davey, M.E., O'Toole, G.A. 2000. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64, 847-867.
- Davis, S.C., Ricotti, C., Cazzaniga, A., Welsh, E., Eaglstein, W.H., Mertz, P.M. 2008. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization *in vivo*. *Wound Repair and Regeneration*. 16(1), 23-29.
- De Carvalho, C., Da Fonseca, M. 2007. Assessment of three-dimensional biofilm structure using an optical microscope. *Biotechniques*. 42, 616-620.
- Devita, M.D., Wadhera, R.K., Theis, M.L., Ingham, S.C. 2008. Assessing the potential of *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* transfer to foods and customers via a survey of hands, hand-contact surfaces and food-contact surfaces at foodservice facilities. *Journal of Foodservice*. 18, 76-79.
- Di Domenico, E.G., Toma, L., Provot, C., Ascenzioni, F., Sperduti, I., Prignano, G., Gallo, M.T., Pimpinelli, F., Bordignon, V., Bernardi, T., Ensoli, F. 2016. Development of an *in vitro* Assay, Based on the BioFilm Ring Test®, for Rapid Profiling of Biofilm-Growing Bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 7.

Références bibliographiques

- Dohnalkova, A.C., Marshall, M.J., Arey, B.W., Williams, K.H., Buck, E.C., Fredrickson, J.K. 2011. Imaging Hydrated Microbial Extracellular Polymers: Comparative Analysis by Electron Microscopy. *Applied and environmental microbiology*. 77, 1254-1262.
- Donlan, R.M., Costerton, J.W. 2002. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*. 15 (2), 167-193.
- Drago, L., Toscano, M. 2017. Biofilm Formation and the Biological Response, Management of Periprosthetic Joint Infections (PJIs), 25-39.
- El Nabrawy, E., Hussein, E., Mansour, E.S., Abd El-Hamid, M.N. 2015. Field trials for the treatment of she-camel mastitis in Sharkia Governorate. *Zagazig Veterinary Journal*, 43(3) : 159-169.
- Fartas, H., Bouzebda, Z., Afri, F., Khamassi, S. 2017. Prévalence et impact des mammites subcliniques sur la rentabilité de bovins laitiers dans l'extrême Est Algérien. *Livestock Research for Rural Development*, 29:9.
- Ferreira, C., Pereira, A.M., Melo, L.F. 2010. Advances in industrial biofilm control with micro-nanotechnology. *Applied Microbiology*, 845-854.
- Feuillie, C., Formosa-Dague, C., Hays, L.M.C., Vervaeck, O., Derclaye, S., Brennan, M.P., Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Dufrêne, Y.F. 2017. Molecular interactions and inhibition of the staphylococcal biofilm-forming protein SdrC. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 114(14), 3738-3743.
- Flemming, H-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S.A., Kjelleberg, S. 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*. 14, 563-575.
- Folkesson, A., Haagenen, J.A.J., Zampaloni, C., Sternberg, C., Molin, S. 2008. Biofilm induced tolerance towards antimicrobial peptides. *Public Library of Science*. 3(4), 1-11.
- Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K. 2014. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*. 12(1), 49-62.
- Garrett, T.R., Bhakoo, M., Zhang, Z. 2008. Bacterial Adhesion and Biofilms on Surfaces. *Progress in Natural Science*. 18(9), 1049-56.
- Gaucheron, F. 2010. Diversité des laits et des produits laitiers dans le monde. Colloque Cultures des laits du Monde Observatoire CNIEL des habitudes alimentaires, May 2010, Paris, France.
- Gelasakis, A.I., Mavrogianni, V.S., Petridis, I.G., Vasileiou, N.G.C., Fthenakis G.C. 2015. Mastitis in sheep: the last 10 years and the future of research. *Vet. Microbiol*, 181:136-46.
- Geresu, M.A., Abera Leliso, S., Liben, G.W. 2021. Camel mastitis: Prevalence, risk factors, and isolation of major bacterial pathogens in Gomole district of Borena zone, southern Ethiopia. *Veterinary Medicine International*, 1 : 9993571.

Références bibliographiques

- Ghigo, J.M. 2001. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*. 412, 442-445.
- Goller, C.C., Romeo, T. 2008. Environmental influences on biofilm development. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 322, 37-66.
- Grenon, C., Fournier, S., Goulet, J. 2004. Lait de qualité. Symposium sur les bovins laitiers, Longueuil, Québec.
- Guiraud, J.P. 1998. Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologique. Ed : Dunod. 696 pp.
- Hamadi, F., Latrache, H., El Ghmari, A., Ellouali, M., Mabrouki, M., Kouider, N. 2004. Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of Microbiology*. 54, 213-225.
- Haras, D. 2005. Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux & Techniques*. 93, 27–41.
- Høiby, N. 2017. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*. 125, 272-275.
- Hori, K., Matsumoto, S. 2010. Bacterial adhesion : from mechanism to control. *Biochemical engineering journal*. 48, 424-434.
- Hornby, J.M., Jensen, E.C., Lisec, A.D., Tasto, J.J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., Nickerson, K.W. 2001. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(7), 2982-2992.
- Huang, Z., Meric, G., Liu, Z., Ma, R., Tang, Z., Lejeune, P. 2008. luxS-Based Quorum-Sensing Signaling Affects Biofilm Formation in *Streptococcus mutans*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 17(1), 12–19.
- Irie, Y., Parsek, M. 2008. Quorum sensing and microbial biofilm, *Current topics in microbiology and immunology*. 322, 67-84.
- Jacobsen, S.M., Stickler, D.J., Mobley, M.L., Shitiliff, M.E. 2008. Complicated Catheter associated urinary tract infectious due to *Echerichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical Microbiology Reviews*. 21, 26-59.
- Jeantet R., Croguennec T., Garric G., Brule, G. 2017. Initiation à la Technologie fromagère. 2^{ème} Ed., Editions TEC & DOC, Lavoisier, Paris. 209p
- Kaplan, J.B. 2010. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of Dental Research*. 89(3), 205-218.
- Karatan, E., Watnick, P. 2009. Signals Regulatory Networks and Materials That Build and Break Bacterial Biofilms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 73, 310-347.

Références bibliographiques

- Kara-Terki, I. 2014. Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de Staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat .Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- Katsikogianni, M., Missirlis, Y.F. 2004. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria material interactions. *European Cells and Materials Journal*. 8, 37-57.
- Khan, M.Z., Khan, A. 2006. Basic facts of mastitis in dairy animals: a review. *Pakistan Vet. J.* 26: 204-208.
- Khodaei, M., Yahyaei, M., Rezaei, M., Ghorbanpour, M. 2013. Study on antibacterial effect of thyme and peppermint aqueous extracts on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains causing mastitis in camels. *International Journal of Traditional and Herbal Medicine*, 1(4), 112-115.
- Kibebew K. 2017. Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 7: 01
- Kiedrowski, M.R., Kavanaugh, J.S., Malone, C.L., Mootz, J.M., Voyich, J.M., Smeltzer, M.S., Bayles, K.W., Horswill, A.R. 2011. Nuclease Modulates Biofilm Formation in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *PLOS ONE*. 6, e26714,
- Kirmusaoğlu, S. 2019. The methods for detection of biofilm and screening antibiofilm activity of agents. In *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*, IntechOpen, London, UK.
- Klein, G. 2011. Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines. Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale, Bretagne.
- Kobayashi, S.D., Malachowa, N., DeLeo, F.R. 2015. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* abscesses. *American Journal of Pathology*. 185(6), 1518-1527.
- Kokare, C.R., Chakraborty, S., Khopade, A.N., Mahadik, K.R. 2009. Biofilm: Importance and applications. *Indian Journal of Biotechnology*. 8, 159-168.
- Kranjec, C., Morales Angeles, D., Torrisen Mårli, M., Fernández, L., García, P., Kjos, M., Diep, D.B. 2021. Staphylococcal Biofilms: Challenges and Novel Therapeutic Perspectives. *Antibiotics*. 10(2), 131.
- Kuchma, S.L., Connolly, J.P., O'toole, G.A. 2005. A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type III secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*. 187(4), 1441-1454.
- Kunda, J., Fitzpatrick, J., Kazwala, R. 2007. Health-seeking behaviour of human brucellosis cases in rural Tanzania. *BMC Public Health* 7, 315
- Lebeaux, D., Lucet, J.C., Barbier, F.S. 2016. Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm implications en réanimation. *Réanimation*. 25(3), 08-317.

Références bibliographiques

- Leymarios, C. 2010. Florence. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras : voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse de Doctorat , E.N.V. D'alfort, 113p, Créteil
- Liesse Iyamba, J-M. 2012. Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique. Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles d'Europe, France.
- Lister, J.L., Horswill, A.R. 2014. *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 4, 178.
- Lorite, G.S., Rodrigues, C.M., De Souza, A.A., Kranz, C., Mizaikoff, B., Cotta. M.A. 2011. The Role of Conditioning Film Formation and Surface Chemical Changes on *Xylella Fastidiosa* Adhesion and Biofilm Evolution. *Journal of Colloid and Interface Science*. 359(1), 289-95.
- Macfarlane, S., Dillon, J.F. 2007. Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*. 102, 1187-1196.
- Mack, D., Fischer, W., Krokotsch, A., Leopold, K., Hartmann, R., Egge, H., Laufs, R. 1996. The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear beta-1,6-linked glucosaminoglycan: purification and structural analysis. *Journal of Bacteriology*. 178(1), 175-183.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., Stahl, D.A. 2015. *Brock Biology of Microorganisms*. 14^{ed}. The United States of America: Pearson Education.
- Marchal, M. 2010. Etude des biofilms bactériens arsénite-oxydants. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg, France.
- Marinelli, P., Pallares, I., Navarro, S., Ventura S. 2016. Dissecting the contribution of *Staphylococcus aureus* α -phenol-soluble modulins to biofilm amyloid structure. *Scientific Reports*. 6, 34552.
- Marquès, C., Tasse, J., Pracros, A., Collin, V., Franceschi, C., Laurent, F., Chatellier, S., Forestier, C. 2015. Effects of antibiotics on biofilm and unattached cells of a clinical *Staphylococcus aureus* isolate from bone and joint infection. *Journal of Medical Microbiology*. 64(9), 1021-1026.
- Martinez, L.R., Casadevall, A. 2007. *Cryptococcus neoformans* Biofilm Formation Depends on Surface Support and Carbon Source and Reduces Fungal Cell Susceptibility to Heat, Cold, and UV Light. *Applied and Environmental Microbiology Journal*. 73(14), 4592-4601.
- Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D.J., Fatma, T., Rattan, A. 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 24(1), 25-9.
- McDougald, D., Rice, S.A., Barraud, N., Steinberg, P.D., Kjelleberg, S. 2012. Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*. 10, 39-50.
- Michel, V., Hauwuy, A., Chamba, J.F. 2001. La flore microbienne de laits crus de vache : Diversité et influence des conditions de production. *Lait*, (81) :575-592.

Références bibliographiques

- Mootz, J.M., Malone, C.L., Shaw, L.N., Horswill, A.R. 2013. Staphopains Modulate *Staphylococcus aureus* Biofilm Integrity. *Infection and Immunity Journal*. 81, 3227-3238.
- Nilsson, R.E., Ross, T., Bowman, J.P. 2011. Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 150(1), 14-24.
- Niu, C., Gilbert, E.S. 2004. Colorimetric Method for Identifying Plant Essential Oil Components that Affect Biofilm Formation and Structure. *Applied and environmental microbiology*. 70, 6951-6956.
- O'May, C., Tufenkji, N. 2007. The Swarming Motility of *Pseudomonas aeruginosa* Is Blocked by Cranberry Proanthocyanidins and Other Tannin-Containing Materials. *Applied and Environmental Microbiology*. 77, 3061-3067.
- Oliver, S.P., Murinda, S.E., Jayarao B.M. 2011. Impact of Antibiotic Use in Adult Dairy Cows on Antimicrobial Resistance of Veterinary and Human Pathogens: A Comprehensive Review. *Foodborne pathogens and disease*, 8:337-355.
- Otto M. 2020. *Staphylococcus epidermidis*: the “accidental” pathogen, *Nat Rev Microbiol*. 7(8): 555–567
- Pagedar, A., Singh, J., Batish, V.K. 2010. Surface hydrophobicity, nutritional contents affect *Staphylococcus aureus* biofilms and temperature influences its survival in preformed biofilms. *Journal of Basic Microbiology*. 50, S98-S106.
- Pamela, L., 2017. A 100-Year Review, Mastitis detection, management, and prevention, Department of Dairy Science, University of Wisconsin, Madison 53706. *Jornal of Dairy Science*. 10: 1-17.
- Parot, S. 2007. Biofilms électroactifs : formation, caractérisation et mécanismes. Thèse de doctorat. L'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- Percival, S.L., Malic, S., Cruz, H., Williams, D.W. 2011. Introduction aux biofilms. In *Biofilms and veterinary medicine*, Springer, Heidelberg, 41-69.
- Perrin, C. 2009. Implication et régulation de la production des curli dans la résistance au nickel au sein de biofilms d'*Escherichia coli* K-12. L'Université Lyon I-Claude Bernard, France.
- Peschel, A., Otto, M. 2013. Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection. *Nature Reviews Microbiology*. 11(10), 667-673.
- Peton, V., Le Loir, Y. 2014. *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infect. Genet. Evol*, 21:602–615.
- Pratt L, A., Kolter, R. 1998. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology*. 30, 285-293.

Références bibliographiques

- Priester, J.H., Horst, A.M., Van De Werfhorst, L.C., Saleta, J.L., Mertes, L.A.K., Holden, P.A. 2007. Enhanced Visualization of Microbial Biofilms by Staining and Environmental Scanning Electron Microscopy. *Journal of Microbiological Methods*. 68(3), 577-87.
- Raksha, L., Gangashettappa, N., Shantala, G.B., Nandan, B.R., Sinha, D. 2020. Study of biofilm formation in bacterial isolates from contact lens wearers. *Indian Journal of Ophthalmology*. 68, 23-28.
- Ramuada, M., Tyasi, T.L., Gumede, L., Chitura, T. 2024. A practical guide to diagnosing bovine mastitis: a review. *Front. Anim. Sci.*, 5. <https://doi.org/10.3389/fanim.2024.1504873>.
- Rode, T.M., Langsrud, S., Holck, A., Møretrø, T. 2007. Different patterns of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* under food-related stress conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 116, 372-383.
- Rohde, H., Burdelski, C., Bartscht, K., Hussain, M., Buck, F., Horstkotte, M.A., Knobloch, J.K.-M., Heilmann, C., Herrmann, M., Mack, D. 2005. Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by staphylococcal and host proteases. *Molecular Microbiology*. 55(6), 1883-1895.
- Rosini R., Margarit I. 2015. Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: influence of environmental conditions and implicated virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(6),1-4
- Ross, J.F. 2010. La réponse au farnésol de *Candida albicans*: production de biofilms et parenté génétique. Mémoire de Maîtrise en Microbiologie et Immunologie, Université de Montréal.
- Roux, A., Chigo, J.M. 2006. Les biofilms bactériens. Communication. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 3, 262-266.
- Royster, E., Magner, S. 2015. Treatment of mastitis in Cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 31(1):17-46.
- Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Sari-Belkharroubi, L., Boucherit, K. 2016. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (*Candida*- bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. *Journal de Mycologie Médicale*. 27, 20-27.
- Shapiro, J.A. 1998. Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annual Review of Microbiology*. 52, 81-104.
- Sospedra, I., Mañes, J., Soriano, J.M. 2012. Report of toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) from *Staphylococcus aureus* isolated in food handlers and surfaces from food service establishments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 80, 288-290.
- Spiers, A.J., Bohannon, J., Gehrig, S.M., Rainey, P.B. 2003. Biofilm formation at the air-liquid interface by the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose. *Molecular microbiology*. 50(1), 15-27.

Références bibliographiques

- Stanley, N.R., Lazazzera, B.A. 2004. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Molecular Microbiology*. 52, 917-924.
- Stewart, P.S. 1996. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 40, 2517–22.
- Stewart, P.S., Costerton, J.W. 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*. 358,135-138.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W. 2002. Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology*. 56, 187-209.
- Taglialegna, A., Navarro, S., Ventura, S., Garnett, JA., Matthews, S., Penades, JR., Lasa, I., Valle, J. 2016. Staphylococcal Bap Proteins Build Amyloid Scaffold Biofilm Matrices in Response to Environmental Signals. *PLOS Pathogens*. 12(6), e1005711.
- Tenke, P., Kovacs, B., Jackel, M., Nagy, E. 2006. The role of biofilm infection in urology. *World Journal of Urology*. 24, 13-20.
- Tolker-Nielsen, T., Sternberg, C. 2014. Methods for studying biofilm formation: flow cells and confocal laser scanning microscopy. *Methods in Molecular Biology*. 1149, 615-629.
- Treter, J., Macedo, AJ. 2011. Catheters: a suitable surface for biofilm formation. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. 835-839.
- Trevisi, E., Zecconi, A., Cogrossi, S., Razzuoli, E., Grossi, P., Amadori M. 2014. Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. *Research in Veterinary Science*, 96(2):229-33.
- Trinidad, A.A., Ibáñez, D., Gómez, J.R., García-Berrocal, R., Ramírez-Camacho. 2010. Application of environmental scanning electron microscopy for study of biofilms in medical devices. *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education A*. Méndez-Vilas and J. Díaz (Eds.). Formatex.
- Tuteja, F.C., Dixit, S.K., Patil, N.V., Suchitra Sena, D., Singh, S. 2013. Camel mastitis. A technical bulletin. Jorbeer, Shivbari, Bikaner-334001: National Research Centre on Camel.
- Valpi, E., Bridger, J. 2008. FISH glossary: an overview of the fluorescence in situ hybridization technique. *BioTechniques*. 45, 385-409.
- Van Houdt, R., Michiels, C.W. 2005. Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in microbiology*. 156(5), 626-633.
- Vanassche, T., Peetermans, M., Van Aelst, LNL., Peetermans, WE., Verhaegen, J., Missiakas, DM., Schneewind, O., Hoylaerts, MF., Verhamme, P. 2013. The role of staphylothrombin-mediated fibrin deposition in catheter-related *Staphylococcus aureus* infections. *The Journal of Infectious Diseases*. 208(1), 92-100.
- Vargova, M., Vyrostkova, J., Lakticova, K. V., Zigo, F. 2023. Effectiveness of sanitation regime in a milking parlour to control microbial contamination of teats and surfaces teat cup. *Ann Agric Environ Med.*, 30(1), 55-60. <https://doi.org/10.26444/aaem/161037>

Références bibliographiques

- Vázquez-Sánchez, D., Habimana, O., Holck, A. 2013. Impact of food-related environmental factors on the adherence and biofilm formation of natural *Staphylococcus aureus* isolates. *Current Microbiology*. 66, 110-121.
- Vadrine, M. 2019. Rôle de l'antigène O dans la reconnaissance d'*Escherichia coli* par les cellules épithéliales mammaires bovines et modulation par le CD14 soluble. Thèse de Doctorat. Université de Tours.
- Vignola, C. 2002. Science et technologie du lait : Transformation du lait. 2^{ème} Ed. École polytechnique de Montréal, ISBN (3) 25-29 pp 600.
- Vuong, C., Otto, M. 2002. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and Infection*, 4(4), 481–489.
- Wallis J.K., Krömker, V., Paduch, J.H. 2018. Biofilm formation and adhesion to bovine udder epithelium of potentially probiotic lactic acid bacteria, *AIMS Microbiology*, 4(2): 209–224
- Wang, G. Zhao, G. Chao, X. Xie, L. Wang H. 2020. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 32(3), 293-298
- Wang, R., Braughton, K.R., Kretschmer, D., Bach, T-H.L., Queck, S.Y., Li, M., Kennedy, A.D., Dorward, D.W., Klebanoff, S.J., Peschel, A., DeLeo, F.R., Otto, M. 2007. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nature Medicine*. 13(12), 1510-1514.
- Wanjohi, G.M. 2014. Occurrence of subclinical mastitis, brucellosis and factors responsible for camel milk contamination in Garissa and Wajir districts of north-eastern Kenya (Master's thesis, University of Nairobi).
- Waters, C.M., Bassler, B.L. 2005. Quorum sensing : cell-to-cell communication in bacteria. *Annual review of cell and developmental biology*. 21, 319-346.
- Williams, D.L., Bloebaum, R.D. 2010. Observing the biofilm matrix of *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 grown using the CDC biofilm reactor. *Microsc Microanal*. 16(2), 143-152.
- Williamson, J.H., Lacy-Hulbert S.J. 2013. Effect of disinfecting teats post-milking or pre-and post-milking on intramammary infection and somatic cell count. *New Zealand Veterinary Journal*, 61:262-268.
- Wolf, M. 2017. Biofilm biodiversity presented by fluorescent in situ hybridisation. Wrocław University of Science and Technology, Faculty of Environmental Engineering, Department of Sanitary Biology and Ecotechnology, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, Poland.
- Xu L., Wang W., Zhang X., Ma K., Wang H., Xue T. 2024. Role of LsrR in the regulation of biofilm formation in mammary pathogenic *Escherichia coli*. *BMC Veterinary Research*. 20:200
- Xu, H., Zou, Y., Lee, H.Y., Ahn, J., 2010. Effect of NaCl on the biofilm formation by foodborne pathogens. *Journal of Food Science*. 75(9), M580-M585.

Références bibliographiques

- Yannick, D., Tremblay, N., Hathroubi, S., Jacques M. 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. The Canadian Journal of Veterinary Research, 78:110–116
- Zapotoczna, M., O'Neill, E., O'Gara, JP. 2016. Untangling the Diverse and Redundant Mechanisms of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation. PLOS Pathogens. 12(7).