

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques
Département Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : **Microbiologie appliquée**

**Caractérisation phénotypique et analyse comparative des facteurs
de virulence et son association avec l'antibiorésistance chez
Escherichia coli aviaire pathogènes (APEC) et fécales (AFEC)**

Réalisé par :

- M^{elle} MESSAOUI Thanina
- M^{elle} KHETTAOUI Fatma
- M^r MAZARI Billal

Composition du jury

Président	M ^r TITOUCHE.Y	MCA	UMMTO
Examineur	M ^r MSELA. A	MCB	UMMTO
Promotrice	M ^{me} MEGUENNI. N	MCA	UMMTO
Co-promotrice	M ^{me} IZERGHOUF. T	Doctorante	UMMTO

Année Universitaire : 2024/2025

A decorative horizontal scroll with a thin black border and rounded ends, containing the title text.

Remerciements

Au terme de ce parcours académique, nous élevons d'abord notre gratitude vers Dieu, le Miséricordieux et le Tout-Puissant, qui nous a accordé persévérance et courage pour mener à bien ce travail de recherche.

*Notre reconnaissance s'adresse ensuite chaleureusement à notre Promotrice, Madame **MEGUENNI Nacima**, dont l'encadrement rigoureux, les précieux conseils et le soutien constant ont été déterminants dans l'aboutissement de ce projet. Sa disponibilité et sa bienveillance ont grandement facilité notre cheminement académique.*

*Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude envers notre Co-promotrice, Madame **IZERGHOUF Tenhinene**, pour son accompagnement attentif, ses orientations judicieuses et son appui inestimable tout au long de ce travail de recherche.*

Notre sincère appréciation à l'ensemble du personnel du laboratoire de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques, département biochimie et microbiologie.

*Nous exprimons notre remerciement aux membres du jury, Monsieur **TITUCHE Yacine**, Président du jury, et Monsieur **MSELA Amine**, Examineur, qui nous honorent en acceptant d'évaluer notre travail et dont les observations contribueront assurément à parfaire notre formation.*

Nous adressons nos remerciements à toutes les personnes qui, par leur soutien moral, intellectuel ou logistique, ont participé directement ou indirectement à la concrétisation de ce mémoire de fin d'études.

A horizontal decorative scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is slightly curved at the ends, giving it a three-dimensional appearance.

Dédicaces



Dédicace

*À mes chers parents **Fatiha et Mohand**, Qui m'ont toujours motivée et soutenue dans mes études. Votre confiance et vos encouragements ont été ma plus grande force. Ce travail est le fruit de votre dévouement et de votre amour inconditionnel.*

*À mon frère **Nadir**, Pour ton soutien qui m'a permis de poursuivre mes études. Ta présence dans ma vie est un véritable pilier.*

*À ma sœur **Lydia**, Pour ton soutien et **son mari Saïd**, merci pour votre aide précieuse et vos encouragements constants. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir soutenue dans cette aventure.*

*À mon petit neveu **Ilan**, Qui apporte tant de joie et de bonheur dans notre famille. Que ce travail soit pour toi une source d'inspiration pour l'avenir.*

Ce mémoire représente l'aboutissement d'un parcours que je n'aurais jamais pu accomplir sans votre présence à mes côtés. Votre amour et votre soutien m'ont donné la force de persévérer et de réussir.

Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Thanina



Dédicace

*Tout d'abord, je tiens à remercier **Dieu**,
de m'avoir donné la force, la patience et le courage de mener à bien
ce modeste travail.*

Sans Sa miséricorde et Sa guidance, rien n'aurait été possible.

*Je dédie ce travail : À ma mère, **Naima**,
Ton amour, ta force, et ta tendresse m'ont accompagné à chaque
étape de ce parcours.
Tu es le pilier de ma vie, celle qui m'a appris à croire en moi malgré
les doutes et les obstacles.*

*Merci pour ton soutien indéfectible et ton cœur immense.
Ce mémoire est un reflet de ton courage à travers moi.*

*À mon père, **Said**,
Ta rigueur, tes conseils, et ta confiance m'ont guidé tout au long
de mon chemin.*

*Tu m'as appris la valeur de l'effort et de la persévérance.
Merci pour ta présence, même discrète, mais toujours précieuse.
Ce travail est aussi le fruit de ce que tu m'as transmis.*

*À mes petits frères, **Riadh** et **Hamza**,
Votre énergie, vos sourires, et votre complicité sont une source
de bonheur et de motivation.*

Je vous dédie ce mémoire avec tout mon amour.

*À mon cher ami **Chafik**,
Merci pour ta présence, ton écoute, et ton amitié sincère.
Ton soutien, dans les moments de doute comme dans les instants
de joie, a été d'une grande valeur.
Ta confiance en moi m'a souvent aidé à continuer.*

Fatma



Dédicace

*À Toi, l'Invisible,
Souffle d'éternité qui murmure aux cœurs éveillés,
Ombre bienveillante dans la clarté du doute,
Toi qui vois sans être vu,*

J'offre le fruit humble de ce long pèlerinage.

À ma douce constellation terrestre

***Mon père**, pilier silencieux que nul vent n'ébranle,
Ma mère, source intarissable d'amour et de lumière,*

***Nabil et Fawzi**, mes frères d'écorce et d'âme,
Sentinelles discrètes veillant sur mes pas,
Et Malak, perle d'innocence, rire d'aurore,
Promesse d'un monde plus doux.*

*À mes binômes fidèles, **Fatma et Thanina**,
Compagnes d'effort et d'espérance,
Dans le tumulte des jours studieux,
Vous fûtes les éclats de joie, les silences complices,
Les rames qui ont aidé ma barque à franchir les tempêtes.*

*À vous tous,
Je dépose ces pages comme on dépose un chant au bord du monde
Un chant tissé d'amour, de labeur et de foi. Car les plus beaux
voyages se tracent à l'encre du cœur,
Et les plus grandes victoires naissent des liens tissés dans l'ombre.*

Billal

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Données générales sur *Escherichia coli*

1- <i>Escherichia coli</i>	3
1.1- Définition.....	3
1.2- Historique	3
1.3- Habitat.....	4
1.4- Classification.....	4
1.5- Caractère bactériologique d' <i>E. coli</i>	6
1.6- Caractères physico-chimiques	7
1.7- Virulence.....	7

Chapitre 2 : Les *E. coli* pathogènes et fécaux aviaires et la colibacillose

1- Les <i>E. coli</i> pathogènes aviaires (APEC)	8
1.1- Définition.....	8
1.2- Prévalence des sérotypes d' <i>E. coli</i>	8
1.3- Classification phylogénétique des APEC	8
1.4- Transmission.....	8
2- La colibacillose.....	9
2.1- Définition.....	9
2.2- Facteurs contrôlant l'apparition de la maladie.....	9
2.3- Mécanisme de l'infection par <i>E. coli</i>	10
2.4- Pathologies associées à la colibacillose aviaire	11
2.5- Potentiel zoonotique	12
2.6- Prévention et contrôle	12
2.7- Traitement.....	12
3- Les <i>E. coli</i> fécaux aviaires (AFEC)	14
3.1- Définition.....	14
3.2- Caractéristiques générales	14
3.3- Modèles animaux pour étudier les AFEC.....	14
3.4- <i>E. coli</i> commensales et pathogénicité.....	14
3.5- Relation AFEC et pathogénicité	14
3.6- Prévalence et risque des AFEC dans les élevages de volailles.....	15
3.7- Transmission des AFEC des volailles aux humains	15
3.8- Stratégies de contrôle et de prévention des AFEC	15

Chapitre 3 : La virulence et les facteurs de virulence

1- La virulence et les facteurs de virulence.....	16
1.1- La virulence.....	16
1.2- Les facteurs de virulence.....	16
1.3- Les facteurs de virulence chez les APEC et les AFEC	16
1.4- Rôle des plasmides dans la virulence des APEC	22
1.5- Différence dans les profils de gènes de virulence entre APEC et AFEC.....	22
1.6- Implications pour la santé publique et la vaccination	22
1.7- Importance des gènes de virulence dans le diagnostic des APEC	23

Partie expérimentale
Chapitre 4 : Matériels et méthodes

Objectif du travail

Lieu et durée du stage

Prévenance des souches testées

1- Matériels	26
2- Méthodes.....	26
2.1- La fixation du Rouge Congo	26
2.2- La résistance au sérum	27
2.3- La recherche de l'hémolysine	27
2.4- La formation de biofilms.....	28

Analyse statistique

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1- Résultats.....	31
1.1- Résultats de la fixation du Rouge Congo	31
1.2- Résultats de la résistance au sérum	31
1.3- Résultats de la recherche d'hémolysine	32
1.4- Résultats de la formation de biofilm sur Rouge Congo	32
1.5- Résultats de la formation de biofilm sur microplaque	34
2- Analyse de la capacité de formation de biofilm par mesure de densité optique.....	34
3- Analyse statistique de corrélation entre antibiorésistance et facteurs de virulence.....	35
4- Corrélation entre les facteurs de virulence d' <i>Escherichia coli</i>	36
5- Analyse comparative des profils de virulence des souches APC et AFEC : relation entre le nombre de facteurs de virulence et le potentiel pathogène chez <i>Escherichia coli</i> aviaire	37

Discussion 39

Conclusion 44

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Facteurs prédisposant aux infections par la colibacillose chez les volailles.	9
Figure 2 : Transmission et pathogenèse de l'infection APEC.....	10
Figure 3 : Les sites et manifestations cliniques des infections APEC, ainsi que les principales voies de transmission chez les oiseaux infectés	11
Figure 4 : Résultats de la fixation du Rouge Congo.....	31
Figure 5 : Résultats de la résistance au sérum	31
Figure 6 : Résultats du test d'hémolysine	32
Figure 7 : Résultats de la formation de biofilm sur RCA.....	32
Figure 8 : Distribution comparative (%) des caractéristiques phénotypiques des souches APEC et AFEC : fixation du Rouge Congo, résistance au sérum, production d'hémolysine et formation de biofilm.....	33
Figure 9: Répartition des souches APEC et AFEC selon le degré de formation de biofilm. ..	35
Figure 10: Répartition des souches APEC et AFEC selon le nombre de facteurs de virulence	38

Liste des tableaux

Tableau I : Classification d' <i>Escherichia coli</i> selon la deuxième édition du Manuel de systématique bactériologique de Bergey (2004).	4
Tableau II : Pathotypes d' <i>E. coli</i> et maladies associées	5
Tableau III : Les caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i>	6
Tableau IV : Fonction des gènes de virulence principalement trouvés chez <i>Escherichia coli</i> pathogène aviaire (APEC)	24

Liste des abréviations

- **AFEC** : *Escherichia coli* fécaux aviaires (Avian Fecal *Escherichia coli*)
- **AIEC** : *Escherichia coli* à adhérence invasive (Adherent Invasive *Escherichia coli*)
- **APEC** : *Escherichia coli* pathogènes aviaires (Avian Pathogenic *Escherichia coli*)
- **ATB** : Antibiotiques
- **BGS** : Gélose au sang (Blood Agar)
- **BHIB** : Bouillon cœur-cervelle (Brain Heart Infusion Broth)
- **DAEC** : *Escherichia coli* à adhérence diffuse (Diffusely Adherent *Escherichia coli*)
- **DO** : Densité optique
- **EAEC** : *Escherichia coli* entéroagréatif (Enteroggregative *Escherichia coli*)
- **EHEC** : *Escherichia coli* entérohémorragique (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)
- **EIEC** : *Escherichia coli* entéro-invasif (Enteroinvasive *Escherichia coli*)
- **EMB** : Éosine bleu de méthylène (Eosin Methylene Blue)
- **EPEC** : *Escherichia coli* entéropathogène (Enteropathogenic *Escherichia coli*)
- **ETEC** : *Escherichia coli* entérotoxigène (Enterotoxigenic *Escherichia coli*)
- **ExPEC** : *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux (Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*)
- **InPEC** : *Escherichia coli* pathogènes intestinaux (Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*)
- **IPEC** : *Escherichia coli* pathogènes intestinaux (Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*)
- **LPS** : Lipopolysaccharide
- **MH** : Gélose Mueller-Hinton (Mueller-Hinton Agar)
- **NMEC** : *Escherichia coli* associé à la méningite néonatale (Neonatal Meningitis *Escherichia coli*)
- **OMVs** : Vésicules de la membrane externe (Outer Membrane Vesicles)
- **PAI** : Îlots de pathogénèse (Pathogenicity Islands)
- **QS** : Détection de quorum (Quorum Sensing)
- **RCA** : Gélose Rouge Congo (Congo Red Agar)
- **SePEC** : *Escherichia coli* associé à la septicémie (Septicemic *Escherichia coli*)
- **STEC** : *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxines (Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*)
- **UPEC** : *Escherichia coli* uropathogène (Uropathogenic *Escherichia coli*)
- **VF** : Facteurs de virulence (Virulence Factors)

Résumé

Escherichia coli aviaire pathogène (APEC) et *Escherichia coli* aviaire fécal (AFEC) désignent deux groupes microbiens respectivement isolés chez des volailles malades et saines. La distinction entre ces souches repose notamment sur l'expression de certains facteurs de virulence.

L'objectif de notre étude est d'évaluer et de comparer quatre caractères phénotypiques de virulence entre des souches APEC et AFEC.

Quarante souches APEC et quarante souches AFEC ont été soumises à différents tests phénotypiques : fixation du Rouge Congo sur gélose, résistance au sérum humain, activité hémolytique sur gélose au sang, et production de biofilm sur gélose RCA (Rouge Congo Agar).

Les résultats révèlent que la fixation du Rouge Congo a été observée chez 37,5 % des APEC contre 40 % des AFEC. La résistance au sérum est identique dans les deux groupes 70 %. La production d'hémolysine α est plus fréquente chez les AFEC 22,5 % que chez les APEC 7,5 %, tandis que l'hémolysine β est majoritairement produite par les APEC à 92,5 % contre 77,5 % chez les AFEC. L'évaluation de la capacité de formation de biofilm a révélé des différences marquées entre les souches pathogènes (APEC) et commensales (AFEC). Sur gélose RCA, 15 % des APEC se sont montrées positives pour la formation de biofilm contre 12,5 % des AFEC. Les tests en microplaque ont permis de préciser ces observations en quantifiant l'intensité de la formation. Seulement 5% des APEC se sont avérées non formatrices, alors que cette proportion atteignait 20% chez les AFEC. Concernant les souches faiblement formatrices, elles représentaient 20% des APEC contre 45% des AFEC. À l'inverse, les APEC dominaient dans les catégories de formation modérée (52,5% contre 20% pour les AFEC) et forte (22,5% contre 15%). Ces résultats démontrent clairement que les souches pathogènes possèdent une capacité de formation de biofilm significativement plus importante que les souches commensales.

L'analyse statistique n'a révélé aucune corrélation significative entre les facteurs de virulence étudiés et la résistance aux antibiotiques (données issues d'études antérieures), ce qui suggère que ces deux caractéristiques évoluent de manière indépendante. En revanche, le test de χ^2 montre une relation significative entre les quatre facteurs de virulence, suggérant une expression phénotypique liée.

Mots clés : *Escherichia coli* pathogène, *Escherichia coli* fécale, facteurs de virulence, fixation du Rouge Congo, biofilm, hémolysine, résistance au sérum.

Abstract

Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) and avian fecal *Escherichia coli* (AFEC) are two distinct groups, with APEC isolated from diseased poultry and AFEC from healthy birds. The differentiation between these strains is primarily based on the expression of virulence factors. This study aimed to compare four phenotypic virulence traits between APEC and AFEC strains.

Forty APEC and forty AFEC strains were subjected to various tests, including Congo Red binding, resistance to human serum, hemolytic activity on blood agar, and biofilm formation on RCA agar.

The results reveal that Congo red binding was observed in 37.5% of APEC and 40% of AFEC. Serum resistance was identical in both groups at 70%. α -hemolysin production was more frequent in AFEC (22.5%) than in APEC (7.5%), while β -hemolysin was predominantly produced by APEC at 92.5% compared to 77.5% in AFEC. The evaluation of biofilm-forming capacity revealed marked differences between pathogenic (APEC) and commensal (AFEC) strains. On RCA agar, 15 % of APEC tested positive for biofilm formation compared to 12.5 % of AFEC. Microplate assays further clarified these observations by quantifying formation intensity. Only 5% of APEC were non-biofilm formers, whereas this proportion reached 20% in AFEC. Weakly biofilm-forming strains accounted for 20% of APEC compared to 45% of AFEC. Conversely, APEC dominated in the moderate (52.5% vs. 20% for AFEC) and strong (22.5% vs. 15%) biofilm-forming categories. These results clearly demonstrate that pathogenic strains possess a significantly greater biofilm-forming capacity than commensal strains.

Statistical analysis performed, revealed no significant correlation between the studied virulence factors and antibiotic resistance (data from previous studies), suggesting that these two characteristics evolve independently. However, the Chi-square test indicates a significant relationship between the four virulence factors, suggesting linked phenotypic expression.

Keywords: Pathogenic *Escherichia coli*, Fecal *Escherichia coli*, Virulence factors, Congo Red binding, Biofilm, Hemolysin, Serum resistance.

Introduction

La production avicole joue un rôle essentiel pour répondre à la demande mondiale croissante en protéines d'origine animale. Pour répondre à cette demande, l'industrie a instauré des systèmes de production à grande échelle qui, malgré leur efficacité, favorisent la propagation verticale d'agents pathogènes au sein des troupeaux. Il est donc crucial d'établir un programme de prévention des maladies performant pour la production avicole (ŚLIWKA *et al.*, 2025).

L'une des problématiques majeures auxquelles font face les secteurs avicoles est la présence de souches pathogènes d'*Escherichia coli* (RANABHAT *et al.*, 2024), responsables de la colibacillose chez les oiseaux domestiques. *E. coli* est un hôte fréquent du tube digestif des mammifères et l'une des bactéries les plus examinées à l'échelle mondiale. Ces dernières peuvent cohabiter en tant que symbiotes inoffensifs ou, selon leur degré de virulence et certaines conditions prédisposantes, être à l'origine de pathologies intestinales et extra-intestinales (LOGUE *et al.*, 2017).

Les *E. coli* pathogènes peuvent être classés en pathotypes intestinaux (InPEC) ou extra-intestinaux (ExPEC), en fonction du tissu visé de l'hôte et du syndrome pathologique qu'ils induisent. Chaque groupe partage des traits communs qui favorisent leur survie, leur expansion et l'induction de maladies dans la région visée. Les APEC, agents responsables de la colibacillose aviaire, se distinguent principalement par la présence de plasmides virulents de grande taille. Malgré la grande variété de sérogroupes d'APEC, les plus couramment rapportés sont O1, O2 et O78 (LOGUE *et al.*, 2017).

Tout comme l'*E. coli* associé à la méningite néonatale humaine (NMEC) et l'*E. coli* uropathogène humain (UPEC), l'APEC est classifiée parmi les ExPEC. Ces pathotypes se différencient des *E. coli* commensaux intestinaux par leurs génotypes et gènes virulents distincts. Même si la méthode précise d'infection n'est pas encore établie, on pense que la translocation intestinale ou l'inhalation sont considérées comme les voies les plus probables. Dans le cas de la péritonite aviaire, une contamination ascendante via l'oviducte a été suggérée (WATTS et WIGLEY, 2024).

L'APEC, étant génétiquement proche de l'UPEC et du NMEC humains, pose un risque zoonotique, laissant présager une éventuelle transmission inter-espèces (WATTS et WIGLEY, 2024). La colibacillose, une pathologie aiguë et systémique due à l'APEC, provoque des dommages économiques notables dans le secteur de l'aviculture. Elle se caractérise par des lésions multiviscérales, des infections de l'appareil génital, une omphalite, des infections du sac vitellin, une coliseptémie, une aérosculite fibrino-purulente, une péricardite et une périhépatite (KOGOVSEK *et al.*, 2019). Les souches APEC emploient différents facteurs de virulence tels que des adhésines, des invasines, des protectines, des mécanismes d'acquisition du fer, des toxines, des systèmes à deux composantes, du quorum sensing, des régulateurs

de transcription, des systèmes de sécrétion ainsi que des gènes liés au métabolisme. Ces éléments sont essentiels pour ce qui est de l'attachement, de l'invasion, de la survie, de la colonisation, de la persistance, de la prolifération, des lésions cellulaires et de la résistance aux stress (KATHAYAT *et al.*, 2021).

La caractérisation des *E. coli* fécaux d'origine aviaire (AFEC) fournit une perspective importante sur la diffusion des souches potentiellement pathogènes dans les infections extra-intestinales. Les AFEC disposent également de facteurs virulents, y compris des adhésines, des antigènes capsulaires et des systèmes de capture du fer. Ces éléments sont corrélés positivement à leur maintien dans les zones intestinales et leur confèrent la capacité d'établir une colonisation intestinale durable (DUBE et MBANGA, 2018).

Depuis de nombreuses années, les antibiotiques sont utilisés afin de contrôler *E. coli* chez les volailles. Toutefois, des recherches récentes indiquent qu'un usage abusif ou inadapté entraîne généralement la formation de souches bactériennes résistantes et virulentes, rendant le traitement plus complexe et plus coûteux (JHANDAI *et al.*, 2025). Même si les céphalosporines, tétracyclines et aminosides sont souvent utilisés pour traiter les infections à APEC, la montée de la résistance aux antibiotiques provoque souvent des échecs dans le traitement.

La distinction entre les souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC) et les souches fécales aviaires constitue un défi scientifique majeur aux implications considérables pour la santé animale et humaine. Dans un contexte d'intensification de la production avicole mondiale, les élevages de poulets de chair sont devenus des réservoirs potentiels de souches d'*E. coli* hautement virulentes dont la dissémination représente un risque sanitaire croissant.

La différenciation entre les souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC) et les souches fécales aviaires (AFEC) repose essentiellement sur leurs profils de virulence distincts.

Cette étude a pour objectif principal de caractériser et différencier efficacement les facteurs de virulences des souches (APEC) responsables de la colibacillose aviaire par rapport aux souches (AFEC) commensales dont on a ciblé quatre facteurs de virulence majeurs : la résistance au sérum, la capacité de fixation du Rouge Congo, la production d'hémolysine et la formation de biofilms. Au-delà de cette caractérisation phénotypique, cette approche vise également à évaluer l'existence d'éventuelles corrélations significatives entre les facteurs de virulence (VF) et les profils de résistance aux antibiotiques (ATB). Ainsi que l'étude de corrélation entre les facteurs de virulences des souches d'*Escherichia coli* pathogènes et fécales aviaires dans le but de mieux comprendre les stratégies de survie des souches pathogènes.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1
Données générales sur
Escherichia coli

1- *Escherichia coli*

1.1- Définition

E. coli est une bactérie non sporulée, à Gram-négatif, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, est largement répandue et se retrouve généralement comme espèce dominante dans le microbiote intestinal des humains, des animaux et des oiseaux. Outre les souches commensales, une variété de souches pathogènes d'*E. coli* peuvent infecter les intestins ou d'autres régions du corps. Elles peuvent aussi être liées à la muqueuse vaginale (RANABHAT *et al.*, 2024).

Bien qu'elle ne représente qu'une fraction inférieure à 0,1% de la biomasse bactérienne du gros intestin chez l'Homme, elle est l'espèce aérobie prédominante (80% de la flore aérobie) et produit de la ménaquinone (vitamine K2). Avec les streptocoques, elle est la première bactérie qui s'installe dans le système digestif du nouveau-né dans les 24 à 48 heures après sa naissance (TROTEREAU *et al.*, 2018).

1.2- Historique

Escherichia coli a été isolée et décrite en 1885 par le pédiatre allemand THEODOR ESCHERICH (1857-1911) à partir des selles de bébés et a nommé ce micro-organisme *Bacterium coli* commune. Quatre ans plus tard, Laurelle a établi un lien entre cette bactérie et des cas de diarrhée et vomissements (LYMBEROPOULOS, 2004).

En 1897, Le Sage a réussi à distinguer des souches pathogènes d'*E. coli* de celles non-pathogènes en agglutinant les organismes issus de cas de maladies avec le sérum des patients malades, alors qu'il n'a pas observé d'agglutination avec les organismes provenant d'enfants sains (LYMBEROPOULOS, 2004).

En 1919, CASTELLANI et CHALMERS suggèrent de donner le nom d'*E. coli* à cette bactérie en l'honneur des recherches d'Escherich (MAINIL, 2003).

Selon la Sous-comité *Enterobacteriaceae* de la Comité de Nomenclature de l'Association Internationale des Sociétés de Microbiologie, *Escherichia coli* a été officiellement désigné en 1958 (MAINIL, 2003).

Durant une longue période, le genre *Escherichia* était exclusivement composé de l'espèce *Escherichia coli* (*E. coli*). Cependant, au fil du temps, plusieurs espèces ont été ajoutées : *E. blattae* (1973 ; trouvée dans l'intestin des blattes), *E. hermannii* (1982 ; présente dans les excréments, les blessures et les bactériémies humaines), *E. vulneris* (1982 ; également présente dans les fèces et blessures de l'Homme) et enfin *E. fergusonii* (1985 ; retrouvée dans les excréments, infections urinaires et bactériémies chez l'Homme) (MAINIL, 2003).

Plusieurs études visent à corroborer le caractère pathogène de cet agent dans les entérites des nouveau-nés, ainsi que dans divers troubles touchant de nombreuses espèces animales, y compris les volailles qui ont fait l'objet de nombreuses recherches (TROTEREAU *et al.*, 2018).

1.3- Habitat

Escherichia coli est une espèce communément présente et symbiotique dans le système gastro-intestinal, liée à diverses maladies intestinales et extra-intestinales, tant chez les humains que chez les animaux domestiques. Les *Escherichia coli* ne se trouvent normalement pas dans le sol et l'eau, leur détection indique une récente contamination fécale rendant l'eau non potable (TROTEREAU *et al.*, 2018).

1.4- Classification

1.4.1- La classification selon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

La classification d'*Escherichia coli* selon la deuxième édition du Manuel de systématique bactériologique de Bergey (2004) :

Tableau I : Classification d'*Escherichia coli* selon la deuxième édition du Manuel de systématique bactériologique de Bergey (2004) :

Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Nom binomial	<i>Escherichia coli</i>

1.4.2- Classification selon le pathotype

Les *E. coli* pathogènes ont été classés en deux sous-classes, à savoir les ***E. coli* pathogènes intestinaux (IPEC)** et les ***E. coli* pathogènes Extra-intestinaux (ExPEC)** (NAWAZ *et al.*, 2024).

Les *E. coli* pathogènes intestinaux sont des variétés ayant une affinité pour l'intestin, parmi une variété d'agents microbiens tels que les virus, les bactéries et les parasites. L' IPEC se classe parmi les causes fréquentes de la diarrhée. Selon leurs facteurs de virulence et le type de maladie qu'ils provoquent, ce groupe se divise en huit pathovars principaux (KUNERT *et al.*, 2015).

- *E. coli* à adhérence invasive (AIEC)
- *E. coli* à adhérence diffuse (DAEC)

- *E. coli* entéro-agrégatif (EAEC)
- *E. coli* entérohémorragique (EHEC)
- *E. coli* entéro-invasive (EIEC)
- *E. coli* entéro-pathogène (EPEC)
- *E. coli* entéro-toxinogène (ETEC)
- *Shiga E. coli* productrices de toxines (STEC) (NAWAZ *et al.*, 2024).

Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) sont liés à des maladies hors du système gastro-intestinal. Bien que ces souches vivent de manière inoffensive en tant que commensaux dans l'intestin des individus en bonne santé, elles peuvent engendrer une infection si elles parviennent à un emplacement hors de l'intestin, comme les voies urinaires chez les humains ou les voies respiratoires chez les volailles (KUNERT *et al.*, 2015).

En revanche, l'EXPEC comporte quatre types, dont :

- *E. coli* pathogène aviaire (APEC).
- *E. coli* de la méningite néonatale (NMEC).
- *E. coli* associé à la septicémie (SePEC).
- *E. coli* uro-pathogène (UPEC) (NAWAZ *et al.*, 2024).

Tableau II : Pathotypes d'*E. coli* et maladies associées (SMITH et FRATAMICO, 2017).

Pathotype d' <i>E. coli</i>	Maladie
<i>Escherichia coli</i> pathogène intestinal	
<i>Escherichia coli</i> entéro-invasif (EIEC)	Diarrhée dysentérique aiguë
<i>E. coli</i> à adhérence diffuse (DAEC)	Diarrhée aqueuse chez les enfants
<i>Escherichia coli</i> entéropathogène (EPEC)	Diarrhée aiguë et/ou persistante
<i>Escherichia coli</i> entéroagréatif (EAEC)	Diarrhée aqueuse persistante
<i>Escherichia coli</i> entérotoxinogène (ETEC)	Diarrhée aqueuse aiguë
<i>E. coli</i> productrice de toxines Shiga (STEC)	Diarrhée, colite hémorragique
<i>E. coli</i> à adhérence invasive (AIEC)	Diarrhée, maladies inflammatoires
<i>Escherichia coli</i> pathogène extra intestinal	
A. <i>Escherichia coli</i> uropathogène (UPEC)	Infections des voies urinaires
B. Méningite néonatale à <i>E. coli</i> (NMEC)	Méningite
C. <i>E. coli</i> associé à la septicémie (SEPEC)	État septique
D. <i>Escherichia coli</i> pathogène aviaire (APEC)	Colibacillose chez les volailles

1.5- Caractères bactériologiques d'*E. coli*

1.5.1- Caractères morphologiques et cultureux

Les colibacilles se présentent comme des bâtonnets Gram négatif, aéro-anaérobies, asporulés, de 2 à 3 μm de longueur et 0,6 μm de largeur. Grâce à la ciliature péritriche, la majorité des souches sont mobiles (80 %), peu de souches sont capsulées et certaines peuvent se détacher de leur capsule, une fois mises en culture. La culture d'*E. coli* est très facile. Avec un optimum de pH et de température respectivement de 7 et 37°C. Elle pousse sur un grand nombre de milieux ordinaires ou sélectifs dont le plus utilisé est l'Eosine Bleu de méthylène (EMB). L'aspect des colonies varie en fonction du milieu nutritif utilisé. En bouillon nutritif, un aspect trouble avec des ondes moirées apparaissent dans les premières heures. Une odeur fécaloïde se manifeste quand le tube est ouvert (OUBOUYAHYA et NASSIK, 2021).

1.5.2- Caractères biochimiques

E. coli a une catalase mais ne contient pas d'oxydase. L'analyse des activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est effectuée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles à l'achat, présentées sous forme de galeries. Ces dernières facilitent la reconnaissance de cette bactérie et son diagnostic différentiel par rapport aux autres bactéries de la même famille (CLAVE, 2015). Le tableau ci-dessous regroupe ces caractères :

Tableau III : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* (CLAVE, 2015).

Test	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Cs	ONPG	LDC	ODC	ADH	Urée	TDA	GEL	RM	IND
Résultat	+	+	-	+	-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+	+

Légende : + : caractère positif /- : caractère négatif / +/- : caractère inconstant

1.5.3- Caractères antigéniques

On reconnaît à *E. coli* trois types d'antigènes présents sur sa surface.

Antigène O : Antigène somatique cet antigène correspond à la fraction polysaccharidique du lipopolysaccharide de la paroi. Le nombre d'antigènes O d'*Escherichia coli* formellement définis est de 187. Cependant, six de ces antigènes (O31, O47, O67, O72, O94 et O122) ont été retirés car ils étaient soit des noms dupliqués, soit attribués à des organismes reclassés dans d'autres genres. De plus, trois souches (O34, O89 et O144) ne produisent aucun antigène O. Par conséquent, sur les 181 antigènes O restants, les structures de 176 ont été déterminées, certaines incluant des sous-groupes (LIU *et al.*, 2020 ; OUBOUYAHYA et NASSIK, 2021).

Antigène K : Antigène capsulaire (100 sérotypes), un ensemble de polymères de l'acide N-Acétyleuraminique. On distingue trois types d'antigènes K selon leurs pouvoirs de saturation des agglutinines et leurs thermolabilités : l'antigène KA, l'antigène KB et l'antigène K1. Ce dernier est fréquent chez les souches O1 et O2 aviaires (OUBOUYAHYA et NASSIK, 2021).

Antigène H : Antigène flagellaire (60 sérotypes). Il est facilement détruit par l'alcool, cet antigène est de nature protéique, son développement maximal se fait sur milieu liquide ou faiblement gélosé (OUBOUYAHYA et NASSIK, 2021).

1.6- Caractères physico-chimiques

E. coli est détruite à 60°C pendant une demi-heure. Sa réactivité face à divers agents chimiques (produits alcalins et acides tels que les glutaraldéhydes à 2% et les ammoniums quaternaires à 3%) et physiques est comparable à celle des autres entérobactéries. Selon OUBOUYAHYA et NASSIK (2021), ce micro-organisme peut rester viable dans la litière même lorsqu'elle est asséchée sur une durée prolongée.

1.7- Virulence

Les principaux facteurs de virulence, corrélés directement ou indirectement au pouvoir virulent d'*E. coli* sont :

- L'adhésion à l'épithélium
- La synthèse d'entérotoxines, cytotoxines et d'hémolysines
- La résistance au pouvoir bactéricide du sérum
- Les sidérophores qui sont des protéines de la membrane externe chélatant le fer. Certains de ces facteurs sont codés par le chromosome, d'autres par le plasmide de virulence. Les flagelles, la capsule, la paroi et le système de captation du fer sont aussi des facteurs de virulence (OUBOUYAHYA et NASSIK, 2021).

Chapitre 2
Les *E. coli* pathogènes
et fécaux aviaires
et la colibacillose

1- Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC)

1.1- Définition

Escherichia coli pathogène aviaire (APEC) appartient au groupe des *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) et présente des similitudes avec les souches d'*E. coli* qui peuvent provoquer des infections urinaires, une méningite néonatale et une septicémie chez l'être humain (NAWAZ *et al.*, 2024).

Cette bactérie est à l'origine de la forme la plus courante de colibacillose, provoquant d'importantes pertes économiques dans l'industrie avicole et posant une menace potentielle pour la santé publique (RANABHAT *et al.*, 2024).

1.2- Prévalence des sérotypes d'*E. coli*

Parmi les *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), de nombreux isolats d'*Escherichia coli* pathogène aviaire (APEC) appartiennent aux sérotypes O1, O2, O18 ou O78. Selon NAWAZ *et al.* (2024), plus de 80 % des infections à APEC sont causées par les sérotypes O1, O2 et O78. Le sérotype O145 a récemment gagné en importance en Chine en raison de son association fréquente avec des maladies graves et des épidémies humaines. Il fait partie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) et est l'un des sérotypes les plus courants liés aux infections chez les ruminants et les humains. Selon NAWAZ *et al.* (2024), lors d'épidémies sur le terrain, les sérotypes d'*Escherichia coli* pathogène aviaire (APEC) tels que O9, O78 et O145 sont particulièrement répandus à l'échelle mondiale.

1.3- Classification phylogénétique des APEC

La classification phylogénétique des APEC est basée sur l'analyse génomique et des marqueurs génétiques spécifiques. Selon le schéma de Clermont, les souches APEC sont classées en huit groupes phylogénétiques : A, B1, B2, C, D, E, F et clade I, en utilisant trois gènes spécifiques : *chuA*, *TspE.4C2* et *yjaA*. Les souches pathogènes appartiennent généralement aux groupes B2 et C, tandis que les bactéries commensales, les isolats APEC provenant d'infections du sac vitellin et de septicémies, appartiennent aux groupes A et B1. Les souches des groupes D, E, F et du clade I sont associées à des infections extra-intestinales chez les humains et les animaux. Ces souches sont probablement originaires d'hôtes humains ou animaux adaptées pour provoquer des maladies aviaires (NAWAZ *et al.*, 2024).

1.4- Transmission

Les APEC infectent principalement les oiseaux par voie respiratoire, mais peuvent également pénétrer par les voies orales, nasales ou cloacales. Elles s'établissent généralement dans les muqueuses des voies gastro-intestinales, respiratoires et reproductrices sans causer de maladie. Cependant, elles peuvent provoquer des infections étendues en tant qu'agent pathogène principal ou secondaire, notamment en présence d'autres maladies ou de facteurs

de stress environnementaux. La bactérie peut être transmise par des aliments ou de l'eau contaminés. Une transmission verticale est également possible via des œufs infectés (NAWAZ *et al.*, 2024).

2- La colibacillose

2.1- Définition

La colibacillose, causée par les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC), est une maladie qui affecte gravement la santé des volailles dans le monde entier. Elle entraîne une augmentation de la mortalité, de la morbidité, des coûts de traitement et de la condamnation des carcasses à l'abattage. Selon l'immunité de l'hôte et les souches bactériennes, la maladie peut se manifester sous forme d'infection localisée ou systémique. Les formes aiguës de la maladie peuvent provoquer une aérosacculite et une pneumonie. Si les bactéries se propagent à d'autres organes, des complications telles que la périhépatite, la péricardite, la salpingite et l'ostéomyélite peuvent survenir (RUNCHAROON *et al.*, 2025).

2.2- Facteurs contrôlant l'apparition de la maladie

E. coli est naturellement présente dans l'intestin des oiseaux et des mammifères, mais peut devenir pathogène lorsque les défenses immunitaires sont affaiblies. Sa prolifération est favorisée par des facteurs tels que les infections virales ou bactériennes, un environnement contaminé, des problèmes de ventilation ou de parasitisme (figure 1). Les colibacilloses se développent particulièrement lorsque les oiseaux sont en état d'immunodépression, notamment en présence d'autres pathologies comme la bronchite infectieuse ou la pseudo- peste aviaire. Le germe peut coloniser différents systèmes (intestinal, nasal, génital) et constitue une source potentielle d'infection, avec un risque de contamination fécale des œufs (OUBOUYAHIA et NASSIK, 2021).

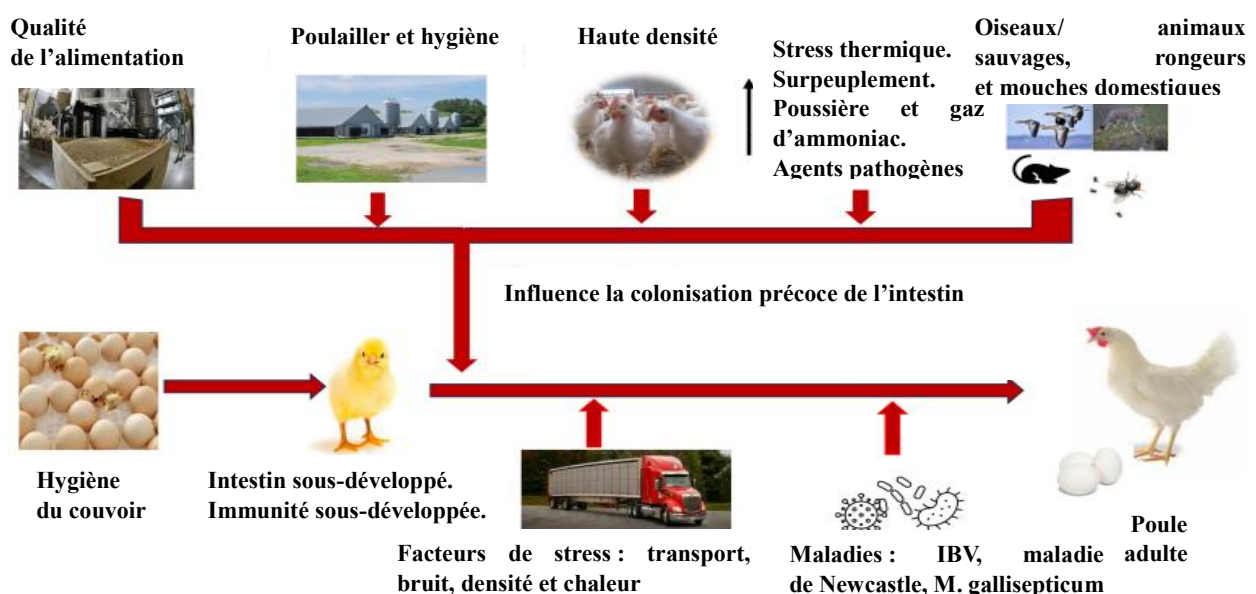


Figure 1 : Facteurs prédisposant aux infections par la colibacillose chez les volailles (WALIAULA *et al.*, 2024).

2.3- Mécanisme de l'infection par *E. coli*

L'infection initiale se produit dans les poumons et les sacs aériens, les voies respiratoires inférieures étant un point d'entrée clé dans la circulation sanguine. L'infection des voies respiratoires supérieures aide les APEC à échapper au système immunitaire de l'hôte. La colonisation des voies respiratoires est cruciale pour la virulence des APEC, facilitée par divers facteurs de virulence tels que les adhésines, le système d'absorption du fer, l'hémolysine, la toxine, les protéines liées à l'invasion. Après avoir pénétré dans les poumons, les APEC se propagent à travers les couches muqueuses vers divers organes, entraînant des infections systémiques, une septicémie et des lésions organiques (NAWAZ *et al.*, 2024) (figure 2).

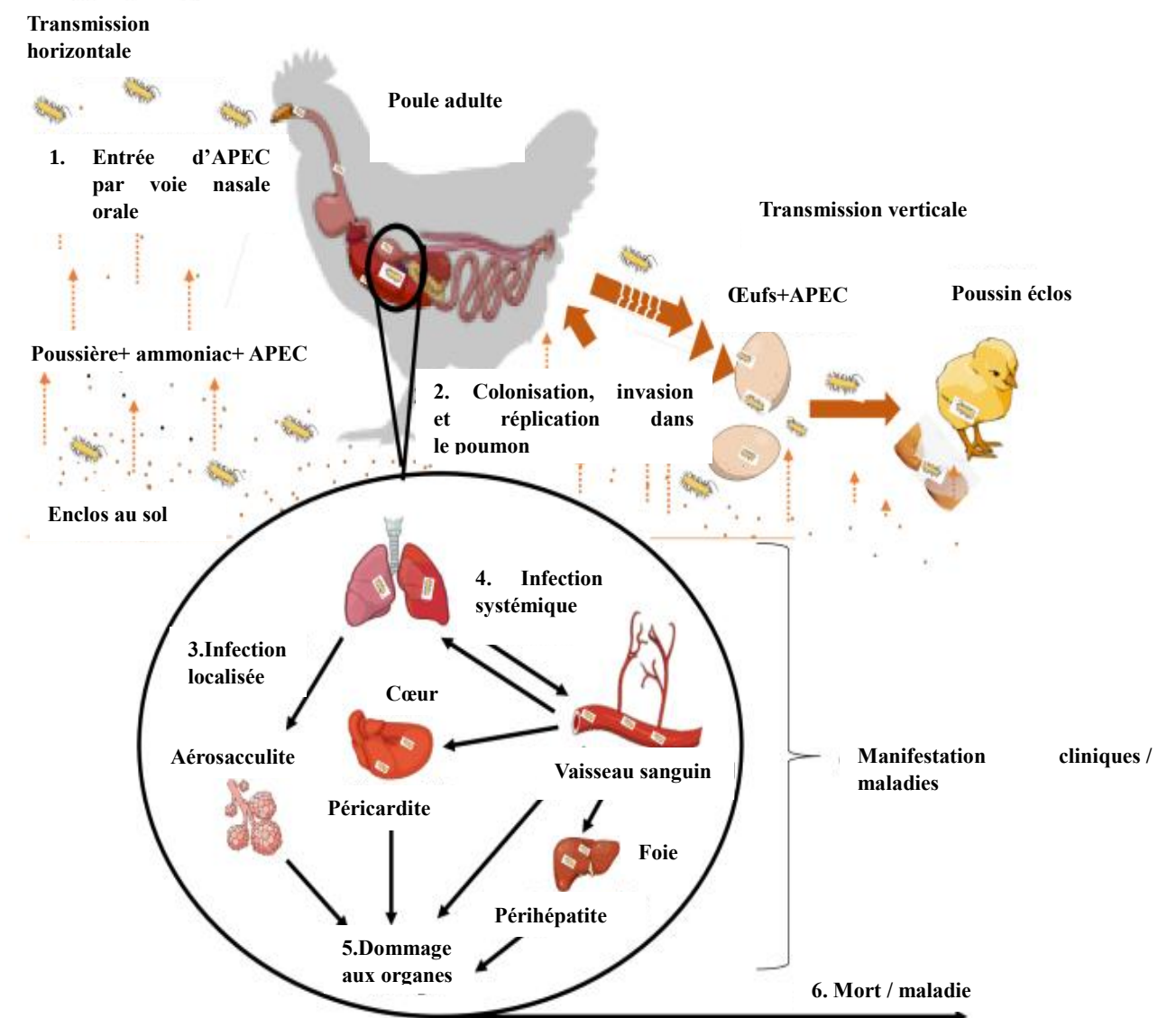


Figure 2 : Transmission et pathogenèse de l'infection APEC (WALIAULA *et al.*, 2024).

2.4- Pathologies associées à la colibacillose aviaire

2.4.1- Infection de l'appareil respiratoire

Également appelée maladie respiratoire chronique (MRC), elle affecte principalement les oiseaux âgés de 6 à 10 semaines. Le larmolement, le jetage nasal, la toux et la sinusite prédominent parmi les symptômes respiratoires.

On observe également une aérosacculite, une pneumonie, une péricardite ainsi qu'une péri-hépatite fibrineuse (OUBOUYAHIA et NASSIK, 2021) (figure 3).

2.4.2- Omphalite colibacillaire

Les poussins nouvellement éclos montrent des signes de dépression, de septicémie, ainsi que d'inflammation et de gonflement du sac vitellin. Il a été observé occasionnellement une péritonite ainsi qu'une adhérence entre la peau et le sac vitellin (OUBOUYAHIA et NASSIK, 2021).

2.4.3- Septicémie aiguë

Elle se distingue par l'occurrence d'hémorragies musculaires et la congestion des muscles pectoraux, comme le précisent OUBOUYAHIA et NASSIK (2021).

2.4.4- Cellulite

Il s'agit d'un processus inflammatoire ou infectieux qui se manifeste par une inflammation chronique de la peau située dans la région abdominale du poulet. La blessure se situe principalement entre la cuisse et la ligne médiane. Il s'agit d'un facteur de saisie crucial dans les abattoirs (OUBOUYAHIA et NASSIK, 2021).

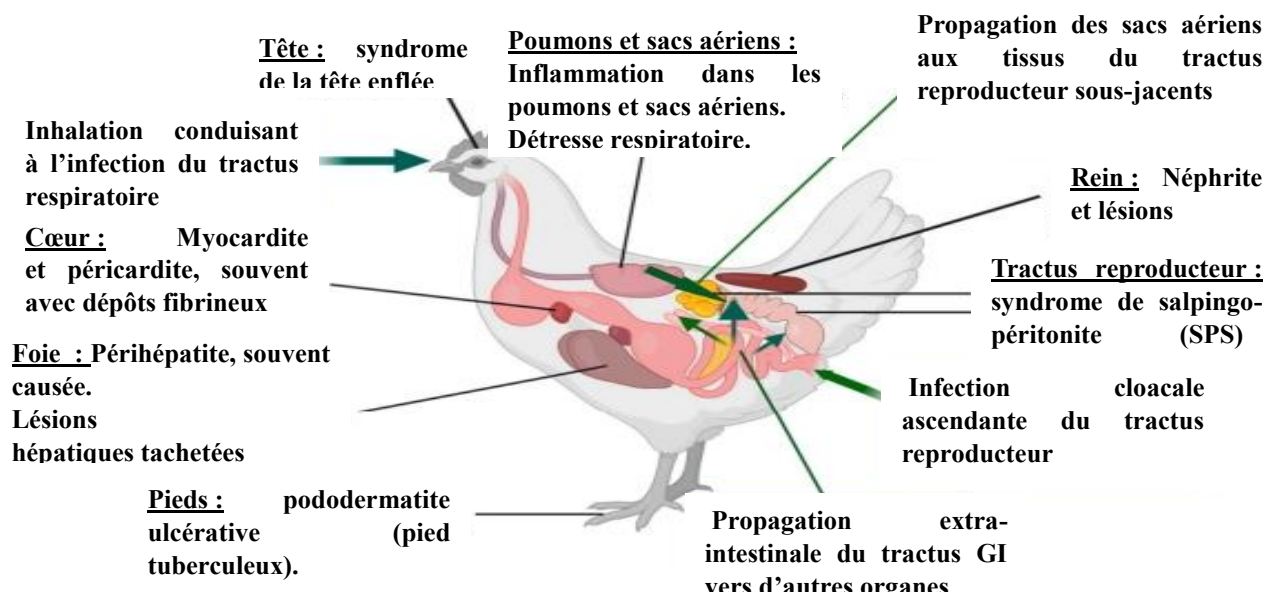


Figure 3 : Les sites et manifestations cliniques des infections APEC, ainsi que les principales voies de transmission chez les oiseaux infectés (WATTS et WIGLEY, 2024).

2.5- Potentiel zoonotique

L'APEC, génétiquement similaire à l'ExPEC humaine, constitue une menace zoonotique potentielle d'origine alimentaire et un réservoir d'infections extra-intestinales chez l'Homme. L'analyse génétique a révélé un chevauchement entre l'APEC et certains clones d'ExPEC humains, suggérant leur capacité à infecter la volaille et les humains. L'analyse phylogénomique a montré une similitude génétique entre les souches d'ExPEC humaines et les isolats d'APEC de sérogroupes spécifiques, indiquant un risque potentiel de transmission zoonotique. Les souches APEC et ExPEC pourraient toutes les deux se fixer aux cellules rénales humaines et les envahir, former des biofilms et résister à l'activité bactéricide du sérum, ce qui suggère un potentiel zoonotique. Des précautions sont nécessaires pour prévenir la transmission de l'APEC aux humains et garantir la sécurité alimentaire. Il reste que des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre le potentiel de transmission zoonotique de l'APEC et ses implications pour la santé humaine (NAWAZ *et al.*, 2024).

2.6- Prévention et contrôle

La gestion du stress, les mesures de biosécurité et la vaccination contre l'APEC et les maladies virales associées sont essentielles pour prévenir la colibacillose aviaire. Le génie génétique permet le développement de races de poulets avec une résistance innée accrue à l'APEC. La surveillance et le contrôle de la transmission verticale de l'APEC des reproducteurs aux œufs sont essentiels pour empêcher l'APEC de pénétrer dans les troupeaux de poulets. Ces stratégies jouent un rôle essentiel dans la prévention et la gestion de la colibacillose aviaire chez les volailles (WANG *et al.*, 2016b ; KABISWA *et al.*, 2018).

2.7- Traitement**2.7.1- Antibiotiques**

La lutte contre les infections à APEC repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques. Cependant, l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques constitue une menace majeure pour la santé animale et la sécurité alimentaire. L'utilisation excessive d'antibiotiques dans l'industrie avicole a exacerbé ce problème, avec des souches APEC résistantes à presque toutes les classes d'antibiotiques, à l'exception des carbapénèmes, de l'imipénème, de la streptomycine (NAWAZ *et al.*, 2024).

2.7.2- Vaccins

Plusieurs types de vaccins ont été étudiés pour protéger les poulets contre les infections à APEC, notamment les vaccins vivants atténués, les vaccins autogènes, les bactéries inactivées au formol, les vaccins à vésicules de membrane externe et les vaccins recombinants. Ces vaccins ciblent différents aspects de la pathogénèse de l'APEC, le métabolisme bactérien, les systèmes d'acquisition du fer et les systèmes de détection de quorum (NAWAZ *et al.*, 2024).

2.7.3- Probiotiques

Les probiotiques ont été largement testés pour leur efficacité à prévenir les infections à *Escherichia coli* pathogène aviaire (APEC) chez les poulets, offrant une alternative prometteuse aux antibiotiques tout en réduisant le risque de développement de résistance aux antibiotiques. Plusieurs études ont démontré les bénéfices de différents probiotiques. Par exemple un mélange probiotique multi-souches contenant *Bacillus subtilis*, *Clostridium butyricum* et *Lactobacillus plantarum* a également montré des résultats positifs, avec une réduction significative de la mortalité (de 13,6 % à 0 %), une diminution des taux d'APEC dans le foie et la rate, et une amélioration des performances de croissance et des populations de lactobacilles. Aussi, un mélange probiotique commercial combiné à un vaccin *Salmonella* atténué (RASV) a été testé chez les poules pondeuses, montrant une réduction des signes d'aérosacculite, de péritépatite et de péricardite, ainsi que des taux d'APEC dans le sang (KATHAYAT *et al.*, 2021).

3- Les *E. coli* fécaux aviaires (AFEC)**3.1- Définition**

Les *Escherichia coli* fécaux aviaires (AFEC) occupent une position particulière en tant que réservoir naturel des souches potentiellement pathogènes dans les infections extra-intestinales. Ces souches présentent une caractéristique remarquable tel qu'une distribution non aléatoire de différents types de réplicons plasmidiques. La complexité de leur étude réside dans leur importante variabilité, résultant d'une plasticité génomique particulièrement marquée (DUBE et MBANGA, 2018).

3.2- Caractéristiques générales

Escherichia coli est principalement constituée de bactéries commensales non-pathogènes qui habitent spécifiquement le système digestif. Leur environnement idéal se trouve dans le mucus qui enveloppe les cellules épithéliales du cæcum et du côlon. Ces bactéries ont une fonction physiologique vitale en intervenant de manière dynamique dans les processus digestifs et en contribuant à la biosynthèse de vitamines indispensables, y compris la vitamine K, la vitamine B12 et l'acide folique. De plus, elles offrent une barrière défensive naturelle contre les agents pathogènes intestinaux (KUNERT *et al.*, 2015).

3.3- Modèles Animaux pour Étudier les AFEC

Les modèles animaux, tels que les poulets et les rongeurs, sont utilisés pour étudier la pathogenèse des AFEC. Ces modèles aident à saisir la façon dont les AFEC envahissent les tissus, provoquent des infections généralisées et interagissent avec le système immunitaire de l'hôte. Selon STROMBERG *et al.* (2017), des modèles de rongeurs et de poulets ont été employés pour juger la virulence des isolats d'AFEC. Ils ont démontré que quelques isolats étaient capables d'entraîner des infections systémiques chez les volailles et des infections urinaires chez les souris, prouvant ainsi leur capacité à être pathogènes dans divers hôtes.

3.4- *E. coli* commensales et pathogénicité

Les souches commensales d'*E. coli* entériques pourraient représenter une source naturelle potentielle pour l'apparition de souches pathogènes. Des recherches scientifiques ont prouvé le mécanisme de conversion des souches commensales en souches pathogènes, essentiellement par l'obtention de gènes de virulence. Selon les recherches d'AMAIRI. (2021), cette acquisition peut être réalisée par des processus chromosomiques ou extra-chromosomiques.

3.5- Relation AFEC et pathogénicité

La distinction entre les souches AFEC et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux représente un défi majeur en microbiologie. Cette complexité s'explique par le fait que les souches capables de provoquer des infections extra-intestinales sont des pathogènes facultatifs, naturellement présents dans la flore intestinale des oiseaux

sains. Leur capacité de persistance dans l'environnement intestinal est étroitement liée à la présence de facteurs spécifiques, notamment les adhésines, les antigènes capsulaires et les systèmes d'acquisition du fer. Ces éléments favorisent une colonisation intestinale durable et efficace (DUBE et MBANGA, 2018).

3.6- Prévalence et Risque des AFEC dans les Élevages de Volailles

Les AFEC représentent des variétés pathogènes d'*E. coli* responsables d'infections hors de l'intestin chez les oiseaux, y compris des affections respiratoires et systémiques. Ces souches peuvent aussi constituer un danger pour la santé humaine, puisqu'elles peuvent se transmettre par l'intermédiaire de la viande infectée. Des recherches indiquent que les AFEC sont souvent retrouvées dans les excréments de volailles en bonne santé, ce qui laisse à penser que ces dernières peuvent constituer une source majeure de ces bactéries néfastes. STROMBERG *et al.* (2017) ont examiné la fréquence des AFEC dans les excréments de poules en bonne santé et ont démontré que 13% des isolats d'*E. coli* étaient identifiés comme ExPEC (*E. coli* Pathogène Extra-intestinal), une proportion importante étant constituée d'AFEC. Ces souches ont démontré leur aptitude à provoquer des maladies dans des modèles animaux, ce qui souligne leur potentiel pathogène pour les volailles et les humains.

3.7- Transmission des AFEC des Volailles aux Humains

Il est possible que les AFEC soient diffusées des oiseaux aux humains en consommant de la viande infectée ou en ayant un contact direct avec les animaux. Des recherches épidémiologiques ont démontré que certaines variantes d'AFEC présentent des similarités génétiques avec celles à l'origine d'infections chez l'homme, suggérant ainsi une éventuelle transmission zoonotique. Selon JOHNSON *et al.* (2008), une comparaison entre des souches pathogènes d'*E. coli* affectant les volailles et celles touchant les humains a révélé des similarités génétiques, suggérant ainsi que les volailles pourraient représenter une source de souches pathogènes pour l'Homme. STROMBERG *et al.* (2017) ont aussi démontré que certains isolats d'AFEC pouvaient induire des infections dans des modèles animaliers de pathologies humaines, consolidant l'hypothèse d'une transmission zoonotique.

3.8- Stratégies de Contrôle et de Prévention des AFEC

Pour réduire la prévalence des AFEC, il est essentiel de mettre en place des mesures de biosécurité dans les élevages, de surveiller la résistance aux antibiotiques et de développer des vaccins efficaces. La réduction de la contamination des carcasses pendant l'abattage est également cruciale pour prévenir la transmission aux humains. STROMBERG *et al.* (2017) suggèrent que des interventions visant à réduire la colonisation intestinale des volailles par les AFEC et à prévenir la contamination des carcasses pourraient réduire la transmission de ces pathogènes aux humains.

Chapitre 3

La virulence et les facteurs de virulence

1- La virulence et les facteurs de virulence

1.1- La virulence

La virulence représente le potentiel d'un micro-organisme à infliger des dégâts à son hôte et permet d'apprécier la capacité de ce micro-organisme à provoquer une maladie. On peut la déterminer expérimentalement en laboratoire en quantifiant le nombre de bactéries nécessaires pour provoquer une lésion, une maladie ou la mort d'un animal modèle. La virulence est donc étroitement associée à la capacité du micro-organisme à provoquer une maladie en dépit des mécanismes de défense activés par l'hôte. L'importance des effets pathogènes et leur évolution est fortement influencée par la présence ou l'absence de gènes responsables de la virulence dans le génome de la bactérie en question (chromosome bactérien et éléments génétiques mobiles) (CHABAUD *et al.*, 2025).

1.2- Les facteurs de virulence

Les facteurs de virulence sont des substances spécifiques, principalement des protéines, qui sont libérées par l'ensemble des micro-organismes, y compris les bactéries, les champignons, les virus et les parasites. Le processus par lequel un micro-organisme induit une maladie ou un trouble, principalement via un facteur de virulence codé par des gènes, est connu sous le nom de pathogenèse. Ces éléments de virulence sont déterminés par des gènes particuliers qui assurent une fonction précise et se trouvent dans le chromosome, le plasmide et les transposons des agents infectieux bactériens (YAHYE *et al.*, 2025).

1.3- Les Facteurs de virulence chez les APEC et les AFEC

Les gènes responsables de la virulence sont localisés soit sur des éléments génétiques pouvant être transmis (tels que les transposons, les plasmides et les bactériophages), soit sur des portions du génome bactérien dénommées « îlots de pathogénicité » (PAI). Les plasmides, les phages et les îlots de pathogénicité favorisent une évolution rapide des bactéries et la formation de nouveaux agents pathogènes via le transfert horizontal (MARIS, 2016).

Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* aviaires (APEC) et les souches commensales d'*E. coli* aviaires (AFEC) ont des gènes de virulence qui sont essentiels à leur capacité pathogène. Les APEC, agents de la colibacillose aviaire, se distinguent par la présence de gènes spécifiques de virulence qui renforcent leur aptitude à coloniser, envahir et persister chez l'hôte. Cette liste comprend des gènes tels que *iss* (qui favorise la survie dans le sérum), *ompT* (protéase de membrane externe), *hlyF* (hémolysine potentielle chez les oiseaux), *iroN* (récepteur du sidérophore salmochéline) et *iutA* (récepteur de l'aérobactine). Ces gènes sont fréquemment trouvés en combinaison et sont perçus comme des indicateurs de virulence chez les APEC. Cependant, les AFEC, qui sont des souches commensales, montrent une occurrence moins fréquente de ces gènes de virulence, malgré la possibilité d'en héberger certains. Cela suggère qu'elles pourraient agir comme réservoir pour ces gènes (AWAWDEH *et al.*, 2024).

Les AFEC possèdent plusieurs facteurs de virulence qui leur permettent de coloniser et de causer des infections chez les volailles. Ces facteurs incluent des gènes codant pour des adhésines, des protectines, des sidérophores et des toxines. STROMBERG *et al.* (2017) ont identifié plusieurs gènes de virulence associés aux AFEC, tels que *papA*, *papC*, *iutA*, et *kpsM II*, qui sont impliqués dans la formation de biofilms, la résistance au complément et l'acquisition de fer. Ces facteurs de virulence sont essentiels pour la survie des bactéries dans des environnements hostiles et leur capacité à causer des infections. Ces facteurs de virulence permettent aux AFEC de coloniser les tissus, de résister aux défenses de l'hôte et de causer des infections systémiques.

- **Adhésines** : *paepA*, *papC*, *fimH* (impliqués dans l'adhésion aux tissus hôtes).
- **Protectines** : *kpsM II* (capsule de groupe 2), *iss* (résistance au sérum).
- **Sidérophores** : *iutA* (système d'acquisition du fer).
- **Toxines** : *hlyF* (hémolysine), *astA* (toxine thermostable).

Ces facteurs leur permettent de coloniser et d'infecter les hôtes aviaires, ces facteurs se résument en :

1.3.1- Les adhésines

Les adhésines représentent un mécanisme de surface cellulaire chez les bactéries qui se fixent aux cellules épithéliales lors des phases initiales de l'infection à APEC. L'attachement préliminaire des bactéries aux cellules hôtes est crucial pour leur capacité à provoquer des maladies, ce processus est conduit par différentes adhésines. On retrouve de multiples adhésines chez les APEC, y compris les fimbriae de type 1, les fimbriae P, les fimbriae S, les flagelles, les curli, les protéines membranaires externes, ainsi que des adhésines non fimbriales, sans oublier l'hémagglutinine thermosensible. Les fimbriae de type 1 aident à l'adhésion aux cellules épithéliales des voies respiratoires lors de la phase initiale, alors que l'expression des fimbriae P et S joue un rôle dans l'infection ultérieure (ALEKSANDROWICZ *et al.*, 2021).

1.3.2- Les invasines

Les agents invasifs ont une importance capitale lors des phases initiales de l'infection en aidant à l'introduction des pathogènes dans les cellules de l'hôte. Les isolats APEC renferment une multitude de gènes qui codifient pour des invasines comme *gimB*, *ibeA*, *ibeB* et *tia* (locus d'invasion toxique). Ces invasines contribuent aussi à la résistance des APEC face au développement du biofilm hôte, à la colonisation, à la multiplication et au stress oxydatif provoqué par les macrophages (NAWAZ *et al.*, 2024).

1.3.3- Résistance au sérum

Le fait que certaines souches APEC résistent au pouvoir bactéricide du complément dans le sérum, grâce à diverses structures bactériennes telles que la capsule, le lipopolysaccharide, la colicine ColV et les protéines de membrane externe, est noté.

On a rapporté la présence de plusieurs gènes codant pour diverses protectines dans les APEC, parmi lesquels *iss* (qui augmente la survie dans le sérum), *traT* (une protéine de résistance au complément), *ompT* (protéase de membrane externe), *kpsMT(KI)*, *kpsMT(II)*, *kpsMT(III)*, *neuC*, *neuS*, *neuD* (associés à la capsule), ainsi que *kfiCK5* (glycosyltransférase) et *betA* (déshydrogénase choline). Le polysaccharide O78 et la capsule K1 constituent des éléments de virulence pour la propagation de l'APEC dans la circulation sanguine et l'apparition d'une septicémie. En outre, les protectines interviennent également dans l'adhérence, l'invasion, la survie intracellulaire, la colonisation et la prolifération d'APEC dans l'hôte (SAROWSKA *et al.*, 2019 ; THOMRONGSUWANNAKIJ *et al.*, 2020).

Le gène *iss* joue un rôle crucial dans la résistance au sérum, un élément essentiel dans la pathogénèse des APEC. Ce gène est responsable de la codification d'une lipoprotéine de la membrane externe qui participe à la résistance face aux effets bactéricides du système du complément. La présence d'*iss* montre une forte corrélation avec la capacité des APEC à persister dans le sérum et à provoquer des infections systémiques telles que la septicémie. En outre, *iss* est fréquemment lié à la fabrication de capsules de type 4, qui offrent une protection aux bactéries contre l'effet du complément. Les souches qui manquent de *iss* démontrent une sensibilité supérieure au sérum et une compétence diminuée en matière de synthèse de capsules, ce qui les expose davantage aux mécanismes de défense de l'hôte (BIRAN *et al.*, 2021).

1.3.4- Système d'acquisition du fer

Le système dont l'opéron est localisé sur un large plasmide confère aux bactéries la capacité de proliférer dans le sang et les organes extra-intestinaux. Chez les souches APEC on observe une surreprésentation de ces opérons. Divers sidérophores, incluant l'aérobactine, la salmochéline, l'yersiniabactine, ainsi que des transporteurs spécifiques permettant de capturer le fer des fluides biologiques, ont été identifiés chez les APEC. Les souches possédant le système d'acquisition du fer (notamment l'aérobactine) sont significativement plus fréquentes comparativement aux souches non pathogènes. Ces sidérophores et transporteurs jouent également un rôle crucial dans de multiples processus pathogènes : adhésion, invasion cellulaire, résistance aux stress environnementaux, régulation de l'expression d'autres facteurs de virulence, colonisation et persistance au sein de l'hôte (ZHANG *et al.*, 2020).

Les mécanismes d'acquisition du fer, encodés par divers gènes comme *iutA*, *iroN*, *chuA* (qui code pour un récepteur de l'hème) et *fyuA* (codant pour le récepteur de la yersiniabactine), constituent des éléments déterminants dans la pathogénicité des APEC. Ces gènes permettent aux bactéries de séquestrer le fer, un élément nutritif indispensable, dans des milieux où sa disponibilité est restreinte, notamment dans le sérum ou les tissus infectés. La coexistence de multiples systèmes d'acquisition du fer chez les APEC leur procure un atout sélectif favorisant leur survie et leur multiplication au sein de l'organisme hôte. À l'inverse, les AFEC présentent généralement un répertoire plus limité de gènes impliqués

dans l'acquisition du fer, ce qui pourrait expliquer leur potentiel pathogène réduit (PAIXÃO *et al.*, 2016).

1.3.5- Les protectines

Les protectines, englobant divers éléments comme le lipo-polysaccharide (LPS), les capsules bactériennes, les protéines membranaires externes et les mécanismes d'échappement à la phagocytose macrophagique, jouent un rôle essentiel dans la protection des bactéries contre le système immunitaire de l'hôte tout en facilitant l'adhésion, l'invasion, la survie intracellulaire, la colonisation et la multiplication des APEC. Chez les APEC, plusieurs systèmes protecteurs sont codés par différents gènes : *betA* (codant pour la choline déshydrogénase), *iss* (impliqué dans l'augmentation de la résistance au sérum), *kfiC-K5* (glycosyl transférase), *kpsMT* (III), *neuC, neuS* (associés à la formation de la capsule), *ompT* (protéase membranaire externe), *OmpA* (protéine de la membrane externe) et *traT* (protéine de résistance au complément). Par ailleurs, *lpxM* (myristoyl-transférase) participe à la synthèse du lipide A, tandis que *sodA* (superoxyde dismutase) protège les APEC contre les défenses de l'hôte médiées par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et favorise la formation de biofilms. Ensemble, ces protectines permettent aux APEC de résister efficacement aux défenses immunitaires de l'hôte et d'établir des infections persistantes (NAWAZ *et al.*, 2024).

1.3.6- Les toxines

Les toxines sont des composés biologiques qui permettent aux bactéries d'infiltrer et d'endommager les tissus hôtes. Chez les APEC, plusieurs gènes codent pour diverses toxines, notamment *ace4/35* (acétylcholine estérase), *astA* (entérotoxine thermostable), *cdtB* et *cdtS* (facteur de distension cytolétale), *espC* (sérine protéase), *hlyF*, *hlyA*, *hlyE* (hémolysine aviaire putative), *pic* (auto-transporteur de sérine protéase), *sat* (toxine auto-transporteuse sécrétée), *stx2f* (variante de la toxine Shiga) et *vat* (toxine auto-transporteuse vacuolisante). Ces toxines facilitent l'invasion tissulaire et les dommages cellulaires tout en améliorant la motilité bactérienne, la colonisation, l'agglutination, l'induction de vacuolisation, la formation de biofilm et la production de vésicules membranaires externes. Cette stratégie multifactorielle permet aux APEC d'établir des infections et d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte (NAWAZ *et al.*, 2024).

Des toxines spécifiques comme *vat* et *astA* jouent un rôle particulièrement important dans la pathogenèse en provoquant des dommages cellulaires et en favorisant la dissémination systémique des bactéries. La présence moins fréquente de ces facteurs de virulence chez les *Escherichia coli* fécales aviaires souligne leur importance dans le potentiel pathogène des APEC (AWAWDEH *et al.*, 2024).

1.3.7- Système de détection de quorum

Le quorum sensing (QS) constitue un mécanisme de communication entre cellules bactériennes permettant de mesurer la densité de population et d'adapter l'expression génique en conséquence. Ce processus influence divers phénomènes tels que la motilité, la formation de biofilm et la pathogénicité. Dans le cas des *Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC), le système QS mobilise deux types d'auto-inducteurs : AI-1 et AI-2. L'auto-inducteur AI-1 est produit par l'homologue de LuxI nommé SdiA, détecté par l'homologue de LuxR appelé QseA, et participe à la régulation de la virulence ainsi qu'à la formation de biofilm. Quant à l'auto-inducteur AI-2, sa production dépend de LuxS et sa régulation s'effectue via l'opéron LsrABCDGK. Le système intègre également d'autres composants régulateurs dont LuxS, Pfs (impliqué dans le cycle du méthyl activé) et ptsI (système de phosphotransférase). Ces éléments jouent un rôle déterminant dans plusieurs processus pathogènes, notamment la persistance, l'adhérence, les dommages cellulaires, l'invasion, la colonisation, la motilité, la formation de biofilm, la survie intracellulaire et l'expression des gènes de virulence. Il convient de noter que le QS chez l'APEC présente une complexité considérable et demeure partiellement élucidé. Des investigations supplémentaires s'avèrent nécessaires pour comprendre pleinement son impact sur la régulation de la physiologie bactérienne et pour évaluer son potentiel en tant que cible thérapeutique antimicrobienne (NAWAZ *et al.*, 2024).

1.3.8- Les systèmes de sécrétion

Les systèmes de sécrétion bactérienne constituent des complexes protéiques transmembranaires permettant aux bactéries de libérer des effecteurs protéiques directement dans les cellules hôtes, ce qui engendre des dommages cellulaires significatifs. Chez les *Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC), deux systèmes de sécrétion majeurs, les types III et VI, jouent un rôle prépondérant dans le processus pathogénique. Ces systèmes sont complétés par divers mécanismes moléculaires, notamment cpxA (impliqué dans la réponse au stress de l'enveloppe cellulaire), cpxR, clpV (une ATPase essentielle), hcp (protéine participant à la co-régulation de l'hémolyse), icmF (facteur favorisant la multiplication intracellulaire) et vrgG (protéine sécrétée). L'ensemble de ces mécanismes contribue à différentes étapes du processus infectieux, incluant l'adhésion aux cellules hôtes, la motilité bactérienne, la formation de biofilm, l'invasion tissulaire, la compétition inter-bactérienne, la survie en milieu intracellulaire la colonisation et la résistance à l'activité bactéricide du sérum (NAWAZ *et al.*, 2024).

1.3.9- La fixation du Rouge Congo

Le Rouge Congo est utilisé comme marqueur phénotypique permettant la distinction entre les souches pathogènes et non pathogènes commensales d'*Escherichia coli* chez la volaille. Cette méthodologie représente un outil épidémiologique efficace pour identifier les souches APEC virulentes parmi les *E. coli* non pathogènes.

La capacité d'absorption du Rouge Congo est corrélée à l'hydrophobicité de la membrane cellulaire bactérienne et au potentiel pathogène de la souche. Les isolats d'*E. coli* capables de fixer le Rouge Congo sont considérés comme plus virulents et présentent une propension accrue à provoquer des infections septicémiques, particulièrement dans le cas des APEC. Plusieurs études ont établi une corrélation positive entre la fixation du Rouge Congo et la pathogénicité des souches d'*Escherichia coli*. Ce test phénotypique est couramment employé en conditions *in vitro* pour évaluer le potentiel de virulence des isolats d'*E. coli* (AHMED *et al.*, 2025).

1.3.10- La production de l'hémolysine

L'hémolysine se présente comme une toxine cytolytique, une protéine sécrétée par certains isolats d'*Escherichia coli*. La production de cette toxine est généralement associée à la pathogénicité des souches d'*E. coli* impliqués dans les infections sévères.

La protéine HlyF intervient dans la régulation de la biogenèse des vésicules de la membrane externe (OMVs), structures jouant un rôle déterminant dans la libération de toxines et d'autres facteurs de virulence. Cette augmentation de la production d'OMVs contribue significativement à la pathogénicité bactérienne en facilitant la dissémination des toxines. Par ailleurs, HlyF participe à l'induction du processus d'autophagie dans les cellules eucaryotes, suggérant son implication importante dans l'établissement de l'infection. Des investigations ont démontré que le gène *hlyF* présente une expression élevée lors d'infections extra-intestinales, notamment dans un modèle expérimental de colibacillose aviaire, corroborant ainsi son rôle dans la virulence des APEC (MURASE *et al.*, 2016).

1.3.11- La formation de biofilms

La formation de biofilms est un facteur majeur contribuant à la survie et à la persistance des APEC. Les biofilms se forment lorsque des micro-organismes planctoniques se fixent à une surface et sécrètent des exo-polysaccharides, des protéines et des acides nucléiques pour former la matrice extracellulaire du biofilm. La formation de biofilms peut être divisée en trois étapes principales : la fixation à une surface, l'agrégation et la formation d'une architecture de biofilm mature et la dispersion de la structure. La formation de biofilms est une réponse à des conditions stressantes et sert de barrière physique de protection contre les facteurs environnementaux nocifs, notamment les antimicrobiens, les défenses de l'hôte et la prédation. Les biofilms offrent également un environnement sûr pour le transfert horizontal de gènes et augmentent l'efficacité de la conjugaison entre les cellules bactériennes, ce qui peut entraîner un transfert accru de gènes de résistance aux antimicrobiens et d'autres gènes de virulence.

Les facteurs associés au biofilm comprennent les fimbriae de type I, codés par les gènes de l'opéron *fim*, et les protéines curli, codées par les gènes de deux opérons *csg*, impliquées dans la fixation initiale des cellules planctoniques à une surface et dans l'adhésion intercellulaire. Il a été démontré que les flagelles, et par conséquent la motilité, jouent un rôle

dans l'adhésion d'*E. coli* aux surfaces abiotiques et influencent l'architecture du biofilm. Les protéines de la membrane externe ont également été impliquées dans divers rôles dans la formation du biofilm, de la communication intercellulaire au développement du biofilm mature (YOUNG *et al.*, 2022).

1.4- Rôle des plasmides dans la virulence des APEC

Les plasmides, en particulier le plasmide ColV, contiennent des gènes qui codent pour des facteurs de virulence comme les systèmes d'acquisition du fer (*iroN*, *iutA*), les protéines de résistance au sérum (ISS) et les toxines (cvaC). L'élimination de ces plasmides diminue largement la faculté des APEC à envahir les poules et à déclencher des infections généralisées. Les plasmides ColV sont aussi liés à la génération de vésicules de membrane externe (OMVs), qui ont un impact sur la distribution des toxines et l'ajustement des réactions immunitaires de l'hôte (OVI *et al.*, 2023).

1.5- Différences dans les profils de gènes de virulence entre APEC et AFEC

Des recherches indiquent que les APEC présentent une fréquence nettement supérieure de certains gènes de virulence comparativement aux AFEC. Par exemple, on détecte plus souvent les gènes *astA* (toxine thermostable associée à *E. coli* entéroaggrégatif), *feoB* (transporteur de fer ferreux), *iroN*, *iss*, *iutA*, *hlyF*, *vat* (toxine auto-transportatrice vacuolisante) et *ompT* chez les APEC que chez les AFEC. Ces gènes jouent un rôle dans différentes voies de virulence, comme l'absorption du fer, la résistance au système du complément et la sécrétion de toxines. Ainsi, ces gènes sont vus comme des indicateurs moléculaires pour différencier les souches pathogènes de celles commensales (OVI *et al.*, 2023). Toutefois, des gènes tels que *focG*, *sfa/foc* et *hlyA* (hémolysine A) sont uniquement présents chez les AFEC, ce qui laisse supposer des distinctions fonctionnelles dans les approches de colonisation et de pathogénicité entre ces deux groupes (AWAWDEH *et al.*, 2024). Les AFEC sont des variantes d'*E. coli* commensales que l'on retrouve dans le système digestif des oiseaux en bonne santé.

1.6- Implications pour la santé publique et la vaccination

La présence de gènes virulents chez les APEC, notamment ceux liés à la résistance aux antibiotiques et à la capacité de survie dans le sérum, représente un enjeu majeur pour la santé publique. Les APEC sont susceptibles de transmettre ces gènes à d'autres bactéries, y compris celles qui sont pathogènes pour l'Homme, par le biais de processus de transfert horizontal de gènes. Il est donc essentiel de comprendre les profils de virulence des APEC et AFEC pour élaborer des stratégies de vaccination efficaces et maîtriser les infections à *E. coli* dans les fermes avicoles (KENDEK *et al.*, 2024).

1.7- Importance des gènes de virulence dans le diagnostic des APEC

Les gènes tels que *iss*, *iron*, *tsh*, *iutA* et *hlyF* sont utilisés pour la détection des APEC et pour différencier ces souches des AFEC. On considère ces gènes comme des indicateurs fiables pour anticiper la capacité pathogène des souches d'*E. coli* prélevées chez les volailles. Toutefois, l'existence de ces gènes n'assure pas nécessairement la pathogénicité, étant donné que certains AFEC peuvent aussi les posséder, bien que plus rarement (OVI *et al.*, 2023).

Tableau IV : Fonction des gènes de virulence principalement trouvés chez *Escherichia coli* pathogène aviaire (APEC) (OVI et al., 2023).

Gènes	Localisation	Fonction
<i>papA</i> , <i>papC</i> , <i>papEF</i> , <i>papG</i> (I), <i>papC</i> (II), et <i>papG</i> (III)	Chromosome	Pili associés à la pyélonéphrite, adhésion
<i>fimA</i> et <i>fimH</i>	Chromosome	Fimbriae de type I, adhésine
<i>fdeA</i> et <i>fdeB</i>	Chromosome	Fimbriae de type I, adhésion et invasion des lignées cellulaires de poulet et d'humain
<i>tia</i>	Chromosome	Invasion
<i>irp2</i>	Chromosome	Adhésion et synthèse de protéines réprimées par le fer
<i>ireA</i> , <i>chuA</i> , et <i>fecB</i>	Chromosome	Acquisition et régulation du fer
<i>kpsMT</i> (k1), <i>kpsMT</i> (II), et <i>kpsMT</i> (III)	Chromosome	Production de capsule protectrice et survie dans le sérum de l'hôte
<i>iucA</i> , <i>iucB</i> , <i>iucC</i> , <i>iucD</i> , et <i>iutA</i>	Plasmide CoIV	Synthèse et régulation du système de capture de l'aérobactine
<i>cvaA</i> , <i>cvaB</i> , <i>cvaC</i> , <i>cvi</i>	Plasmide CoIV	Synthèse de la colicine
<i>sitA</i> , <i>sitB</i> , <i>sitC</i> , et <i>sitD</i>	Plasmide CoIV/IncF/IncN	Capture du manganèse et du fer, résistance au stress oxydatif
<i>etsA</i> , <i>etsB</i> , et <i>etsC</i>	CoIV/Coll8M	Activité de transport transmembranaire
<i>ettA</i> et <i>ettB</i>	CoIV	Transport du fer putatif
<i>iss</i>	Chromosome/ Plasmide CoIV	Survie dans le sérum de l'hôte
<i>traT</i>	Plasmide IncF	Résistance au complément
<i>ompF</i> et <i>ompC</i>	Chromosome	Adhésion, invasion, colonisation et prolifération
<i>hlyF</i>	Plasmide CoIV	Hémolyse, régulation des vésicules de la membrane externe, induction de l'autophagie dans les cellules hôtes

ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIELS
ET
METHODES

Etude expérimentale**Matériels et méthodes****Objectif du travail**

Cette étude a pour principal objectif de caractériser les facteurs de virulence de souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC) issues de colibacillose et fécales aviaires (AFEC) isolées à partir des fientes de volailles. L'étude a ciblé quatre facteurs de virulence majeurs : la résistance au sérum, la capacité de fixation du rouge Congo, la production d'hémolysine et la formation de biofilms. Une analyse comparative de la distribution et de l'expression de ces facteurs de virulence entre les souches APEC et AFEC a été réalisée afin d'établir des critères de discrimination fiables entre les souches pathogènes et commensales. Cette caractérisation phénotypique visait à identifier des marqueurs spécifiques permettant de différencier les souches potentiellement pathogènes des souches commensales.

Lieu et durée du stage

Notre stage pratique, mené dans le cadre de ce mémoire, s'est déroulé au sein **du Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB)** du département de Biochimie et de Microbiologie à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou pendant une durée de trois mois.

Prévenance des souches testées

Les souches étudiées ont été isolées à partir d'échantillons collectés dans les régions du centre de l'Algérie (Alger, Bordj, Bou Arreridj, Bouira, Béjaïa, Tizi Ouzou et Boumerdès). La collecte a été réalisée au sein du laboratoire régional de Draâ Ben Khedda entre mars et avril 2024. Le lot de 40 souches APEC proviennent de prélèvements effectués sur les organes internes de poulets (foie, rate, péricarde, poumons et tissus ovariens) cliniquement diagnostiqués ou suspectés de colibacillose ; tandis que 40 souches AFEC étudiées ont été isolées à partir d'intestins, de fèces et d'écouvillons cloacaux de poulets présumés sains.

1- Matériels

Le matériel utilisé est celui du Laboratoire de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (l'annexe 1 renferme la liste du matériel du laboratoire utilisé).

2- Méthodes**2.1- La fixation du Rouge Congo**

La revivification des souches, conservées sur bouillon BHIB, a été effectuée avant de procéder à l'ensemencement des souches sur le milieu Mueller-Hinton (MH) additionné de 0,2% de rouge Congo. Un isolement a ensuite été réalisé sur la gélose Hektoen favorisant la croissance des bactéries d'intérêt, puis l'ensemencement a été réalisé sur la gélose MH additionnée de 0,2% de Rouge Congo (Mellata, 1998 ; Al-Saiedi et Al-Mayah, 2014).

Le milieu de culture Mueller Hinton a été préparé en pesant 38g de poudre qui a été ensuite dissoute dans 950ml d'eau distillée et a été soumise à une agitation. Parallèlement, le Rouge Congo a été préparé lorsque 2g de poudre ont été pesés et ont été dissous dans 50 ml d'eau distillée sous agitation. La solution de Rouge Congo a été incorporée au milieu Mueller Hinton liquide avant que le mélange n'ait été transféré dans des flacons stériles. La gélose MH+0,2% Rouge Congo a été coulée dans les boîtes de Pétri dans des conditions stériles. Les boîtes de gélose ont été laissées à température ambiante jusqu'à solidification complète, puis incubées dans l'étuve pendant 24h avant l'utilisation.

2.1.1- Revivification des souches sur le bouillon BHIB

La revivification des souches sur bouillon BHIB a été réalisée. Les souches ont été repiquées sur le bouillon BHIB préalablement préparé. Après le repiquage, le bouillon ensemencé a été incubé à une température de 37°C pendant 18 heures pour permettre la croissance des bactéries.

2.1.2- Ensemencement des souches revivifiées sur gélose Hektoen et incubation pendant 24h à 37°C

Les souches revivifiées ont été ensemencées sur la gélose Hektoen. Après l'ensemencement, la gélose a été incubée à 37°C pendant 24 heures.

2.1.3- Contrôle la qualité du milieu de fixation par la souche de *Staphylococcus aureus* fixatrice du Rouge Congo

Avant de procéder à la fixation avec le Rouge Congo, il est essentiel de contrôler la qualité du milieu de fixation en réalisant un test sur une souche de référence. Dans ces essais, la souche de *Staphylococcus aureus* 25923 a été utilisée comme souche témoin fixatrice du Rouge Congo.

2.1.4- Ensemencement des souches d'APEC / AFEC isolé sur la gélose Hektoen sur le milieu MH +0,2% du Rouge Congo et incubé pendant 24h à 37°C

Les colonies d'APEC-AFEC ont été prélevées après leur incubation sur le milieu Hektoen. La souche a été ensemencée sur la gélose MH + 0,2% du Rouge Congo.

La gélose a été incubée à une température de 37°C pendant 24 heures pour permettre la croissance bactérienne complète.

2.2- La Résistance au sérum

La préparation du sérum humain débute par la centrifugation d'un tube EDTA contenant du sang total. Cette étape permet de séparer les différents composants sanguins en fonction de leur densité. Après centrifugation, le sérum est récupéré avec précaution et transféré dans un Eppendorf.

Ce test est réalisé pour déterminer la résistance des souches d'*Escherichia coli* aviaires au sérum humain.

Après avoir revivifié les souches par incubation en bouillon BHIB à 37°C pendant 18 heures, 20 µL de culture en phase exponentielle ont été prélevés, dilués au 1/500 dans de l'eau physiologique stérile. 100 µL de cette dilution ont ensuite été étalés sur des géloses Mueller-Hinton. Les boîtes ont été incubées 15 minutes à 37°C avant le dépôt de 50 µL de sérum humain au centre de chaque gélose. Une incubation finale de 24 heures à 37°C a permis d'identifier les souches résistantes, caractérisées par leur croissance dans la zone de dépôt du sérum, contrairement aux souches sensibles qui n'ont montré aucun développement bactérien (Fierer et al., 1972).

2.3- La recherche d'hémolysine

Pour le test d'hémolysine la gélose BGS a été utilisée additionnée de sang humain à raison de 5 %.

Les souches bactériennes d'*E. coli* pathogènes aviaires (APEC) et d'*E. coli* fécaux aviaires ont d'abord été revivifiées par culture en bouillon BHIB à 37°C pendant 24 heures, puis ensemencées par stries sur les boîtes de géloses BGS enrichies de sang et enfin incubées à nouveau à 37°C pendant 24 heures (Al-Saiedi & Al-Mayah, 2014).

2.3.1- Préparation de la gélose BGS+5% du sang humain

La préparation de la gélose au sang commence par le prélèvement de 9ml de sang humain à l'aide d'une seringue stérile. Ce sang est versé dans un flacon contenant de la gélose BGS préalablement chauffée dans un bain-marie. Le mélange est agité soigneusement pour assurer une distribution homogène du sang dans la gélose. La gélose au sang est ensuite coulée dans des boîtes de Pétri stériles et laissée à température ambiante pour permettre

sa solidification. Une fois solidifiées, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures pour vérifier leur stérilité, puis stockées au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

2.3.2- Lecture

L'analyse des résultats a révélé trois profils distincts :

- Les souches présentant une hémolyse β se caractérisaient par des colonies entourées d'un halo blanc témoignant d'une lyse complète des globules rouges.
- Les souches à hémolyse α montraient un halo verdâtre correspondant à une lyse incomplète
- Les souches non hémolytiques (hémolyse γ) ne produisaient aucune modification visible autour des colonies.

2.4- La formation de biofilms.

La capacité des souches APEC et AFEC à former des biofilms a été recherchée par deux méthodes. Pour la première méthode, les bactéries ont été isolées sur gélose Hektoen, puis ensemencées sur gélose RCA (Rouge Congo Agar).

2.4.1- Formation de biofilms sur gélose Rouge Congo

La formation de biofilms sur gélose Rouge Congo a été initiée par l'isolation de colonies d'APEC/AFEC qui ont été préalablement incubées sur un milieu Hektoen. Ces colonies bactériennes ont été ensuite prélevées et ont été ensemencées soigneusement sur le milieu Rouge Congo Agar (RCA). Ce milieu contient le colorant Rouge Congo qui se lie aux polysaccharides extracellulaires produits par les bactéries formatrices de biofilm. Après ensemencement, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures (Ouchar et al., 2013).

Pour la seconde méthode qui est la formation d biofilms sur microplaques, cette dernière a été réalisée en préparant d'abord une suspension bactérienne standardisée (DO entre 0,08-0,13) à partir de colonies isolées dans des tubes contenant l'eau physiologique stérile. Après standardisation à une DO comprise entre 0,08-0,13 correspondant à 10^5 UFC/ml. 100 μ l de cette suspension ont été inoculés dans des puits de microplaque contenant du milieu BHIB+2% glucose, suivis d'une incubation à 37°C pendant 24h.

Après incubation, le contenu des puits a été aspiré, puis les microplaques lavées avec un laveur ELISA. Les biofilms formés ont ensuite été fixés par séchage à l'air pendant 1h, colorés au violet de gentiane pendant 15 minutes, puis rincés avec l'eau physiologique. Finalement, pour quantifier le biofilm formé, les puits ont été remplis de méthanol, agités à l'aide d'un agitateur de microplaque, et l'absorbance a été mesurée par un lecteur ELISA (Saleem et al., 2017).

2.4.2- Formation de biofilms sur microplaque.**2.4.2.1- Inoculation du milieu BHIB+2% glucose dans la microplaque**

100 µl de ce milieu nutritif enrichi ont été prélevés précisément à l'aide d'une micropipette. Ce volume a été ensuite déposé dans chacun des 96 puits de la microplaque, en veillant à maintenir des conditions stériles tout au long de la manipulation. L'ajout de glucose au milieu BHIB a été effectué pour stimuler la croissance bactérienne et favoriser potentiellement la formation de biofilm.

2.4.2.2- Standardisation

La standardisation de l'inoculum bactérien a été réalisée à partir d'une colonie bactérienne isolée, prélevée puis suspendue dans 10 mL de solution physiologique stérile. La suspension obtenue a été homogénéisée à l'aide d'un vortex afin d'assurer une distribution uniforme des bactéries. La densité optique (DO) de cette suspension a ensuite été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm (ou 600 nm selon l'appareil utilisé), et ajustée pour se situer entre 0,08 et 0,13, correspondant approximativement à une concentration bactérienne de 1×10^8 UFC/mL, selon l'échelle de McFarland (valeur équivalente à un tube de McFarland 0,5).

2.4.2.3- Préparation de la suspension

La suspension bactérienne diluée a été préparée en prélevant avec précision 100 µl de la suspension précédemment standardisée à l'aide d'une micropipette. Ce volume a été ensuite dilué dans 9900 µl (9,9 ml) de milieu BHIB enrichi à 2% de glucose. Pour assurer une répartition homogène des bactéries dans le milieu, la suspension a été soigneusement mélangée à l'aide d'un vortex.

2.4.2.4- Protocole expérimental

100 µl de la suspension bactérienne diluée préparée précédemment ont été prélevées. Ce volume a été inoculé dans chaque puits de la microplaque qui contenait déjà le milieu BHIB+2%glucose. La microplaque a été ensuite placée dans l'étuve réglée à 37°C pendant 24 heures. La souche de *Staphylococcus aureus* 25923 a été utilisée comme souche témoin positif et le milieu BHIB +2% glucose comme témoin négatif.

2.4.2.5- Lecture

Après 24 heures d'incubation, la lecture des résultats de formation de biofilm a été initiée par l'aspiration de tout le liquide présent dans les puits de la microplaque. Les puits ont été ensuite lavés avec l'eau physiologique 2 fois. Les microplaques ont été alors séchées dans un four pasteur pendant 1 heure à 50°C.

Pour quantifier le biofilm formé, 150 µl de violet de gentiane ont été déposés dans chaque puits et ont été laissés en contact pendant 15 minutes. Après un nouveau lavage avec

l'eau physiologique pour éliminer l'excès de colorant, 150 µl du méthanol ont été déposés dans les puits des microplaques et agitées à l'aide d'un agitateur microplaques pendant 30 minutes afin de décoller le biofilm. Les résultats ont été mesurés à l'aide d'un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 630nm. Les souches ont été classées en quatre catégories en fonction de leur capacité à former un biofilm, basée sur leur DO moyenne comparée à l'ODC du témoin négatif :

- **Non formatrices** : $DO \leq ODC$ témoin négatif.
- **Faiblement formatrices** : $ODC \text{ témoin négatif} \leq DO \leq 2 \times ODC$ témoin négatif.
- **Modérément formatrices** : $2 \times ODC \text{ témoin négatif} < DO \leq 4 \times ODC$ témoin négatif.
- **Fortement formatrices** : $DO > 4 \times ODC$ témoin négatif.

Analyse statistique

Le test de χ^2 a été réalisé avec logiciel SPSS (version 22.0) pour évaluer l'**existence d'une éventuelle corrélation** entre les facteurs de virulence étudiés et l'antibiorésistance (données obtenues dans un travail antérieur). Ainsi l'étude de corrélation entre les facteurs de virulences (fixation du Rouge Congo, résistance au sérum, production d'hémolysine et formation de biofilm) d'*Escherichia coli* pathogènes et fécales aviaires.

Hypothèses testées :

- **H₀ (Hypothèse nulle)** : $p \text{ value} > 0,05 \rightarrow$ Les deux variables sont indépendants ; aucune corrélation significative n'est observée.
- **H₁ (Hypothèse alternative)** : $p \text{ value} \leq 0,05 \rightarrow$ elle existe une corrélation significative entre les 02 variables.

**RESULTATS
ET
DISCUSSION**

1- Résultats.

Dans le cadre de cette étude comparative entre souches APEC et AFEC, nous avons évalué quatre facteurs de virulence majeurs pour établir des critères de discrimination entre souches pathogènes et commensales.

1.1- Résultats de la fixation du Rouge Congo.

Pour la fixation du Rouge Congo, 37,5% de souches fixatrices ont été trouvées chez les APEC contre 40% chez les AFEC, et 62,5% de non fixatrices ont été observées chez les APEC contre 60% chez les AFEC (les résultats détaillés de cette analyse sont présentés en annexe 4 et 5 et la figure 8).

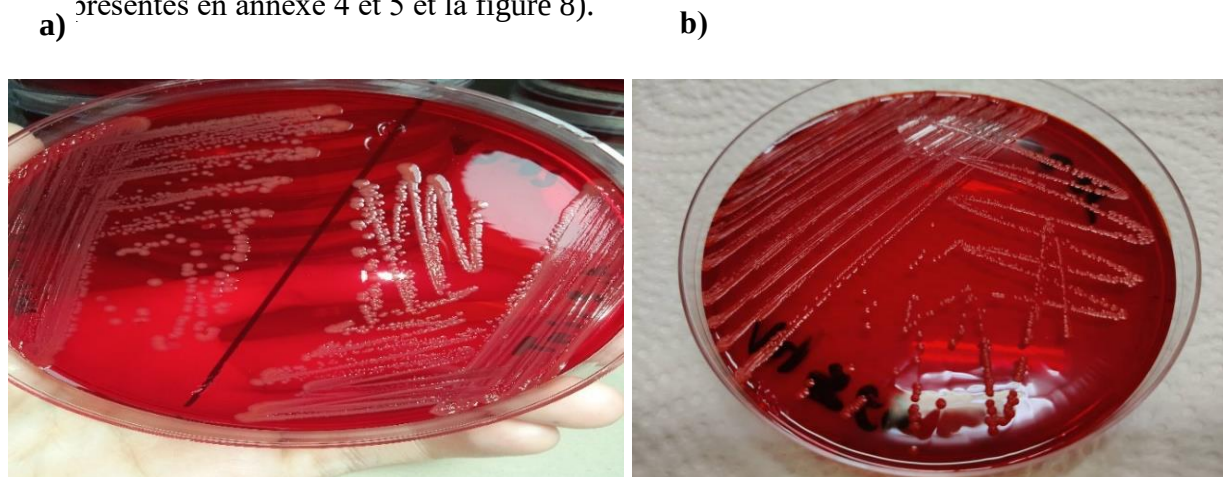


Figure 4 : Résultats de la fixation du Rouge Congo : a) Colonies blanches non fixatrices du Rouge Congo, b) Colonies rouges fixatrices du Rouge Congo.

1.2- Résultats de la résistance au sérum

Concernant la résistance au sérum, 70% des souches APEC et AFEC ont été identifiées comme résistantes, tandis que 30% des APEC et 30% des AFEC ont été trouvées sensibles (les résultats détaillés de cette analyse sont présentés en annexe 4 et 5 et la figure 8).

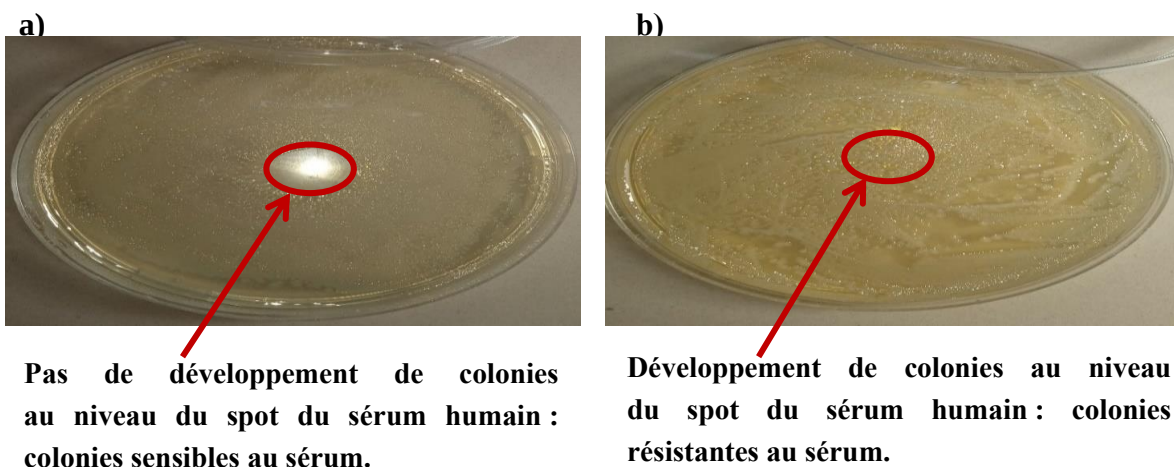


Figure 5 : Résultats de la résistance au sérum : a) colonies sensibles au sérum, b) colonies résistantes au sérum.

1.3- Résultats de la recherche d'hémolysine.

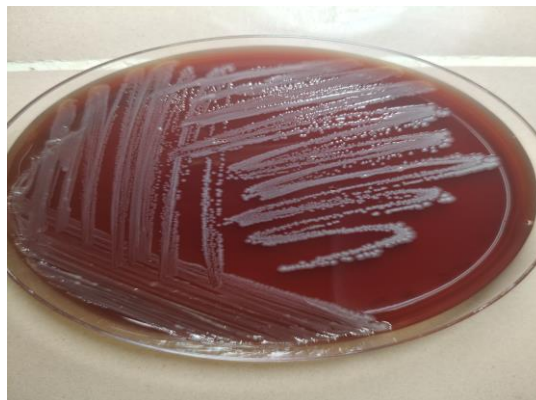
L'activité hémolytique montre que 92,5% des souches APEC ont été observées avec une activité β -hémolytique contre 77,5% des AFEC, alors que l'activité α -hémolytique a été retrouvée chez 7,5% des APEC et 22,5% des AFEC (les résultats détaillés de cette analyse sont présentés en annexe 4 et 5 et la figure 8).

a)



Développement de colonies avec un halo verdâtre.

b)



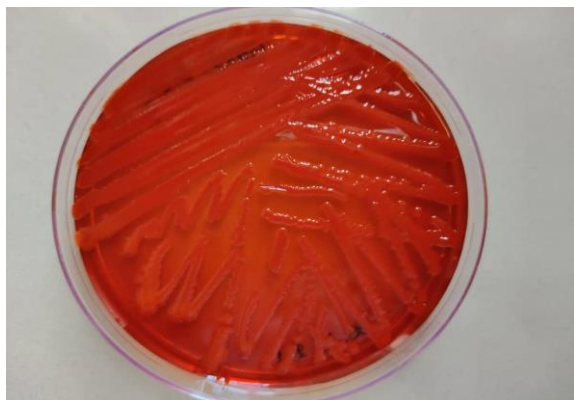
Développement de colonies avec un halo blanchâtre.

Figure 6 : Résultats du test d'hémolysine : a) α -hémolytique, b) β -hémolytique

1.4- Résultats de la formation de biofilm sur Rouge Congo Agar.

Pour la formation de biofilm sur Rouge Congo, 85% de souches non formatrices ont été identifiées chez les APEC contre 87,5% chez les AFEC, et 15% formatrices ont été trouvées chez les APEC contre 12,5% chez les AFEC (les résultats détaillés de cette analyse sont présentés en annexe 4 et 5 et la figure 8).

a)



b)



Figure 7 : Résultats de la formation de biofilm sur RCA : a) colonies rouges non formatrices de biofilm, b) colonies noires formatrices de biofilms.

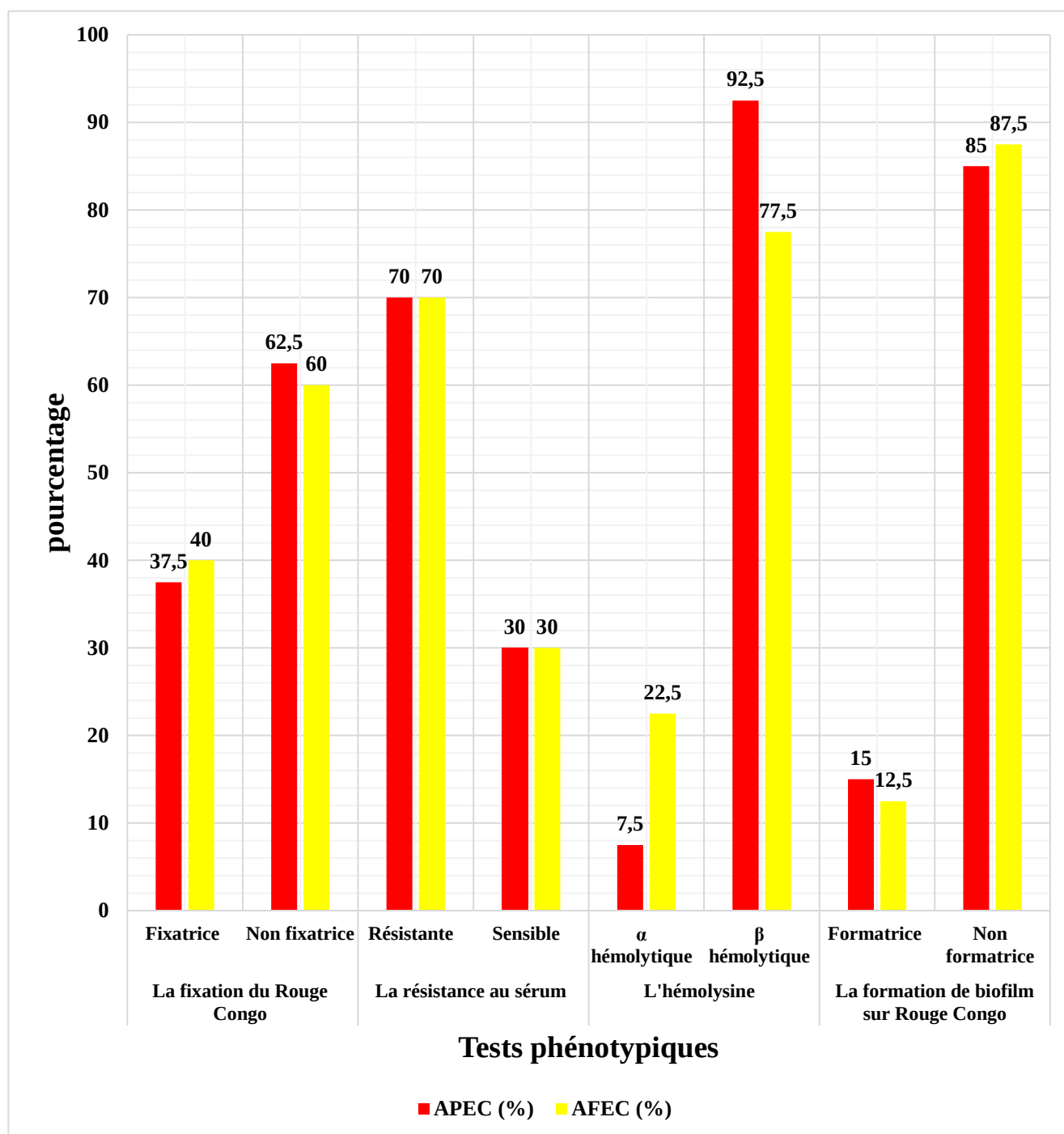


Figure 8 : Distribution comparative (%) des caractéristiques phénotypiques des souches APEC et AFEC : fixation du Rouge Congo, résistance au sérum, production d'hémolysine et formation de biofilm.

1.5- Résultats de la formation de biofilms sur microplaques.

Les souches sont classées en quatre niveaux de formation de biofilms en fonction de la DO obtenue : souches non formatrices, faiblement formatrices, modérément formatrices, fortement formatrices (figure 9).

2- Analyse de la capacité de formation de biofilm par mesure de densité optique

Cette étude vise à évaluer la capacité de formation de biofilms de différentes souches bactériennes (APEC et AFEC) à l'aide de mesures de densité optique (DO). Les biofilms, structures microbiennes adhérant aux surfaces. Leur quantification permet de classer les souches en fonction de leur potentiel de formation.

Les densités optiques (DO) ont été mesurées en triple pour chaque souche, puis moyennées. L'écart-type a été calculé pour évaluer la reproductibilité.

Les résultats des tests de formation de biofilms après incubation de 48h ont permis de classer les souches bactériennes APEC et AFEC en quatre catégories selon leur densité optique (DO) moyenne : non formatrices ($DO \leq \text{ODC témoin négatif}$), faiblement formatrices ($\text{ODC témoin négatif} \leq DO \leq 2 \times \text{ODC témoin négatif}$), modérément formatrices ($2 \times \text{ODC témoin négatif} < DO \leq 4 \times \text{ODC témoin négatif}$), et fortement formatrices ($DO > 4 \times \text{ODC témoin négatif}$). Parmi les souches APEC, E22, E25, et E28 se sont distinguées comme fortement formatrices, avec des DO élevées (ex. 0,919 pour E28), indiquant une capacité accrue à former des biofilms résistants. Les souches modérément formatrices, comme E4 et E24, présentent un potentiel intermédiaire, tandis que les faiblement formatrices (ex. E11) montrent une atténuation de cette capacité (les résultats détaillés de cette analyse sont présentés en annexe 6). Du côté des AFEC, des souches comme F15 et F22 ont confirmé leur forte formation de biofilm, tandis que d'autres (ex. F36) se sont révélées non formatrices (les résultats détaillés de cette analyse sont présentés en annexe 7). Ces variations soulignent l'hétérogénéité du potentiel biofilm parmi les souches, avec des implications importantes pour la gestion des infections bactériennes, notamment dans les environnements cliniques et agricoles où les biofilms compliquent souvent les traitements.

Dans cette étude, en comparant les souches pathogènes extra-intestinales APEC aux souches commensales AFEC. L'analyse comparative révèle des profils distincts entre les deux groupes de souches étudiées, environ 5% des souches APEC étaient non formatrices contre 20% des AFEC, 8% des isolats APEC présentaient une formation faible de biofilm contre 45% des AFEC. Par ailleurs 21% des APEC montraient une formation modérée de biofilm contre 20% des AFEC. Enfin 9% des souches APEC étaient fortement formatrices contre 15% des AFEC (figure 9).

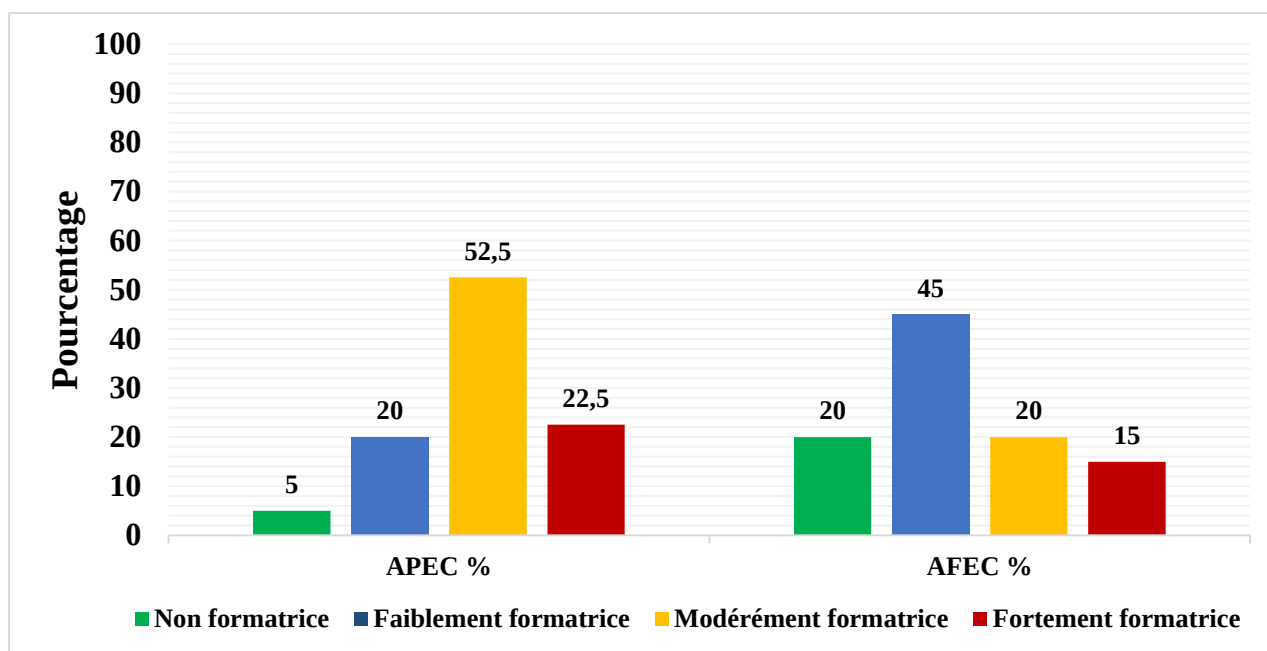


Figure 9: Répartition des souches APEC et AFEC selon le degré de formation de biofilm.

3- Analyse statistique de corrélation entre antibiorésistance et facteurs de virulence

L'analyse statistique réalisée sous SPSS n'a pas révélé de corrélation significative entre les profils de multirésistance aux antibiotiques et les quatre facteurs de virulence étudiés (fixation du rouge Congo, résistance au sérum, production d'hémolysine et formation de biofilm). Les coefficients de corrélation obtenus sont les suivants :

- Résistance aux antibiotiques * fixation du Rouge Congo = 0,570
- Résistance aux antibiotiques * résistance au sérum = 0,570
- Résistance aux antibiotiques * hémolysine = 0,596
- Résistance aux antibiotiques * formation de biofilm = 0,174

Ces valeurs sont supérieures au seuil de signification $\alpha = 0,05$, ce qui conduit à accepter l'hypothèse nulle, indiquant l'absence de corrélation significative entre l'antibiorésistance et les facteurs de virulence. Ces résultats suggèrent qu'une souche multirésistante n'est pas nécessairement une souche hautement virulente. Il est possible que ces facteurs de virulence évalués dans cette étude ne constituent pas des marqueurs clés directement liés aux mécanismes de multirésistance développés par ces souches.

L'absence de corrélation significative indique également que la présence des facteurs de virulence ne peut pas servir de marqueur indirect fiable pour prédire le profil de multirésistance des souches APEC et AFEC.

4- Corrélation entre les facteurs de virulence d'*Escherichia coli*

L'analyse statistique réalisée, a révélé une *p value* de 0,019, valeur inférieure au seuil de 0,05, ce qui confirme la présence d'une corrélation significative entre les facteurs de virulences étudiée (fixation de Rouge Congo, la résistance au sérum, l'hémolysine et la formation de biofilms). Le coefficient de contingence permet de quantifier la force du lien entre deux variables catégorielles présentées sous forme d'un tableau croisé.

	Valeur de contingence	Le rapport et interprétation
Fixation du RC avec Biofilm sur RC	C= 0.268	Soit $\frac{c}{c_{max}} = \frac{0.268}{0.707} = 0.38 = 38\%$ Association modérée faible.
RC avec Hémolysine	C=0.108	$\frac{c}{c_{max}} = \frac{0.108}{0.707} = 0.153 = 15.3\%$ Association faible.
RC avec résistance au sérum	C=0.017	$\frac{c}{c_{max}} = \frac{0.017}{0.707} = 0.024 = 2.4\%$ Association extrêmement faible
Résistance au sérum avec hémolysine	C= 0.141	$\frac{c}{c_{max}} = \frac{0.141}{0.707} = 0.2 = 20\%$ une Association faible.

$$C_{max} = \sqrt{\frac{k-1}{k}}$$

Pour notre cas c'est un tableau 2x2 donc $C_{max} = 0.707$.

Sachant que :

Pourcentage de C _{max}	Force de l'association	Plage de C
0% - 15%	Négligeable/Très faible	$C < 0.106$
15% - 30%	Faible	$0.106 \leq C < 0.212$
30% - 45%	Modérée faible	$0.212 \leq C < 0.318$
45% - 60%	Modérée	$0.318 \leq C < 0.424$
60% - 75%	Forte	$0.424 \leq C < 0.530$
75% - 100%	Très forte	$C \geq 0.530$

La fixation de Rouge Congo est étroitement liée à la formation de biofilms, car ce colorant se lie spécifiquement aux fibres amyloïdes extracellulaires appelées curli, qui jouent un rôle dans l'adhésion bactérienne et la structuration du biofilm. Les curli facilitent l'attachement des bactéries aux surfaces et entre elles, constituant ainsi une matrice protectrice essentielle à la stabilité et à la résistance du biofilm. La production de curli est régulée par des gènes spécifiques, et la coloration au Rouge Congo est utilisée comme un indicateur fiable de cette production, ce qui explique pourquoi une fixation positive au Rouge Congo est souvent corrélée à une capacité accrue à former des biofilms.

La relation entre la résistance au sérum et la production d'hémolysine chez *Escherichia coli* aviaire peut s'expliquer par le fait que ces deux facteurs de virulence sont souvent codés par des gènes plasmidiques. Les plasmides sont des éléments génétiques extra-chromosomiques capables de se transférer horizontalement entre bactéries, ce qui facilite la diffusion rapide de traits de virulence au sein des populations bactériennes. Le fait que les gènes codant pour la résistance au sérum (*iss*) et pour l'hémolysine (*hlyF*) soient localisés sur le même plasmide ou sur des plasmides compatibles favorise leur co-expression dans une même souche. Cela signifie qu'une souche d'*E. coli* aviaire peut simultanément acquérir et exprimer ces deux mécanismes, renforçant ainsi sa virulence et sa capacité à échapper aux défenses immunitaires de l'hôte.

5- Analyse comparative des profils de virulence des souches APEC et AFEC : Relation entre le nombre de facteurs de virulence et le potentiel pathogène chez *Escherichia coli* aviaire

Les résultats révèlent des différences significatives dans le profil de virulence des souches APEC (*E. coli* pathogènes pour les volailles) et AFEC (*E. coli* commensales). Chez les APEC, 20 % des souches possèdent un facteur, 47,5 % des souches possèdent deux facteurs de virulence, tandis que 22,5 % en expriment trois, et 10 % cumulent même quatre facteurs. À l'inverse, les AFEC montrent une tendance légèrement différente, 15 % des souches possèdent un facteur, 55% des souches présentant deux facteurs, 22,5 % trois facteurs, et seulement 7,5 % quatre facteurs. Les souches à un seul facteur sont moins représentées, avec 20 % pour les APEC contre 15 % pour les AFEC (figure 10).

Ces données suggèrent que les APEC sont globalement plus virulentes que les AFEC, avec une proportion plus élevée de souches exprimant trois à quatre facteurs de virulence ce qui pourrait expliquer leur pouvoir pathogène accru chez les volaille. Cette accumulation de facteurs de virulence chez les APEC, leur conférant un pouvoir dans l'invasion et la colonisation des tissus aviaires.

En revanche, les AFEC, bien que majoritairement porteuses de deux facteurs (55 %), comptent peu de souches hautement virulentes (seulement 7,5 % avec quatre facteurs contre 10 % chez les APEC).

Cette distribution confirme leur rôle plutôt commensal, avec une virulence atténuée qui leur permet de coexister avec leur hôte sans provoquer de pathologies majeures (les résultats détaillés se trouvent dans annexe 9).

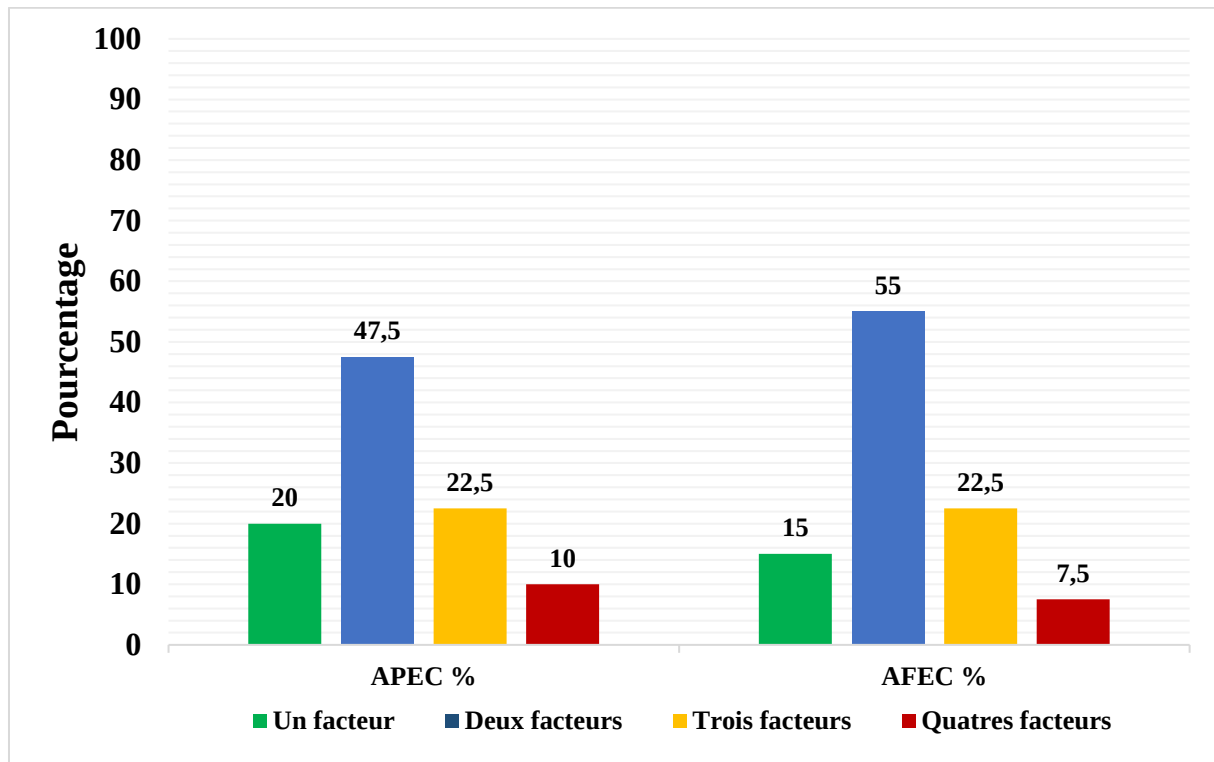


Figure 10: Répartition des souches APEC et AFEC selon le nombre de facteurs de virulence.

Discussion

Les *Escherichia coli* aviaires pathogènes (APEC) et commensales adaptés (AFEC) présentent des facteurs de virulence distincts, qui déterminent leur pouvoir pathogène. Les souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires provoquent une mortalité importante dans les élevages de volailles, entraînant des pertes économiques considérables. L'identification de ces facteurs est essentielle pour comprendre les mécanismes d'infection, améliorer les stratégies de prévention et développer des approches thérapeutiques ciblées. Elle permet également de mieux différencier les souches pathogènes des commensales.

La capacité de fixation du rouge Congo a été utilisée comme un marqueur phénotypique pour différencier les souches pathogènes d'*Escherichia coli* des souches non pathogènes commensales chez la volaille. Cela sert d'outil pour distinguer les APEC virulents des *E. coli* inoffensifs. (AHMED *et al.*, 2025).

Dans cette étude, l'analyse de 40 souches d'APEC a révélé que 37,5% d'entre elles présentaient une capacité de fixation du Rouge Congo, tandis que 62,5% ne montraient pas cette propriété. De manière intéressante, les souches commensales ont affiché un taux de fixation légèrement supérieur avec 40% de souches fixatrices contre 60% de souches non fixatrices. Ces observations, obtenues après 24 heures d'incubation, soulèvent des questions importantes concernant l'interprétation de ce test de virulence.

Nos résultats s'inscrivent dans la continuité des travaux de PANIGRAHY et YUSHEN (1990), qui avaient observé que 53,33% des souches pathogènes absorbaient le colorant et produisaient des colonies rouges entre 48 et 72 heures d'incubation, tandis que 83,33% des isolats non pathogènes montraient cette capacité dès 18 à 24 heures d'incubation. Cette observation temporelle est particulièrement significative car notre protocole, avec une durée d'incubation de 24 heures, correspond davantage à la phase précoce d'absorption du Rouge Congo caractéristique des isolats non pathogènes. Nos observations suggèrent que certaines souches pathogènes pourraient nécessiter une incubation prolongée de 48 à 72 heures pour exprimer pleinement leurs caractéristiques de fixation du colorant. Cette hypothèse expliquerait en partie le taux relativement faible de fixation observé chez les APEC dans notre étude à 24 heures, et pourrait indiquer que la fixation précoce du rouge Congo reflète principalement l'activité des souches commensales ou des souches non pathogènes exprimant rapidement ces facteurs extracellulaires. En Algérie, les travaux de MEGUENNI *et al.* (2019) ont démontré que d'autres facteurs de virulence, tels qu'*ompT* (55,8%) et *iss* (41,8%), pourraient jouer un rôle plus déterminant dans la pathogénicité que la simple capacité à fixer le Rouge Congo. Cette observation renforce l'idée que l'évaluation de la virulence ne peut se limiter à un seul marqueur phénotypique.

Le taux plus élevé de fixation observé chez nos souches commensales (AFEC) pourrait s'expliquer par des mécanismes de transfert horizontal de gènes entre populations bactériennes, comme le décrivent MESSAILI *et al.* (2019) en Algérie, qui ont documenté la présence de plasmides porteurs de gènes de virulence chez 24% des souches commensales.

La capacité à fixer le Rouge Congo dépend principalement de l'expression des gènes *csgA/B/D* et *fimH*, qui contrôlent la production de structures de surface essentielles comme les curli et les fimbriae. Les études régionales révèlent une importante variabilité dans la distribution de ces facteurs génétiques. En Tunisie, DHAOUADI *et al.* (2023) ont rapporté une prévalence de 33,3% pour le gène *fimA*, tandis qu'en Égypte, HAMED *et al.* (2023) ont identifié *fimC* dans 74% des isolats APEC. Le fait que nos souches commensales présentent un taux de fixation supérieur à celui des souches pathogènes remet en question l'utilité du test au Rouge Congo comme indicateur fiable de virulence dans notre étude. Cette observation rejoint les conclusions d'AWAD *et al.* (2020) en Égypte, qui ont souligné que la présence de certains marqueurs génétiques ne prédit pas systématiquement la pathogénicité réelle des isolats. Par ailleurs, nos résultats diffèrent considérablement de ceux rapportés par AHMED *et al.* (2025) en Égypte et YADAV *et al.* (2014) en Inde, qui ont trouvé des taux beaucoup plus élevés de fixation (92,86%) chez les isolats pathogènes. Cette divergence importante pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la diversité génétique des souches selon les régions géographiques ou encore des variations dans les conditions de culture et d'analyse utilisées.

Concernant la résistance au sérum, nos résultats révèlent une observation de 70% des souches d'*Escherichia coli* aviaire pathogènes (APEC) ainsi que 70% des souches fécales (AFEC) présentent une résistance au sérum humain. Cette similarité de résultats entre les deux populations bactériennes suggère que la capacité à échapper au système immunitaire inné de l'hôte est aussi répandue chez les souches considérées comme commensales que chez les souches pathogènes établies. Les bases moléculaires de cette résistance phénotypique trouvent une explication cohérente dans les études génétiques menées en Algérie. En effet, l'étude de MOHAMED *et al.* (2018) a démontré une forte prévalence des gènes de résistance au sérum chez les souches APEC, avec le gène *iss* présent chez 85,8% des isolats et le gène *ompT* chez 86,9% d'entre eux. Ces gènes codent respectivement pour une protéine de surface conférant la résistance au complément et pour une protéase capable de cliver les protéines de l'hôte, facilitant ainsi l'échappement aux défenses immunitaires (LIU *et al.*, 2024). La concordance entre cette forte prévalence génétique et notre taux de résistance phénotypique de 70% suggère une relation directe entre la présence de ces déterminants génétiques et l'expression du phénotype résistant.

Cependant, une variabilité notable existe dans les données algériennes. MEGUENNI *et al.* (2019) ont rapporté des prévalences différentes pour les mêmes gènes, identifiant *ompT* chez 55,8% des souches et *iss* chez 41,8% des isolats APEC. Cette différence

significative dans les taux de prévalence entre les deux études pourrait s'expliquer par des différences régionales dans les populations bactériennes étudiées.

L'observation que les souches AFEC, bien que considérées comme commensales, présentent également une résistance significative au sérum. Cette résistance trouve une explication moléculaire dans les travaux de MESSAILI *et al.* (2019), qui ont identifié les gènes *traT* (58%) et *ompT* (27%) comme les plus fréquents chez les souches AFEC. Le gène *traT* code pour une protéine de membrane externe impliquée dans la résistance au complément, tandis qu'*ompT* contribue à l'échappement immunitaire par son activité protéolytique. La présence significative de ces gènes chez les souches commensales pourrait expliquer directement leur capacité de résistance phénotypique au sérum observée dans notre étude. MESSAILI *et al.* (2019) ont mis en la présence de plasmides de type CoIV et ColBM, porteurs de gènes de virulence, chez 24% des souches AFEC. Cette observation renforce l'hypothèse d'un transfert horizontal de gènes entre souches pathogènes et commensales, phénomène qui pourrait expliquer la distribution similaire de certains facteurs de virulence entre les populations APEC et AFEC. Les études égyptiennes d'AWAD *et al.* (2020) ont montré que 93,3% des isolats de colibacillose possédaient le gène *iss*. La forte présence du gène *iss* correspond à nos observations sur la résistance au sérum.

À l'échelle mondiale, nos observations trouvent une similitude dans plusieurs études internationales qui confirment l'importance de la résistance au sérum chez les souches APEC. Au Pakistan, AZAM *et al.* (2020) ont identifié le gène *iss* dans 100% des isolats d'APEC, témoignant du caractère commun de ce mécanisme de virulence. En Chine, ZHU *et al.* (2021) ont rapporté la présence de ce même gène dans 77,91% des isolats, un taux qui se rapproche davantage de nos observations phénotypiques. Ces données internationales convergentes expliquent en partie le taux élevé de résistance au sérum (70%) observé chez nos propres souches APEC.

Concernant la production d'hémolysine, une toxine sécrétée par certaines souches d'*Escherichia coli* aviaire, notre étude a révélé que la production d'hémolysine de type bêta-hémolyse chez les souches APEC était significativement plus élevée (92,5%) qu'alpha-hémolyse (7,5%), cela peut être expliquée par la forte présence de gène *hlyF* dans ces souches, un gène qui code pour une toxine qui contribue à la virulence des souches APEC en favorisant la lyse totale des globules rouges (bêta-hémolyse) et en facilitant la survie et la dissémination bactérienne chez l'hôte (KAZUNORI *et al.*, 2016). Ces résultats concordent avec ceux rapportés par HALFAOUI *et al.* (2024) en Algérie, qui ont identifié la présence du gène *hlyF* dans 77,77% des souches APEC étudiées. Ainsi, notre étude a révélé que 77,5 % des souches fécales analysées présentent une activité bêta hémolytique, tandis que 22,5% ont une activité alpha hémolytique. Cela s'explique par le fait que ce gène est porté sur des plasmides de virulence, notamment les plasmides ColV, qui peuvent être transférés horizontalement entre souches commensales et pathogènes (PALMIERI *et al.*, 2023).

Ce transfert confère à ces souches commensales la capacité de produire une hémolyse bêta, sans pour autant être pathogènes dans des conditions normales. Cependant, la présence d'une proportion non négligeable de souches avec une activité alpha-hémolytique (22,5 %) suggère une diversité phénotypique parmi les souches commensales fécales. Cette forme d'hémolyse partielle peut être liée à l'expression de différents types de toxines ou à une expression moindre des gènes hémolytiques. Des études comme celle de MOULIN-SCHOULEUR *et al.* (2007) ont également observé cette diversité, indiquant que certaines souches commensales ou faiblement pathogènes peuvent présenter une hémolyse alpha, reflétant un potentiel virulent moindre ou différent.

Les résultats d'une étude menée au Qatar par JOHAR *et al.* (2021) sur les souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC) et commensales (AFEC) viennent appuyer et compléter notre analyse. Cette étude a révélé une prévalence très élevée du gène *hlyF* chez les APEC (99 %), contre seulement 16 % chez les AFEC. Cette différence de répartition du gène *hlyF* entre les deux groupes pourrait expliquer les variations observées dans notre étude concernant la production de bêta-hémolysine, où nous avons constaté des taux de 92,5 % chez les APEC et 77,5 % chez les AFEC. Au Nigeria, l'étude menée par SANI *et al.* (2025) a révélé que 59,6 % des souches d'*Escherichia coli* aviaires pathogènes (APEC) présentaient un phénotype hémolytique. La différence observée dans les taux de prévalence entre les deux études pourrait s'expliquer par des différences dans le profil de virulence génétique des souches isolées, ou par des variations dans les conditions environnementales des élevages avicoles, telles que la densité de population, les mesures de biosécurité en place, ou encore la pression exercée par l'utilisation d'antibiotiques.

En outre, ce travail permet de différencier les types d'hémolyse (alpha et bêta), apportant ainsi une caractérisation plus détaillée du profil phénotypique des souches isolées. Cette distinction met en évidence la prédominance de la bêta-hémolyse (92,5%), un résultat en accord avec l'étude de KLAO *et al.* (2024) en Géorgie, aux États-Unis, dont la fréquence la plus élevée, comprenaient le gène *hlyF* à 96%.

La formation de biofilms constitue un mécanisme essentiel dans l'écologie et la pathogénicité des souches aviaires d'*Escherichia coli*, incluant à la fois les variants pathogènes et commensaux. Ces agrégats bactériens, encapsulés dans une matrice extracellulaire, favorisent l'adhésion aux surfaces, la résistance aux antimicrobiens et la colonisation de l'hôte. Bien que ce phénotype soit associé aux mécanismes infectieux des APEC, sa présence chez les AFEC suggère un rôle adaptatif plus large. Parmi les 80 souches d'*Escherichia coli* aviaire étudiées sur milieu RCA, réparties équitablement entre 40 isolats pathogènes (APEC) et 40 isolats commensaux fécaux (AFEC), seulement 15 % des APEC ont montré une capacité à former des biofilms, tandis que 85 % étaient non producteurs. 12,5 % des AFEC ont également présenté une formation de biofilm, contre 87,5 % qui en étaient dépourvus. Ces taux sont nettement inférieurs à ceux rapportés

par GOUDARZTALEJERDI *et al.* (2022) en Iran, où 45 % des isolats APEC et 21 % des isolats AFEC ont démontré une capacité de formation de biofilm.

Cette différence pourrait s'expliquer par des variations régionales, des différences dans les conditions expérimentales ou la diversité génétique des souches étudiées, soulignant ainsi la complexité et la variabilité de la formation de biofilm chez *Escherichia coli* aviaire.

Les résultats de notre étude, où seulement 15 % des souches APEC et 12,5 % des souches AFEC ont démontré une capacité à former des biofilms, concordent avec les données de RODRIGUES *et al.* (2019) qui n'ont pas trouvé d'association significative entre la production de biofilm et la pathogénicité *in vivo*. En effet, la faible proportion de producteurs de biofilm parmi les souches pathogènes suggère que cette caractéristique ne constitue pas un facteur déterminant de virulence chez *Escherichia coli* aviaire.

Conclusion

Notre travail s'est attaché à l'étude comparative des principaux facteurs de virulence chez des souches aviaires d'*Escherichia coli* pathogènes (APEC) et commensales (AFEC), dans le but de mieux cerner les déterminants associés à la pathogénicité de ces bactéries, enjeu majeur en microbiologie appliquée et en santé animale.

L'approche adoptée, reposant sur l'analyse phénotypique de marqueurs tels que la fixation du Rouge Congo, la résistance au sérum, la production d'hémolysine et la capacité de formation de biofilm, a permis de mettre en lumière la diversité et la distribution de ces facteurs au sein des deux groupes étudiés.

Les résultats obtenus au cours de cette étude révèlent des différences significatives entre les souches (APEC) et les souches (AFEC) en termes de fixation du Rouge Congo, de résistance au sérum, d'activité hémolytique et de formation de biofilm. Concernant la fixation du Rouge Congo, les APEC présentent un taux légèrement inférieur de souches fixatrices (37,5 %) comparé aux AFEC (40 %), tandis que leur proportion de souches non fixatrices est plus élevée (62,5 % contre 60 %). La résistance au sérum est similaire dans les deux groupes (70 %), indiquant une capacité commune à échapper aux défenses de l'hôte. En revanche, l'activité hémolytique diffère notablement, avec une prédominance de l'hémolyse β chez les APEC (92,5 %) contre 77,5 % chez les AFEC, suggérant un pouvoir pathogène accru. Par ailleurs l'analyse de la formation de biofilm sur RCA montre que les APEC sont majoritairement non formatrices (85 %) contre 87,5% chez les AFEC, et 15% formatrices ont été trouvées chez les APEC contre 12,5% chez les AFEC, enfin l'analyse comparative de la formation de biofilm sur microplaques a révélé des différences marquées entre les souches APEC et AFEC. Alors que la majorité des APEC étaient non formatrices (5 %) ou présentaient une faible formation de biofilm (8 %), une proportion significative montrait une formation modérée (21 %) à forte (9 %). En revanche, les AFEC affichaient un taux plus élevé de souches non formatrices (20 %) et une prédominance de faibles formateurs (45 %), avec des proportions comparables aux APEC pour les biofilms modérés (20 %) et forts (15 %).

L'analyse statistique réalisée (test de χ^2), n'a pas révélé de corrélation significative entre les profils de multirésistance aux antibiotiques et les quatre facteurs de virulence étudiés, avec des *p values* supérieures au seuil de significativité ($\alpha = 0,05$). Cependant, le test χ^2 a mis en évidence une corrélation significative (*p value* = 0,019) entre les différents facteurs de virulence. Nos résultats concordent avec l'étude de GAMBI *et al.* (2022) qui ont examiné la corrélation entre les facteurs de virulence, les sérogroupes et la résistance aux antibiotiques chez des souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC) isolées de poules pondeuses en Italie. Ils ont constaté que 56 % des souches testées étaient des APEC (possédant au moins cinq gènes de virulence), mais aucune corrélation significative n'a été observée entre les gènes de virulence, les sérogroupes et la résistance aux antibiotiques.

L'analyse de ces résultats révèle plusieurs points majeurs. D'une part, la forte prévalence de certains facteurs de virulence, notamment la production d'hémolysine, aussi bien

chez les souches pathogènes que commensales, met en évidence la complexité du potentiel pathogène d'*Escherichia coli* aviaire. D'autre part, la présence de ces facteurs chez les souches commensales invite à une vigilance accrue dans les programmes de surveillance, car ces isolats, souvent négligés, pourraient constituer un réservoir de gènes de virulence susceptibles d'être transmis à des souches pathogènes.

Il convient toutefois de rappeler que la détection de facteurs de virulence ne suffit pas à définir le pouvoir pathogène effectif d'une souche. La pathogénicité résulte en effet d'une combinaison complexe de facteurs bactériens, d'éléments environnementaux et de l'état immunitaire de l'hôte. La présence de plusieurs facteurs de virulence, observée chez un pourcentage non négligeable de souches, constitue néanmoins un indicateur de risque accru, notamment dans un contexte d'élevage intensif où les conditions de stress et de promiscuité peuvent favoriser l'expression de ces caractères.

Notre étude présente certaines limites, principalement l'absence de confirmation moléculaire des gènes impliqués et la taille relativement restreinte de l'échantillon analysé. L'approche phénotypique, bien qu'intéressante pour une première caractérisation, gagnerait à être complétée par des analyses moléculaires (PCR, séquençage) permettant de valider la présence et l'expression des gènes de virulence, et d'explorer les mécanismes de plasticité génétique qui favorisent l'émergence de souches virulentes. Sur le plan appliqué, nos résultats soulignent l'importance de renforcer les mesures de biosécurité en élevage, de surveiller activement l'ensemble des souches d'*E. coli*, y compris les commensales, et de promouvoir une utilisation raisonnée des antimicrobiens pour limiter la sélection de souches résistantes et virulentes.

La formation et la sensibilisation des éleveurs, souvent non professionnels, à l'importance des bonnes pratiques d'hygiène et de gestion sanitaire, apparaissent également comme des leviers essentiels pour réduire le risque d'infections et la dissémination de bactéries potentiellement pathogènes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Ahmed, A. A., Salem, H. M., Hamoud, M. M., & Amer, M. M. (2025). Avian colibacillosis, multidrug resistance, antibiotic alternatives: An updated review. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 56(1), 1-21.
- Aleksandrowicz, A., Khan, M. M., Sidorczuk, K., Noszka, M., & Kolenda, R. (2021). Whatever makes them stick - Adhesins of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*, 257(1), Article 109095. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109095>
- Al-Saiedi, R. L. R., and Al-Mayah, A. A. S. (2014). Pathogenicity testing of several APEC isolates obtained from naturally infected broiler birds reared in Basrah. *International Journal of Poultry Science*, 13(7), 374–378. <https://doi.org/10.3923/ijps.2014.374.378>
- Amairi, T. (2021). *Résistance aux antibiotiques des Escherichia coli isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie* [Thèse de doctorat, Université de Biskra].
- Awad, A. M., El-Shall, N. A., Khalil, D. S., Abd El-Hack, M. E., Swelum, A. A., Mahmoud, A. H., Ebaid, H., Komany, A., Sammour, R. H., & Sedeik, M. E. (2020). Incidence, pathotyping, and antibiotic susceptibility of avian pathogenic *Escherichia coli* among diseased broiler chicks. *Animals*, 10(2), 340. <https://doi.org/10.3390/ani10020340>
- Awawdeh, L., Forrest, R., Turni, C., Cobbold, R., Henning, J., & Gibson, J. (2024). Virulence-associated genes in faecal and clinical *Escherichia coli* isolates cultured from broiler chickens in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 102(8), 398-406.
- Azam, M., Mohsin, M., Johnson, T. J., Smith, E. A., Johnson, A., Umair, M., Saleemi, M. K., & Rahman, S. (2020). Genomic landscape of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* recovered from broiler chickens. *Veterinary Microbiology*, 247, 108766. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108766>
- Bidet, P., & Bonacorsi, S. (2019). *Escherichia coli/Shigella*. Société Française de Microbiologie.
- Biran, D., Sura, T., Otto, A., Yair, Y., Becher, D., & Ron, E. Z. (2021). Surviving serum: The *Escherichia coli* iss gene of extraintestinal pathogenic *E. coli* is required for the synthesis of group 4 capsule. *Infection and Immunity*, 89(10), Article e00316-21. <https://doi.org/10.1128/IAI.00316-21>
- Chabaud, A., Meyer, S., & Ploy, M.-C. (2025). *Virulence bactérienne*.
- Chandran, A., & Mazumder, A. (2014). Occurrence of diarrheagenic virulence genes and genetic diversity in *Escherichia coli* isolates from fecal material of various avian hosts in British Columbia, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(6), 1933–1940. <https://doi.org/10.1128/AEM.03949-13>
- Clave, D. (2015, 13 novembre). Fiche technique Bactériologie 153 EN. FTBAC. 07-09-17.01. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. <http://www.ctcb.com>

Références bibliographiques

- Dhaouadi, S., Romdhani, A., Bouglita, W., et al. (2023). High biofilm-forming ability and clonal dissemination among colistin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from cows with mastitis, diarrheic calves, and chickens with colibacillosis in Tunisia. *Life*, 13(2), 299. <https://doi.org/10.3390/life13020299>
- Dube, N., & Mbanga, J. (2018). Molecular characterization and antibiotic resistance patterns of avian fecal *Escherichia coli* from turkeys, geese, and ducks. *Veterinary World*, 11(6), 859–867. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.859-867>
- Fierer, J., Finlay, F., & Braune, A. L. (1972). A plaque assay on agar for detection of Gram negative bacilli sensitive to complement. *The Journal of Immunology*, 109(5), 1156. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.109.5.1156>
- Gambi, L.; Rossini, R.; Menandro, M.L.; Franzo, G.; Valentini, F.; Tosi, G.; D’Incau, M.; Fiorentini, L. Virulence Factors and Antimicrobial Resistance Profile of *Escherichia Coli* Isolated from Laying Hens in Italy. *Animals* 2022, 12, 1812. <https://doi.org/10.3390/ani12141812>
- Garrrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. G. (2004). *Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2^{ed.}). Springer. https://doi.org/10.1007/bergeys_outline200405
- Goudarztalejerdi, A., Mohammadzadeh, A., Niazi, K., & Mohammad Mirzaei, M. (2022). High prevalence of multidrug resistance and biofilm-formation ability among avian *Escherichia coli* isolated from broilers in Iran. *Microbial Drug Resistance*, 28(2), 244-254.
- Halfaoui, Z., Rahab, H., Achek, R., & Menoueri, M. N. (2024). First report of detection of mcr-1 and virulence genes in avian pathogenic *Escherichia coli* in the center of Algeria. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 25(1), 5–15. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2024.47413.6840>
- Hamed, B. M., Elenbaawy, M. I., Mahmoud, H., & Ragab, E. (2023). Investigation of antibiotic resistance pattern and virulence determinants in avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from broiler chickens in Egypt. *World's Veterinary Journal*, 13(1), 85-94.
- Jhandai, P., Mittal, D., Gupta, R., & Kumar, M. (2025). An insight into newly emerging avian pathogenic *E. coli* serogroups, biofilm formation, ESBLs and integron detection and *in vivo* pathogenicity in chicken. *Microbial Pathogenesis*, 200, 107309. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107309>
- Johar, A., Al-Thani, N., Al-Hadidi, S. H., Dlissi, E., Mahmoud, M. H., & Eltai, N. O. (2021). Antibiotic resistance and virulence gene patterns associated with avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from broiler chickens in Qatar. *Antibiotics*, 10(5), 564. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050564>

Références bibliographiques

- Johnson, T. J., Wannemuehler, Y., Johnson, S. J., Stell, A. L., Doetkott, C., Johnson, J. R., & Kim, K. S. (2008). Comparison of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains from human and avian sources reveals a mixed subset representing potential zoonotic pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(22), 7043-7050. <https://doi.org/10.1128/AEM.01395-08>
- Kabiswa, W., Nanteza, A., Tumwine, G., & Majalija, S. (2018). Phylogenetic groups and antimicrobial susceptibility patterns of *Escherichia coli* from healthy chicken in Eastern and Central Uganda. *Journal of Veterinary Medicine*, 2018, Article 9126467. <https://doi.org/10.1155/2018/9126467>
- Kathayat, D., Lokesh, D., Ranjit, S., & Rajashekara, G. (2021). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) : An overview of virulence and pathogenesis factors, zoonotic potential, and control strategies. *Pathogens*, 10(4), 467. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040467>
- Kazunori, M., Martin, P., Porcheron, G., Houle, S., Helloin, E., Pénary, M., Nougayrède, J.-P., Dozois, C. M., Hayashi, T., & Oswald, E. (2016). HlyF produced by extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* is a virulence factor that regulates outer membrane vesicle biogenesis. *The Journal of Infectious Diseases*, 213(5), 856–865. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv506>
- Kendek, I. A., Putri, M. F. R., Wibisono, F. J., Effendi, M. H., Tyasningsih, W., Ugbo, E. N., & Agumah, N. B. (2024). Molecular detection of *hlyF* gene on multidrug resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from ducks on wet markets of Surabaya, Indonesia. *Biodiversitas*, 25(3), 1246-1253
- Kogovšek, P., Ambrožič Avguštin, J., Dovč, A., Dreo, T., Hristov, H., Krapež, U., Ravnikar, M., Slavec, B., Lotrič, M., Žel, J., & Zorman Rojs, O. (2019). Loop-mediated isothermal amplification : Rapid molecular detection of virulence genes associated with avian pathogenic *Escherichia coli* in poultry. *Poultry Science*, 98(3), 1500–1510. <https://doi.org/10.3382/ps/pey516>
- Kunert Filho, H. C., Brito, K. C. T., Cavalli, L. S., & Brito, B. G. (2015). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)-an update on the control. *The battle against microbial pathogens: Basic science, technological advances and educational programs*, 2, 598-618.
- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P. R., Knirel, Y. A., Wang, L., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(6), 655-683. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028>
- Liu, J., Jiang, L., Wang, H., Wu, J., Gao, Q., Huan, C., & Gao, S. (2024). Protamine cleavage specificity of the avian pathogen *Escherichia coli* OmpT reveals two substrate-binding sites related to virulence. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1410113. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1410113>

Références bibliographiques

- Logue, C. M., Wannemuehler, Y., Nicholson, B. A., Doetkott, C., Barbieri, N. L., & Nolan, L. K. (2017). Comparative analysis of phylogenetic assignment of human and avian ExPEC and fecal commensal *Escherichia coli* using the (previous and revised) Clermont phylogenetic typing methods and its impact on avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) classification. *Frontiers in Microbiology*, 8, 283. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00283>
- Mainil, J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* : les adhésives et facteurs de colonisation. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 147, 105-126.
- Maris, S. (2016). *Caractérisation de souches d'Escherichia coli pathogènes urinaires provenant de Guadeloupe : Portrait de la diversité des facteurs de virulence présents* [Mémoire de maîtrise, Institut National de la Recherche Scientifique]. Université du Québec.
- Meguenni, N., Chanteloup, N. K., Groué, A. M., Touati, M., Le Devendec, L., Bounar-Kechih, S., & Schouler, C. (2019). Antimicrobial resistance and virulence gene profiles of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from Algeria. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 199. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1947-0>
- Mellata, M. (1998). *Étude phénotypique et génotypique de l'antibiorésistance et de la virulence de souches d'Escherichia coli bovines et aviaires isolées en Algérie* [Thèse de doctorat, option Microbiologie]. Algérie.
- Mémoire de maîtrise en Sciences (M.Sc.) en microbiologie appliquée, INRS-Institut Armand-Frappier.
- Messaili, C., Messai, Y., & Bakour, R. (2019). Antimicrobial resistance and virulence gene profiles of avian fecal *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15, 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.001>
- Mohamed, L., Ge, Z., Yuehua, L., Yubin, G., Rachid, K., Mustapha, O., Junwei, W., & Karine, O. (2018). Virulence traits of avian pathogenic (APEC) and fecal (AFEC) *E. coli* isolated from broiler chickens in Algeria. *Tropical Animal Health and Production*, 50(3), 547–553. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1467-5>
- Moulin-Schouleur, M., Répérant, M., Laurent, S., Brée, A., Mignon-Grasteau, S., Germon, P., Rasschaert, D., & Schouler, C. (2007). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: Link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(10), 3366–3376. <https://doi.org/10.1128/JCM.00037-07>
- Mumin, Y. M., Yüksel, G., & Düzgün, A. Ö. (2025). Investigation of virulence factor genes and biofilm formation of antibiotic resistant clinical *E. coli* isolates. *Microbial Pathogenesis*, 199, Article 107257. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107257>

Références bibliographiques

- Murase, K., Martin, P., Porcheron, G., Houle, S., Helloin, E., Pénary, M., Nougayrède, J.-P., Dozois, C. M., Hayashi, T., & Oswald, E. (2016). *HlyF* produced by extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* is a virulence factor that regulates outer membrane vesicle biogenesis. *The Journal of Infectious Diseases*, 213(5), 856-865. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv506>
- Oubayahya, H., & Nassik, S. (2021). Colibacillose aviaire au Maroc : Infection redoutable à double impact. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 9(3), 383-389.
- Ouchar, O., Tidjani, A., Savadogo, A., Mahamat, O. A., Somda, M. K., & Traoré, A. S. (2013). Isolement et caractérisation des bactéries productrices de biofilms issues des produits alimentaires. *Revue de Microbiologie Industrielle, Sanitaire et Environnementale*, 7(2), 187-210. <https://doi.org/10.1817/2253-5357.2013v7n2p187>
- Paixão, A. C., Ferreira, A. C., Fontes, M., Themudo, P., Albuquerque, T., Soares, M. C., Fevereiro, M., Martins, L., & Corrêa de Sá, M. I. (2016). Detection of virulence-associated genes in pathogenic and commensal avian *Escherichia coli* isolates. *Poultry Science*, 95(7), 1646-1652. <https://doi.org/10.3382/ps/pew080>
- Palmieri, N., Apostolakis, I., Paudel, S., & Hess, M. (2023). The genetic network underlying the evolution of pathogenicity in avian *Escherichia coli*. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1195585. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1195585>
- Panigrahy, B., & Yushen, L. (1990). Differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry. *Avian Diseases*, 34(4), 941-943.
- Quyen, D. V., Lanh, P. T., & Oanh, N. K. (2024). Isolation and characterization of *Escherichia coli* associated with diarrhea in chickens and ducks in Hai Phong province. *Academia Journal of Biology*, 46(3), 17-26. <https://doi.org/10.15625/2615-9023/20228>
- Quyen, D., Pham, L., Nguyen, K. (2024). Isolation and characterization of *Escherichia coli* associated with diarrhea in chickens and ducks in Hai Phong province. *Academia Journal of Biology*, 17-26. <https://doi.org/10.15625/2615-9023/20228>
- Ranabhat, G., Subedi, D., Karki, J., Paudel, R., Luitel, H., & Bhattarai, R. K. (2024). Molecular detection of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) in broiler meat from retail meat shop. *Heliyon*, 10(15), Article e35661. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35661>
- Rodrigues, S. V., Laviniki, V., Borges, K. A., Furian, T. Q., Moraes, H. L. S., Nascimento, V. P., & Salle, C. T. P. (2019). Biofilm Formation by Avian Pathogenic *Escherichia coli* is Not Related to In Vivo Pathogenicity. *Current microbiology*, 76(2), 194-199. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1608-8>

Références bibliographiques

- Runcharoon, K., Garcia, B., Peterson, B. N., Lewis, C., & Anderson, L. (2025). Longitudinal study of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) serogroups associated with disease in Georgia poultry using molecular serology and virulence gene analysis. *Avian Pathology*, 54(2), 185-197. <https://doi.org/10.1080/03079457.2024.2403414>
- Saleem, S., Ahmed, B., Khan, M. S., Al-Shaeri, M., & Musarrat, J. (2017). Inhibition of growth and biofilm formation of clinical bacterial isolates by NiO nanoparticles synthesized from Eucalyptus globulus plants. *Microbial Pathogenesis*, 111, 375-387. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.019>
- Sani, H. M., Iliyasu, M. Y., Alhaji, S. Y., Usman, N. I., & Abdullahi, U. S. (2025). Virulence phenotype of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) and prevalence of colibacillosis among poultry birds in Bauchi Metropolis, Nigeria. *International Journal of Tropical Disease & Health*, 46(1), 1–11. <https://doi.org/10.9734/ijtdh/2025/v46i11616>
- Saqib Nawaz, Z., Wang, Z., Zhang, Y., Jia, Y., Jiang, W., Chen, Z., & Yin, H. (2024). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) : Current insights and future challenges. *Poultry Science*, 101(10), 1-14.
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports. *Gut Pathogens*, 11(1), Article 10. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
- Śliwka, P., Moreno, D. S., Korzeniowski, P., Milcarz, A., Kuczkowski, M., Kolenda, R., *et al.* (2025). Avian pathogenic *Escherichia coli*-targeting phages for biofilm biocontrol in the poultry industry. *Veterinary Microbiology*, 301, 110363. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110363>
- Smith, J. L., & Fratamico, P. M. (2017). Foodborne Diseases (Third Edition).
- Stromberg, Z. R., Johnson, J. R., Fairbrother, J. M., Kilbourne, J., Van Goor, A., Curtiss, R., & Mellata, M. (2017). Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *PLoS ONE*, 12(7), Article e0180599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180599>
- Tan, J., Wang, Y. X., Kang, Z. F., Huang, J. N., Li, H. Q., Wu, C. C., Li, N., Zhang, F. F., & Tan, M. F. (2025). Molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* strains in Jiangxi Province, China, and development of polyvalent inactivated vaccines. *Poultry Science*, 104, 104766. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.104766>

Références bibliographiques

- Thomrongsuwannakij, T., Blackall, P. J., Djordjevic, S. P., Cummins, M. L., & Chansiripornchai, N. (2020). A comparison of virulence genes, antimicrobial resistance profiles and genetic diversity of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolates from broilers and broiler breeders in Thailand and Australia. *Avian Pathology*, 49(5), 457–466. <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1764493>
- Trotereau, A., Kern, J., Viardot, A., Thiriet, A., & Schouler, C. (2018). Explorer le potentiel thérapeutique des coliphages : approche curative des infections causées par *Escherichia coli* chez les oiseaux. *Innovations Agronomiques*, 66, 9-17.
- Waliaula, P. K., Kiarie, E. G., & Diarra, M. S. (2024). Predisposition factors and control strategies of avian pathogenic *Escherichia coli* in laying hens. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, Article 1474549. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1474549>
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q., & Qiao, S. (2016). Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(5), 603. <https://doi.org/10.3390/ijms17050603>
- Watts, A., & Wigley, P. (2024). Avian pathogenic *Escherichia coli* : An overview of infection biology, antimicrobial resistance and vaccination. *Antibiotics*, 13(9), 809. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090809>
- Yadav, V., Joshi, R. K., Joshi, N., & Diwakar, R. P. (2014). Congo red binding and plasmid profile of *E. coli* isolates of poultry origin. *Journal of Animal Health and Production*, 2(3), 31–32. <https://doi.org/10.14737/journal.jahp/2014/2.3.31.32>
- Young, M. M., de Oliveira, A. L., Nolan, L. K., Barbieri, N. L., & Logue, C. M. (2022). Identification of novel genes involved in the biofilm formation process of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *PLoS ONE*, 17(12), Article e0279206. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279206>
- Zhang, Z., Jiang, S., Liu, Y., Sun, Y., Yu, P., Gong, Q., Zeng, H., Li, Y., Xue, F., Zhuge, X., & Ren, J. (2020). Identification of *ireA*, 0007, 0008, and 2235 as TonB dependent receptors in the avian pathogenic *Escherichia coli* strain DE205B. *Veterinary Research*, 51(1), Article 38. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00764-2>
- Zhu, D., Zhang, S., Chen, S., Rehman, M. U., Yang, H., Yang, Z., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Liu, M., Zhao, X., Wu, Y., Yang, Q., Huang, J., Ou, X., Mao, S., Gao, Q., Sun, D., Tian, B., & Cheng, A. (2021). Distribution and association of antimicrobial resistance and virulence traits in *Escherichia coli* isolates from healthy waterfowls in Hainan, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 220, 112317. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112317>

ANNEXES

Annexe 1 : Équipements et milieux utilisés au Laboratoire de Microbiologie.

Catégorie	Éléments
Matériel non biologique	
Appareils	Autoclave à 120°C
	Bain Marie
	Vortex
	Étuve 37°C
	Séchoir
	Réfrigérateur
	Agitateur magnétique
	Bec bunsen
	Balance de précision
Verrerie	Tubes à essai
	Pipettes Pasteur
	Erlenmeyer
	Flacons
	Pipettes graduées
	Éprouvette
	Fiole erlenmeyer
	Fiole à vide
Outils	Micropipettes
	Embouts stériles
	Anse à boucle (Anse de platine)
	Boîtes de Pétri
	Eppendorf
	Seringue de 10cc
	Portoir de tubes
	Étiquettes
	Papier aluminium et papier film
	Marqueur
	Scotch
	Briquet
Milieux de culture, colorant et solutions	Bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth)
	Milieu Hektoen
	Milieu Mueller-Hinton
	Milieu BGS
	Eau physiologique stérile
	Éthanol
	Colorant rouge Congo
	Eau distillée stérile

Annexe 2 : Compositions des milieux utilisés en g/L.

Gélose Mueller Hinton (MH) :

Hydrolysate de caséine acide.....	17,5 g/L.
Agar.....	17 g/L.
Infusion bœuf.....	2 g/L.
Amidon.....	1,5 g/L.
pH.....	7,3 ± 0.2 à 25°C.

Gélose Hektœn :

Agar.....	15 g/L.
Lactose.....	15 g/L.
Peptone protéosique.....	12 g/L.
Saccharose.....	12 g/L.
Sels biliaires.....	9 g/L.
Chlorure de Sodium.....	5 g/L.
Thiosulfate de Sodium.....	5 g/L.
Extrait de levure.....	3 g/L.
Salicine.....	2 g/L.
Citrate d'ammonium ferrique.....	1,5 g/L.
Fuchsine acide.....	0,1 g/L.
Bleu de bromothymol.....	0,065 g/L.
pH.....	7,5 ± 0.2 à 25°C.

Base Gélose au Sang (BGS) :

Peptone.....	15 g/L.
Agar.....	12 g/L.
Extrait de levure.....	5 g/L.
Chlorure de Sodium.....	5 g/L.
Digestate de foie.....	2,5 g/L.
Eau distillé.....	1L.
pH.....	7,5 ± 0.2 à 25°C.

Milieu Rouge Congo Agar (RCA) :

Saccharose.....	50 g/L.
Bouillon cœur cervelle.....	37 g/L.
Agar Agar.....	10 g/L.
Colorant Rouge Congo.....	0,8 g/L.

Bouillon Cœur-Cerveille (BHIB) :

Infusion de Cerveille de veau.....	12,5 g/L.
Protéase-Peptone.....	10 g/L.
Infusion de cœur de bœuf.....	5 g/L.
Chlorure de Sodium.....	5 g/L.
Hydro-génophosphate de Sodium.....	2.5 g/L.
Glucose.....	2 g/L.

Eau physiologique :

Chlorure de Sodium.....	9 g/L.
Eau distillé.....	1 L.

Milieu Rouge Congo :

Colorant Rouge Congo.....	2 g/L.
Eau distillé.....	1 L.

Milieu de conservation :

Peptone.....	10,0 g.
Extrait de viande	5,0 g.
Chlorure de Sodium	5,0 g.
Agar	10,0 g.
pH.....	7,3.

Annexe 3 : Préparation des milieux.

Le milieu BHIB :

Le bouillon BHIB a été préparé en pesant 37g de la poudre BHIB. La poudre a été dissoute dans 1000ml d'eau distillée. Le mélange a été agité à une température de 100°C à une vitesse d'agitation de 1000 rpm. Les tubes ont été remplis et ont été autoclavés à 121°C pendant 15 minutes pour assurer la stérilité.

Le milieu BHIB + Glucose :

Le milieu BHIB + Glucose a été préparé en dissolvant 37 g de poudre BHIB et 20 g de glucose dans 1000 mL d'eau distillée. La solution a ensuite été agitée à l'aide d'un agitateur magnétique à une vitesse de 1000 rpm pour assurer une homogénéisation complète. Après dissolution, le milieu a été réparti dans des tubes appropriés, puis stérilisé par autoclavage à 121 °C pendant 15 minutes. Cette étape garantit l'élimination de toute contamination microbienne et préserve l'intégrité du milieu pour son utilisation ultérieure en culture bactérienne.

Eau physiologique :

La préparation de l'eau physiologique stérile commence par la pesée précise de 9 g de poudre de chlorure de sodium à l'aide d'une balance analytique. Cette poudre est ensuite dissoute dans 1000 ml d'eau distillée, créant ainsi une solution saline à 0,9%. Pour garantir une dissolution complète et homogène, la solution est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique à une vitesse de rotation de 1000 rpm. Une fois la dissolution achevée, la solution est transférée dans des tubes qui sont ensuite autoclavés à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 4 : Résultats des facteurs de virulence (fixation du Rouge Congo, résistance au sérum, production d'hémolysine, formation de biofilms sur RCA) des souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires.

APEC	Fixation du Rouge Congo	Résistance au sérum	Production d'hémolysine	Formation de biofilm sur RCA
E1	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
E2	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Positive
E3	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E4	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
E5	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E6	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E7	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E8	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
E9	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
E10	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E11	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E12	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E13	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E14	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E15	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E16	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E17	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E18	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E19	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E20	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E21	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E22	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E23	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E24	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E25	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E26	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E27	Non fixatrice	Résistante	α Hémolytique	Négative
E28	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E29	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E30	Fixatrice	Sensible	α Hémolytique	Négative
E31	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E32	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E33	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E34	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E35	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
E36	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E37	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E38	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
E39	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
E40	Fixatrice	Résistante	α Hémolytique	Négative

Annexe 5 : Résultats des facteurs de virulence (fixation du Rouge Congo, résistance au sérum, production d'hémolysine, formation de biofilms sur RCA) des souches d'*Escherichia coli* fécales aviaires.

AFEC	Fixation du Rouge Congo	Résistance au sérum	Production d'hémolysine	Formation de biofilm sur RCA
F1	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F2	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F3	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F4	Fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F5	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F6	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F7	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F8	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F9	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F10	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F11	Non fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F12	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F13	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
F14	Non fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F15	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F16	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F17	Non fixatrice	Sensible	αHémolytique	Négative
F18	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Positive
F19	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F20	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
F21	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F22	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F23	Non fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F24	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
F25	Non fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F26	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F27	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F28	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative
F29	Fixatrice	Sensible	αHémolytique	Négative
F30	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F31	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F32	Non fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F33	Non fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F34	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Positive
F35	Non fixatrice	Résistante	αHémolytique	Négative
F36	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F37	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F38	Non fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F39	Fixatrice	Résistante	β Hémolytique	Négative
F40	Fixatrice	Sensible	β Hémolytique	Négative

Annexe 6 : Résultats de la capacité de formation de biofilm des APEC par mesure de DO.

APEC	Densité optique			DO	Ecart type	ODC T⁻	Interprétation
E1	0,261	0,219	0,222	0,234	0,02	0,116	Modérément formatrice
E2	0,185	0,194	0,134	0,171	0,02	0,116	Faiblement formatrice
E3	0,153	0,212	0,194	0,186	0,02	0,116	Faiblement formatrice
E4	0,271	0,328	0,359	0,319	0,03	0,083	Modérément formatrice
E5	0,24	0,201	0,257	0,233	0,02	0,083	Modérément formatrice
E6	0,234	0,299	0,23	0,254	0,03	0,116	Modérément formatrice
E7	0,289	0,352	0,308	0,316	0,02	0,083	Modérément formatrice
E8	0,256	0,277	0,298	0,277	0,01	0,116	Modérément formatrice
E9	0,353	0,345	0,375	0,358	0,01	0,116	Modérément formatrice
E10	0,051	0,055	0,055	0,054	0,002	0,082	Non formatrice
E11	0,195	0,189	0,208	0,197	0,01	0,12	Faiblement formatrice
E12	0,086	0,088	0,076	0,083	0,005	0,068	Faiblement formatrice
E13	0,478	0,279	0,463	0,407	0,09	0,116	Modérément formatrice
E14	0,233	0,249	0,185	0,222	0,02	0,116	Faiblement formatrice
E15	0,269	0,301	0,263	0,278	0,02	0,116	Modérément formatrice
E16	0,496	0,301	0,456	0,418	0,08	0,116	Modérément formatrice
E17	0,346	0,363	0,307	0,339	0,02	0,083	Fortement formatrice
E18	0,054	0,057	0,057	0,056	0,001	0,082	Non formatrice
E19	0,34	0,342	0,328	0,337	0,01	0,083	Fortement formatrice
E20	0,225	0,244	0,207	0,225	0,01	0,068	Modérément formatrice
E21	0,194	0,196	0,282	0,224	0,04	0,116	Faiblement formatrice
E22	0,978	0,903	0,793	0,891	0,07	0,116	Fortement formatrice
E23	0,345	0,379	0,385	0,370	0,02	0,116	Modérément formatrice
E24	0,373	0,345	0,329	0,349	0,02	0,083	Modérément formatrice
E25	0,471	0,476	0,665	0,537	0,09	0,116	Fortement formatrice
E26	0,279	0,261	0,321	0,287	0,02	0,083	Modérément formatrice
E27	0,141	0,11	0,189	0,147	0,03	0,068	Modérément formatrice
E28	0,978	0,944	0,836	0,919	0,06	0,116	Fortement formatrice
E29	0,154	0,152	0,141	0,149	0,01	0,068	Modérément formatrice
E30	0,31	0,332	0,417	0,353	0,04	0,083	Fortement formatrice
E31	0,462	0,389	0,367	0,406	0,04	0,083	Fortement formatrice
E32	0,245	0,257	0,272	0,258	0,01	0,116	Modérément formatrice
E33	0,317	0,345	0,385	0,349	0,02	0,083	Fortement formatrice
E34	0,371	0,323	0,411	0,368	0,03	0,068	Fortement formatrice
E35	0,067	0,072	0,088	0,076	0,01	0,068	Faiblement formatrice
E36	0,194	0,192	0,177	0,188	0,01	0,068	Modérément formatrice
E37	0,197	0,178	0,189	0,188	0,01	0,116	Faiblement formatrice
E38	0,456	0,403	0,428	0,416	0,01	0,116	Modérément formatrice
E39	0,361	0,259	0,248	0,289	0,05	0,083	Modérément formatrice
E40	0,294	0,303	0,289	0,295	0,01	0,116	Modérément formatrice

NB : ODC = DO T⁻ + 3* écart-type T⁻

Annexe 7 : Résultats de la capacité de formation de biofilm des AFEC par mesure de DO.

APEC	Densité optique			DO	Ecart type	ODC T⁻	Interprétation
F1	0,17	0,172	0,132	0,16	0,02	0,12	Faiblement formatrice
F2	0,425	0,453	0,337	0,405	0,045	0,083	Fortement formatrice
F3	0,065	0,086	0,079	0,077	0,008	0,096	Non formatrice
F4	0,094	0,109	0,115	0,106	0,008	0,096	Faiblement formatrice
F5	0,231	0,254	0,224	0,236	0,012	0,068	Modérément formatrice
F6	0,069	0,075	0,088	0,077	0,007	0,096	Non formatrice
F7	0,065	0,069	0,079	0,071	0,005	0,096	Non formatrice
F8	2,141	1,48	1,809	1,81	0,22	0,12	Faiblement formatrice
F9	0,083	0,091	0,087	0,09	0,003	0,082	Faiblement formatrice
F10	0,105	0,114	0,121	0,113	0,006	0,096	Faiblement formatrice
F11	0,312	0,337	0,19	0,28	0,06	0,12	Modérément formatrice
F12	0,082	0,095	0,076	0,084	0,01	0,096	Non formatrice
F13	0,072	0,076	0,094	0,081	0,009	0,096	Non formatrice
F14	0,266	0,27	0,179	0,238	0,040	0,096	Modérément formatrice
F15	0,573	0,346	0,568	0,50	0,10	0,12	Fortement formatrice
F16	0,177	0,161	0,185	0,17	0,01	0,12	Faiblement formatrice
F17	0,114	0,112	0,103	0,11	0,004	0,12	Faiblement formatrice
F18	0,265	0,222	0,145	0,21	0,04	0,12	Faiblement formatrice
F19	0,115	0,117	0,125	0,119	0,004	0,096	Faiblement formatrice
F20	0,252	0,256	0,103	0,20	0,07	0,12	Faiblement formatrice
F21	0,118	0,177	0,198	0,164	0,031	0,068	Modérément formatrice
F22	2,09	1,87	2,248	2,069	0,13	0,096	Fortement formatrice
F23	0,243	0,246	0,3	0,26	0,02	0,12	Modérément formatrice
F24	0,067	0,082	0,076	0,075	0,01	0,096	Non formatrice
F25	0,1	0,103	0,121	0,108	0,009	0,096	Faiblement formatrice
F26	0,363	0,24	0,879	0,49	0,26	0,12	Fortement formatrice
F27	0,407	0,391	0,365	0,388	0,015	0,083	Fortement formatrice
F28	0,105	0,114	0,121	0,113	0,006	0,096	Faiblement formatrice
F29	0,113	0,103	0,109	0,11	0,004	0,12	Faiblement formatrice
F30	0,266	0,28	0,284	0,277	0,007	0,083	Modérément formatrice
F31	0,288	0,248	0,259	0,27	0,02	0,12	Modérément formatrice
F32	0,308	0,36	0,324	0,33	0,02	0,12	Modérément formatrice
F33	0,114	0,114	0,132	0,12	0,008	0,096	Faiblement formatrice
F34	0,454	0,605	0,607	0,56	0,07	0,12	Fortement formatrice
F35	0,101	0,106	0,111	0,106	0,003	0,096	Faiblement formatrice
F36	0,055	0,06	0,06	0,058	0,002	0,096	Non formatrice
F37	0,068	0,071	0,072	0,07	0,002	0,096	Non formatrice
F38	0,115	0,111	0,355	0,19	0,11	0,12	Faiblement formatrice
F39	0,092	0,093	0,184	0,12	0,04	0,12	Faiblement formatrice
F40	0,113	0,117	0,117	0,12	0,002	0,12	Faiblement formatrice

Annexe 8 : Résultats de l'antibiorésistance des souches APEC et AFEC (données obtenues dans un travail antérieur).

APEC	Résistance aux ATBs	AFEC	Résistance aux ATBs
E1	Sensible	F1	Multirésistante
E2	Multirésistante	F2	Multirésistante
E3	Sensible	F3	Multirésistante
E4	Multirésistante	F4	Multirésistante
E5	Sensible	F5	Multirésistante
E6	Sensible	F6	Multirésistante
E7	Multirésistante	F7	Multirésistante
E8	Multirésistante	F8	Multirésistante
E9	Multirésistante	F9	Multirésistante
E10	Multirésistante	F10	Multirésistante
E11	Multirésistante	F11	Sensible
E12	Multirésistante	F12	Sensible
E13	Sensible	F13	Multirésistante
E14	Multirésistante	F14	Multirésistante
E15	Multirésistante	F15	Multirésistante
E16	Multirésistante	F16	Multirésistante
E17	Sensible	F17	Sensible
E18	Sensible	F18	Multirésistante
E19	Multirésistante	F19	Multirésistante
E20	Sensible	F20	Multirésistante
E21	Multirésistante	F21	Multirésistante
E22	Multirésistante	F22	Sensible
E23	Multirésistante	F23	Sensible
E24	Sensible	F24	Sensible
E25	Multirésistante	F25	Multirésistante
E26	Multirésistante	F26	Multirésistante
E27	Multirésistante	F27	Sensible
E28	Multirésistante	F28	Multirésistante
E29	Multirésistante	F29	Multirésistante
E30	Multirésistante	F30	Multirésistante
E31	Sensible	F31	Sensible
E32	Multirésistante	F32	Multirésistante
E33	Multirésistante	F33	Multirésistante
E34	Multirésistante	F34	Sensible
E35	Multirésistante	F35	Multirésistante
E36	Sensible	F36	Multirésistante
E37	Multirésistante	F37	Multirésistante
E38	Multirésistante	F38	Multirésistante
E39	Sensible	F39	Multirésistante
E40	Multirésistante	F40	Multirésistante

Annexe 9 : Nombre de facteurs de virulence des souches APEC et AFEC.

Souches APEC	Nombre de facteurs de virulence	Souches AFEC	Nombre de facteurs de virulence
E1	4	F1	2
E2	2	F2	2
E3	2	F3	2
E4	3	F4	3
E5	3	F5	1
E6	3	F6	2
E7	1	F7	2
E8	4	F8	2
E9	4	F9	1
E10	1	F10	1
E11	1	F11	2
E12	2	F12	1
E13	2	F13	3
E14	2	F14	2
E15	2	F15	2
E16	2	F16	2
E17	2	F17	1
E18	2	F18	3
E19	2	F19	3
E20	1	F20	4
E21	2	F21	2
E22	3	F22	3
E23	2	F23	2
E24	2	F24	4
E25	1	F25	2
E26	1	F26	2
E27	2	F27	2
E28	3	F28	2
E29	1	F29	2
E30	2	F30	3
E31	2	F31	3
E32	2	F32	2
E33	2	F33	2
E34	2	F34	4
E35	4	F35	2
E36	3	F36	2
E37	2	F37	3
E38	1	F38	2
E39	3	F39	3
E40	3	F40	2