

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الحراش  
الجزائر  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE - EL HARRACH  
ALGER

Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires  
Option : Hygiène et Sécurité Alimentaire

*QUALITE BACTERIOLOGIQUE DE L'ŒUF DE  
CONSOMMATION ET EVOLUTION DE LA  
CONTAMINATION EN FONCTION DU TEMPS  
ET DE LA TEMPERATURE DE CONSERVATION*

Par :

**Dr. MEBKHOUT Faiza**

**Devant le Jury :**

Président	: <b>B. BENDEDOUCHE</b>	Maître de Conférences	ENSV. Alger
Promoteur	: <b>K.T. BOUKHORS</b>	Maître de Conférences	ENSV. Alger
Co-Promoteur	: <b>T.M. HAMDI</b>	Maître de Conférences	ENSV. Alger
Examineur	: <b>A. CHAHED</b>	Maître Assistante classe A	ENSV. Alger
Examineur	: <b>H. A. LEBRES</b>	Maître de Conférences	IPA
Examineur	: <b>S. EL HADEF EL OKKI</b>	Professeur	ISV. Constantine

# Remerciements

## Remerciements

*Avant tout, je tiens à remercier DIEU de m'avoir donné le courage et la force d'achever ce travail.*

*Je remercie Dr BENEDEDOUCHE BADIS qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.*

*Je tiens à remercier également Madame CHAHED AMINA, Monsieur LABRES EL HADJ AHMED et Monsieur EL HADEF EL OKKI SAADOUNE qui ont accepté de faire partie de notre jury de thèse.*

*Je remercie mon promoteur : Mademoiselle BOUKHORS KARIMA qui a accepté de m'encadrer.*

*Je tiens tout particulièrement à remercier mon co-promoteur : Dr. HAMDI TAHA MOSSADDEK, pour son aide, sa patience, sa disponibilité, ainsi que ses encouragements, et son suivi attentif.*

*Je remercie également Mme HAKEM pour m'avoir accueilli dans le laboratoire HURBAL.*

*Je tiens à remercier vivement Mme LABCHRI ZOHRRA pour son aide, sa disponibilité et ses conseils, ainsi que tout le personnel du laboratoire HURBAL.*

*Mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude à LBVET et particulièrement aux Docteurs AMROUNI MEHDI et ZOUANE REDA.*

*Mes remerciements les plus sincères vont également à mon amie KESSI OUARDIA Pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée, sa disponibilité, ses conseils, son soutien et sa participation judicieuse pour réaliser ce travail.*

*En guise de reconnaissance, je tiens également à remercier MOUNIRA, ASSIA et MEZALI LYNDIA qui, par leur aide, leurs conseils, leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*Je n'oublierais pas de remercier également Mme ZENIA SAFIA; Mme Fadila; Mme SAHRAOUI LYNDIA et KHOUNI Fayçal.*

# *Dédicaces*

*A mes parents, qu'ils trouvent ici la récompense de tous les efforts consentis pour permettre à leurs enfants de poursuivre de longues études.*

*A mes frères et mes sœurs*

*A mes grands parents, mes oncles et tantes.*

*A mes amies et camarades.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

**°C:** Degré Celsius.

**AFNOR :** Association Française de Normalisation.

**AFSCA :** Agence Fédérale de Sécurité de la Chaîne Alimentaire (Belgique).

**AFSSA :** Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

**API:** Analytic Prophylactic Index.

**BEH :** Bulletin épidémiologique hebdomadaire.

**CE :** European Commission.

**CF :** Coliformes fécaux.

**cm :** Centimètre.

**cm<sup>2</sup> :** Centimètre carré.

**CNRSS :** Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella* (France).

**CT :** Coliformes totaux.

**DE:** Décision Européenne.

**DGAL :** Direction générale de l'alimentation.

**EFSA :** Autorité européenne de sécurité des aliments.

**EHEC :** Escherichia Coli entérohémorragiques.

**E. type:** Ecart-type.

**EPT :** Eau peptonée tamponnée.

**FMAT :** Flore mésophile aérobie totale.

**g :** Gramme.

**GT :** germes totaux.

**h :** heure.

**H<sub>2</sub>S :** Sulfure d'hydrogène.

**INRA :** Institut National de la recherche agronomique.

**ISO :** International for Standardisation Organisation.

**KGy :** kilo grays.

**LDC :** Lysine Décarboxylase.

**Log<sub>10</sub> :** logarithme décimal.

**ml :** millilitre.

**Moy:** Moyenne.

**MSDA :** Mauritian Scuba Diving Association.

**NaCl :** Chlorure de Sodium.

**NF:** Norme Française.

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé.

**ONPG:** Ortho-Nitro-Phényl-Galactosidase.

**PCA:** Plat Count Agar.

**RBP :** ovoflavoprotéine ou riboflavin-binding protein.

**RM :** Rouge de Méthyl.

**RV:** Rappaport Vassiliadis.

**SC :** Sélénite cystine.

**SM :** Solution mère.

**Staph :** Staphylocoques.

**STEC :** Escherichia Coli producteurs de shigatoxines.

**TDA:** Tryptophane désaminase.

**TIAC:** Toxi-infection alimentaire collective.

**TIAC :** Toxi-infection Alimentaire Collective.

**TSE :** Tryptone- sel- eau.

**TSI :** triple sugar iron.

**UFC :** unité formant colonie.

**VLDL :**very low density lipoproteines.

**VP:** Voges- Proskauer.

**VRBL:** Violet Red Bile Agar.

**µm :** Micromètre.

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Proportions et teneur en eau des différentes couches de l'albumen.....	Page n° 9
<b>Tableau 2:</b> Composition en sucre (g /100g) des glycoprotéines du blanc d'œuf.....	Page n° 14
<b>Tableau 3:</b> Teneurs de l'œuf et de l'albumen en minéraux.....	Page n° 14
<b>Tableau 4:</b> Teneur du blanc d'œuf en vitamines.....	Page n° 16
<b>Tableau 5:</b> Les minéraux de l'œuf et leur rôle.....	Page n° 18
<b>Tableau 6 :</b> Microflore des œufs de poule.....	Page n° 22
<b>Tableau 7:</b> Genres des microorganismes isolés à partir d'œufs.....	Page n° 23
<b>Tableau 8:</b> Qualité bactériologique comparée d'œufs fermiers et d'autres issus d'une production au sol et en cage.....	Page n° 24
<b>Tableau 9 :</b> La microflore des œufs de poule .....	Page n° 27
<b>Tableau 10:</b> Type de microorganismes isolés à partir du contenu d'œufs altérés.....	Page n° 29
<b>Tableau 11:</b> Importance relative des différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 1999 et 2000.....	Page n° 32
<b>Tableau 12:</b> Toxi-infections Alimentaires dues aux salmonelles en France en 1997 selon l'aliment responsable.....	Page n° 43
<b>Tableau 13:</b> Agents identifiés ou suspectés et aliments incriminés ou suspectés.TIAC déclarées aux DDASS ou DSV. France, 1999-2000.....	Page n° 44
<b>Tableau 14 :</b> Interprétation des tests biochimiques .....	Page n° 73
<b>Tableau 15 :</b> Moyennes générales des flores étudiées par les deux méthodes : classique et rapide exprimées en Log UFC .....	Page n° 77
<b>Tableau 16 :</b> Interprétation des résultats par l'utilisation des galeries API20E.	Page n° 84
<b>Tableau 17 :</b> Calendrier des prélèvements des œufs de consommation au niveau des deux bâtiments d'élevages de poules pondeuses...	Page n° 88
<b>Tableau 18:</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les GT en période d'été .....	Page n° 94
<b>Tableau 19 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les CF en période d'été .....	Page n° 95
<b>Tableau 20 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les Streptocoques fécaux en période	Page n°96 6

d'été.....

<b>Tableau 21:</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par Staphylocoques à coagulase positive en période d'été .....	Page n° 97
<b>Tableau 22 :</b> Résultat bâtiment Testage de juillet à septembre (période d'été) représenté en UFC et Log UFC/g.....	Page n° 98
<b>Tableau 23 :</b> Résultat bâtiment ORAC de juillet à septembre (période d'été) représenté en UFC/g et Log UFC/g.....	Page n° 99
<b>Tableau 24 :</b> valeurs moyennes des GT des lots prélevés au niveau du bâtiment testage .....	Page n° 105
<b>Tableau 25 :</b> Valeurs moyennes des CF des lots prélevés au niveau du bâtiment testage .....	Page n° 106
<b>Tableau 26 :</b> Valeurs moyennes des streptocoques fécaux des lots prélevés au niveau du bâtiment Testage.....	Page n° 108
<b>Tableau 27 :</b> Valeurs moyennes des GT des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC .....	Page n° 109
<b>Tableau 28 :</b> Valeurs moyennes des coliformes fécaux des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC .....	Page n° 111
<b>Tableau 29 :</b> Valeurs moyennes des streptocoques fécaux des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC .....	Page n° 112
<b>Tableau 30 :</b> valeurs moyennes des staphylocoques à coagulase positive des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC.....	Page n° 113

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Structure interne de l'œuf .....	Page n°6
<b>Figure 2:</b> Structure de la coquille de l'œuf de poule.....	Page n° 7
<b>Figure 3:</b> Effet de mode d'élevage sur la contamination microbienne de l'œuf.....	Page n° 25
<b>Figure 4 :</b> Bâtiment testage .....	Page n° 53
<b>Figure 5:</b> Bâtiment ORAC.....	Page n° 54
<b>Figure6:</b> Diagramme de la méthode de recherche des germes totaux.....	Page n° 59
<b>Figure 7:</b> Diagramme de la méthode de recherche des coliformes totaux et fécaux.....	Page n° 61
<b>Figure 8:</b> Diagramme de la méthode de recherche des streptocoques fécaux.....	Page n° 63
<b>Figure 9:</b> Aspect de la Coagulase positive.....	Page n° 65
<b>Figure 10:</b> Diagramme de la méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive.....	Page n° 67
<b>Figure 11:</b> Aspect de <i>Salmonella</i> spp sur la galerie api 20 E.....	Page n° 69
<b>Figure 12:</b> Diagramme de la méthode de recherche des salmonelles.....	Page n° 70
<b>Figure 13:</b> Films gélosés RIDA@COUNT Flore Totale.....	Page n° 71
<b>Figure 14:</b> Diagramme de la méthode de recherche des germes totaux.....	Page n° 72
<b>Figure 15:</b> Diagramme de la méthode de recherche des coliformes totaux....	Page n° 74
<b>Figure 16:</b> Diagramme de la méthode de recherche des <i>staph aureus</i> .....	Page n° 76
<b>Figure 17:</b> Diagramme de la méthode de recherche des salmonelles.....	Page n° 78
<b>Figure 18 :</b> Résultat des dénombrements des différentes flores de la surface des œufs de consommation (méthode classique).....	Page n° 80
<b>Figure 19 :</b> Représentation des courbes de cellules et graphe en boîtes des différents germes dénombrés de la surface de l'œuf (méthode classique).....	Page n° 81
<b>Figure 20 :</b> Résultat des dénombrements des différentes flores de la surface des œufs de consommation (méthode rapide). .....	Page n° 81
<b>Figure 21 :</b> Graphes en boîtes des différents germes dénombrés par la méthode rapide.....	Page n° 82
<b>Figure 22:</b> Comparaison des moyennes des germes de contamination de la surface de l'œuf par les deux méthodes (classique et rapide).....	Page n° 82
<b>Figure 23:</b> Comparaison entre méthode classique et rapide pour GT.....	Page n° 83
<b>Figure 24:</b> Comparaison entre méthode classique et rapide pour CT.....	Page n° 83



<b>Figure 25:</b> Comparaison entre méthode classique et rapide pour staphylocoques.....	Page n° 83
<b>Figure 26 :</b> Diagramme représentant les différentes étapes de l'échantillonnage.....	Page n° 89
<b>Figure 27:</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les GT en période d'été .....	Page n° 94
<b>Figure 28 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les CF en période d'été.....	Page n° 95
<b>Figure 29 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Streptocoques fécaux en période d'été.....	Page n°96
<b>Figure 30:</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Staphylocoques à coagulase positive en période d'été .....	Page n° 97
<b>Figure 31 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les GT en période d'été (Bâtiment Testage).....	Page n° 99
<b>Figure 32:</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les GT en période d'été (Bâtiment ORAC).....	Page n° 100
<b>Figure 33 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les CF en période d'été bâtiment Testage.....	Page n° 101
<b>Figure 34 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les CF en période d'été bâtiment ORAC .....	Page n° 101
<b>Figure 35 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Strept fécaux en période d'été bâtiment Testage.....	Page n° 102
<b>Figure 36 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Strept fécaux en période d'été bâtiment ORAC .....	Page n° 103
<b>Figure 37 :</b> Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par staphylocoques en période d'été (bâtiment ORAC).....	Page n° 104
<b>Figure 38 :</b> Résultats de la contamination par les GT des lots du bâtiment Testage .....	Page n° 105
<b>Figure 39 :</b> Résultats de la contamination par les CF des lots du bâtiment Testage.....	Page n° 107
<b>Figure 40 :</b> Résultats de la contamination par les streptocoques fécaux des lots du bâtiment Testage .....	Page n° 108

<b>Figure 41:</b> Résultats de la contamination par les GT des lots du bâtiment ORAC .....	Page n° 110
<b>figure 42 :</b> Résultats des moyennes des coliformes fécaux des lots du bâtiment ORAC .....	Page n° 111
<b>Figure 43:</b> Résultats de la contamination par les streptocoques fécaux des lots du bâtiment ORAC .....	Page n° 112
<b>Figure 44:</b> Résultats de la contamination par les staphylocoques des lots du bâtiment ORAC .....	Page n° 113

# TABLE DES MATIERES

## INTRODUCTION

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I GENERALITES

I. Définition.....	6
II. Structure de l'œuf de poule.....	6
II.1- La coquille.....	7
II.2- Les membranes coquillières.....	8
II.3- Chambre à air.....	8
II.4- Le blanc d'œuf.....	8
II.5- Le jaune d'œuf.....	9
III. Composition moyenne de l'œuf de poule.....	10
III.1 Composition de la coquille.....	10
III.2 Composition du blanc.....	11
III.2 1. Les protéines du blanc d'œuf.....	11
III.2 2. Les glucides du blanc d'œuf.....	13
III.2 3. Fraction inorganique.....	14
III.2 4. Les vitamines.....	15
III.3- Composition du jaune.....	17
III.3 1- Les protéines.....	17
III.3 2- Les lipides.....	17
III.3 3- Minéraux.....	17
III.3. 4- Vitamines.....	19

#### Chapitre II GERMES D'ALTERATION DE L'ŒUF DE CONSOMMATION

I. Contamination de l'œuf avant la ponte.....	21
II. Contamination de l'œuf après la ponte.....	22
II.1- Contamination de la surface de l'œuf.....	22
II.2- Contamination de l'intérieur de l'œuf.....	25
III Les œufs contaminés – les œufs pourris.....	26
IV. Maintenance de la qualité initiale des œufs.....	30

#### CHAPITRE III GERMES PATHOGENES DE L'ŒUF DE CONSOMMATION

I. Les salmonelles.....	33
I.1. Facteurs de croissance de <i>Salmonella</i> .....	33
I.2. Les Salmonelles et la contamination de la filière œufs.....	34
I.2.1. Contamination des élevages par <i>Salmonella</i> .....	34
a / Contamination horizontale.....	34
b/ Contamination verticale.....	35
I.2.2. Capacité de colonisation de <i>Salmonella Enteritidis</i> .....	37
I.2.2.1. Contamination de l'ovaire.....	37
I.2.2.2. Contamination des œufs.....	38
a) Contaminations de surface des œufs.....	38
b) Contamination des milieux internes. ....	39
c) Passage de la cuticule.....	39
d) Passage des membranes coquillières.....	40
I.2.2.3. Comportement des salmonelles dans les œufs.....	40
a) Comportement dans l'albumen.....	40
b) Comportement dans le vitellus.....	41
I.2.2.4. Risque pour la santé humaine lié à la présence des salmonelles.....	42
II. Autres bactéries pathogènes. ....	44
II.1. <i>Staphylocoques aureus</i> .....	44
II.1.1 Risque pour la santé humaine lié à la présence de <i>S. aureus</i> .....	45
II.1.2. Comportement des staphylocoques dans les œufs.....	45
II.2. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	45
II.2.1. Risque pour la santé humaine lié à la présence de listeria.....	47
II.2.2. Comportement de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les œufs.....	48
II.3. Coliformes et <i>Escherichia Coli</i> .....	49
II.3.1. Conditions de croissance.....	49
II.3.2. Risque pour la santé humaine liée à la présence d' <i>Escherichia Coli</i> . ....	49
II.4. <i>Bacillus cereus</i> .....	49

## ETUDE EXPERIMENTALE

### PRESENTATION DES LIEUX DE NOTRE EXPERIMENTATION

I.1.1. Présentation des bâtiments d'élevages de l'ITELV.....	52
I.1.1.1 Description du bâtiment testage(Canadien).....	52
I.1.1.2. Bâtiment ORAC (Italien).....	54
I.2. Présentation de l'établissement de l'Hygiène urbaine de la Ville d'Alger.....	54
II. EVALUATION DES TAUX DE CONTAMINATION DE LA SURFACE DE L'ŒUF DE CONSOMMATION	56
II.1 Matériels et méthodes.....	56
II.1.1 Echantillonnage.....	56
II.1.2 Matériel.....	56
II.1.1.1 Matériel biologique.....	56
II.1.1.2 Matériel de laboratoire.....	56
II.1.2 Méthodes.....	57
II.1.2.2 Recherche et dénombrement des différentes flores par la méthode classique .....	57
II.1.2.3 Recherche des différentes flores bactériennes par test de numération par la méthode rapide RIDA®COUNT.....	71
II.2. Résultats de l'étude l'évaluation des taux de contamination superficielle de l'œuf de consommation par les deux méthodes : (classique et rapide).....	79
1) Résultat de la recherche des différentes flores.....	77
2) Comparaison entre les taux enregistrés par les deux méthodes (classique et rapide).....	82
3) Résultat de la recherche de salmonelles.....	84
II.3. Discussion.....	85
III : Etude de l'évolution des taux de contamination bactérienne de l'intérieur de l'œuf de consommation au cours de sa conservation à deux températures différentes.....	88
III.1 Matériel et méthodes.....	88
III.1.1 Matériel.....	88
III.1.1.1 Echantillonnage.....	88
1) Mode d'échantillonnage .....	88
2) Répartition, transport et conservation des échantillons .....	89

III.1.2 Méthodes.....	90
III.1.2.2 Recherche et dénombrement des différentes flores .....	90
III.2 Résultats.....	93
III.2.1 Présentation des résultats pour les deux bâtiments testage et ORAC ensemble.....	93
III.2.1.1 En période d'hiver.....	93
III.2.1.1 En période d'été.....	93
III.2.2 Comparaison des résultats des analyses des prélèvements pour chaque bâtiment....	98
III.2.2.1 Bâtiment testage.....	98
III.2.2.2 Bâtiment ORAC. ....	99
III.2.3 Résultats de l'analyse pour les différents lots des deux bâtiments testage et ORAC	105
III.2.3.1 Bâtiment testage.....	105
III.2.3.2 Bâtiment ORAC.....	109
Discussion .....	115
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	118
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

ANNEXES.

# *INTRODUCTION*

## INTRODUCTION

L'Aviculture est indéniablement la branche des productions animales qui a enregistré en Algérie le développement le plus remarquable au cours de ces dernières années.

L'Algérie, grâce à un développement rapide de sa production nationale est passée en l'espace de 10 années (1982/1992) du statut d'importateur d'œufs de consommation et de viande blanche au statut d'autosuffisance pour ces produits. En 1979 la consommation moyenne annuelle par habitant en Algérie était de 4,5 kg /hab/ an pour la viande blanche et de 15 œufs/hab/ an ; en 1984 elle est passée à 7,2 5 kg /hab/ an pour la viande blanche et de 49 œufs/hab/ an ; enfin en 1989 cette consommation a atteint 125 unités d'œuf de consommation / hab/ an et 12 kg de viande blanche/hab/ an. En 1993, la production nationale couvrait largement les besoins du pays (Fenardji, 1990).

Aujourd'hui différents problèmes liés à la hausse du prix de l'aliment, et à la désorganisation totale du secteur du fait du manque d'interlocuteurs pouvant représenter et défendre les intérêts des aviculteurs menacent ce secteur. L'abandon de cette activité par plusieurs producteurs a engendré l'indisponibilité du produit sur le marché et la hausse automatique des prix à la consommation (Anonyme 1, 2008).

Le mot œuf vient du latin *ovum*, sa production s'est accélérée au XVIII<sup>e</sup> siècle suite à la découverte de la technique de couvaison artificielle. Le XIX<sup>e</sup> siècle a vu la création de plusieurs nouvelles races de poules, certaines pour la production de viande, d'autres pour leur production en œufs de consommation et d'autres encore pour les deux usages. Depuis l'œuf a toujours été considéré comme un aliment de haute qualité nutritionnelle pour l'homme (consommation en augmentation de 3 % par an depuis 10 ans). De façon globale, la production et la consommation mondiale d'œufs ont triplé depuis les années soixante et continuent à croître régulièrement (Gillin et Sakoff 2003).

Toutefois, sa popularité diminuera lorsqu'on découvrira que son jaune est particulièrement riche en cholestérol, accusé d'être à l'origine de maladies cardiovasculaires ; que le blanc contient des protéines allergisantes pour le jeune enfant, et que le risque de sa contamination par les salmonelles est établi.

L'objet de notre travail consiste à étudier la qualité bactériologique de l'œuf de consommation ; tant au niveau de sa surface (coquille) qu'à l'intérieur des œufs.

Nous avons également étudié l'évolution de la contamination interne de l'œuf lors de sa conservation à température ambiante et à température de réfrigération ; le but recherché étant



l'estimation de degré de contamination de nos œufs de consommation ; le type de germes rencontrés, et par la même apprécier le risque encouru par le consommateur.

# *ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE*

# *CHAPITRE I*

## *GENERALITES*

## I. Définition.

on entend par « œuf », les œufs dans leur coquille, à l'exclusion des œufs cassés, incubés ou cuits, qui sont produits par les oiseaux d'élevage et qui sont propres à la consommation humaine directe ou à la préparation d'ovo produits (Règlement CE N° 853/2004).

## II. Structure de l'œuf de poule.

Les principales parties de l'œuf sont : la coquille, les membranes coquillières, le blanc et le jaune (Figure 1).

Le poids moyen d'un œuf de poule est de 55-65g, il varie relativement peu depuis que l'on élève des souches de pondeuses génétiquement homogènes (Thapon et Bourgeois, 1994).

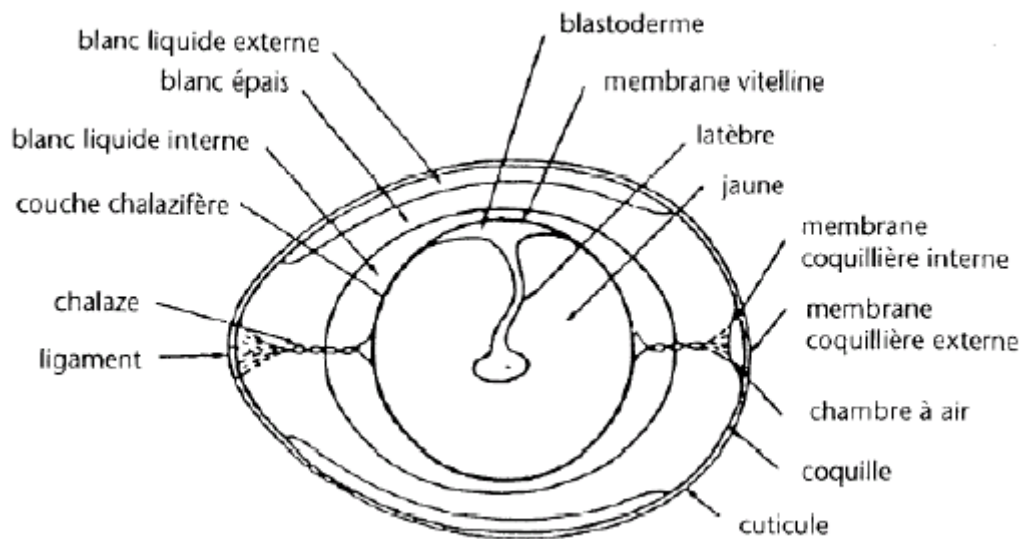


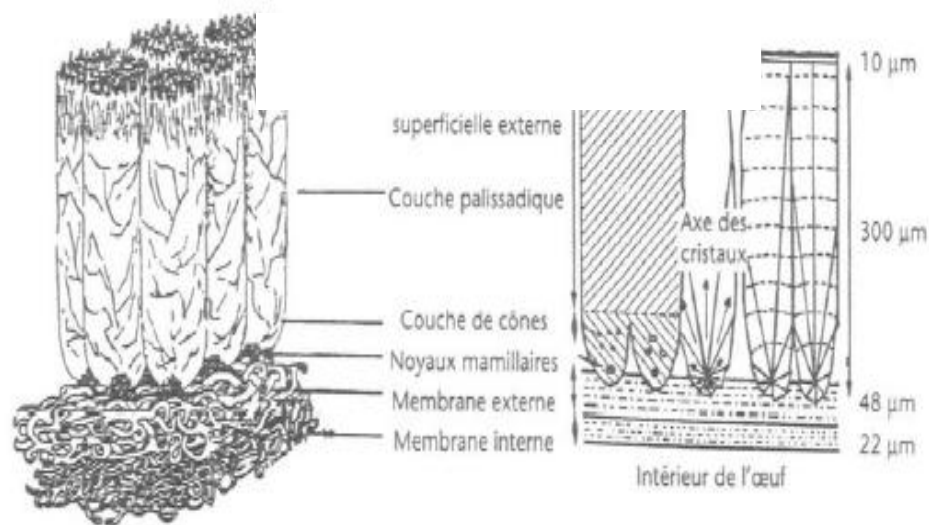
Figure 1 : Structure interne de l'œuf (Sauveur, 1988).

## II.1- La coquille.

La coquille est une structure minérale rigoureusement organisée dont l'épaisseur chez la poule est de 300  $\mu\text{m}$  (Tollet, 1987 ; Nys, 1990 ; Nys et al., 2004).

Elle est composée d'une trame protéique dans laquelle se développent des cristaux de carbonate de calcium. (Figure 2).

La Coquille est traversée par de nombreux canaux débouchant sous la forme de pores au niveau de la cuticule. Le nombre de pores est de 8000 à 10000, ils permettent les échanges d'oxygène, de dioxyde de carbone et de vapeur d'eau entre l'intérieur de l'oeuf et le monde extérieur (respiration de l'embryon) et l'évaporation du contenu de l'œuf (Sauveur, 1988).



**Figure 2 : Structure de la coquille de l'œuf de poule (Sauveur, 1988).**

Toute la surface de la coquille est recouverte d'une enveloppe protéique appelée cuticule qui est une couche fine, cireuse, brillante mate, d'une épaisseur inférieure à 10 $\mu\text{m}$ .

Cette cuticule sèche en formant des plaques alvéolaires au niveau des pores. Elle reste alors perméable aux gaz tout en gardant un effet protecteur contre les contaminations microbiennes extérieures. Il est donc important de ne pas laver ni broser les œufs.

La coquille représente une barrière physique qui empêche toutes pénétrations microbiennes (INRA, 2004).

Pour la plupart des auteurs, elle préserve les qualités internes de l'oeuf de consommation (Board, 1966 ; Mayes et Takeballi, 1974).

Il faut noter que l'intégrité de la coquille de l'œuf diminue lorsque l'âge du volatile augmente (EFSA ,2006).

Les jeunes poules produisent des œufs avec des coquilles plus épaisses et de plus longs pores que des poules plus vieilles (Britton, 1977; Peebles et Frein, 1987).

## **II.2- Les membranes coquillières.**

Elles sont au nombre de deux jointives à l'intérieur de la coquille, soudées l'une à l'autre sauf au niveau du gros bout de l'oeuf où elles se séparent pour constituer la chambre à air. Les deux membranes coquillières ont une épaisseur de 0,07 mm (Thapon et Bourgeois, 1994).

Les membranes de la coquille fonctionnent pour maintenir le fluide de l'albumen et pour résister à l'invasion bactérienne (Burley et Vadehra, 1989).

## **II.3- Chambre à air.**

Des échanges gazeux se produisent à travers les pores de la coquille ce qui entraîne la formation de la chambre à air. Le volume de la chambre à air augmente avec la durée et les conditions de conservation (Thapon et Bourgeois, 1994).

## **II.4- Le blanc d'œuf.**

Le blanc d'œuf est la dernière barrière, il est bactériostatique et bactéricide pour certaines espèces. Le lysozyme contenu dans le blanc lyse les parois des bactéries (Bonhomme, 2003).

C'est un milieu hétérogène résultant de la juxtaposition de quatre zones distinctes physiquement :

- **Le blanc liquide externe** : qui représente 23% du blanc total ; il est au contact des membranes coquillières.
- **Le blanc épais** : représentant 57% du blanc total, il est attaché au deux extrémités de l'œuf et présente l'aspect d'un gel.
- **Le blanc liquide interne** : représentant 17% du blanc total, il est enfermé entre le blanc épais et le jaune.
- **Les chalazes** : représentent uniquement 3% du blanc total, ce sont des filaments spiralés allant du jaune vers les deux extrémités de l'œuf à travers le blanc épais et assurant la suspension du jaune à l'intérieur et au milieu de l'œuf (Thapon et Bourgeois, 1994).

Les proportions du blanc liquide et du blanc épais dépendent de nombreux facteurs parmi lesquels nous citerons le poids de l'œuf, la souche, l'âge et l'état sanitaire de la pondeuse, le taux de ponte, et surtout la durée et le mode de conservation de l'œuf (Sauveur, 1988). Voir tableau 1.

**Tableau 1 :** Proportions et teneur en eau des différentes couches de l'albumen.

Couches	% de l'albumen		%d'humidité
	Moyennes	Variation	
<b>Blanc liquide externe</b>	23,2	10-60	88,8
<b>Blanc épais</b>	57,3	30-80	87,6
<b>Blanc liquide interne</b>	16,8	1-40	86,4
<b>Chalazes</b>	2,7	–	84,3

Source : Standlman, 1977.

## II.5- Le jaune d'œuf.

Le jaune de l'œuf, ou vitellus représente le 1/3 du poids de l'œuf sans la coquille.

Il a une densité moins élevée que le blanc (Graulou et *al.*, 2005).

Il est sphérique entouré d'une membrane fine et transparente appelée membrane vitelline. Cette dernière est composée de quatre couches superposées dont deux sont d'origine ovarienne (zona radiata et couche périvitelline) et deux déposées après l'ovulation (Sauveur, 1988). On y distingue, du centre vers l'extérieur :

- le latèbre, noyau sphérique d'environ 6 mm de diamètre,
- les stratifications du vitellus qui sont des couches concentriques et alternées de vitellus jaune et de vitellus blanc, La différence de couleurs entre les strates est due à leur composition. En particulier les pigments, qui sont disposés dans le jaune

d'œuf de façon plus ou moins importante en fonction du métabolisme de la poule, induisent cette différence de couleur. Le vitellus jaune contient plus de xanthophylles,

- la membrane vitelline. Fine et transparente, elle sépare le blanc et le jaune et est composée de kératine et d'ovomucine.

La surface de la membrane vitelline est composée de fibres connectées à la couche chalazifère. Ces connections disparaissent rapidement au cours de la conservation (Thapon et Bourgeois, 1994).

#### ❖ **Disque germinatif.**

C'est le noyau de l'ovocyte du vitellus, représenté sous forme d'une légère dépression à la surface du jaune.

### **III. Composition moyenne de l'œuf de poule.**

L'œuf est constitué de 60 % de blanc et de 30 % de jaune, contenus dans une coquille qui représente 10 % du poids total.

Les parts relatives de chacun des constituants varient dans des proportions importantes en fonction de l'âge de la poule et, dans une moindre mesure entre individus, en fonction de certaines conditions environnementales ou lors de carences alimentaires de la poule (Sauveur, 1988. Burley et Vadehra, 1989. Blum et Sauveur, 1996. Gutierrez et *al.*, 1997).

L'origine génétique de la poule a peu d'influence sur les proportions blanc-jaune ou sur les teneurs en matière sèche de l'œuf, lipides et protéines (Sauveur, 1994).

#### **III.1 Composition de la coquille.**

La coquille renferme 1,6% d'eau et 3,3% de protéines qui constituent sa trame. La partie minérale (95,1%) est essentiellement composée de carbonate de calcium (93,6% de l'ensemble) sous forme de calcite; les autres sels présents sont du carbonate de magnésium et du phosphate tricalcique (0,8% chacun). Globalement, le calcium représente 37,3% du poids total de la coquille (2,3 g pour une coquille de 6g), la fraction carbonate 58%, le magnésium et le phosphore 0,35 % chacun. Le seul oligo-élément présent en quantité notable est le manganèse (7ppm) (Sauveur, 1988).



### III.2 Composition du blanc (Thapon et Bourgeois, 1994).

Le blanc d'œuf ou albumen est une solution aqueuse de protéines, de sucres et de sels minéraux. Il est quasiment dépourvu de lipides que l'on y rencontre seulement à l'état de traces. L'eau est le constituant majeur et sa teneur diminue des couches extérieures vers les couches intérieures.

Les protéines représentent le groupe de constituants majeurs du blanc d'œuf.

La composition moyenne du blanc d'œuf de poule, exprimée en pourcentage, est la suivante :

- **Protéines** : 9,7-10,6,
- **Sucres** : 0,4-0,9,
- **Lipides** : 0,03,
- **Cendres** : 0,5-0,6,
- **Matière sèche** : 10,6 -12,1.

#### III.2 1. Les protéines du blanc d'œuf.

Mis à part le lysozyme, les protéines du blanc d'œuf sont toutes des glycoprotéines, riches en acides aminés soufrés, très sensibles à la chaleur et à la dénaturation de surface. Ce sont les seules protéines animales possédant des facteurs antitrypsiques (Thapon et Bourgeois, 1994).

##### ➤ **L'ovalbumine.**

C'est la protéine majeure du blanc d'œuf, elle représente à elle seule plus de la moitié des protéines totales (54%). C'est une protéine phosphorylée et glycosylée qui se trouve sous forme de monomère. Son poids moléculaire est de 45 000 Da et son pH isoélectrique de 4,5. L'ovalbumine possède des propriétés antigéniques, immunochimiques et allergéniques (Thapon et Bourgeois, 1994).

##### ➤ **Ovotransferrine.**

C'est une glycoprotéine, elle constitue 12 à 13 % des protéines du blanc d'œuf. Elle possède une action anti-oxydante par sa capacité à fixer deux atomes de fer. Elle joue un rôle bactériostatique en privant les bactéries de fer et inhibe le développement de *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et *Streptococcus mutans* (Valenti et al, 1983 ;Lock and Board, 1992; Sauter and Peterson, 1969).

Elle est la plus thermosensible de toutes les protéines du blanc d'œuf; lors de la mise en œuvre de traitements thermiques, elle constitue le facteur limitant. Elle est le facteur majeur d'inhibition de croissance de *Salmonella enteritidis* dans le blanc d'œuf (Baron et al., 1997 ; Baron , 1998 ;Valenti et al., 1983, 1986 ).

➤ **Ovomucoïde.**

L'ovomucoïde est une glycoprotéine thermorésistante représentant 10% des protéines du blanc d'œuf. Elle a une forte activité antitrypsique, mise en évidence en 1947 par Lineweaver et Murray.

Les propriétés antibactériennes du blanc d'œuf sont dues essentiellement au lysozyme et sont accrues par la présence d'ovomucoïde et de conalbumine à pH alcalin (Thapon et Bourgeois, 1994).

➤ **Le lysozyme.**

Cette protéine présente un fort caractère basique et un pH isoélectrique très élevé de 10,7, ce qui l'implique dans des interactions électrostatiques avec l'ovomucine. Ces interactions jouent un rôle considérable concernant la qualité du blanc d'œuf au cours de la conservation. C'est une enzyme qui se manifeste par une activité bactériolytique identique dans le blanc liquide et le blanc épais. C'est une N-acétyl-hexoaminidase capable d'hydrolyser la liaison  $\beta$ 1,4 établie entre l'acide acétylmuramique et la N-acétylglucosamine du peptidoglycane des mucopolysaccharides qui constituent les parois des bactéries à Gram positive (Salton ,1957).

Le lysozyme présente une très bonne efficacité contre certaines bactéries mésophiles et thermophiles telles que *Bacillus staerothermophilus*, *Clostridium thermosaccharolyticum* et *Clostridium tyrobutyricum* (Johnson, 1994).

➤ **L'ovomucine.**

Elle représente 1,5 à 3% des protéines du blanc d'œuf. On la trouve aussi dans les chalazes qu'à l'extérieur de la membrane vitelline. Elle est responsable de la haute viscosité du blanc épais qui en contient 4 fois plus que le blanc liquide. Elle possède des propriétés inhibitrices de l'hémagglutination d'origine virale.

➤ **Les ovoglobulines.**

Trois globulines G1, G2 et G3 représentant 4% des protéines du blanc ont été mises en évidence en 1940 (Bonhomme, 2003). G1 a ensuite été identifiée comme le lysozyme. Les globulines sont d'excellents agents moussants.

➤ **L'ovoinhibiteur.**

Comme l'ovomucoïde, il fait partie des inhibiteurs de protéases à sérines. C'est un inhibiteur puissant de la chymotrypsine du poulet, de l'élastase et de protéases bactériennes et fongiques.

➤ **L'ovoglycoprotéine.**

C'est une glycoprotéine très acide avec un pH isoélectrique de 3,9.

➤ **La flavoprotéine.**

Elle est appelée aussi ovoflavoprotéine ou riboflavin-binding protein (RBP). C'est une glycoprotéine qui fixe de façon très efficace la riboflavine. Elle est responsable de la couleur verdâtre du blanc d'œuf.

➤ **L'ovomacroglobuline ou ovostatine.**

Cette glycoprotéine possède une activité inhibitrice vis-à-vis, entre autres de la pepsine et de la trypsine.

➤ **Cystatine.**

Les cystatines pourraient protéger les cellules de l'attaque par leurs propres protéases ou contre l'infection virale.

➤ **L'avidine.**

Cette protéine est rencontrée dans le blanc d'œuf, elle pourrait être un des nombreux facteurs antimicrobiens du blanc d'œuf.

### **III.2. 2. Les glucides du blanc d'œuf.**

Dans le blanc d'œuf, les glucides peuvent se trouver sous deux formes :

- une forme libre qui représente 0,5% du poids de l'albumen. Plus de 98% de ces sucres sont représentés par du glucose,
- une forme liée aux protéines, sous la forme d'un groupement glycane (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Composition en sucre (g /100g) des glycoprotéines du blanc d'œuf.

	Glucosamine	Glucosamines Galactosamines	Galactose	Mannose	Acides Sialiques
Ovalbumine	1,2	-	-	1,7-2,0	
Ovotransferrine	1,7	-	-	0,9	-
Ovomucoides	9,5-17,7	-	0,53-4,07	6,4-8,6	0,03-2,23
Ovomucine	5,4	0,5	1,8	4,6	1,0
Flavoprotéine	8,7		1,1	3,9	0,86
Ovoglycoprotéine	13,8	-	4,5	9,0	3,0
Ovomacroglobuline	5,5	-	0,3	0,3	-
Ovoinhibiteur	2,8-5,6	-	-	2,1-3,7	0,1-0,3
Avidine	4,5	-	-	4,6	-

Source : Robinson, 1972

### III.2 3. Fraction inorganique.

Le blanc d'œuf renferme de nombreux minéraux dont les principaux sont donnés dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Teneurs de l'œuf et de l'albumen en minéraux.

	Contenu total moyen (mg/œuf de 60g)		Valeurs relatives extrême (mg/100g)	
	Œuf entier Sans coquille	Blanc	Œuf entier Sans coquille	Blanc
Sodium	72	62	135	140-200
Potassium	73	53	135	130-170
Chlore	93	62	170	150-180
Calcium	29	3	55	7-15
Magnésium	6	4	11	10-12
Phosphore	120	5	220	10-15
Fer	1,1	2-3	-	-
Soufre	90	60	170	160-200

Source : Sauveur, 1988.

Le blanc d'œuf contient également du gaz carbonique qui joue un rôle fondamental en contrôlant le pH. La quantité de gaz carbonique est en équilibre avec la quantité de bicarbonates du blanc d'œuf qui représente 96% du gaz carbonique total. Aussitôt après la ponte, le gaz carbonique dissout s'échappe par les pores de la coquille, le pH se stabilise autour de 9 (Sauveur, 1969).

#### **III.2. 4. Les vitamines.**

Le blanc d'œuf est pauvre en vitamines. Il est dépourvu de vitamines liposolubles (A, D, E, K) et ne contient que quelques vitamines hydrosolubles. Il contient un peu d'acide pantothénique (vit PP) et de riboflavine (vit B12) responsable de sa couleur légèrement vert jaune (tableau 4).

**Tableau 4 :** Teneur du blanc d'œuf en vitamines.

	Contenu total (Par œuf de 60g)		Valeurs relatives ( /100 g de blanc)	
	Œuf entier	Blanc	Œuf entier	Blanc
<b>Vitamines liposolubles</b>				
Vitamine A (U.I.)	150-400	-	250-700	-
Vitamine D (U.I.)	20-80	-	35-150	-
Vitamine E (mg)	0,6-2	-	1,5-3,5	-
Vitamine K (mg)	0,01-0,03	-	0,02-0,06	-
<b>Vitamines hydrosolubles</b>				
Choline(mg)	225	-	410	-
Thiamine=vitB1(g)	52	1,5	95	3,5
Riboflavine =vitB2(g)	200	120	300-350	300-450
Nicotinamine(g)	43	33	60-80	85-95
Pyridoxine =vitB6(g)	68	8	150-200	25
Acide pantothénique(g)	830	80	1200-1500	190-250
Biotine(g)	10	2	15-20	5-7
Acide folique	15	0,5	15-35	1
Vitamine B12(g)	0,5	-	07-1,2	-

**Source :** Sauveur, 1988.

### III.3- Composition du jaune (Thapon et Bourgeois, 1994)

Le jaune d'œuf ou vitellus est la partie qui contient les éléments nécessaires au développement de l'embryon. Le jaune représente environ 30% du poids de l'œuf.

La composition moyenne du jaune d'œuf est de :

- 50% d'eau,
- 50% de matières sèches dont :
  - 32 à 36% de lipides,
  - 16% de protéines,
  - 1 à 2% de glucides.

### **III.3. 1- Les protéines.**

Les 2/3 des protéines sont associées à des lipides pour former des lipoprotéines. Elles se répartissent comme suit :

- protéines et lipoprotéines des granules : la lipovitelline, la phosvitine, LDL et VLDL.
- Protéines et lipoprotéines du plasma : livétine, principale protéine allergisante du jaune d'œuf et LDL.

Le rôle biologique des lipoprotéines est de transporter les graisses dont le cholestérol dans le sang (INRA, 2007).

### **III.3. 2- Les lipides (Thapon et Bourgeois, 1994)**

Les lipides du jaune d'œuf se présentent soit sous forme de complexes par association avec des protéines pour former des lipoprotéines de faible densité (LDL) et la lipovitelline, soit sous forme libre. Ils se répartissent de la façon suivante :

- Triglycérides, 65% (acide palmitique, linoléique, oléique, stéarique),
- Phospholipides, 28,3% (phosphatidylcholine ou lécithine, phosphatidylsérine ou céphaline, sphingomyélines),
- Cholestérol libre, 5,2%.

### **III.3. 3- Minéraux.**

Par rapport au blanc, le jaune d'œuf est particulièrement riche en phosphore et en calcium.

La répartition des minéraux entre les deux fractions du jaune (granules et plasma) et leur état (libres ou liés aux protéines) est la suivante :

- 90% de potassium et de sodium du jaune se trouvent dans le plasma sous forme libre,

- plus de 90% du calcium et du magnésium et 77% du fer sont sous forme liée dans les granules.

La quasi-totalité du phosphore du jaune est sous forme liée (98,3%) et se trouve sous forme organique dans les phosphoprotéines ou les phospholipides (Tableau n 5).

**Tableau 5 :** Les minéraux de l'œuf et leur rôle.

<b>Minéraux</b>	<b>Teneur en mg pour 100g de partie comestible</b>	<b>Analyse</b>
<b>Sodium</b>	145	Le blanc est plus riche ; 170 mg pour 100g, dans un jaune d'œuf, 10 mg maximum. Dans deux œufs deux fois plus du sodium que dans 100g de viande de boucherie.
<b>Potassium</b>	150	Deux fois moins que la viande ou poisson.
<b>Calcium</b>	55	Un peu plus que le poisson et plus que la viande.
<b>Phosphore</b>	220	Le jaune est une source importante : 600 mg pour 100g.
<b>Magnésium</b>	12	Source moyenne.
<b>Fer</b>	2 à 3	CUD de 5% du fait des phosphates en quantité importante dans le jaune. l'œuf ne présente pas les avantages du poisson ou de la viande (16%).
<b>Cuivre</b>	0,05 à 0,23	Le jaune est une source intéressante en oligoéléments dont le sélénium.
<b>Zinc</b>	1,4	Idem.

**Source :** Vierling ,2003.

### III.3. 4- Vitamines.

Le jaune est plus riche en vitamines que le blanc et contient principalement des vitamines liposolubles. Le taux de vitamines présentes dans le jaune est variable et est en fonction de la quantité de vitamines ingérées par la pondeuse. L'augmentation du taux de vitamines de l'œuf



augmente en même temps que celui de la ration jusqu'à un seuil pour lequel on peut observer une baisse de l'efficacité du transfert (Sauveur, 1988).

L'œuf, et notamment son jaune, est un aliment à teneur élevée en vitamines A, D, E, K, et B (tableau 4). La consommation de deux œufs assure 10 à 30 % du besoin journalier de l'homme en ces vitamines. En revanche, il ne contient pas de vitamine C. Les vitamines B, bien qu'hydrosolubles, peuvent être accumulées dans le jaune grâce à leur transfert par des protéines spécifiques de liaison.

La teneur en vitamines liposolubles de l'œuf est très variable et dépend de l'alimentation de la poule (Stadelman et Pratt 1989 ; Leeson et Caston 2003).

La vitamine A est transférée avec une efficacité proche de 80 % jusqu'à des teneurs de 8000 UI/kg. La teneur en vitamine E, qui exerce un rôle primordial dans le contrôle de l'oxydation des AGPI et dans la prévention de goûts désagréables (Sim, 2000), augmente de 144 à 477 µg/g de jaune quand la poule reçoit une supplémentation de 400 mg/kg d'aliment (Jiang *et al* 1994).

La teneur en vitamine E dans l'œuf peut être multipliée par 6 à 10 par voie alimentaire (Surai et Sparks 2001, Galopart *et al* 2002). Il existe par ailleurs une compétition de transfert entre les vitamines liposolubles A et E, et les pigments caroténoïdes (xanthophylles ou β carotènes).

L'accumulation possible des vitamines acheminées par une protéine de liaison est plus limitée, avec apparition de plateaux, par exemple 10 mg pour la riboflavine.

La vitamine B12 est transférée avec une efficacité proche de 40 %. Enfin, une particularité de l'œuf réside dans la capacité de l'avidine du blanc cru à lier la biotine et donc à réduire la disponibilité de cette vitamine. 35 % de l'œuf à l'état cru n'est pas digéré ni absorbé, 6 % pour l'œuf cuit (Evenepoel *et al.*, 1999).

## *CHAPITRE II*

# *GERMES D'ALTERATIONS DE L'ŒUF DE CONSOMMATION*

La contamination bactérienne des œufs dépendra beaucoup de la propreté des surfaces où ils sont pondus et de la manière dont ils sont manipulés et conservés après la ponte; ainsi que la moindre micro-fêlure de la coquille pourra avoir des conséquences néfastes sur la conservation de l'œuf. La présence de micro-fêlures permet la pénétration de bactéries et par conséquent augmente le risque de toxi-infection pour le consommateur d'œufs crus ou de préparations culinaires à base d'œufs (INRA., 2004). Au contraire si la coquille demeure intacte, la seule voie de pénétration des microorganismes à l'intérieur de l'œuf est constituée par les pores.

L'humidité va être un facteur important de contamination interne car elle va favoriser le développement en surface des microorganismes. De même un refroidissement trop rapide des œufs peut favoriser la pénétration des microorganismes.

Des microorganismes très divers peuvent contaminer les œufs, mais les barrières physiques et les mécanismes biochimiques de défense exercent une action sélective telle que les espèces microbiennes susceptibles de pénétrer jusqu'au jaune pour constituer l'association d'altération sont rares et appartiennent essentiellement aux espèces Gram positives (Thapon et Bourgeois, 1994). Les contaminations importantes sont donc le plus souvent exogènes (Board, 1969).

### **I. Contamination de l'œuf avant la ponte.**

Il s'agit d'une contamination liée à la présence de microorganismes pathogènes ou non, présente dans l'appareil génital de la pondeuse. Chez environ une poule sur deux, l'oviducte est contaminé par des bactéries non pathogènes appartenant le plus souvent aux genres *Lactobacillus* et *Micrococcus* (Harry, 1963) hôtes habituels des voies génitales de la poule, elles ne se retrouvent que très rarement dans les œufs et jouent donc un rôle négligeable dans le phénomène de la « pourriture » des œufs.

L'œuf peut être aussi contaminé au cours de sa formation par des bactéries apportées par l'alimentation et transitant par les voies digestives et sanguines jusqu'à l'ovaire.

Bien que les contaminations internes de l'œuf par d'autres espèces telles que *Staphylococcus*, *Listeria*, *Pseudomonas* etc., aient été signalées, on peut admettre que plus de 90% des œufs contaminés aujourd'hui le sont après la ponte (Mayes et Takeballi, 1981).

### **II. Contamination de l'œuf après la ponte.**

## II.1- Contamination de la surface de l'œuf.

La surface de la coquille est contaminée par différents micro-organismes de l'environnement. Ceux-ci sont apportés par des fientes, des poussières, le matériel, et les manipulations. Le nombre de germes dénombrés par coquille varie de  $10^3$  à  $10^7$  avec une valeur moyenne de  $10^5$  (Olive, 1968). Parmi ces germes, des bactéries, des levures, des champignons ont été identifiés. Mais l'œuf résiste bien aux contaminations malgré la flore abondante et variée observée sur la coquille (Olive, 1968).

Elle peut être aussi contaminée par les bactéries de l'eau utilisée pour laver les œufs (Thapon et Bourgeois, 1994).

Les germes mobiles d'altération sont : *Escherichia coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*, ainsi que des spores de moisissures sont systématiquement présents (tableau 6). Une atmosphère sèche et un stockage convenable inhibent leur pénétration.

**Tableau 6** : Microflore des œufs de poule.

Type de microorganisme	Sur la coquille	Dans les œufs pourris
<b>Micrococcus</b>	++	+/-
<b>Acinetobacter</b>	+	+/-
<b>Alcaligenes</b>	+	++
<b>Arthrobacter</b>	+	+/-
<b>Bacillus</b>	+	+/-
<b>Cytophaga</b>	+	+/-
<b>Escherichia</b>	+	++
<b>Flavobacterium</b>	+	+/-
<b>Pseudomonas</b>	+	++

**Source** : Mayes et Takeballi, 1983 ; Board et Tanter, 1986.

Selon Board (1969), le nombre de microorganismes par coquille, sur les œufs prélevés sur différents sites, de la ferme au magasin, varie en moyenne de  $9,5.10^3$  à  $3,1.10^6$ . Ces microorganismes sont très divers avec une dominance de bactéries Gram positifs (tableau 7). Cette contamination reste habituellement confinée à la surface de la coquille.

**Tableau 7** : Genres de microorganismes isolés à partir d'œufs.

MICROORGANISMES								
	Alford (1950)	Board (1964/65)	Florian (1957)	Haines (1984)	Reinke (1966)	Richard (1950)	Roeder (1964)	Wintter (1946)
<b>Bâtonnets Gram -</b>								
<b>Pseudomonas</b>	X	X	X	X		X		
<b>Aeromonas</b>		X						
<b>Alcaligenes</b>	X	X	X			X		X
<b>Achromobacter</b>	X	X	X		X			
<b>Flavobacterium</b>		X	X	X				
<b>Escherichia</b>		X	X	X		X		
<b>Aerobacter</b>		X	X	X		X		
<b>Paracolobactrum</b>			X					
<b>Serratia</b>	X	X						
<b>Proteus</b>		X	X	X				
<b>Salmonella</b>		X			X		X	X
<b>Bâtonnets Gram +</b>								
<b>Arthrobacter</b>		X						
<b>Bacillus</b>		X		X		X		
<b>Cocci Gram+</b>								
<b>Micrococcus</b>		X		X				
<b>Sarcina</b>				X				
<b>Staphylococcus</b>		X		X				

**Source** : Mulder et Van Der Hulst, 1973.

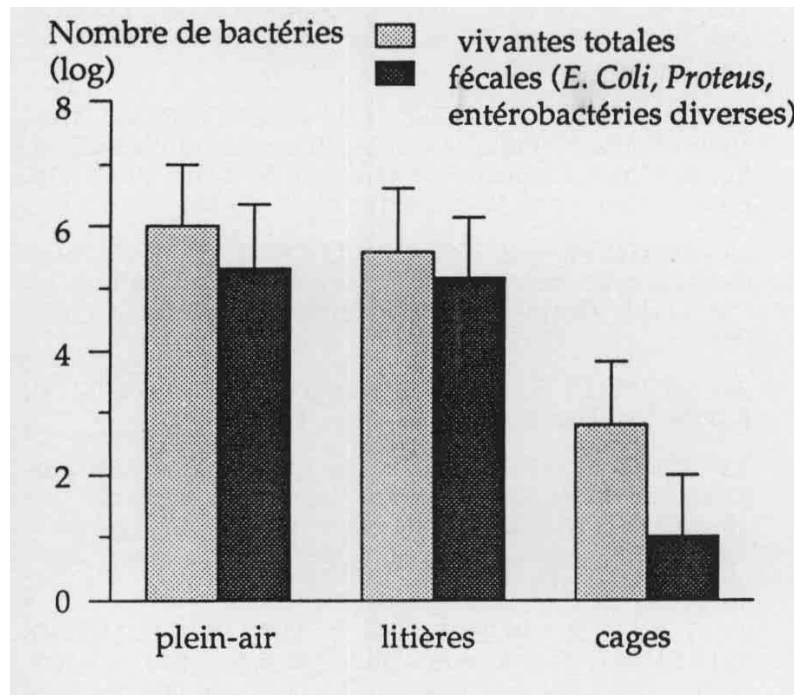
Selon Sauveur, la surface de la coquille porte un nombre de bactéries qui peut osciller de  $10^2$  à  $10^4$  (coquille propre) à plus de  $10^9$  (coquille très contaminée). Ces bactéries appartiennent à une quarantaine de groupes différents dont la plupart sont non pathogènes. Torges et al, (1976) comparant des œufs fermiers avec d'autres issus d'une production au sol et en cages trouvent une contamination externe de la coquille par *Escherichia Coli* dans 44, 6 et 10 % des cas respectivement (tableau 8).

**Tableau 8 :** Qualité bactériologique comparée d'œufs fermiers et d'autres issus d'une production au sol et en cage (50 œufs examinés par lot).

Type de production	Fermière	Au sol	En cage
Fréquence des œufs sales %	24	0	0
Population bactérienne moyenne sur la coquille	$4,2 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^5$	$3,7 \cdot 10^5$
Fréquence des <i>E Coli</i> sur les coquilles en %	44	6	10
Cas de contamination sur les membranes coquillières	18	0	0
Cas de contamination en surface du jaune (%)	26	18	16
dont coliformes	3	0	0

Source : Torges et al, 1976.

Dans une autre étude, Matthes (1985) confirme que la production en cages assure une plus faible contamination externe de la coquille par des entérobactéries que les systèmes au sol. Il montre surtout que la présence de ces bactéries est directement conditionnée par le temps écoulé entre la ponte et le ramassage de l'œuf; si ce délai reste inférieur à 6 h, la population microbienne est sensiblement la même dans les deux systèmes de production. Il est enfin impératif d'écartier les œufs pondus directement sur la litière chez lesquels la prolifération microbienne est la plus rapide (figure 3).



**Figure 3 :** Effet de mode d'élevage sur la contamination microbienne de l'œuf (Matthes, 1985) d'après examen de 160 oeufs par groupe.

## II.2- Contamination de l'intérieur de l'œuf.

Au moment de la ponte, le contenu de l'œuf présentant une coquille intègre et provenant d'une poule saine est généralement stérile (Mayes et Takeballi, 1983 ; Protais et *al.*, 1989).

Le mécanisme de passage des bactéries au travers de la coquille serait la conséquence d'un phénomène de succion après la formation de la chambre à air. La formation des pores de diamètre anormalement élevé pourrait également représenter un facteur de contamination rapide des œufs (Bourgeois et *al.*, 1990).

En cas de pénétration, les caractéristiques de l'œuf atteint permettent de distinguer les œufs rouges, contaminés par les *Coliformes*; les œufs noirs par les *Proteus*; et les œufs verts par les *Pseudomonas*.

Le mycélium des moisissures peut pénétrer entre les membranes coquillières et se développer à ce niveau. Il se forme des petites taches de taille progressivement croissante, mobiles avec la coquille. Au mirage ces taches se distinguent des taches de chair ou de sang situées dans le blanc et non adhérentes à la coquille (Bonhomme, 2003).

### **III Les œufs contaminés – les œufs pourris.**

Une fois à l'intérieur de l'œuf, les microorganismes, bien qu'étant alors dans des conditions d'activité de l'eau favorables, vont avoir beaucoup de difficultés à se développer. Ils vont en effet se heurter à de très nombreux agents antimicrobiens, en fonction des conditions de conservation (température et temps essentiellement), les populations microbiennes que l'on peut rencontrer dans l'œuf sont variables et peuvent être responsables de défauts très importants de l'œuf comme leur coloration ou leur pourriture.

Les œufs pourris contiennent un mélange de bactéries Gram négatif accompagnées de quelques micro-organismes Gram positifs; les espèces les plus couramment rencontrées sont rassemblées dans le tableau 9 et appartiennent au genre *alcaligenes*, *achromobacter*, *pseudomonas*, *serratia*, *proteus*, *aeromonas* (Board et Tranter, 1986). Ces microorganismes sont peu exigeants d'un point de vue nutritionnel et ils peuvent souvent se développer au froid, ils sont le plus fréquemment responsables de modifications.

Les moisissures semblent poser moins de problèmes au cours de la conservation des œufs. En atmosphère humide, elles peuvent se développer à la surface de la coquille et leur mycélium pénètre à l'intérieur de l'œuf, via les pores dépourvus de bouchon de cuticule. Le développement des levures à la surface des membranes coquillières s'accompagne souvent d'un phénomène de gélification du blanc et parfois d'une rupture de la membrane vitelline. *Cladiosporum* et *Sporotrichum* sont les deux moisissures les plus souvent rencontrées dans les œufs contaminés (Thapon et Bourgeois, 1994).



**Tableau 9** : La microflore des œufs de poule.

Type de microorganismes	Sur la coquille	Dans les œufs pourris
<b>Micrococcus</b>	++	+/-
<b>Acinetobacter</b>	+	+/-
<b>Alcaligenes</b>	+	++
<b>Arthrobacter</b>	+	+/-
<b>Bacillus</b>	+	+/-
<b>Cytophaga</b>	+	+/-
<b>Escherichia</b>	+	++
<b>Flavobacterium</b>	+	+/-
<b>Pseudomonas</b>	+	++
<b>Staphylococcus</b>	+	-
<b>Aeromonas</b>	+/-	+
<b>Proteus</b>	+/-	++
<b>Salmonella</b>	+/-	-
<b>Sarcina</b>	+/-	-
<b>Serratia</b>	+/-	++
<b>Streptococcus</b>	+/-	+/-
<b>Citrobacter</b>	-	+
<b>Cloaca</b>	-	+/-
<b>Hafnia</b>	-	+

**Source** : Mayes et Takeballi, 1983 ; Board et Tanter, 1986.

+ = souvent.

+/- = de temps en temps.

++ = toujours.

- = très rare.

➤ **L'invasion du jaune et du blanc.**

Une fois dans les membranes, les bactéries sont soumises à des conditions d'activité de l'eau et de disponibilité de nutriments favorables à la croissance, mais la présence des lysozymes dans cette membrane favorise relativement les bactéries Gram négatifs, la nature de celles qui se développent, dépend de la température :

- Aux alentours de 37°C les coliformes ;
- Aux températures les plus basses les pseudomonas.

Aux températures ambiantes, après pénétration de la coquille, l'infection reste localisée au niveau des membranes pendant 15 à 20 jours avant de s'étendre au jaune pour y atteindre des concentrations de l'ordre de  $10^9$  bactéries par gramme, cela pourrait être dû aux propriétés inhibitrices de l'albumen, qui s'atténueraient progressivement (Board, 1969).

Selon certaines observations, l'invasion microbienne du blanc comme du jaune pourrait même n'être déclenchée que lorsque, l'albumen étant devenu moins visqueux, le jaune entre en contact avec la membrane coquillière interne contaminée (Thapon et Bourgeois, 1994).

La population qui se multiplie est constituée de plusieurs espèces, essentiellement Gram négatifs, parmi lesquelles Board (1969) distingue trois catégories (tableau 10):

- les dominants responsables de la pourriture ou de coloration,
- les associés, abondants aussi, mais qui ne produisent pas de modification significatives de l'œuf,
- les occasionnels, présent en petits nombres et qui peuvent même être Gram positifs.

D'une façon générale les microorganismes responsables du pourrissement et des colorations lors de la conservation à température ambiante appartiennent aux genres pseudomonas, alcaligenes, et flavobacterium.

Il est à noter que la microflore des œufs rejetés après 08 jours d'incubation est différente et que les bactéries Gram positifs occupent une place importante ; on y trouve notamment les Bacillaceae, les Enterobacteriaceae, les Lactobacillaceae, les Micrococcaceae, et les Pseudomonaceae (Mulder et Vandear Hulst, 1973). Certains de ces Bacillaceae et Lactobacillaceae résistent aux traitements thermiques de pasteurisation.

**Tableau 10 :** Type de microorganismes isolés à partir du contenu d'œufs altérés.

<b>Microorganismes</b>							
<b>Types d'œufs</b>	Coli Aerogenes	Proteus	Aeromonas	Pseudomonas	Alcaligenes	Achromobacter	Bactéries Gram positives
<b>Œufs pourris</b>							
<b>Haines (1938)</b>	+	+	-	-	+	+	-
<b>Alford et al., 1950</b>	+	+	-	-	+	+	-
<b>Florian et Trussel, 1957</b>	+	+	+	-	+	+	±
<b>Board 1965 b</b>	+	+	+	-	+	+	±
<b>Board et Board, 1968</b>	+	+	+	-	+	+	±
<b>Œufs colorés</b>							
<b>Richard et Mohler, 1950</b>	+	-	-	-	+	+	±

**Source :** Board, 1969.

#### **IV. Maintenance de la qualité initiale des œufs.**

La qualité initiale de l'œuf obtenue après la ponte peut être conservée aux conditions suivantes :

- les œufs doivent être entreposés dans un local propre, aéré, sombre, tempéré dans lequel sont maintenues :
  - une température comprise entre 10 et 15°C pour limiter le départ d'eau et de gaz carbonique. L'œuf craint également les basses températures, les points de congélation de l'albumen et du vitellus se situant respectivement à - 0,42°C et - 0,59°C. La législation interdit de stocker les œufs de consommation à une température inférieure à +5°C.
  - une humidité relative de 80-85% pour ne pas affecter l'évaporation.
  - une ventilation appropriée pour éviter les condensations sur les œufs, favorables aux croissances microbiennes.

La collecte doit être quotidienne, au cours de celle-ci, tout nettoyage humide ou à sec des coquilles est interdit; la destruction partielle ou totale de la cuticule permet aux microorganismes de pénétrer dans l'œuf, voire de s'y développer.

Dans les casseries, les œufs doivent être stockés dans des salles de même conception, dans lesquelles les températures peuvent être plus basses. Des œufs de consommation ont ainsi pu être conservés dans une salle propre, bien isolée, où ont été maintenues une température de +1°C, une hygrométrie de 90% et une ventilation appropriée pendant 102 jours (Sauveur, 1988).

## *CHAPITRE III*

# *GERMES PATHOGENES DE L'ŒUF DE CONSOMMATION*

L'œuf constitue un aliment naturellement bien protégé mais cette protection a néanmoins ses limites.

Parmi les bactéries susceptibles de se multiplier dans les œufs et ovo produits, certaines peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires graves. Dans ce domaine, le risque alimentaire le plus important est représenté par les salmonelles.

D'autres microorganismes peuvent également être à l'origine de toxi-infections par l'intermédiaire des œufs ou des ovo produits. *Staphylococcus Aureus* qui se développe difficilement dans l'œuf trouve par contre un terrain favorable dans tous les produits à base d'œufs. Ainsi les crèmes pâtisseries, les glaces, les sauces peuvent être à l'origine d'intoxications alimentaires causées par la toxine des staphylocoques entérotoxigènes.

Depuis quelques années, la présence de listeria, même de l'espèce *Listeria monocytogenes*, a également été signalée (Leasor et Foegeding, 1989 ; Moore et Maden, 1993). Si les listeria ne résistent pas très longtemps à la surface des coquilles d'œufs, elles peuvent cependant se développer dans les ovo produits et elles sont plus thermorésistantes que les salmonelles (Foegeding et Leasor, 1990).

Le tableau 11 montre l'importance relative des différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC.

**Tableau 11 :** Importance relative des différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 1999 et 2000.

<b>Aliments concernés</b>	<b>Nombre de TIAC en 1999 et 2000</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Lait et produits laitiers</b>	<b>63</b>	<b>5</b>
<b>Ovo produits</b>	<b>260</b>	<b>20.5</b>
<b>Produits carnés</b>	<b>260</b>	<b>20.5</b>
<b>Produit de la pêche</b>	<b>174</b>	<b>13.7</b>
<b>Eau de boisson</b>	<b>11</b>	<b>0.9</b>
<b>Autres aliments</b>	<b>181</b>	<b>14.3</b>
<b>Aliments non retrouvés</b>	<b>318</b>	<b>25.1</b>
<b>Total</b>	<b>1267</b>	<b>100</b>

**Autres aliments :** Aliment d'origine non animale ou mixte.

**Source :** D'après les données du BEH n° : 23/2002

## **I. Les salmonelles.**

Depuis de nombreuses années, *Salmonella* constitue la cause majeure des infections du tractus digestif humain, liées à la consommation de denrées alimentaires d'origine animale.

Parmi ces denrées, les produits de la viande de volaille et, en particulier, les œufs sont fortement impliqués (Van ImmerseeL, 2005).

Du point de vue de l'hygiène alimentaire, *Salmonella* représentait avant 1986, une préoccupation majeure des filières avicoles pour la contamination de la surface des œufs. Depuis cette date, l'émergence de *Salmonella Enteritidis* a modifié la perception de ce risque, principalement en filière ponte. La capacité invasive de ce sérotype conduit à la contamination des organes reproducteurs de la poule en l'absence de signes cliniques. La transmission verticale de *Salmonella Enteritidis* peut alors apparaître (INRA-Rennes, 2006).

Les salmonelles sont des bactéries pathogènes non seulement pour l'homme mais aussi pour de nombreuses espèces animales. Ce sont les premiers agents de TIAC (Toxi-infection Alimentaire Collective) dans les pays développés (Casin et al., 1999).

Ce sont des germes particulièrement résistants aux conditions environnementales externes; plusieurs années dans des excréments desséchés, un an dans le sol, et 120 jours dans l'eau douce (Rossel et al., 2002; Johnson et al., 2003; OIE., 2005b).

La durée de survie est très variable en fonction des sérovars, de la composition du milieu et des conditions physiques (Bouvet, 1995).

### **I.1. Facteurs de croissance de Salmonella.**

**1. La température :** *Salmonella* est une bactérie mésophile, son optimum de croissance est de 35°C à 37°C ; cependant, elle s'adapte à une gamme de température très large, allant d'environ 4°C à 47°C (Gledel, 1996; D'aoust., 2001; Korsak et al., 2004). N'étant pas sporogène, elle est facilement détruite par la pasteurisation sous ses différentes formes (Rosset., 1982 a), mais elle survit très bien aux basses températures (Humbert, 1998).

**2. Le pH :** Les salmonelles peuvent tolérer un large intervalle de pH allant de 4 à 9,5 avec un optimum aux valeurs neutres de pH (Gledel, 1996; D'aoust, 2001; AFSSA., 2002; Jay et al., 2005).

**3. L'activité de l'eau (Aw) :** Les salmonelles se développent bien pour des valeurs d'Aw de 0.94 à 0.99 (Gledel, 1996; Korsak et al., 2004).

**4. Autres facteurs :** Une concentration de 3% de NaCl inhibe généralement la croissance des salmonelles (D'Aoust, 2001), elles sont aussi sensibles aux rayonnements ionisants (5 à 10 KGy) (Gledel, 1996; AFSSA., 2002), leur développement est aussi limité par les compétitions consécutives à la croissance d'autres flores (Humbert, 1998).

## **I.2. Les Salmonelles et la contamination de la filière œufs.**

### **I.2.1. Contamination des élevages par Salmonella.**

#### **a / Contamination horizontale.**

Elle peut se réaliser sur un mode horizontal direct entre animaux sains et animaux infectés ou sur un mode horizontal indirect par l'intermédiaire des aliments, de la poussière, du matériel d'élevage et des bâtiments (Rose et *al.*, 1999).

Cette contamination est possible pour tous les sérovars, plusieurs facteurs peuvent intervenir. Tout d'abord, la persistance de l'infection dans les bâtiments d'élevage et dans les couvoirs joue certainement un grand rôle (Bailey et *al.*, 2002; Gradel et Rattenborg, 2003). Les rats et les souris peuvent être porteurs de l'infection et contaminer les bâtiments et les aliments. En effet, il a été démontré que les souris capturées dans les environs d'un bâtiment hébergeant des poules pondeuses infectées, étaient 4 fois plus souvent trouvées positives pour *Salmonella* que les souris capturées aux alentours d'un bâtiment hébergeant des poules pondeuses non infectées (Garber et *al.*, 2003).

Dans une autre étude, on a capturé 1000 souris dans des bâtiments pour poules pondeuses, 20 % de ces souris étaient porteuses de *S. Enteritidis* au niveau de la rate (Guard-Petter et *al.*, 1997).

De plus, la caractérisation moléculaire des souches a permis de confirmer que les souris retrouvées près des bâtiments hébergeaient les mêmes souches de *Salmonella* que les poules pondeuses (Liebana et *al.*, 2003).

Les insectes peuvent aussi constituer des réservoirs de *Salmonella*. Dans 14 bâtiments pour poussins à l'engrais, les coléoptères hébergeaient la même souche de *Salmonella* que les poussins (Skov et *al.*, 2004).

Il a également été démontré que les moustiques et les vers de farine dans les élevages de volaille peuvent héberger des *Salmonella* (Hald et *al.*, 1998 ; Olsen et Hammack, 2000).

Quand on relâche des coléoptères contaminés par *Salmonella* dans une chambre contenant des poussins sensibles, ces derniers sont infectés dans les 4 jours qui suivent (Hald et *al.*, 1998).



L'eau de boisson et les aliments constituent également d'importantes sources de contamination pour la volaille. Les abreuvoirs sont facilement contaminés par les becs des poussins, leurs pattes et les fientes. Les systèmes d'abreuvement avec des tétines sont manifestement moins contaminés (Renwick *et al.*, 1992).

Les aliments sont souvent contaminés durant le stockage et la préparation. Au Royaume-Uni, entre 1995 et 1997, sur 15.000 échantillons d'aliments complets pour volaille et porcs, 3 % de ces échantillons étaient positifs pour *Salmonella* (Davies et Hinton, 2000).

Les personnes qui entrent dans les poulaillers mais également des matériaux que l'on introduit dans des bâtiments peuvent être porteurs de *Salmonella* (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Enfin, on doit aussi tenir compte du fait que seuls quelques poussins positifs dans un lot de plusieurs milliers sont suffisants pour contaminer l'ensemble du lot. De plus, les poussins ont tendance à picorer dans la litière et dans les fèces, ce qui facilite la dissémination de l'infection (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Les bactéries peuvent traverser la coquille dans des conditions appropriées en termes de température, d'humidité, etc. malgré les nombreux mécanismes de défense destinés à limiter les effets d'un tel événement (EFSA, 2005).

## **b/ Contamination verticale.**

Des études américaines et françaises ont démontré la transmission de la bactérie de la poule à l'œuf par voie ovarienne (Berchieri *et al.*, 1997).

Les premières hypothèses concernant la transmission transovarienne, ont été émises en 1942 (Humbert F., 1992). La présence de *Salmonella Pullorum* au sein des organes de la reproduction fut acceptée dès 1969 et suggéra que d'autres sérovars de Salmonelles puissent aussi contaminer les ovaires et ou l'oviducte. Benson et Eckroade, en 1991 ont par la suite

isolé *Salmonella Enteritidis* de 383 ovaires sur 555, soit dans près de deux tiers des cas (Humbert F., 1992).

La transmission verticale des salmonelles peut se faire selon trois modalités (Euzéby, 1997) :

1. Infection des follicules ovariens avec certains sérovar, comme *Enteritidis*, *Typhimurium* et *Heidelberg*. La fréquence de contamination est faible, 1% des œufs pondus par une poule infectée seront contaminés.
2. Contamination rétrograde des œufs en formation, par remontée des bactéries du cloaque
3. Contamination par souillure des coquilles avec les fèces. La pénétration des bactéries à travers

la coquille est d'autant plus importante que la cuticule est endommagée par un lavage, un grattage ou par une fêlure.

La capacité de survie et de multiplication des salmonelles dans les macrophages de la poule reproductrice est une des causes de la transmission verticale de ces bactéries aux œufs. On considère que dans un parquet de reproductrices infectées, 5‰ œufs sont contaminés verticalement (en moyenne moins de 1‰) (Humbert et Salvat, 1997).

Cependant, il semblerait qu'un embryon contaminé par un faible nombre de *Salmonella Enteritidis* ne puisse vivre plus de quelques jours. Mais, les bactéries peuvent continuer à se développer alors que les embryons sont morts en produisant des gaz de fermentation qui mettront la coquille sous tension. Par conséquent, le transfert de ces œufs de l'incubateur vers l'éclosoir va être délicat et la rupture de la coquille entraînera une contamination massive de l'environnement immédiat (Humbert, 1995).

Contrairement aux autres *Salmonella* qui ne sont retrouvées qu'en contamination de surface de la coquille de l'œuf, *Salmonella Enteritidis* peut être isolée dans le contenu d'un œuf intact (De Louvois, 1993).

## **I.2.2. Capacité de colonisation de *Salmonella Enteritidis*.**

### **I.2.2.1. Contamination de l'ovaire.**

La capacité de six sérovar de *Salmonella* (Enteritidis, Typhimurium, Infantis, Hadar, Heidelberg, Montevideo) à coloniser les organes reproducteurs et contaminer les œufs a été

comparée. Des poules ont été contaminées, par voie veineuse, par  $10^6$  UFC. *Salmonella Enteritidis* a été retrouvée dans 3 jaunes soit 7% des œufs (Okamura et al., 2001).

Le foie, la rate et le cæcum ont été autant colonisés par les six sérovares; alors que *Salmonella Enteritidis* a pu coloniser à des titres élevés l'ovaire et les follicules pré-ovulatoires. Ce sérovar est aussi le seul isolé dans le sang périphérique 7 jours après inoculation (Okamura et al., 2001).

Par ailleurs, l'inoculation per os de poules âgées de 26 semaines avec  $10^8$  *Salmonella Enteritidis* par animal entraîne la contamination de la moitié des ovaires analysés (4/8), d'une partie des oviductes (5/8) et des contenus de ceux-ci (2/8). Les auteurs ont observé que la contamination de ces organes a pour conséquence la production de vitellus contaminé pendant une période limitée de deux semaines. En effet, les éléments intervenant dans la vitellogénèse et favorables au développement de *Salmonella Enteritidis* sont synthétisés en grande partie dans le foie, puis transportés par le sang au niveau de l'ovaire (Benson et al., 1998).

Des poules âgées de 34 semaines ont été inoculées par *Salmonella Enteritidis* par voie orale ( $10^{10}$  UFC), intramusculaire ( $10^9$  UFC) et intraveineuse ( $10^9$  UFC). La production d'œufs n'a pas été modifiée chez les poules inoculées per os. Elle a été réduite chez les poules contaminées par voie intramusculaire pendant 2 à 3 semaines après l'inoculation. Pendant un mois, des œufs dont la coquille n'était pas contaminée ont présenté une contamination interne. Ces œufs étaient issus des poules inoculées per os et par voie intramusculaire (Nakamura et al., 1993).

La contamination de l'ovaire par les *Salmonella* présentes dans l'appareil digestif et véhiculées par le sang après passage de la barrière intestinale, n'est donc pas un phénomène à exclure pour la compréhension des modes de transmission de cette bactérie au sein des populations (Bellatif, 1994).

En 2002, les sérotypes les plus fréquemment isolés dans les exploitations de poules

pondeuses au sein de la CE étaient Enteritidis (57,5 %), Typhimurium (9,6 %) et Infantis (6,9 %). Par contre, dans les œufs frais, on trouve le sérotype Enteritidis dans 72,9 % des cas (European Commission, 2005).

### **I.2.2.2. Contamination des œufs.**

#### **a) Contaminations de la surface des œufs.**

La surface de la coquille est rapidement contaminée après la ponte par les matières fécales, les poussières, la litière et la terre. Cette contamination varie de quelques centaines à plusieurs millions de bactéries avec une moyenne de 100 000. Le niveau de cette contamination superficielle n'est pas lié de façon absolue au degré de salissure de l'œuf (Board, 1977).

Des études plus détaillées ont montré que la coquille est plus fréquemment contaminée que le jaune ou le blanc d'œuf (European Commission, 2005).

Une multitude de sérotypes a été isolé de la coquille des œufs (De Louvois, 1993b) y compris *S. Enteritidis* (Humphrey, 1994 ; Schutze *et al.*, 1996). La présence de *Salmonella* sur la surface extérieure de la coquille de l'œuf et la contamination du contenu de l'œuf représente une menace pour la santé publique. La surface peut être contaminée soit dans la partie distale de l'oviducte, soit par le biais d'une contamination fécale.

Plusieurs chercheurs ont investigué la possibilité d'une pénétration à travers la coquille de l'œuf dans des conditions de laboratoire avec différents sérotypes de *Salmonella* tels que, par exemple, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* (Javed *et al.*, 1994 ; Miyamoto *et al.*, 1998 ; Wang et Slavik, 1998 ; Berrang *et al.*, 1999). Sur la base de ces expérimentations, on a émis l'hypothèse que le contenu de l'œuf pouvait être contaminé immédiatement après la ponte par des bactéries passant à travers les pores ou des fissures dans la coquille. Dans la pratique cependant, ce phénomène ne semble pas très fréquent puisque la panoplie de sérotypes que l'on trouve à la surface de la coquille, n'est pas du tout semblable à celle retrouvée à partir du contenu de l'œuf. En effet, à l'intérieur de l'œuf, on retrouve presque exclusivement

*S. Enteritidis* (De Buck *et al.*, 2004b). Quelques rapports dans la littérature scientifique suggèrent que le contenu de l'œuf serait contaminé surtout pendant le passage dans le cloaque plutôt que par infection de l'ovaire (Rodrigue *et al.*, 1990; Barrow et Lovell, 1991).

Afin de faire une distinction entre une contamination de la surface de l'œuf provenant de l'environnement, et une contamination qui a lieu durant la formation de l'œuf, on ne peut pas se contenter de faire des cultures de la coquille entière. Certains auteurs ont approfondi cette problématique en immergeant l'œuf entier dans le milieu de culture et en faisant ensuite des cultures de coquilles après avoir assuré la désinfection préalable de leur surface (Bichler *et al.*,

1996 ; Miyamoto *et al*, 1997 ; Okamura *et al*, 2001a ; Okamura *et al*, 2001b). Cette approche a permis de faire une distinction entre une contamination de la surface et une contamination de la membrane de la coquille qui a lieu pendant la formation de l'œuf.

#### **b) Contamination des milieux internes.**

Les poules atteintes d'infections des ovaires ou des oviductes par *Salmonella Enteritidis* (souvent sans signes cliniques) vont contaminer le blanc avant la formation de la coquille. Une étude anglaise portant sur 5 700 œufs provenant d'élevages de poules pondeuses infectées par *Salmonella Enteritidis* a montré que seulement 32 œufs (0,6%) étaient contaminés par cette bactérie. La très grande majorité des œufs renfermait moins de 10 *Salmonella* même après 7 jours de stockage à température ambiante. Cependant 3 œufs (0,05%) contenaient plus de  $10^4$  bactéries. Il faut noter que dans cette étude tous les œufs fortement contaminés (plus de 100 *Salmonella* par œuf) étaient conservés depuis plus de deux semaines (Humphrey, *et al.*, 1991).

On estime qu'actuellement jusqu'à 1 œuf sur 10 000 serait contaminé à l'intérieur de la coquille et qu'un mélange de 500 œufs représenterait un risque de 1 sur 20, puisqu'un seul œuf peut contaminer tout le mélange (Bulletin d'information en maladies transmissibles, 1997).

#### **c) Passage de la cuticule.**

La qualité de la cuticule peut être altérée par des manipulations excessives : le lavage et le brossage entraînent une abrasion de l'enduit protéique et l'apparition de micro-fêlures au

niveau de la coquille. Des mauvaises conditions d'entreposage (température et humidité élevées) favorisent le développement de moisissures, et les multiplications bactériennes entraînent une lyse de la cuticule.

La translation des micro-organismes de la cuticule vers les milieux internes de l'œuf dépend surtout des variations de température d'entreposage des œufs et du lavage par trempage des œufs dans une solution à faible température.

En effet des variations brutales de température (de 37 à 25°C) et le lavage par trempage entraînent une contraction des milieux internes créant une dépression, véritable force de succion, attirant les micro-organismes de l'extérieur vers l'intérieur (Bertrand, 2003).

#### **d) Passage des membranes coquillières.**

La traversée des membranes coquillières ferait intervenir un mécanisme de nature enzymatique. Le passage se ferait au niveau de la matrice interstitielle albumineuse et serait lié à l'intervention d'une mucinase ou d'une polysaccharidase d'origine microbienne (Bertrand,

2003).

### **I.2.2.3. Comportement des salmonelles dans les œufs.**

#### **a) Comportement dans l'albumen.**

La présence de lysozyme et de fer complexé à l'ovotransferrine font de l'albumen un milieu défavorable à la multiplication des germes; mais l'albumen ne peut s'opposer de manière efficace à la multiplication des Salmonelles car le lysozyme est peu actif sur les bactéries à Gram négatif et les Salmonelles peuvent synthétiser des sidérophores. Ainsi *Salmonella Enteritidis* ne se multiplie pas dans l'albumen d'œuf frais si la population de Salmonelles est inférieure à 103 UFC par œuf.

Au cours de son vieillissement, l'albumen se liquéfie et permet une plus grande mobilité du vitellus. La membrane vitelline peut alors venir au contact des membranes coquillières et apporte aux micro-organismes présents à ce niveau les nutriments nécessaires à leur croissance. Cette liquéfaction est associée à une réduction de son pouvoir bactéricide.

Par ailleurs, la perméabilité de la membrane vitelline permet le passage du vitellus vers l'albumen d'éléments nutritifs et de fer. L'augmentation de la perméabilité de cette membrane se produit après 2 à 3 semaines de stockage à une température uniforme (20°C ou 4°C) et elle est accélérée par des changements de température lors du stockage et par l'hydratation progressive du jaune dans les 10 jours suivant la ponte (Bertrand, 2003).

#### **b) Comportement dans le vitellus. (Euzéby, 1997)**

L'inoculation du jaune avec une population de Salmonelles initiale très faible, peut, si l'œuf est soumis à des conditions de température favorables, donner naissance à une population bactérienne importante, malgré une vitesse de multiplication ralentie.

L'étude de l'incidence de la température d'entreposage des œufs sur la multiplication de *Salmonella Enteritidis* dans le vitellus a montré que :

- A 37°C, un inoculum de 1 UFC/g de vitellus conduit en 12 heures à une population bactérienne de 108 UFC/g de vitellus, les Salmonelles se multipliant toutes les 25 minutes.
- A 15,5°C, la multiplication a lieu toutes les 30 minutes et la population atteint 102 UFC/g de vitellus en 24 heures, 104 UFC/g en 48 heures et 107 UFC/g en 4 jours.
- A 7°C, aucune multiplication n'est constatée.

Cette étude montre que des œufs contaminés initialement au niveau du vitellus, lors de transmission transovarienne, conservés à des températures supérieures à 15°C, sont susceptibles de développer en 4 jours une population de Salmonelles suffisante pour entraîner l'apparition d'une toxi-infection alimentaire chez l'homme.

En pratique, le stockage des œufs à une température inférieure à 10°C ralentit la multiplication des salmonelles; les œufs de plus de 2 à 3 semaines, même conservés à +4°C doivent être utilisés avec précaution. Il en va de même pour des œufs ayant subi des variations de température importantes lors de la conservation.

Les données concernant la multiplication des Salmonelles dans l'œuf sont variables selon les conditions expérimentales mais en 2 jours un œuf peut renfermer jusqu'à 10<sup>12</sup> cellules sans modification de sa qualité organoleptique.

#### **I.2.2.4. Risque pour la santé humaine lié à la présence des salmonelles.**

La salmonellose est l'une des toxi-infections alimentaires les plus courantes et les plus répandues dans le monde. Elle représente une charge importante pour la santé publique et un coût considérable pour la société de nombreux pays. Chaque année, des millions de cas sont signalés partout dans le monde, entraînant des milliers de décès (OMS., 2005).

Le tableau typique est celui d'une gastro-entérite aigue fébrile avec diarrhée, douleurs abdominales, nausées et vomissements, céphalées et malaise général ; puis tout rentre dans l'ordre en 2 à 3 jours, ou au maximum en une semaine. Dans deux cas sur dix, on a recours à une hospitalisation. Chez les jeunes enfants ou les personnes âgées, le tableau clinique peut être beaucoup plus sévère et évoluer parfois vers la mort (Haeghebaert et al., 1998).

En France, entre 2001 et 2003, 1656 toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) affectant 22 113 patients ont été déclarées ; 70% de ces TIAC étaient dues aux bactéries du genre *Salmonella* (Institut Pasteur Paris, 2008). Durant une période allant de 1996 – 2005, 5 847 foyers de TIAC ont été déclarés, provoquant 80 351 malades dont 7 364 (9 %) ont été hospitalisés 45 décès ont été rapportés. 64% des TIAC sont survenues en restauration collective ou commerciale. L'agent responsable a pu être identifié dans les aliments et/ou des prélèvements d'origine humaine dans 46 % des foyers (BEH., 2006).

*Salmonella* a été isolée dans 64 % des foyers dont l'agent a été confirmé. Ces foyers ont été à l'origine de 49% du total des malades et de 61% du total des hospitalisations. Les œufs ou les produits à base d'œufs crus ou peu cuits ont été responsables de 30 % des foyers de TIAC dans lesquels un aliment a pu être incriminé (BEH., 2006).

En Italie, les nombreux cas de salmonellose confirment que les salmonelles sont les bactéries les plus fréquemment isolées lors des épidémies rapportées au Ministère de la Santé

(D'Argenio et al., 1999), *S. Enteritidis* étant le sérotype le plus courant. La source de contamination la plus commune est les œufs. Les produits, tels que le tiramisu ou la mayonnaise, qui contiennent des œufs crus sans véritable étape de cuisson, sont souvent impliqués.

En Algérie, le taux global des TIAC enregistré durant l'année 2006 par les services du Ministère de la santé publique est de l'ordre de 2112 cas, dont 03 décès, la recherche des

germes en cause n'a pas été effectuée (Nouichi, 2008).

Les tableaux 12 et 13 montrent les Toxi-infections Alimentaires dues aux salmonelles en France en 1997 ; Ainsi que les aliments incriminés.

**Tableau 12:** Toxi-infections Alimentaires dues aux salmonelles en France en 1997 selon l'aliment responsable.

	<i>S.Enteritidis</i> (%)	Autres salmonelles (%)
<b>Lait et produits laitiers</b>	1.7	4
<b>Oeufs et ovoproduits</b>	84.7	49(a)
<b>Viande</b>	3,5	14
<b>Volailles</b>	1.7	13
<b>Poissons et fruits de mer</b>	1.7	4
<b>Autres aliments</b>	0.8	5
<b>Aliments non retrouvés</b>	5.9	11

(a) : le plus souvent, ce sont les mayonnaises qui ont été la cause

**Source :** DGAL (Le Boucher, 1999).



**Tableau 13** : Agents identifiés ou suspectés et aliments incriminés ou suspectés.

TIAC déclarées aux DDASS ou DSV. France, 1999-2000.

ALIMENTS	SALMONELLA					
	Enteritidis	Typhimurium	Autres sérotypes	Sérotypes inconnus		
Lait et produits laitiers	1	0	0	1	61	64
Œufs et produits à base d'œufs	157	18	7	48	30	260
Viande	4	8	416	94		126
Produits de charcuterie	3	5	3	3	43	57
Volailles	7	1	8	13	48	77
Poissons et fruits de mer	6	2	2	4	11	125
Coquillages	1	0	0	1	47	49
Autres aliments	3	3	2	14	159	181
Aliments non retrouvés	18	14	3	28	255	318
<b>Total</b>	<b>200</b>	<b>51</b>	<b>29</b>	<b>128</b>	<b>848</b>	<b>1256</b>

Source : Brisabois et al., 2001

## II. Autres bactéries pathogènes.

### II.1. Staphylocoques aureus.

*S. aureus* est un germe mésophile, il se développe de + 6°C à + 46°C, avec une croissance maximale autour de 37°C. Il est thermosensible. Des populations de  $10^6$  *S. aureus* /ml peuvent être complètement inactivées en 4-24 min à 54-60°C. Certains constituants du milieu (lipides, protéines, sucres, sels) peuvent le protéger de la chaleur (Minor et Marth, 1976). Il se développe entre pH 4,0 et 7,0 et se multiplie plus facilement en aérobiose. Il tolère des concentrations élevées de Na Cl et des Aw 0,85. Il survit longtemps dans des aliments déshydratés ou congelés. Il est généralement inhibé en présence d'une flore compétitive importante. En pratique, ce sont les staphylocoques à coagulase + (SCP) et non *S. aureus* qui sont dénombrés lors des analyses microbiologiques de routine (Champel, 2003).

### **II.1.1 Risque pour la santé humaine lié à la présence de *S. aureus*.**

Une TIAC à staphylocoques est un syndrome gastro-intestinal survenant deux à quatre heures en moyenne après ingestion d'une denrée contenant des entérotoxines staphylococciques. Les signes apparaissent brutalement : nausées, céphalées, douleurs abdominales, et surtout vomissements violents, incoercibles et répétés, souvent accompagnés de diarrhée. Quelques fois on constate une légère hyperthermie ou bien au contraire une hypothermie. Des complications peuvent survenir en fonction de la dose de toxine ingérée et de la sensibilité individuelle : déshydratation, crampes musculaires, prostration, hypotension, état de choc collapsus, une enquête portant sur 131 épisodes de TIAC à staphylocoques (Holmberg et Blake,1984) révèle que 10% des malades ont été hospitalisés, les malades éprouvent souvent une sensation de mourir, cependant la mortalité est exceptionnelle et n'atteint que les individus sensibles aux méfaits de la déshydratation (jeunes enfants et personnes âgées) . Habituellement le rétablissement intervient dans les 24 heures mais une grande fatigue peut être ressentie pendant plusieurs jours.

### **II.1.2. Comportement des staphylocoques dans les œufs.**

Les staphylocoques aureus ont très peu de chance de se multiplier dans un œuf en coquille car elles sont sensibles au lysozyme, dans le blanc d'œuf on observe une perte de viabilité, vraisemblablement liée à la basicité du lysozyme (NG et Garibaldi ,1975).

En revanche, si les conditions sont favorables, elles peuvent se multiplier dans des produits aux œufs (Baker, 1974) grâce à la richesse nutritive que les œufs leur confèrent ; c'est ainsi que les crèmes pâtisseries ont souvent été à l'origine d'intoxications staphylococciques.

## **II.2. *Listeria monocytogenes*.**

*L. monocytogenes* est la seule espèce du genre *Listeria* à présenter un pouvoir pathogène pour l'homme. Les conséquences de la contamination humaine sont très variables, selon le statut immunitaire de l'individu et la dose infectante. Bien qu'elle puisse occasionner parfois des symptômes de type gastro-entérite aiguë bénigne, seule la listériose sévère est réellement documentée dans la littérature.

*Listeria monocytogenes* est une espèce pathogène, saprophyte, ubiquiste, hydro-tellurique, de ce fait très largement répandue dans l'environnement (Portalier, 2002). De nombreuses espèces animales (mammifères, oiseaux, poissons et crustacés) peuvent excréter *L. monocytogenes*, il a été montré que 10 à 30 % des bovins, ovins, porcins et volailles hébergent cette bactérie dans leur tube digestif (Moll et al., 2002).

Ses habitats naturels sont l'eau, les sols, les végétaux, notamment ceux en décomposition. Les concentrations les plus élevées en *Listeria* se retrouvent dans les sols humides et marécageux. De manière générale, les terrains propices à la bactérie sont plutôt alcalins, humides et froids (Portalier, 2002).

Il a été démontré expérimentalement que *Listeria* pouvait se développer à des températures comprises entre +1 à +2°C et +45°C, avec un optimum de croissance entre 30 et 37°C (AFSSA, 2004). C'est donc une bactérie psychrotrophe (capable de se développer à une température inférieure ou égale à 7°C) et qui se multiplie donc dans les aliments réfrigérés. Ceci constitue un réel problème en hygiène alimentaire où le froid est l'une des principales méthodes de conservation des denrées (Portalier, 2002).

Elles peuvent croître dans des milieux dont les valeurs de pH sont comprises entre 5,6 et 9 avec un optimum à pH neutre ou légèrement alcalin, de 7,2 à 7,6. Ces valeurs dépendent toutefois de la nature et de la concentration de l'acide, et de la nature du milieu (AFSSA, 2004). L'activité de l'eau ( $A_w$ ) compatible avec son développement peut descendre jusqu'à 0,9 (Orlandini, 1999).

Elles sont résistantes à :

1. la réfrigération et la congélation,
2. la thermisation (55 à 68°C pendant 15 secondes) (Portalier, 2002),
3. NaCl : ces bactéries sont halotolérantes, elles peuvent croître en présence d'une concentration de NaCl allant jusqu'à 10 % (AFSSA, 2004).

Ces bactéries sont cependant sensibles à la pasteurisation, qui réduit la population de *L. monocytogenes* à des niveaux ne présentant pas de risque pour la santé humaine. En effet *Listeria* est rapidement détruite à 60°C.

### II.2.1. Risque pour la santé humaine lié à la présence de listeria.

Les formes cliniques de la listériose sont très variables. Le premier groupe à risque sont les femmes enceintes. L'infection se traduit par un syndrome pseudogrippal: le fœtus peut alors être contaminé, entraînant en général selon le stade de grossesse la mort *in utero* avec avortement ou un accouchement prématuré. Dans ce cas, le nouveau-né est susceptible de présenter une forme septicémique de la maladie (mortalité de 50 à 75%). Ces formes maternofoetales représentent, en 2000, 24,5% des cas identifiés (avec 23 décès sur 64 cas) par le réseau de surveillance français (Goulet *et al*, 2003).

L'autre groupe à risque est constitué par les sujets ayant une pathologie ou un traitement entraînant une immunodépression (68% des cas de listériose non materno-foetale en 2000), ceux-ci développent le plus souvent une forme bactériémique. La listériose chez les individus sans terrain prédisposant se traduit le plus fréquemment par l'infection du système nerveux central (méningite, méningo-encéphalite, encéphalite). La létalité globale de la maladie se situe entre 25 et 30%, des séquelles neurologiques étant rapporté dans environ 10% des cas.

En France, l'incidence actuelle de la maladie est autour de 4 cas par million d'habitants (4 à 8 aux Etats-Unis). Elle est la cause du décès d'environ 50 personnes par an (500 aux Etats-Unis).

L'importance du risque *L. monocytogenes* n'est pas liée à la fréquence de manifestation du danger, mais à la gravité de cette manifestation. Une synthèse des résultats d'enquêtes réalisées sur les produits incriminés dans les épidémies de listériose (Anonymous, 2000) fait état de niveaux de contamination de l'aliment lors de sa consommation supérieur à  $10^2$  UFC/g, sauf pour le cas de l'épidémie américaine de 1998 où le taux de *L. monocytogenes* dans l'aliment incriminé semble beaucoup plus bas. Une publication danoise (Norrung, 2000) confirme qu'une concentration de *L. monocytogenes* n'excédant pas 100 UFC/g d'aliment au moment de la consommation permet de garantir un niveau de risque faible pour le consommateur. Afin de caractériser le risque *L. monocytogenes* dans l'alimentation par la méthode d'appréciation quantitative des risques (AQR), le modèle de simulation de déclenchement d'une listériose selon la dose ingérée, en fonction de la susceptibilité de l'individu, adopté par la Consultation FAO/OMS (Anonymous, 2001) estime que 10% de la population générale serait gravement malade avec une ingestion de  $10^{12}$  UFC

*L.monocytogenes*, et qu'une dose de  $10^{11}$  suffirait pour le même effet sur la population plus sensible.

## **II.2.2. Comportement de *Listeria monocytogenes* dans les œufs.**

La présence sporadique de listeria et même de l'espèce *monocytogene* dans des ovo produits commercialisés a été mise en évidence par Leasors et Foegeding, en 1989 et par Moore et Madden en 1993 ; Mais aucun cas de listériose dû aux œufs et ovo produits ne semble avoir été signalé à ce jour.

Brackett et Beuchat, 1992 ont observé une décroissance rapide du nombre de listeria déposés sur des coquilles d'œufs, aussi bien à +5°C qu'à +20°C ; en revanche la cuisson des œufs n'est véritablement efficace que lorsque elle est suffisamment poussée.

Foegeding et Stanley (1990) ont étudié l'effet de la pasteurisation sur la survie de listeria dans l'œuf entier liquide ; leur conclusion est que les listeria sont d'une façon générale plus thermorésistantes que les salmonelles et que la pasteurisation minimale n'offre pas la garantie d'absence de *L. monocytogenes* si la population initiale est importante ; en revanche les traitements d'ultra pasteurisation peuvent apporter cette garantie.

Foegeding et Leasor, 1990 ont étudié la multiplication de ce microorganisme dans l'œuf liquide et constaté que, pour la plupart des souches, elle a lieu de 4 à 30° avec des temps de variant de 24 à 51h à 4° et de 7,8 à 31h à 10°C ; des populations de 10<sup>5</sup> à 10<sup>8</sup> peuvent être atteintes.

L'œuf possède une certaine capacité de résistance de multiplication des listeria, mais cette résistance est diminuée par l'ultra pasteurisation qui dénature le lysozyme (Erickson et Jenkins, 1992), par la conservation à basse température qui diminue l'activité des enzymes, par la résistance adaptative des listeria qui contaminent les usines d'ovo produits et aux inhibiteurs contenus dans ces ovo produits (Notermans et *al.*, 1991).

## **II.3. Coliformes et *Escherichia Coli*.**

### **II.3.1. Conditions de croissance.**

Les coliformes représentent une vaste population d'espèces de la famille des entérobactéries, présentant des caractères phénotypiques communs. Ce sont des mésophiles, peu exigeants sur le plan nutritif, se développant bien dans le milieu extérieur à des températures de 10 à 42°C, et pour des pH de 4 à 9. Le froid inhibe leur croissance mais certains sont psychrotrophes. Ils sont très sensibles aux désinfectants.

*Escherichia coli* est une bactérie gram- appartenant au groupe des coliformes. Sa croissance est inhibée par la flore lactique mais elle est résistante à de nombreux antibiotiques.

### **II.3.2. Risque pour la santé humaine liée à la présence d'*Escherichia Coli*.**

L'ingestion de *E. coli* banal peut être à l'origine d'une diarrhée relativement bénigne, décrite chez le nourrisson et le voyageur exposé à des aliments contaminés (Champel, 2003).

Seules certaines souches de *E. coli* productrices de Shiga-toxines (STEC) posent un réel problème de santé publique par leur implication dans le syndrome hémolytique et urémique (SHU) grave chez les enfants de moins de 15 ans. D'après (Haeghebert *et al.*, 2003b), les STEC ont été impliquées dans 49% des SHU identifiés (causant 7 décès) en France entre 1995 et 2000.

Les souches d'*E.coli* susceptibles de produire des toxines aux propriétés entérohémorragiques sont appelées EHEC. Le sérotype O157:H7 semble être le principal responsable de la production de souches EHEC (Todd et Dundas, 2001).

### **II.4. *Bacillus cereus*.**

Bactérie gram positif sporulant, responsable aussi de toxi-infection a été également isolé fréquemment sur les lieux de production des œufs et dans les produits d'œufs, elle est susceptible de se multiplier de façon limitée dans l'albumen, mais elle est rarement isolée à partir du produit pasteurisé (Thapon et Bourgeois, 1994).

# *ETUDE EXPERIMENTALE*

## Partie pratique

Notre partie pratique comprend trois axes différents:

### I. Un premier axe où seront présentés les lieux de notre expérimentation

- L'institut Technique des Elevages de Baba Ali, lieu où nous avons prélevé nos échantillons
- L'établissement de l'Hygiène Urbaine de la Ville d'Alger (HURBAL) où nous avons effectué les analyses bactériologiques de nos prélèvements.

### II. Le deuxième axe concerne l'évaluation de la **contamination bactérienne de la surface de l'œuf de consommation** (coquille), au cours de laquelle nous avons effectué :

- L'appréciation quantitative de la contamination bactérienne de la surface des œufs de consommation, par deux méthodes différentes : une méthode classique et une autre méthode rapide.
- Ainsi que l'appréciation qualitative (absence ou présence) de la contamination par la recherche des *Salmonella* spp, par les deux mêmes méthodes classique et rapide.

### III. Dans le troisième axe, nous nous sommes intéressés à :

- L'étude de l'évolution du taux de la **contamination bactérienne de l'intérieur de l'œuf de consommation** au cours de sa conservation à deux températures différentes.
- Et l'appréciation qualitative (absence ou présence) de la contamination par la recherche des *Salmonella* spp, par la méthode classique.

Les axes 2 et 3 comprennent chacun les parties suivantes :

- Matériels et méthodes utilisés
- Résultats obtenus
- Discussion des résultats



## **I. PRESENTATION SUCCINTE DES LIEUX DE NOTRE EXPERIMENTATION**

### **I.1. Institut Technique des Elevages (ITELV).**

L'ITELV est un établissement à caractère administratif du Ministère de l'Agriculture et du Développement rural, à vocation scientifique et technique, il a pour mission :

- La mise en œuvre des programmes nationaux d'appui au développement agricole et à la profession.
- La production d'un matériel biologique animal et végétal performant.
- Identification, élaboration et proposition de programmes techniques d'appui au développement.
- Valorisation des produits de l'élevage.
- La mise en place des schémas de sélection et de croisement pour l'amélioration génétique des espèces animales existante en Algérie.
- La mise en place d'un modèle de contrôle des performances zootechniques.
- Le développement des systèmes alimentaires et fourragers.

#### **I.1.1. Présentation des bâtiments d'élevages de l'ITELV**

Nos prélèvements ont été effectués dans deux bâtiments d'élevage différents appartenant tous deux à l'ITELV, le premier est de conception Canadienne, et le second de conception Italienne.

##### **I.1.1.1 Description du bâtiment testage (Canadien)**

Le bâtiment est monté sur une plate-forme en béton local, d'une superficie de 500 m<sup>2</sup>, la matière des murs et la toiture est en alliage fin ondulé (comme du plastique) – polystyrène monté en double paroi pour laisser un vide formé d'une matière isolante laine de verre et de fibrociment. Le bâtiment est étanche à la lumière extérieure.

Les conditions d'ambiance; à l'intérieur du poulailler sont en grande partie maîtrisables (la température est constante ; l'éclairage et l'extinction sont automatiques et fixées à l'avance).

Dans ce genre de bâtiment obscur, la ventilation est dynamique; elle permet le contrôle du débit d'air admis dans le bâtiment. De plus les extracteurs sont commandés par des thermostats.

Le raclage des fientes est automatique, il se fait une fois par semaine, l'élevage des poules pondeuses se fait en batteries de type californiennes disposées en deux rangées, et en deux étages; composées de cages de 160 cm<sup>2</sup> chacune, pouvant regrouper quatre poules. La batterie est équipée également de mangeoires et d'abreuvoirs, et de lampes électriques sur deux lignées, assurant l'éclairage. La répartition des lampes de 45 Watt assurent un éclairage de 3 watt par m<sup>2</sup>; ce qui est convenable aux poules (Figure 4).



**Figure 4 : Bâtiment testage** (photo personnelle)

#### **I.1.1.2. Bâtiment ORAC (Italien).**

C'est un petit bâtiment de 127m<sup>2</sup> avec un humidificateur de 1,80 m sur 0,70 m, avec 2 extracteurs, c'est un bâtiment obscur mais l'ambiance est contrôlée (même procédé que le bâtiment canadien).

Le bâtiment est équipé d'une batterie de type californienne de 3 étages ; chaque étage comprend 06 lots et chaque lot est divisé en 05 cages.

La collecte des œufs dans les deux bâtiments, est réalisée quotidiennement, à 08 heures du matin ils sont déposés sur des plateaux et mis dans la chambre froide (Figure 5).



**Figure 5 : Bâtiment ORAC** (photo personnelle).

Les analyses bactériologiques de nos prélèvements ont été effectuées au niveau du laboratoire de l'établissement de l'Hygiène urbaine de la Ville d'Alger (HURBAL).

### **I.2. Présentation de l'établissement de l'Hygiène urbaine de la Ville d'Alger.**

L'établissement de l'Hygiène urbaine de la Ville d'Alger a été créé en 1996, il a pour mission :

- La prévention contre les maladies à transmission hydrique et alimentaire.
- Prévention et d'hygiène en milieu urbain.
- Lutte contre les insectes et les rongeurs.
- Prévention contre les zoonoses.
- Sensibilisation et information dans domaine de l'hygiène et protection de l'environnement.

Le laboratoire d'analyses microbiologiques annexé à l'épic HURBAL est un laboratoire de contrôle et de prévention ; il compte parmi ses principales missions la réception, la vérification, l'orientation, l'enregistrement et l'analyse microbiologique de l'ensemble des prélèvements alimentaires et des prélèvements d'eau provenant essentiellement des commerces de vente de détail (marchés communaux, boucheries, volaillers, fast-food, restaurants, alimentations générales, superettes, boulangeries-pâtisseries, ...etc.) répartis à travers toutes les communes de la wilaya d'Alger. Le laboratoire accepte aussi les échantillons en provenance des autres communes de

wilayas limitrophes (Tipaza et Blida) et offre ses services à des clients opérant dans les opérant dans le secteur de l'hôtellerie et de la restauration.

## **II. EVALUATION DES TAUX DE CONTAMINATION DE LA SURFACE DE L'ŒUF DE CONSOMMATION.**

Dans cette partie l'analyse bactériologique est réalisée par deux méthodes l'une rapide, et l'autre classique.

### **II.1 Matériels et méthodes.**

#### **II.1.1 Matériel.**

##### **II.1.2.1 Echantillonnage.**

Les prélèvements d'œufs en coquille au nombre de 100 ont été effectués au hasard entre le mois de juillet et le mois de septembre, au niveau du bâtiment testage de poules pondeuses à ITELV de Baba Ali et ce le jour même de la ponte.

Les œufs ont été prélevés le plus aseptiquement possible en utilisant des gants stériles, ils ont été ensuite mis dans des sachets de prélèvement stériles, puis transportés au laboratoire dans des sacs isothermes pour être analysés le jour même.

Les prélèvements ont fait l'objet d'une analyse bactériologique superficielle de la coquille par deux méthodes d'analyse ; l'une classique et l'autre rapide à partir d'une même solution mère.

##### **II.1.1.2 Matériel biologique.**

Cette étude est réalisée sur des prélèvements d'œufs de consommation provenant de poules pondeuses de souche ISA Brown, âgées de 56 semaines, élevées en batterie, recevant une lumière de 16 h par jour et nourries *ad libitum* avec un aliment standard pour poules pondeuses.

##### **II.1.1.3 Matériel de laboratoire.**

###### **Matériels d'analyses et milieux de culture**

Nous avons utilisé des équipements classiques d'un laboratoire de microbiologie. Les milieux de culture utilisés sont cités dans l'annexe n°1

## II.1.2 Méthodes.

Les flores à dénombrer par la méthode classique sont :

- Les germes totaux, (Norme NF V 08-51)
- Les coliformes totaux et fécaux, (Norme NF V08-050).
- Les streptocoques fécaux, (Norme ISO 7899-2/ NA 766/ NF T 90-416).
- Les staphylocoques à coagulase positive (NF V 08-014 -1).
- Les salmonelles (NF V 08-52).

Les flores à dénombrer par la méthode rapide sont :

- Les germes totaux.
- Les coliformes totaux.
- Les staphylocoques aureus.
- Les salmonelles.

### II.1.2.2 Recherche et dénombrement des différentes flores par la méthode classique :

#### 1) Préparation des solutions mères et dilutions décimales.

Dans un sac contenant 70 ml d'eau peptonée tamponnée (AES ; réf. : AEB 140302), est déposé 01 œuf de consommation; cet œuf est délicatement frotté pendant 2 minutes et retiré ensuite (Protais et *al.* 1989).

Le frottis obtenu est homogénéisé au moyen d'un appareil péristaltique de type stomacher pendant 2 minutes, les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  sont ensuite préparées selon la norme AFNOR (NF-V04-501). Ces dilutions sont utilisées dans les deux méthodes, classique et rapide.

Le dénombrement a été rapporté à la surface de l'œuf selon la formule de Bonnet et Mongin (1965), ( $S = 4.68 P^{2/3}$ ). Les résultats bactériologiques sont exprimés en  $\log \text{cfu/cm}^2$ .

## 2) Dénombrement des germes totaux (Norme NF V 08-51)

### Mode opératoire.

Le dénombrement se fait sur milieu PLAT COUNT AGAR (PCA). L'ensemencement se fait en profondeur selon le protocole suivant :

- A l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de la première dilution décimale est transféré aseptiquement dans une boîte de pétri stérile, vide, préparée à cet usage, et identifiée.
- Ces opérations sont recommencées avec les dilutions successives, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution décimale.
- Environ 15 ml de la gélose PCA préalablement fondue et refroidie à 47 °C au bain-marie sont coulées dans chaque boîte de pétri. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans une boîte et celui où le milieu est coulé, ne doit pas excéder 15 min.
- Le mélange est agité soigneusement avec des mouvements rotatifs à gauche et à droite, et des mouvements en bas et en haut.
- Le mélange est laissé se solidifier en posant les boîtes de pétri sur une surface fraîche et horizontale.
- Après solidification, une deuxième couche d'environ 5 ml de la gélose PCA est ajoutée afin d'empêcher l'étalement des colonies, et d'obtenir des conditions de semi anaérobiose.
- Laisser se solidifier comme décrit ci-dessus.
- Les boîtes préparées sont retournées et portées à l'incubation à l'étuve pendant 72 h ( $\pm$  2h) à 30 °C.

### Lecture.

Après incubation, les colonies sont toutes dénombrées sur les boîtes contenant entre 30 à 300 colonies.

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des germes totaux est schématisé dans la figure 6.

### 3) Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux (Norme NF V08-050)

#### **Mode opératoire.**

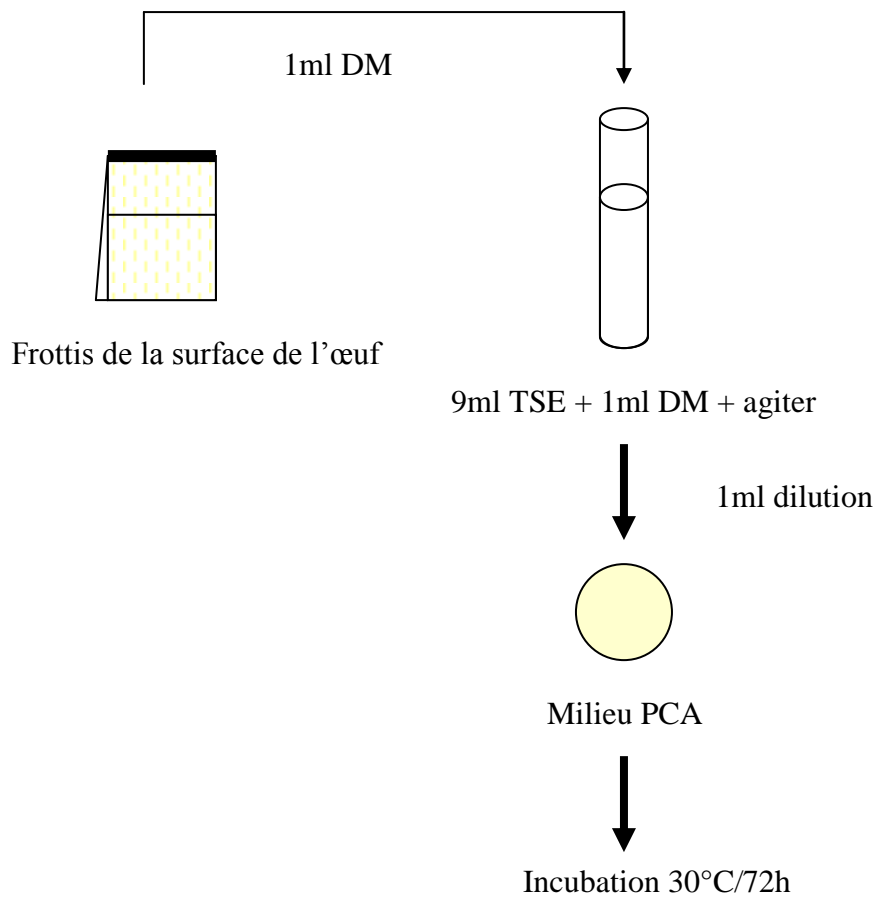
Le dénombrement se fait sur milieu VRBL (Gélose au cristal violet au rouge neutre et à la bile, Violet Red Bile Agar). L'ensemencement se fait en profondeur selon le protocole suivant :

- A l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de la première dilution décimale est transféré aseptiquement dans une boîte de pétri stérile, vide, préparée à cet usage, et identifiée.
- Ces opérations sont recommencées avec les dilutions successives, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution décimale.
- Environ 15 ml de la gélose VRBL préalablement fondue et refroidie à 47 °C au bain-marie sont coulées dans chaque boîte de pétri. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans une boîte et celui où le milieu est coulé, ne doit pas excéder 15 min.
- Le mélange est agité soigneusement avec des mouvements rotatifs à gauche et à droite, et des mouvements en bas et en haut.
- Le mélange est laissé se solidifier en posant les boîtes de pétri sur une surface fraîche et horizontale.
- Après solidification, une deuxième couche d'environ 5 ml de la gélose VRBL est ajoutée afin d'empêcher l'étalement des colonies, et d'obtenir des conditions de semi anaérobiose.
- Laisser se solidifier comme décrit ci-dessus.
- Les boîtes préparées sont retournées et portées à l'incubation à l'étuve pendant 24 h ( $\pm$  2h) à 30 °C pour les coliformes totaux, et 44°C pour les coliformes fécaux.

#### **Lecture.**

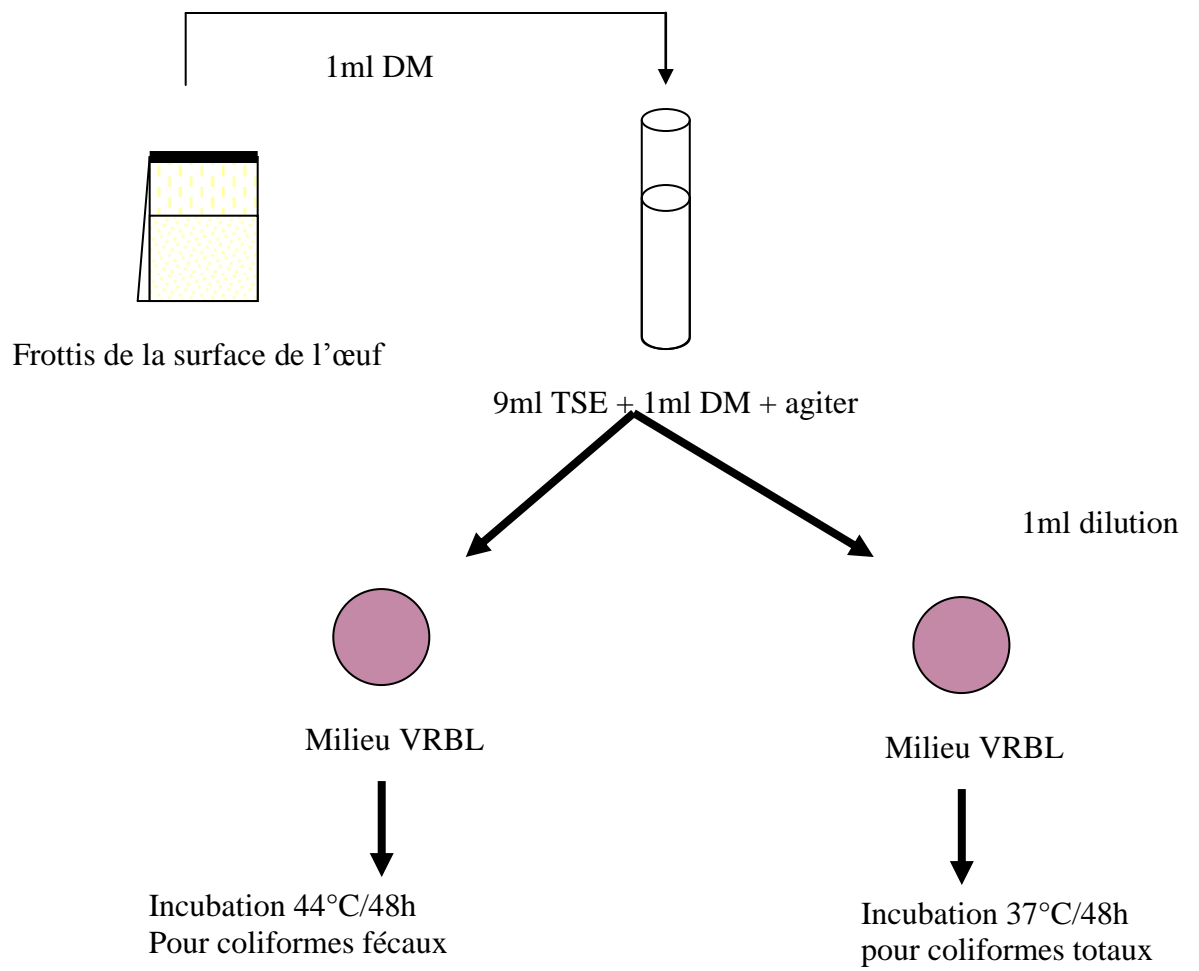
Après incubation, les colonies rouges foncées à violacées de diamètre supérieur à 0,5 mm sont dénombrées sur les boîtes contenant entre 15 à 150 colonies.

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des coliformes totaux et coliformes fécaux est schématisé dans la figure 7.



**Figure 6** : Diagramme de la méthode de recherche des germes totaux





**Figure 7:** Diagramme de la méthode de recherche des coliformes totaux et fécaux

#### **4) Dénombrement des streptocoques fécaux en milieu solide** (Norme ISO 7899-2/NA 766/ NF T 90-416).

Vu le nombre élevé de nos prélèvements et pour cause de restriction budgétaire nous avons utilisé au cours de notre étude la méthode de recherche des streptocoques adaptée pour l'eau.

##### **Mode opératoire.**

Le dénombrement se fait sur milieu Slanetz et Bartley, L'ensemencement se fait en profondeur selon le protocole suivant :

- A l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de la première dilution décimale est transféré aseptiquement dans une boîte de pétri stérile, vide, préparée à cet usage, et identifiée.
- Ces opérations sont recommencées avec les dilutions successives, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution décimale.
- Environ 15 ml de la gélose Slanetz et Bartley préalablement fondue et refroidie à 47 °C au bain-marie sont coulées dans chaque boîte de pétri. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans une boîte et celui où le milieu est coulé, ne doit pas excéder 15 min.
- Le mélange est agité soigneusement avec des mouvements rotatifs à gauche et à droite, et des mouvements en bas et en haut.
- Le mélange est laissé se solidifier en posant les boîtes de pétri sur une surface fraîche et horizontale.
- Laisser se solidifier comme décrit ci-dessus.
- Les boîtes préparées sont retournées et portées à l'incubation à l'étuve pendant 24 h ( $\pm$  2h) à 37°C.

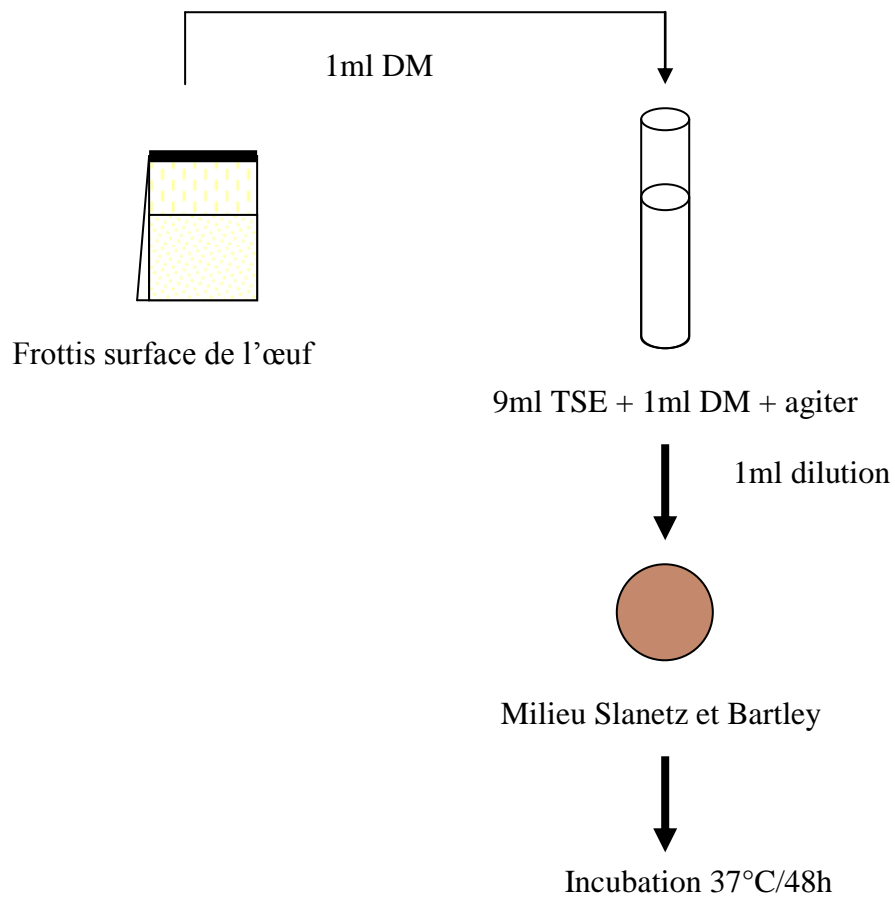
##### **Lecture.**

Après incubation, les colonies bombées rouges marron ou rose soit au centre soit sur l'ensemble de la colonie, les colonies sont dénombrées sur les boîtes contenant entre 15 à 150 colonies.

Une étape de confirmation est nécessaire sur un milieu gélosé bilez-esculine-azoture avec une incubation à 44°C  $\pm$ 0,5 pendant 02 h.

Après incubation, sont considérées comme positive toutes les colonies montrant une couleur brune noire.

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des streptocoques fécaux est schématisé dans la figure 8.



**Figure 8** : Diagramme de la méthode de recherche des streptocoques fécaux

### 5) Expression des résultats : (Norme ISO 7218)

Le calcul du nombre **N** de microorganismes dénombrés dans 1 ml de la solution mère, est effectué à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1,1 \times d}$$

Où:

**N** : nombre d'UFC par ml de produit initial

$\sum c$ : est la somme des colonies comptées.

**d** : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Le résultat final de microorganismes dénombrés par ml de solution mère est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par  $10^x$  où  $x$  est la puissance appropriée de 10

### 6) Recherche des staphylocoques à coagulase positive (NF V 08-014 -1).

#### Mode opératoire.

Étaler 0.1 à 0.5 ml de l'inoculum en surface de la gélose Baird-Parker

Incubation pendant 24 à 48 heures à 37°C.

#### Lecture.

- Les colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* sont noires ou grises, brillantes et convexes et entourées d'une auréole d'éclaircissement due à l'hydrolyse des protéines de l'œuf.
- Des zones (halo) opalescentes dues à l'activité lipolytique (lécithinase) peuvent apparaître après 24 heures.

#### Confirmation biochimique.

##### 1. Réaction de la catalase.

Déposer une partie de la colonie caractéristique sur 1 goutte d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20V, une réaction positive se traduit par une Apparition de bulles d'air.

## 2. Réaction de la coagulase.

a- une colonie caractéristique est ensemencée dans un bouillon cœur cerveau. Qui sera Incubé par la suite pendant 20-24h à 37°C

### b- recherche de la coagulase libre.

0,1 ml est ajouté dans un tube qui contenait 0,3 ml de Plasma de lapin

L'incubation se fait pendant 24h à 37°C, La première lecture se fait après 6h d'incubation.

### Lecture.

La réaction est considérée comme positive si le coagulum occupe + des  $\frac{3}{4}$  du volume du liquide initial.

### Calcul du nombre de staphylocoques aureus.

**formule:**  $N = \frac{\sum a}{1,1 \times d}$

$$\sum a = a1 + a2.$$

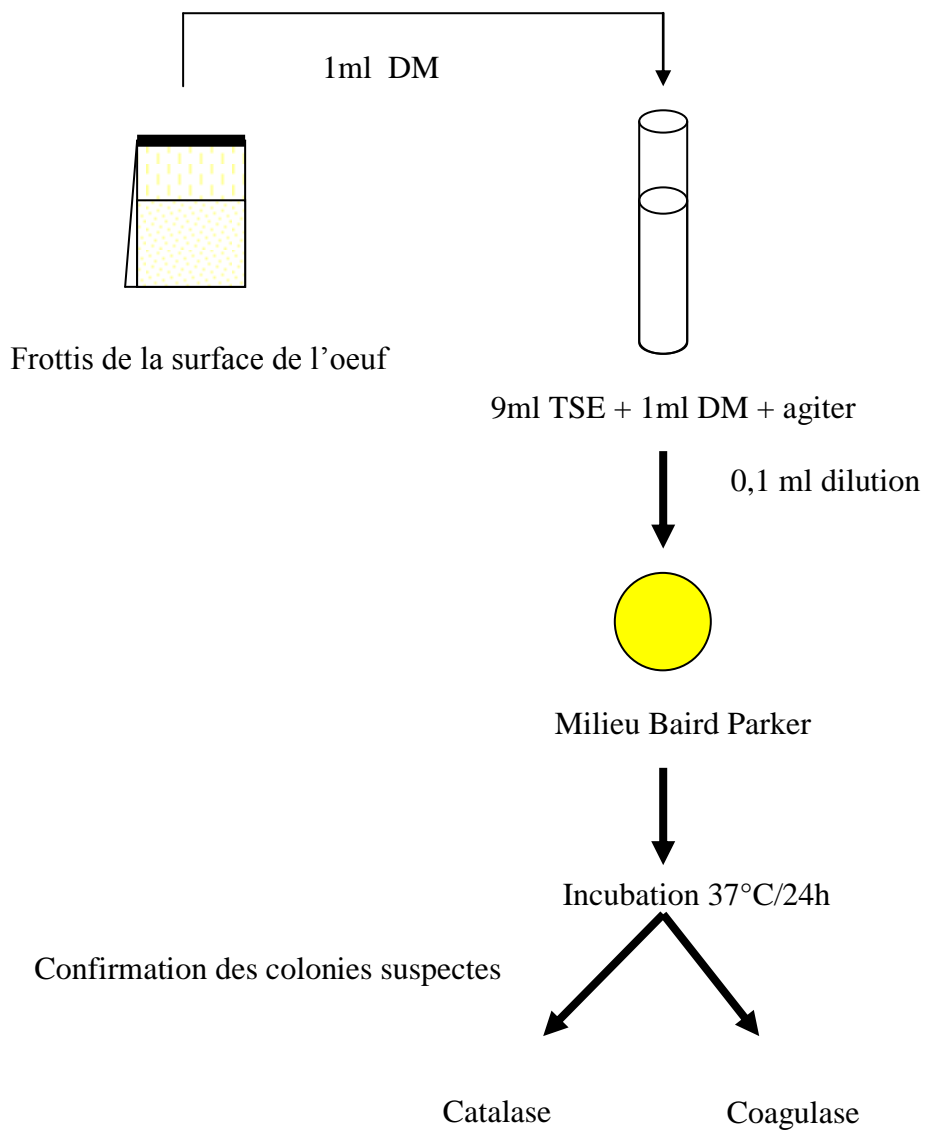
**a1** = nombre de staphylocoques à coagulase + de la 1ère dilution retenue

**a2** = nombre de staphylocoques à coagulase + de la 2ème dilution retenue.



**Figure 9 :** Aspect de la Coagulase positive  
(photo personnelle)

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive est schématisé dans la figure 10.



**Figure 10** : Diagramme de la méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive

## 7) Recherche des Salmonelles.

La méthode de recherche des Salmonelles est effectuée selon la norme française de routine NF V 08-52 (annexe n° 2) en suivant les étapes suivantes :

**Pré enrichissement :** L'eau peptonée tamponnée est utilisée.

**Enrichissement :** Il a été effectué sur les deux bouillons sélectifs : bouillon au Sélénite-cystine, et bouillon de Rappaport-Vassiliadis

**Isolement :** Il a été réalisé sur les deux milieux gélosés : Hektoen et XLD.

L'identification et la confirmation des colonies caractéristiques passe par :

- **Coloration de Gram :** Elle est effectuée sur une colonie isolée, la présence de petits bacilles de couleur rosâtre (Gram négatif) est en faveur de la bactérie recherchée.
  
- **Confirmation biochimique :** A partir de chaque boîte des milieux d'isolement, deux colonies (au moins) suspectes sont repiquées sur les milieux suivants : triple sugar iron (TSI), urée indole, LDC (Lysine Décarboxylase), milieu pour la réaction de Voges- Proskauer (VP), Rouge de Méthyle (RM), Citrate de Simmons, Test Galactosidase (ONPG). Le diagramme de recherche des salmonelles est schématisé dans la figure 11.

- **Galerie biochimique miniaturisée :**

La galerie API 20 E, est un système miniaturisé, prêt à l'emploi et standardisé.

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Au-dessous de chaque tube, un sigle indique la nature du test. Les tubes sontensemencés avec une suspension bactérienne effectuée en eau physiologique (milieu "Suspension Medium"). Les réactions produites au cours de la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Un fond et un couvercle complètent la galerie *sensu stricto* et permettent de constituer une boîte d'incubation.

La galerie API 20 E permet d'effectuer les tests suivants : ONPG, ADH, LDC, ODC, citrate de Simmons (CIT), production d'hydrogène sulfuré par réduction du thiosulfate (H<sub>2</sub>S), synthèse d'une uréase (URE), recherche d'une tryptophane désaminase (TDA), recherche du pouvoir indologène (IND), production d'acétoïne (VP), synthèse d'une gélatinase (GEL), recherche de l'acidification de neuf "glucides" : glucose (GLU), mannitol (MAN), inositol (INO), sorbitol (SOR), rhamnose (RHA), saccharose (SAC), mélibiose (MEL), amygdaline (AMY), et

arabinose (ARA). La galerie permet également la recherche du nitrate réductase qui se fait dans le micro tube.

La lecture se fait à l'aide du tableau d'identification par l'interprétation du profil numérique obtenu en codant l'ensemble des réactions notées sur la fiche des résultats. Des exemples des réactions typiques des *Salmonella* spp sont représentés dans la figure 11.



**Figure 11 :** Aspect de *Salmonella* spp sur galerie api 20 E (Nouichi S., 2007)

- **Interprétation des tests biochimiques.**

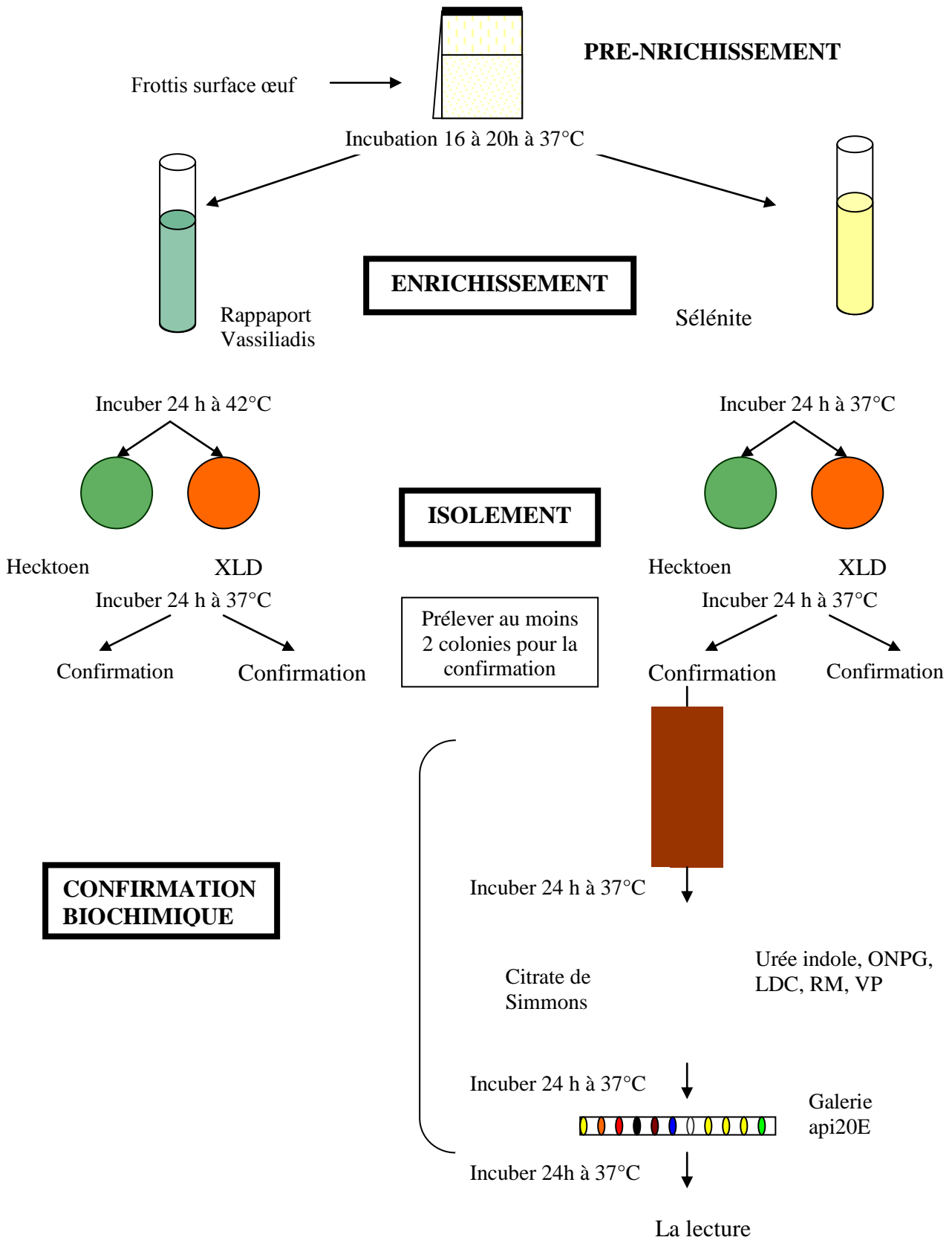
Les salmonelles donnent en général les réactions indiquées dans le tableau 14:

**Tableau 14 :** Interprétation des tests biochimiques

Essais	Réaction	Exceptions
Glucose	+	-
Lactose	-	-
Formation de gaz	+	<i>S. Typhi</i> est anaérogène
H <sub>2</sub> S	-	-
Uréase	-	-
Indole	-	-
VP	-	-
RM	+	-
ONPG	-	Les souches de <i>S. arizonae</i> et <i>S. salamae</i> sont ONPG +
Citrate de simmons	+	-
LDC	+	-

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des Salmonelles est schématisé dans la figure 12.





**Figure 12 :** Diagramme de la méthode de recherche des salmonelles

### **II.1.2. 3 Recherche des différentes flores bactériennes par le test de numération par la méthode rapide RIDA®COUNT.**

Cette recherche se fait en utilisant les Pétrifilms de RIDA®COUNT, ces derniers sont constitués d'un film de base recouvert d'un milieu de culture sec recouvert par un tissu, ce qui permet une absorbance parfaite de 1ml de la solution d'échantillon. Un film de couverture transparent évite les contaminations indésirables de la feuille du milieu. La figure 13 montre des films gélosés RIDA®COUNT pour flore totale.



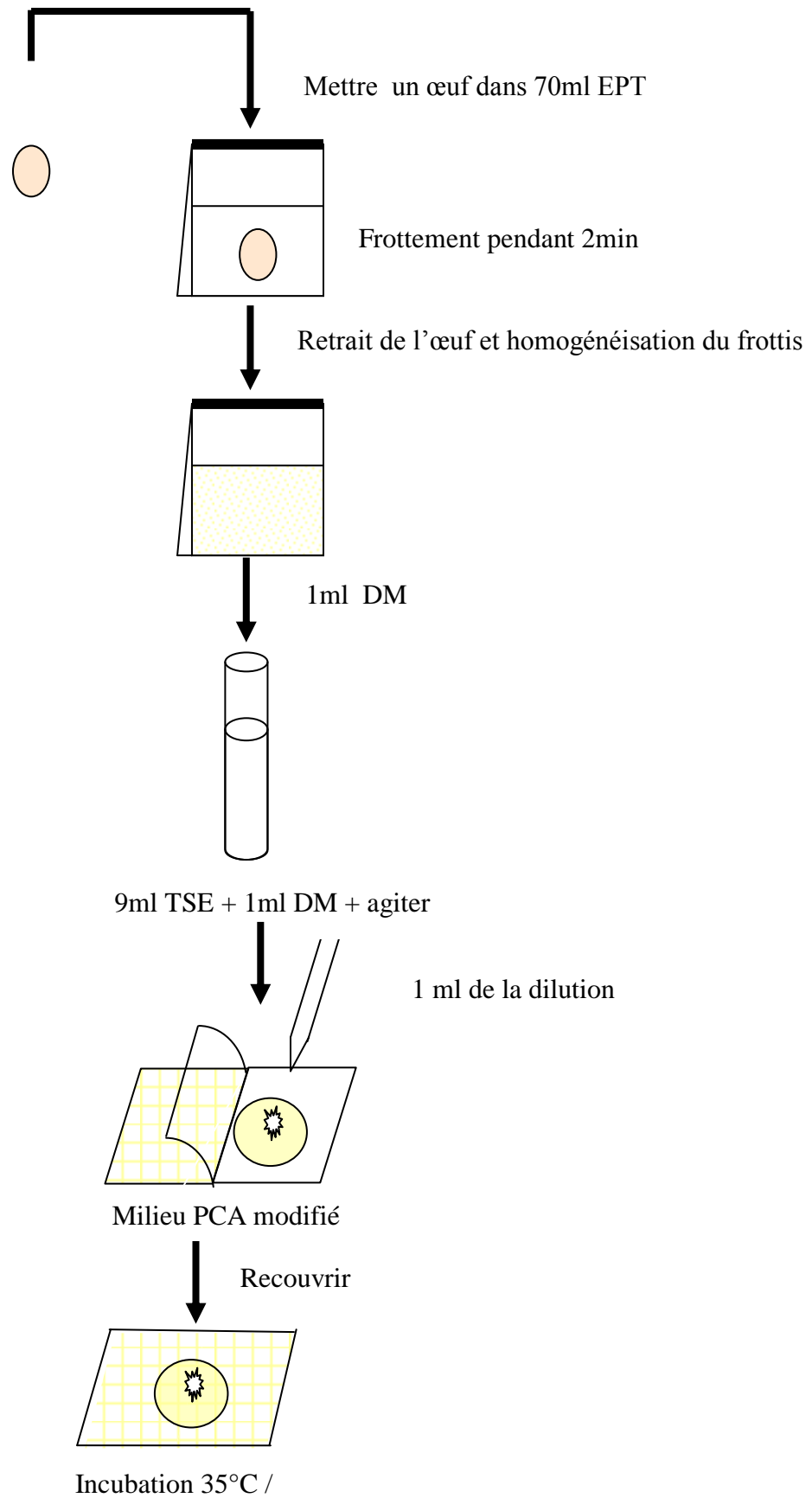
**Figure 13 :** Films gélosés RIDA®COUNT Flore

#### **1) Recherche et dénombrement des germes totaux.**

Le protocole de la méthode est le suivant :

- Déposer 1 ml de chaque dilution respective sur le film gélosé RIDA®COUNT Flore Totale.
- Incuber les films gélosés à 35°C pendant 24h-48h.
- Compter les colonies sur la surface du film après incubation. Dans le cas de difficultés à compter l'ensemble des colonies, dénombrer les colonies d'une zone correspondant à 1 ou plusieurs cellules de quadrillage et multiplier par le facteur correspondant à la surface totale. (annexe n°3).

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des germes totaux est schématisé dans la figure 14.



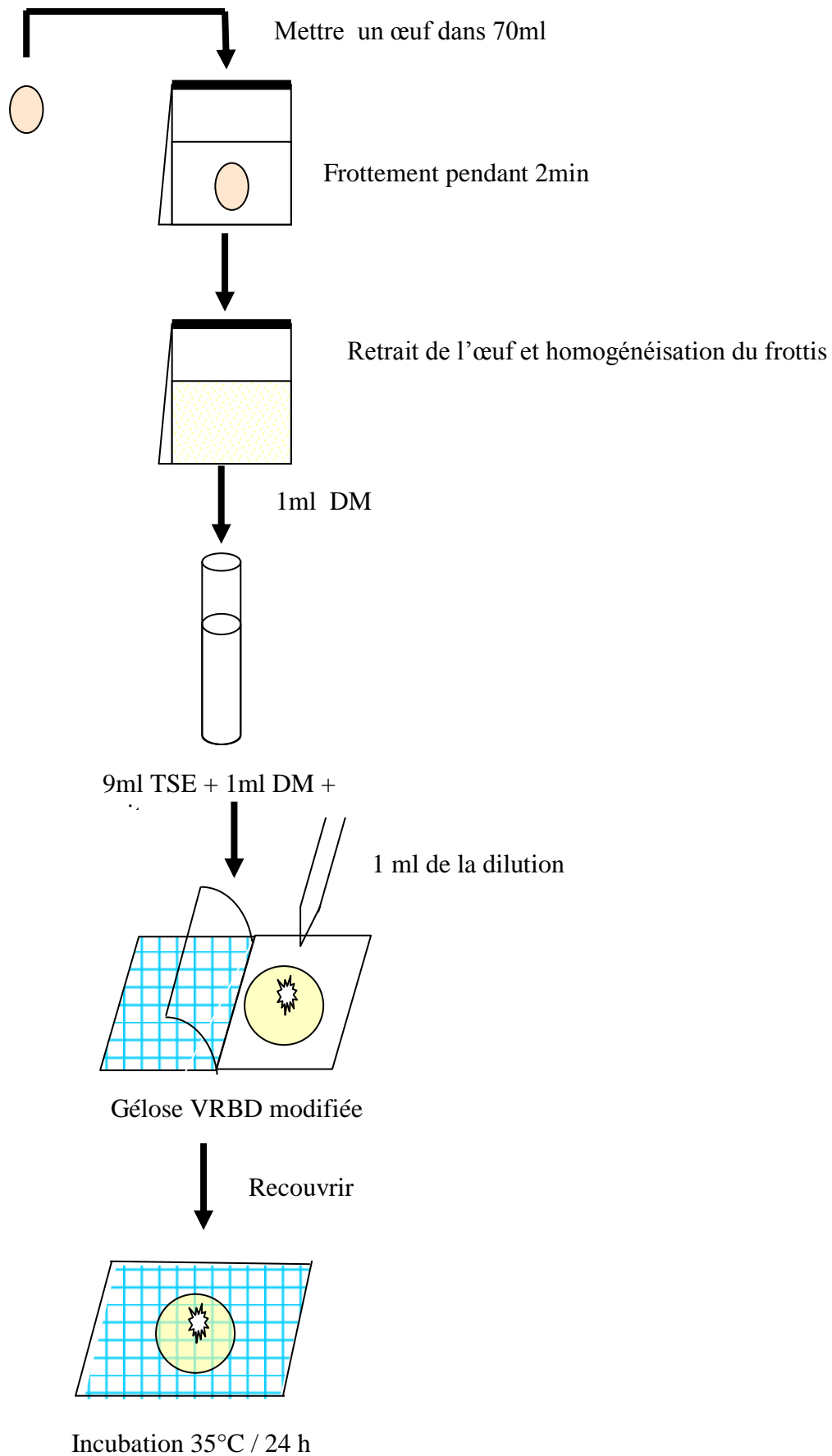
**Figure 14 :** Diagramme de la méthode de recherche des germes totaux

## 2) Recherche et dénombrement des coliformes.

Le protocole à suivre est comme suit :

- Déposer 1 ml de chaque dilution respective sur le film gélosé RIDA®COUNT Coliformes
- Incuber les films gélosés à 35°C pendant 24h-48h.
- Compter les colonies bleues et vertes sur la surface du film après incubation ; Dans le cas de difficultés à compter l'ensemble des colonies, dénombrer les colonies d'une zone correspondant à 1 ou plusieurs cellules de quadrillage, et multiplier par le facteur correspondant à la surface totale. (annexe n° 3).

L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des coliformes est schématisé dans la figure 15.

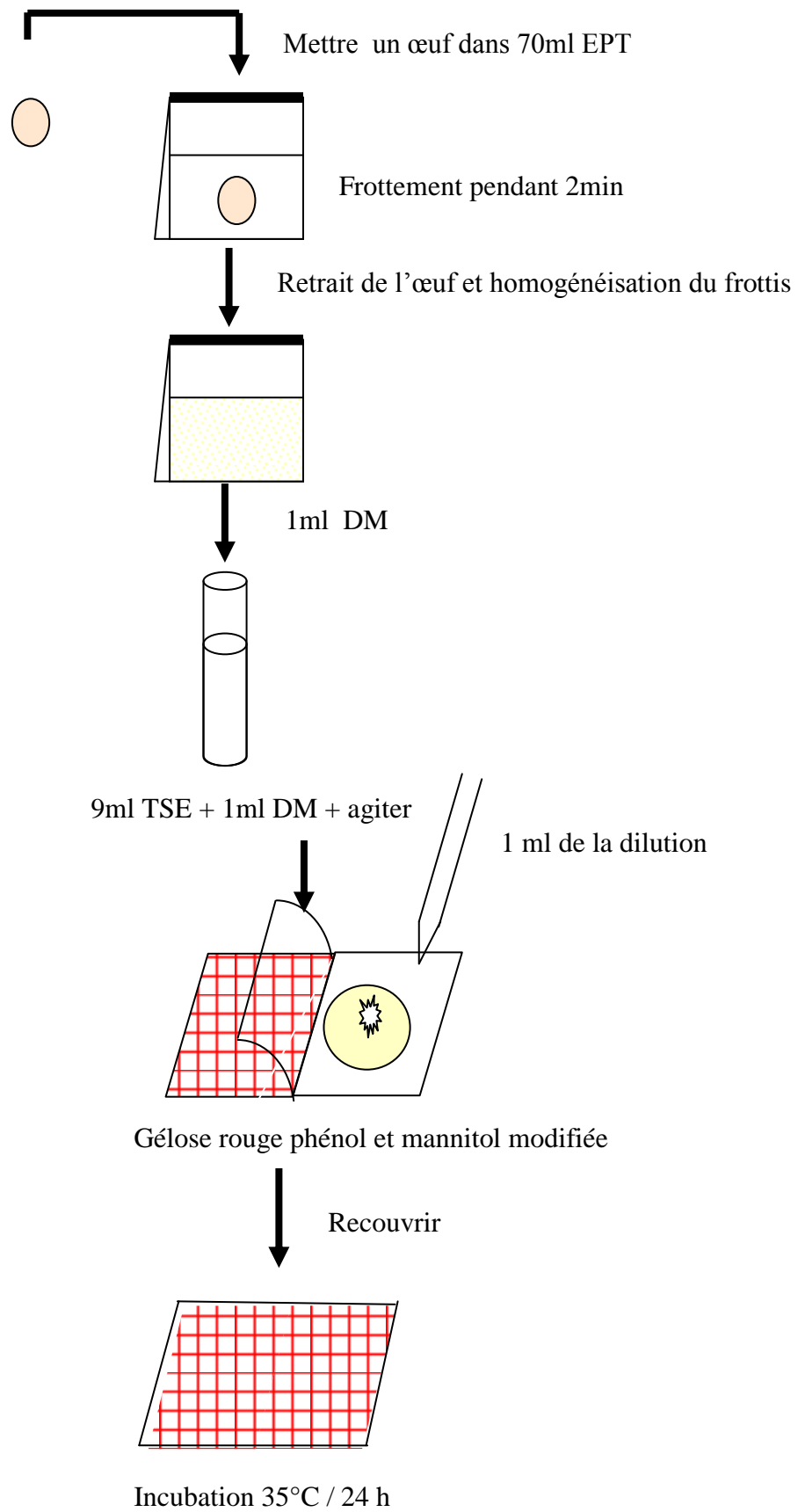


**Figure 15 :** Diagramme de la méthode de recherche des coliformes

### 3) Recherche des *Staphylococcus Aureus*.

Le protocole de la méthode est le suivant:

- Déposer 1 ml de chaque dilution respective sur le film gélosé RIDA® COUNT Staph. Aureus
- Incuber les films gélosés à 35°C pendant 24h-48h.
- Staph. aureus forme des colonies vertes avec un diamètre approximatif de 1 mm après plus de 30 h d'incubation sur RIDA®COUNT Staph. aureus. Seul ce type de colonie doit être compté. Tous les autres micro-organismes, autres que Staph. aureus forme des colonies très pâles et petites. L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des Staphylococcus Aureus est schématisé dans la figure 16.



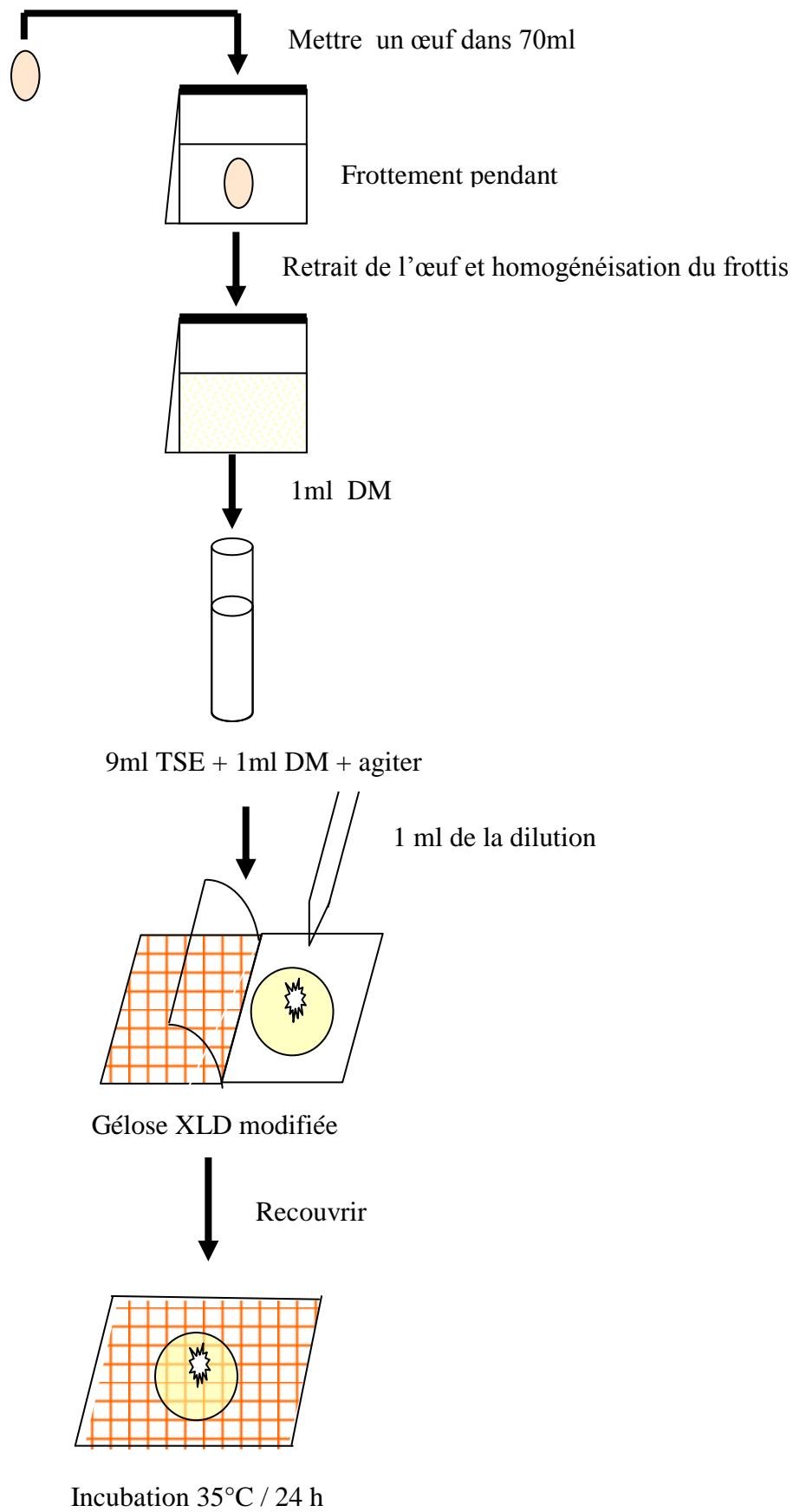
**Figure 16 :** Diagramme de la méthode de recherche des *staph aureus*

#### **4) Recherche des salmonelles.**

Le protocole à suivre est comme suit :

- Déposer 1 ml de chaque dilution respective sur le film gélosé RIDA® COUNT Salmonella.
- Incuber les films gélosés à 35°C pendant 24h-48h.
- Salmonella spp. forment des colonies distinctes, petites, noires sur RIDA®COUNT Salmonella. Uniquement ce type de colonie doit être compté. L'ensemble des différentes étapes de la méthode de recherche des salmonelles est schématisé dans la figure 17.





**Figure 17:** Diagramme de la méthode de recherche des salmonelles

## II.2. Résultats de l'étude l'évaluation des taux de contamination superficielle de l'œuf de consommation par les deux méthodes : (classique et rapide).

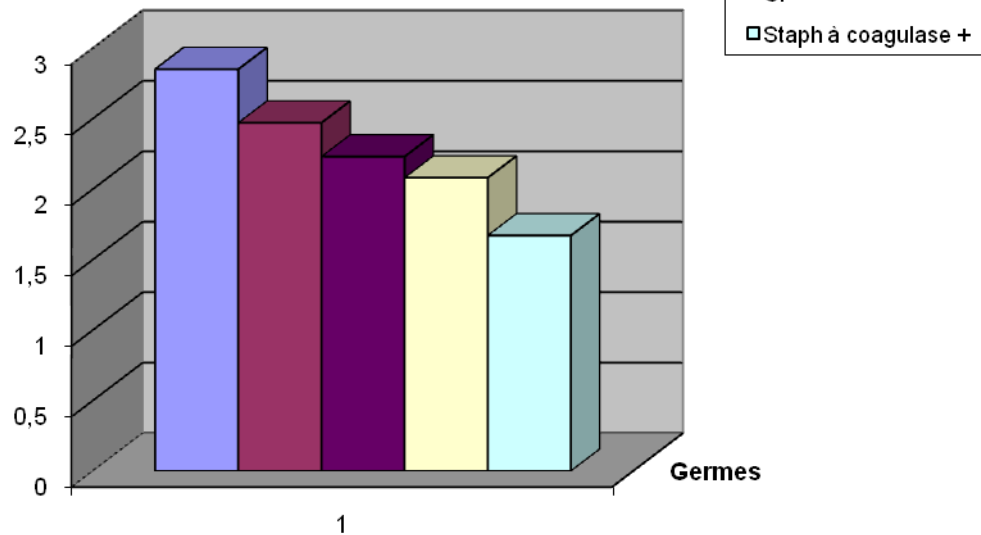
### 4) Résultat de la recherche des différentes flores.

Les résultats obtenus au cours de cette étude concernant les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, les Staphylocoques à coagulase positive, et les Streptocoques fécaux exprimés en moyennes globales, pour les deux méthodes de dénombrement utilisées (classique et rapide) sont repris dans le tableau 15 et schématisés par les figures 18 et 20.

**Tableau 15** : Moyennes générales des flores étudiées par les deux méthodes : classique et rapide exprimées en Log UFC.

<b>Flores</b>	<b>Moyenne ± écart type méthode rapide</b>	<b>Moyenne ± écart type méthode classique</b>
<b>Germes totaux</b>	2,95 ± 1,06	2,85 ± 0,99
<b>Coliformes totaux</b>	2,35 ± 1,01	2,47 ± 0,95
<b>Coliformes fécaux</b>	-	2,08 ± 0,70
<b>Staphylocoques à coagulase positive</b>	1,43 ± 0,83	1,67 ± 0,86
<b>Streptocoques fécaux</b>	-	2,23 ± 1,13

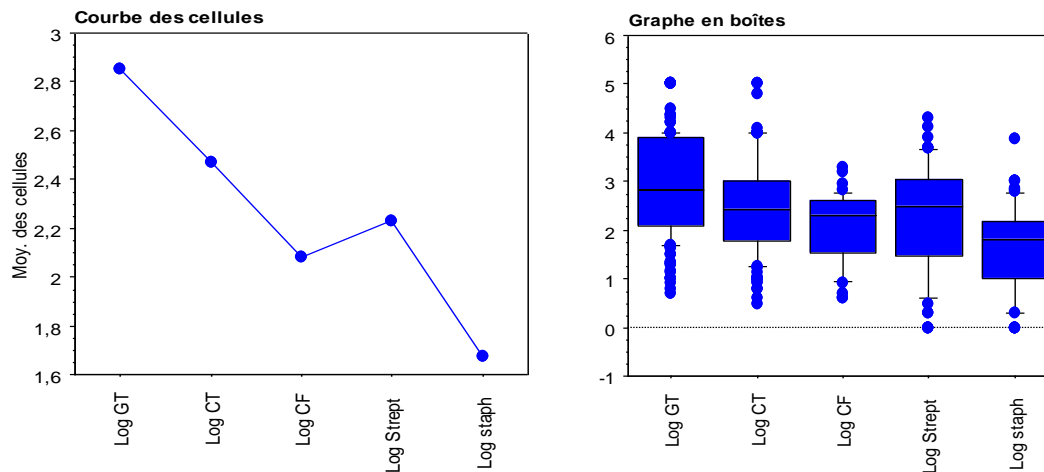
valeurs moyennes  
Log UFC/cm<sup>2</sup>



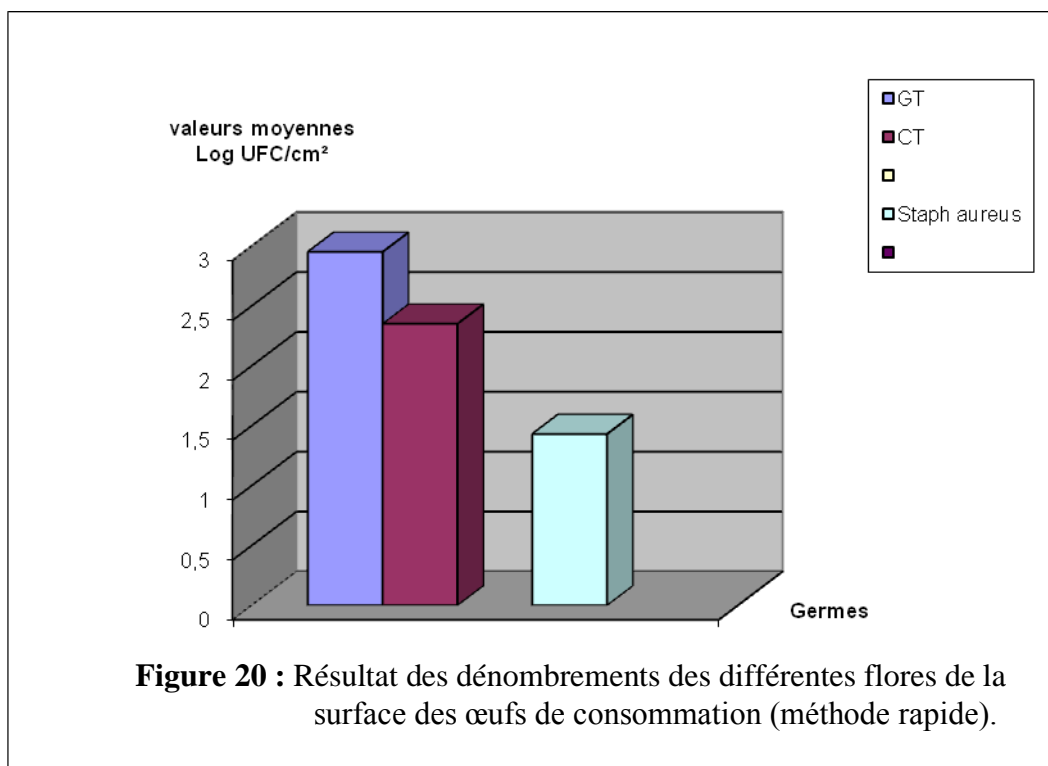
**Figure 18 :** Résultat des dénombrements des différentes flores de la surface des œufs de consommation (méthode classique).

Pour la méthode classique, nous avons relevé un taux de contamination de l'ordre de 2,85 Log UFC/cm<sup>2</sup> pour les germes totaux. Le taux le plus élevé a été relevé pour les coliformes totaux avec une valeur de 2,47 Log UFC/cm<sup>2</sup> viennent ensuite les coliformes fécaux qui sont de l'ordre de 2,08 Log UFC/cm<sup>2</sup>. Suivi par les Streptocoques fécaux avec une valeur de 2,23 Log UFC/cm<sup>2</sup>, le taux le plus faible est noté pour staphylocoques à coagulase positive qui sont de l'ordre de 1,67 Log UFC/cm<sup>2</sup>.

Les résultats de l'étude statistique des différents germes dénombrés sont représentés par la figure 19 où sont représentés le graphe en boîtes et la courbe des cellules.



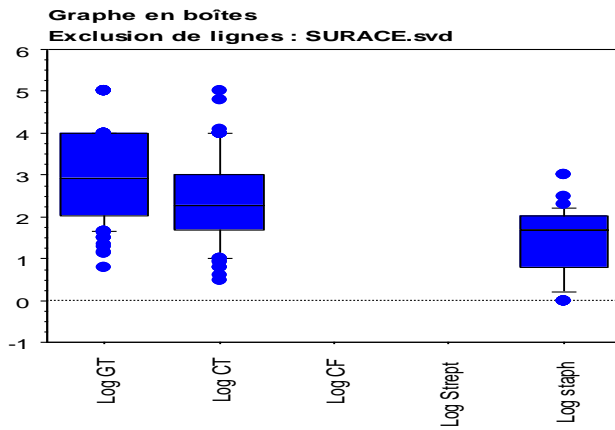
**Figure 19 :** Représentation des courbes de cellules et graphe en boîtes des différents germes dénombrés de la surface de l'œuf (méthode classique).



**Figure 20 :** Résultat des dénombrements des différentes flores de la surface des œufs de consommation (méthode rapide).

Le dénombrement des germes totaux par méthode rapide a montré une contamination de l'ordre de 2,95 Log UFC/cm<sup>2</sup>, tandis que pour les coliformes totaux la contamination était de l'ordre de 2,35 Log UFC/cm<sup>2</sup>, le dénombrement des *staphylocoques aureus* a montré une contamination de l'ordre de 1,42 Log UFC/cm<sup>2</sup>.

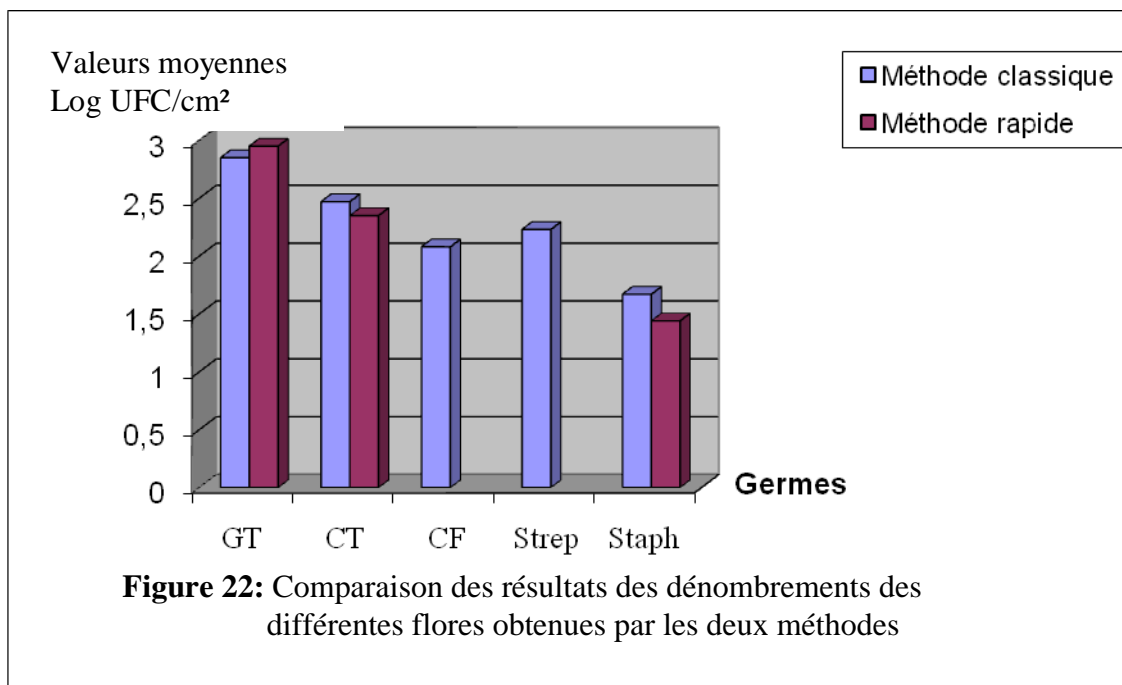
Les résultats de l'étude statistique des différents germes dénombrés par la méthode rapide sont représentés par la figure 21.



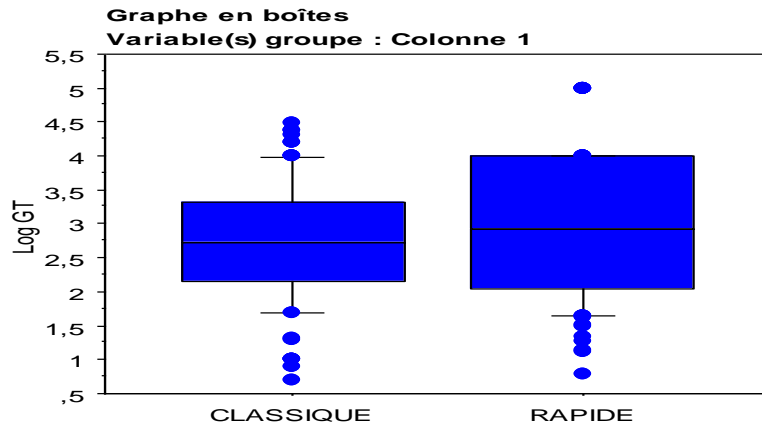
**Figure 21 :** Graphes en boîtes des différents germes dénombrés par la méthode rapide.

### 5) Comparaison entre les taux enregistrés par les deux méthodes (classique et rapide).

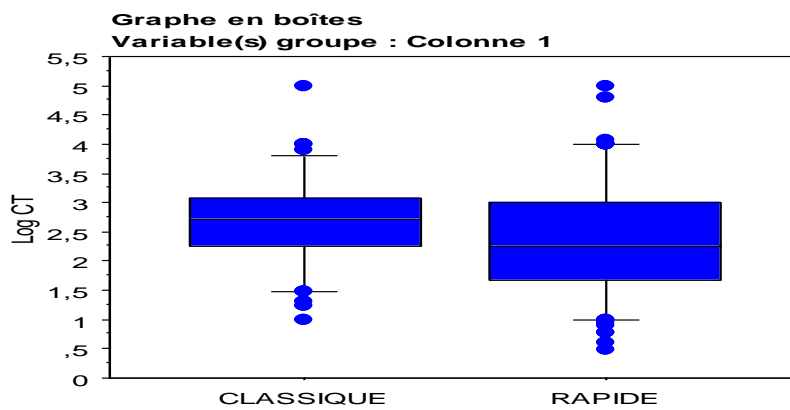
Les taux enregistrés par les deux méthodes (classique et rapide) et pour chaque type de flore est représentée par la figure 22.



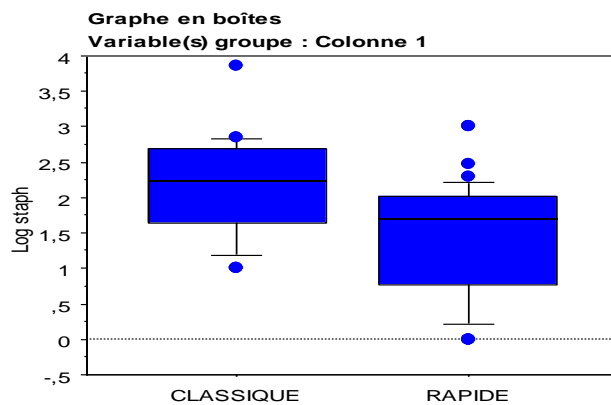
Les résultats de l'étude statistique des différents germes dénombrés sont représentés par les figures 23, 24 et 25, où sont représentés les graphes en boîtes.



**Figure 23 :** Comparaison entre la méthode classique et la méthode rapide pour les GT.



**Figure 24 :** Comparaison entre la méthode classique et la méthode rapide pour les CT.



**Figure 25 :** Comparaison entre la méthode classique et la méthode rapide pour les staphylocoques.

## 6) Résultat de la recherche de salmonelles.

Les souches suspectes de salmonelle ou de *E. Coli* ont fait l'objet de tests biochimiques, les résultats obtenus sont présentés en annexe 4.

La confirmation biochimique en utilisant les galeries API 20E, nous a permis l'identification de certaines souches qui sont rapportées dans le tableau 16.

**Tableau 16 :** Interprétation des résultats par l'utilisation des galeries API20 E.

N ° d'identification de l'échantillon	Nombre de souches isolées	Souche identifiée par galerie API 20 <sup>E</sup>
20	2	<i>Klebsiella planticola</i>
48	1	<i>Escherichia Coli 1</i>
49	1	<i>Escherichia Coli 1</i>

Le nombre de souches isolées est de 4 dont deux sont identifiées comme *Klebsiella planticola*, et les deux autres sont *Escherichia Coli1*.

### II.3. Discussion

Les œufs sont souvent impliqués dans les toxi-infections à salmonelles, à cause de leur consommation à l'état cru en tant que matière première dans de nombreux aliments (Mallet et *al.*, 2005). La contamination des œufs peut être horizontale ou verticale (Messen et *al.*, 2004). Cependant il est établi que la charge bactérienne de la coquille des œufs et par conséquent leur taux de contamination influence plus tard la pénétration des germes pathogènes dans l'œuf à travers la coquille (Schein et *al.*, 1995 ; Braun et *al.*, 1999).

#### Germes totaux.

Selon Tauson et *al.* (2004) la charge bactérienne totale des œufs reflète la contamination générale de la cage et de l'air ambiant. Dans notre étude les niveaux moyens de la contamination bactérienne superficielle des œufs de consommation ont été estimés à 2,85 Log UFC/cm<sup>2</sup> par la méthode classique et à 2,95 Log UFC/cm<sup>2</sup> par la méthode rapide.

La coquille peut être infectée tout au long de son passage jusqu'au cloaque, mais beaucoup de chercheurs suggèrent que la contamination principale se produit au cours d'une période courte après la ponte due au contact avec les surfaces sales (Harry, 1963 ; Board et *al.*, 1964 ; Quarles et *al.*, 1970 ; Gentry et Quarles, 1972).

En été, les températures plus élevées, associées à une ventilation plus forte et un système de cooling par brumisation d'eau peuvent favoriser la prolifération des bactéries dans l'atmosphère et sur les structures en contact avec les œufs (Mallet et *al.*, 2005). Or il a déjà été démontré que la charge bactérienne des œufs était corrélée aux bactéries de l'environnement (Harry, 1963; Protais et *al.*, 2003 a, 2003b, 2003 c; De Reu et *al.*, 2005b ; De Reu et *al.*, 2006c) .

L'analyse de variance au seuil de probabilité de 5% représentée par le tableau 15 et la figure 23 montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux méthodes ( $p = 0,18$ ).

Nos résultats concernant les taux de germes totaux sont en accord avec les travaux de Mallet et *al.*(2005) qui ont enregistré un taux de 2,69 Log UFC/cm<sup>2</sup> , Chavez et *al.* (2002) avec des taux de (4.6 Log UFC/ œuf, 4.63 Log UFC/ œuf), Protais et *al.* (2003 ) avec un taux de 4,10 Log UFC/ œuf et Virginie et *al.* (2003) 4.79 log UFC /œuf.

D'autre part nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux rapportés par Saveur en 1991 qui a enregistré un taux de contamination de l'ordre de  $3,7 \times 10^3$  (3,57 Log UFC/coquille).

Selon Saveur (1991) la surface de la coquille porte un nombre de bactéries qui peut osciller de 10<sup>2</sup> à 10<sup>4</sup> (coquille propre) à plus de 10<sup>9</sup> (coquille très contaminée). Les résultats obtenus au cours de notre étude oscillent dans la gamme des coquilles propres.



## **Coliformes totaux.**

La présence des coliformes totaux témoignent de l'hygiène générale des locaux et proviennent souvent de surfaces et matériels mal nettoyés.

La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé (Edberg et al., 2000 ; OMS,2000), à l'exception de certaines souches d'*Escherichia Coli* ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes (Institut National de Santé Public Québec, 2003)

Au cours de notre étude, des taux moyens de l'ordre de 2,47 et 2,35 log UFC/cm<sup>2</sup> ont été obtenus respectivement par la méthode classique et la méthode rapide.

L'analyse de variance au seuil de probabilité de 5% représentée par le tableau 15 et la figure 24 montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les résultats des deux méthodes (p = 0,06).

## **Coliformes fécaux**

Les coliformes fécaux vivent dans l'intestin de l'homme et des animaux, et sont particulièrement indicateurs de contamination d'origine fécale (Dennaï et al., 2001).

Selon Levine et al (1991) la majorité de ces germes sont considérés comme non pathogènes. D'autre part une forte charge en coliformes fécaux, peut prédire la présence de salmonelles (Oumokhtar et al. 1998).

Pour les coliformes fécaux, nous avons obtenu un taux moyen de l'ordre de 2,08 Log UFC/cm<sup>2</sup> par méthode classique provenant probablement des coquilles souillées par les fientes.

Nos résultats concernant les coliformes fécaux sont supérieurs à ceux rapportés par Sauveur (1991), qui a enregistré des taux avoisinant le 1Log UFC/cm<sup>2</sup> pour les œufs pondus en cage, et 2,5 log UFC/cm<sup>2</sup> pour les mêmes œufs conservés pendant 72h.

Dans une étude, Matthes (1985) confirme que la production en cages assure une plus faible contamination externe de la coquille par des entérobactéries que les systèmes au sol.

Cependant le délai de ramassage des œufs joue aussi un rôle dans leur contamination par les souillures fécales produites par les poules. Le respect du délai de ramassage s'avère important pour éviter cette contamination et la prolifération de ces germes, ce qui n'est pas le cas dans les bâtiments concernés par notre étude.

## **Streptocoques fécaux**

Selon Daube (2007) leur présence indique une contamination d'origine fécale.

Les niveaux moyens de la contamination bactérienne superficielle des œufs de consommation retrouvés au cours de notre étude sont de l'ordre de 2,23 log UFC/cm<sup>2</sup> par méthode classique. Ce

germe a été aussi isolé sur la surface de la coquille par Mayes et *al.* en 1983 mais sans le dénombrer.

### **Staphylocoques.**

Selon De Reu et *al* (2007a) les staphylocoques semblent être les espèces les plus dominantes dans l'air du bâtiment de volaille.

Dans notre étude nous avons obtenu un taux moyen de l'ordre de 1,67 Log UFC/cm<sup>2</sup> par la méthode classique. Par contre le taux obtenu par la méthode rapide est de l'ordre de 1,42 Log UFC/cm<sup>2</sup>.

Il est à signaler que le taux de contamination prélevé par la méthode classique correspond aux germes de staphylocoques à coagulase positive, le manque de moyens ne nous a pas permis de pousser la recherche jusqu'à l'identification biochimique de l'espèce bactérienne. Or la méthode rapide vise spécifiquement les *Staphylocoques aureus* ce qui explique la différence enregistrée pour les deux valeurs. Néanmoins cette différence n'est statistiquement pas significative.

De Reu et *al* (2006a ; 2006g ; 2007a) ont constaté que la contamination normale de coquille des œufs de table a été dominée par les espèces Gram positives de *Staphylocoque spp.*

### **Salmonelles.**

En ce qui concerne les salmonelles aucun germe n'a été isolé dans tous nos prélèvements. Bien que la confirmation biochimique de certaines souches suspectes nous a permis d'identifier des souches de *Escherichia Coli1*, et de *Klebsiella planticola*.

*Escherichia Coli* a été isolé également sur la surface de l'œuf de poule par Mayes et Takeballi (1983) et Board et Tanter (1986).

### III : Etude de l'évolution des taux de contamination bactérienne de l'intérieur de l'œuf de consommation au cours de sa conservation à deux températures différentes.

#### III.1 Matériel et méthodes.

##### III.1.1 Matériel.

##### III.1.1.1 Echantillonnage

##### 1) Mode d'échantillonnage :

L'échantillonnage composé de 504 œufs en coquille, a été effectué au hasard au cours de deux périodes distinctes, au niveau des bâtiments testage et ORAC de poules pondeuses à ITELV de Baba Ali :

- ✓ 252 œufs ont été prélevés entre le mois de janvier et le mois de mars.
- ✓ 252 œufs ont été prélevés entre le mois de juillet et le mois d'août.

Le calendrier des prélèvements des œufs de consommation au niveau des deux bâtiments d'élevages de poule pondeuse est représenté dans le tableau 17.

**Tableau 17** : Calendrier des prélèvements des œufs de consommation au niveau des deux bâtiments d'élevages de poules pondeuses.

Période de prélèvement	N° de lot	Dates d'échantillon	Nombres d'œufs prélevés	Bâtiment de prélèvement
Période d'hiver	01	21/01/2007	36	Testage
	02	27/01/2007	36	ORAC
	03	08/02/2007	36	ORAC
	04	23/02/2007	36	Testage
	05	25/02/2007	36	Testage
	06	28/02/2007	36	ORAC
	07	03/03/2007	36	Testage
Période d'été	08	14/07/2007	36	Testage
	09	15/07/2007	36	ORAC
	10	19/07/2007	36	Testage
	11	14/08/2007	36	Testage
	12	15/08/2007	36	ORAC
	13	22/08/2007	36	Testage
	14	23/08/2007	36	ORAC

## 2) Répartition, transport et conservation des échantillons :

Le nombre de lot étudié est de 8 pour le bâtiment testage et de 6 pour le bâtiment ORAC pour les deux périodes de prélèvement.

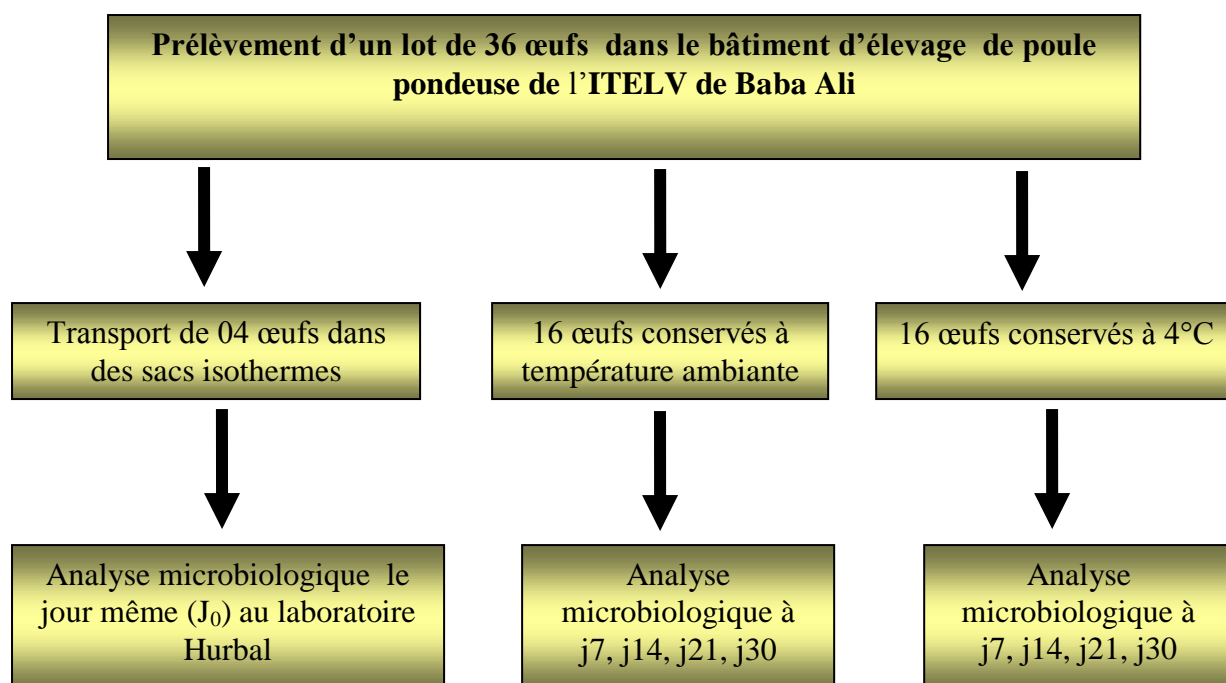
Chaque lot est composé de 36 œufs.

Pour chaque lot échantillonné, 04 œufs sont prélevés le jour même du prélèvement pour faire l'objet d'une première analyse bactériologique correspondant à  $J_0$ ; les 32 œufs restant sont conservés à deux températures différentes (figure n° 26):

- 16 sont conservés à température ambiante dans l'un des locaux de l'ITELV, où la température et l'hygrométrie sont relevées chaque jour. Nous avons enregistré une température moyenne de 17°C en période d'hiver et de 28°C en période d'été
- les 16 autres sont conservés dans un réfrigérateur à une température de réfrigération de +4°C.

L'analyse bactériologique des œufs conservés à deux températures différentes est effectuée à j7, j14, j21 et j30.

Le transport des échantillons vers le laboratoire est réalisé dans des sacs isothermes pour limiter les modifications du nombre de micro-organismes présents.



**Figure 26 :** Diagramme représentant les différentes étapes de l'échantillonnage

### **III.1.1.2 Matériel biologique.**

Cette étude est réalisée sur des prélèvements d'œufs de consommation provenant de poules pondeuses de souche ISA Brown ; l'âge des poules à partir duquel les prélèvements ont commencé est de 34 semaines. Ces poules élevées en batterie, reçoivent une lumière de 16 h par jour et sont nourries *ad libitum* avec un aliment standard pour poules pondeuses.

### **III.1.1.3 Matériel de laboratoire.**

Nous avons utilisé le même matériel de laboratoire que celui de l'analyse de la surface de l'œuf de consommation.

### **III.1.1.4 Milieux et réactifs.**

Nous avons utilisé les mêmes milieux et réactifs que celui de l'analyse de la surface de l'œuf de consommation.

## **III.1.2 Méthodes.**

### **III.1.2.1 Recherche et dénombrement des différentes flores :**

Les flores suivantes ont été étudiées :

- Dénombrement des germes totaux (Norme NF V 08-51)
- Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux (Norme NF V08-050)
- Dénombrement des staphylocoques aureus à coagulase positive (Norme NF V 08 – 057 – 1).
- Dénombrement des streptocoques fécaux (Norme ISO 7899-2/ NA 766/ NF T 90-416).

#### **1) Préparation de l'échantillon pour l'analyse microbiologique de l'intérieur de l'œuf.**

La préparation de l'échantillon est réalisée de la manière suivante:

- Lavage rapide de l'œuf.
- L'œuf est immergé 10mn dans l'alcool.
- La coquille est ouverte au scalpel stérile
- Le contenu de l'œuf est versé dans un sachet de type stomacher.
- L'homogénéisation se fait dans un appareil type Stomacher.

## **2) Préparation des solutions mères et des dilutions décimales.**

25g de l'œuf entier homogénéisé avec un appareil péristaltique de type stomacher est rajouté à 225 ml de TSE ; La solution mère obtenue est homogénéisé au moyen d'un appareil péristaltique de type stomacher pendant 2 minutes, les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  sont ensuite préparées selon la norme AFNOR (NF-V04-501). Ces dilutions seront utilisées pour la recherche de la flore aérobie mésophile totale, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les staphylocoques à coagulase positives.

Tandis que pour les salmonelles 25g de l'œuf entier est rajouté à 225 ml de EPT ; La solution mère obtenue est homogénéisé au moyen d'un appareil péristaltique de type stomacher pendant 2 minutes.

## **3) Dénombrement des germes totaux (Norme NF V 08-51).**

Le dénombrement de cette flore est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur la gélose PCA. Le mode opératoire est détaillé dans la deuxième partie.

## **4) Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux (Norme NF V08-050)**

La culture a été réalisée sur VRBL. L'incubation a été effectuée à 37 °C pendant 24 h, pour les coliformes totaux et à 44 °C pendant 24 h pour les coliformes fécaux, les colonies rouges ont été comptées. Le mode opératoire est détaillé dans la deuxième partie.

## **5) Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (Norme NF V 08 – 057 – 1).**

Pour l'isolement et le dénombrement des staphylocoques un ensemencement de surface sur le milieu sélectif de Baird Parker a été réalisé suivi d'une incubation de 24h à 48 h à 37°C. Les colonies caractéristiques sont comptées. Une observation microscopique et une recherche des caractères biochimiques (la catalase, coagula se) ont été réalisées. Le mode opératoire est détaillé dans la deuxième partie.

## **6) Dénombrement des streptocoques fécaux (Norme ISO 7899-2/ NA 766/ NF T 90-416 ).** Le mode opératoire est détaillé en annexe n° 4.

Vu le nombre élevé de nos prélèvements et pour cause de restriction budgétaire nous avons utilisé au cours de notre étude la méthode de recherche des streptocoques adaptée pour l'eau.

La culture a été réalisée sur milieu de Slanetz et Bartley, l'incubation a été effectuée à 37 °C pendant 24 h, les colonies caractéristiques font l'objet d'une confirmation sur gélose Bile-esculine -azoture (BEA). Le mode opératoire est détaillé dans la deuxième partie.

## **7) Recherche des Salmonelles**

La méthode de recherche des Salmonelles est effectuée selon la norme française de routine NF V 08-52 (annexe n° 2).

## III.2 Résultats

### III.2.1 Présentation des résultats pour les deux bâtiments testage et ORAC ensemble.

Les résultats obtenus de l'analyse bactériologique des œufs prélevés en deux périodes (hiver et été) des deux bâtiments (testage et ORAC) sont présentés ci-dessous.

#### III.2.1.1 En période d'hiver.

L'analyse bactériologique des différents germes pour les œufs prélevés entre le mois de janvier et mars (période d'hiver) n'a révélé aucune contamination bactérienne par les germes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, les staphylocoques à coagulase positive et les salmonelles et ce tout au long de la période de conservation concernant tout les œufs conservés à température ambiante et réfrigérée.

Cependant, il est à signaler que lors de l'utilisation des tests biochimiques pour la confirmation de certaines colonies suspectes de salmonelles isolées dans certains œufs conservés à température ambiante, nous avons pu identifier trois souches de *Echerichia coli* à l'intérieur des œufs âgés de 14 jours, une souche de citrobacter dans un œuf âgé de 30 jours et une souche de proteus dans un œuf âgé de 30 jours.

#### III.2.1.2 En période d'été.

Aucune bactérienne n'a été relevée pour les œufs conservés à température de réfrigération et ce pour les différents lots des deux bâtiments. Ainsi, les résultats présentés ci-dessous ne concerneront que les œufs conservés à **température ambiante** durant la période d'été.

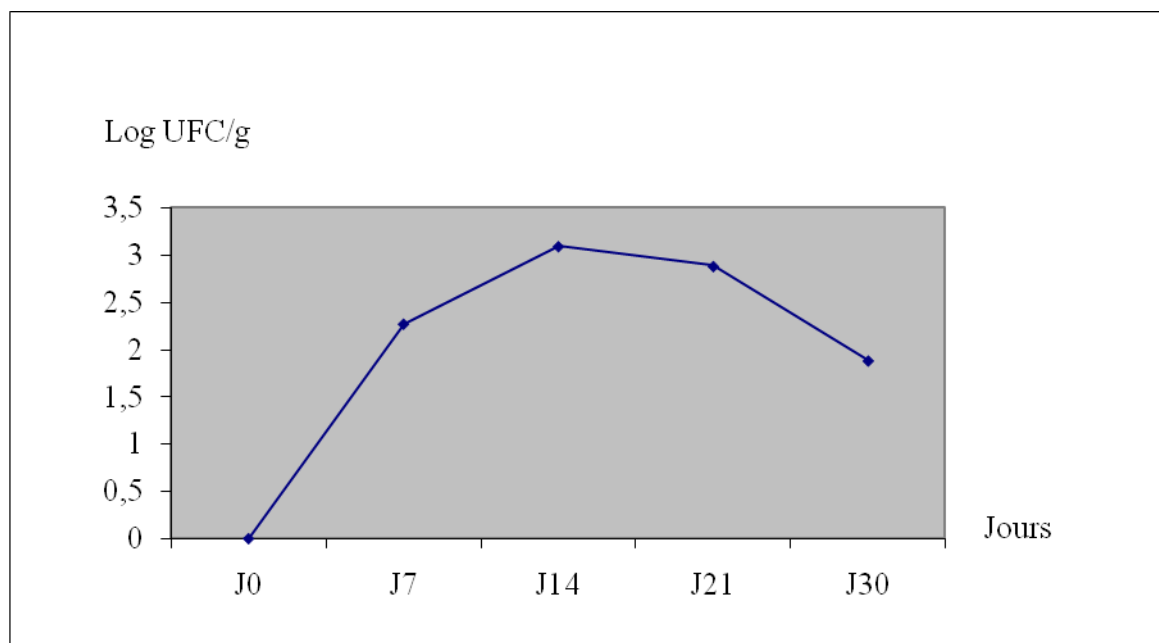
##### 1. Germes totaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus de l'analyse des prélèvements réalisés sur un total 250 œuf prélevés au niveau des deux bâtiments d'élevage de poule pondeuse est rapporté dans le tableau 22 et schématisé par la figure 27, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne en UFC /g de produit.



**Tableau 18:** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les GT en période d'été.

Œufs conservés à température ambiante		
Age de l'œuf	Moyenne GT en UFC/g	Moyenne GT en Log UFC/g
<b>J0</b>	0,00	-
<b>J7</b>	$2,7 \times 10^1$	$2,77 \pm 0,16$
<b>J14</b>	$8,1 \times 10^2$	$3,09 \pm 0,82$
<b>J21</b>	$2 \times 10^3$	$2,88 \pm 1,03$
<b>J30</b>	$4,3 \times 10^1$	$1,88 \pm 0,58$



**Figure 27:** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les GT en période d'été.

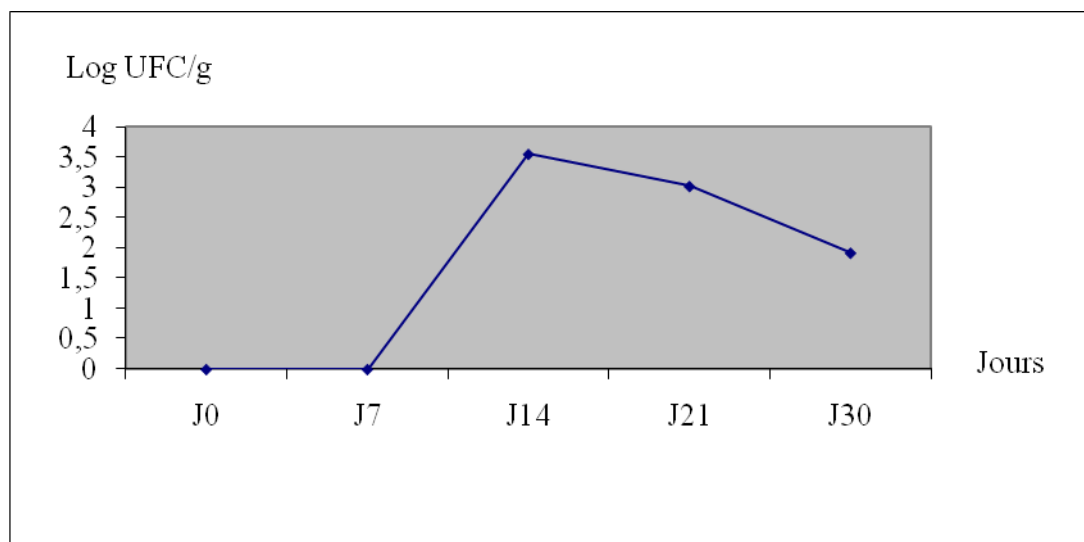
Nous avons relevé un pic de contamination pour les œufs âgés de 14 jours de l'ordre de 3,09 Log UFC/g, cependant une faible contamination a été relevée pour les œufs conservés pendant 30 jours (1,88 Log UFC/ g). Les valeurs intermédiaires se situent à J 7 et J21 avec 2,77 et 2,88 Log UFC/ g respectivement.

## 2. Coliformes fécaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus de l'analyse des prélèvements réalisés les œufs prélevés au niveau des deux bâtiments d'élevage de poules pondeuses est rapporté dans le tableau 23 et schématisé par la figure 28, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne en UFC /g de produit.

**Tableau 19 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les CF en période d'été.

<b>Œufs conservés à température ambiante</b>		
<b>Age de l'œuf</b>	<b>Moyenne CF en UFC/g</b>	<b>Moyenne en Log UFC/g</b>
<b>J0</b>	-	-
<b>J7</b>	-	-
<b>J14</b>	$4,1 \times 10^2$	$3,55 \pm 0,21$
<b>J21</b>	$4,8 \times 10^2$	$3,02 \pm 0,56$
<b>J30</b>	$2 \times 10^1$	$1,92 \pm 0,36$



**Figure 28 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les CF en période d'été.

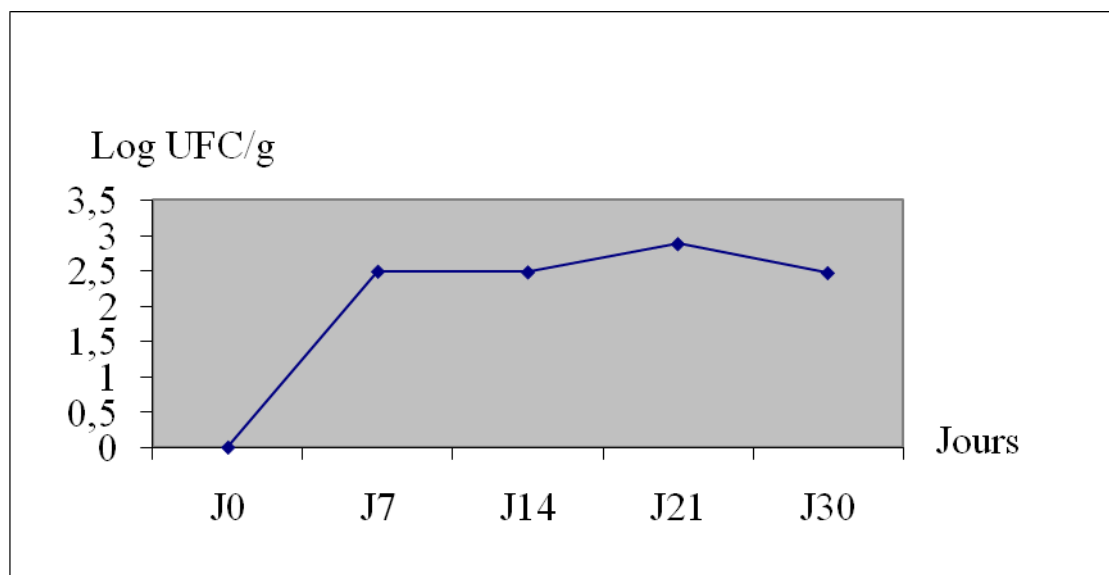
Aucune contamination bactérienne n'est observée à J0 et à J7, par contre à J14 Nous avons relevé une contamination bactérienne à partir de 14 jours où la contamination est la plus élevée ( $3,55 \text{ Log UFC /g}$ ), pour diminuer légèrement à J 21 ( $3,02 \text{ Log UFC /g}$ ), tandis que la valeur la plus faible est enregistrée pour les œufs âgés de 30 jours ( $1,92 \text{ Log UFC /g}$ ).

### **3. Streptocoques fécaux.**

Les résultats obtenus de l'analyse des prélèvements d'œufs prélevés au niveau des deux bâtiments d'élevage de poules pondeuses sont rapportés dans le tableau n° 24 et schématisé par la figure 29, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne en UFC /g de produit.

**Tableau 20 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Streptocoques fécaux en période d'été.

Age de l'œuf	Moyenne streptocoques fécaux en UFC/g	Moyenne streptocoques fécaux Log UFC/g
J0	0,00	-
J7	$2,4 \times 10^2$	$2,49 \pm 0,52$
J14	$5,3 \times 10^2$	$2,48 \pm 0,95$
J21	$8,6 \times 10^2$	$2,88 \pm 0,73$
J30	$3 \times 10^3$	$2,47 \pm 0,84$



**Figure 29 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Streptocoques fécaux en période d'été.

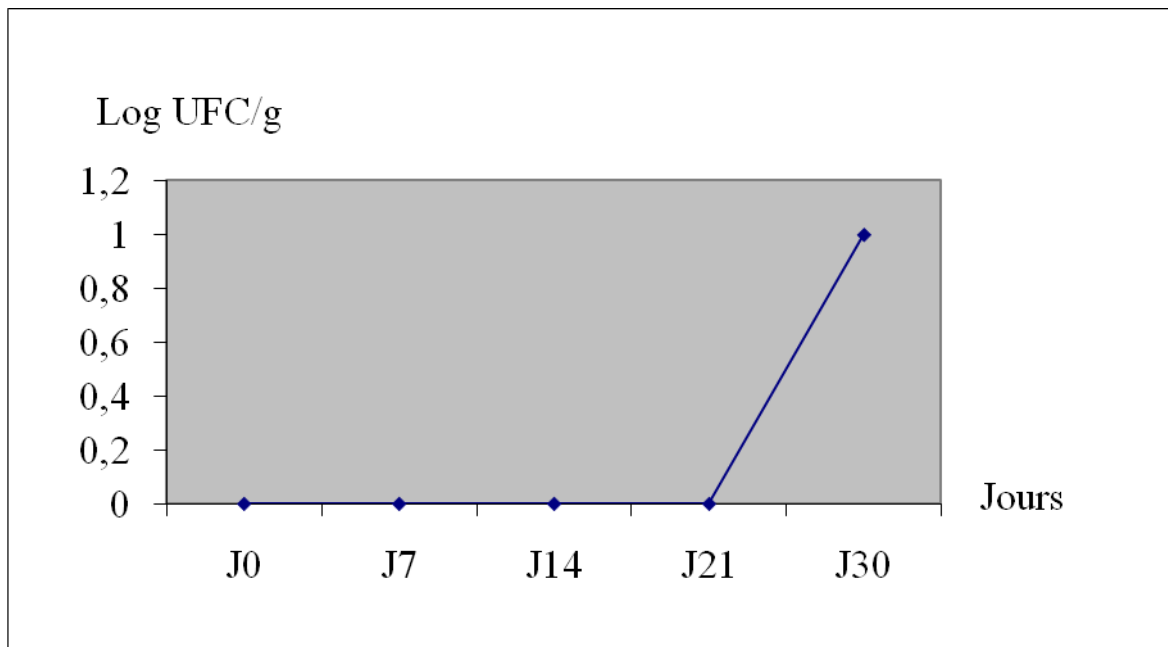
Il a été relevé un pic de contamination pour les œufs âgés de 21 jours (2,88 Log UFC /g), on a aussi relevé des valeurs proches entre J7, J14, J30, celles-ci sont de l'ordre de 2,49, 2,48 et 2,47 Log UFC /g respectivement.

#### 4. Staphylocoques à coagulase positive.

Les résultats obtenus lors de l'analyse des prélèvements réalisés sur les œufs prélevés au niveau des deux bâtiments d'élevage de poules pondeuses sont rapportés dans le tableau n° 25 et schématisé par la figure 30, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne en UFC /g de produit.

**Tableau 21** : Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par Staphylocoques à coagulase positive en période d'été.

Age de l'œuf	Moyenne Staphylocoques à coagulase positive en UFC/g	Moyenne Staphylocoques à coagulase positive en Log UFC/g
J0	-	-
J7	-	-
J14	-	-
J21	-	-
J30	0,36	1 ± 0,71



**Figure 30** : Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les Staphylocoques à coagulase positive en période d'été.

Il a été relevé une contamination infime uniquement pour les œufs âgés de 30 jours de l'ordre de 1 Log UFC /g.

### III.2.2 Comparaison des résultats des analyses des prélèvements pour chaque bâtiment.

#### III.2.2.1 Bâtiment testage.

Le récapitulatif des résultats obtenus de l'analyse des prélèvements réalisés sur les œufs prélevés au niveau du bâtiment testage d'élevage de poule pondeuse et conservé à température ambiante, est rapporté dans le tableau 26 et schématisé par les figures 31, 33 et 35, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne en UFC /g de produit.

**Tableau 22 :** Résultat bâtiment Testage de juillet à septembre (période d'été) représenté en UFC et Log UFC/g.

Age de l'œuf		J0	J7	J14	J21	J30
GT	UFC/g	0,00	0,00	5,9 x10 <sup>2</sup>	3,8 x10 <sup>2</sup>	4,6 x 10 <sup>1</sup>
	Log UFC/g	-	-	3,33± 0,55	2,23± 0,84	1,89± 0,61
CF	UFC/g	0,00	0,00	5,6 x10 <sup>2</sup>	0,00	0,00
	Log UFC/g	-	-	3,63± 0,21	-	-
Strept fécaux	UFC/g	0,00	9,4 x10 <sup>1</sup>	2,4 x10 <sup>2</sup>	1,1 x10 <sup>3</sup>	3,2 x 10 <sup>2</sup>
	Log UFC/g	-	2,49 ± 0,52	2,17 ± 0,85	3,61 ± 0,15	2,50 ± 0,90
Staph coagulase +	UFC/g	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Log UFC/g	-	-	-	-	-

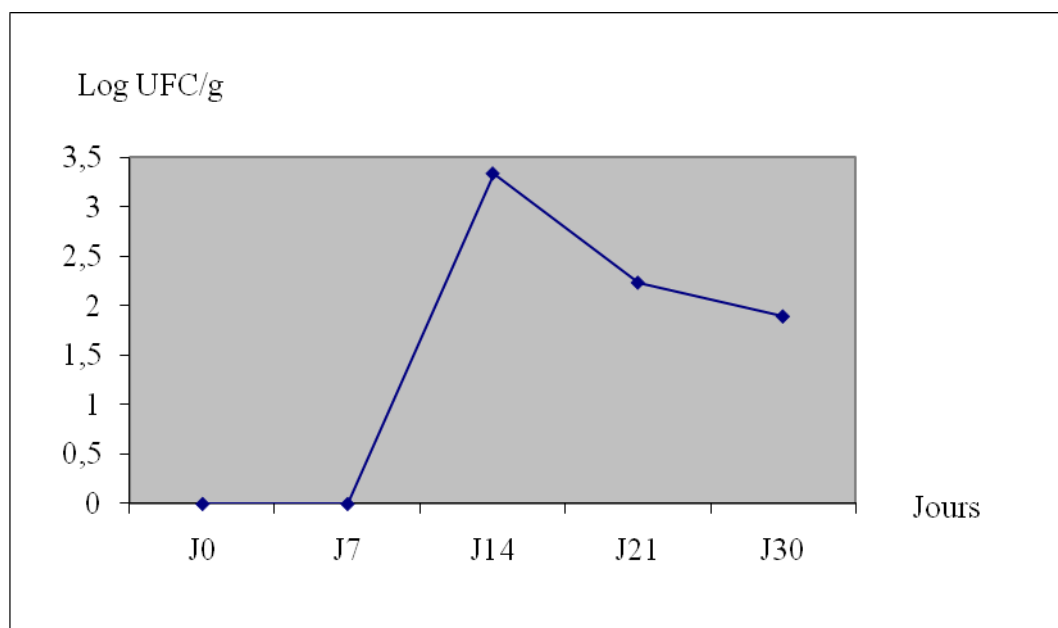
### III.2.2.2 Bâtiment ORAC.

Les résultats obtenus lors de l'analyse des prélèvements des œufs prélevés au niveau du bâtiment ORAC d'élevage de poules pondeuses sont rapportés dans le tableau 27 et schématisé par les figures 32, 34, 36 et 37, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne en UFC /g de produit.

**Tableau 23:** Résultat bâtiment ORAC de juillet à septembre (période d'été) représenté en UFC/g et Log UFC/g.

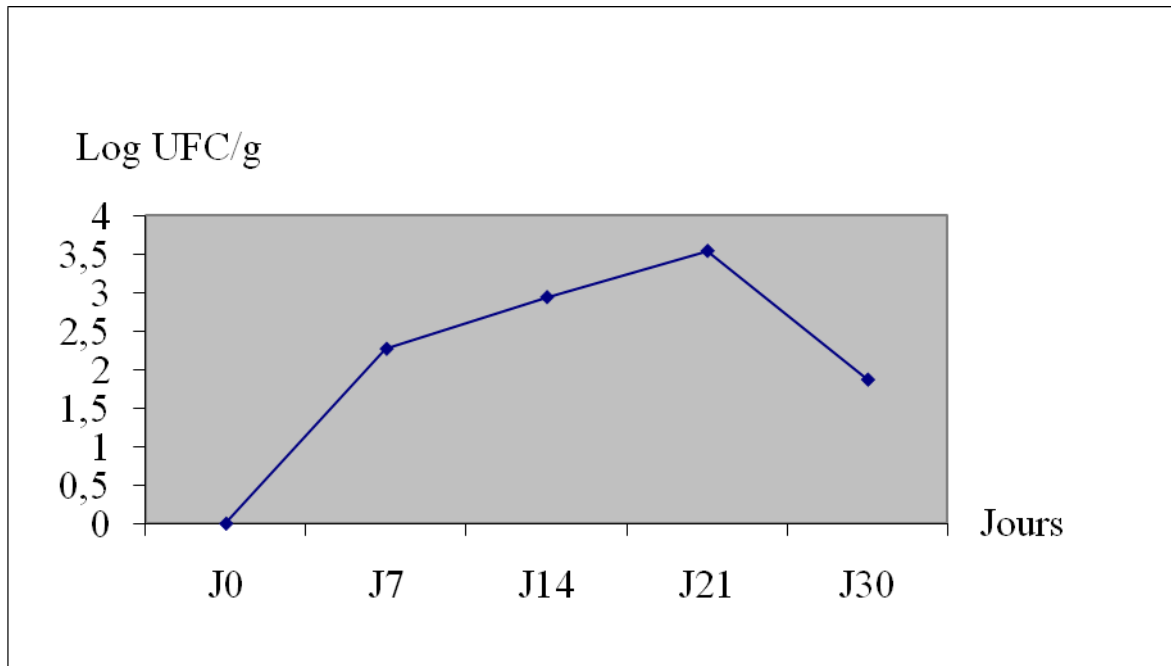
Age de l'œuf		J0	J7	J14	J21	J30
GT	UFC/g	0,00	81x10 <sup>1</sup>	1,1x10 <sup>3</sup>	4,1 x10 <sup>3</sup>	3,9 x10 <sup>1</sup>
	Log UFC/g	0,00	2,27±0,16	2,94±0,98	3,54 ±0,76	1,87 ±0,67
CF	UFC/g	0,00	0,00	0,00	1,1 x10 <sup>3</sup>	3,5 x10 <sup>1</sup>
	Log UFC/g	-	-	3,38 ±0,00	3,02± 0,56	2,01± 0,44
Strept fécaux	UFC/g	0,00	4,4x10 <sup>2</sup>	9,2 x10 <sup>2</sup>	6,1x10 <sup>2</sup>	2,7 x10 <sup>2</sup>
	Log UFC/g	-	2,73±0,71	3,19± 0,88	2,56± 0,63	2,42± 0,87
Staph coagulase +	UFC/g	0,00	0,00	0,00	0,00	0,83
	Log UFC/g	-	-	-	-	1,00± 0,00

#### 1. Germes totaux.



**Figure 31 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les GT en période d'été (Bâtiment Testage).

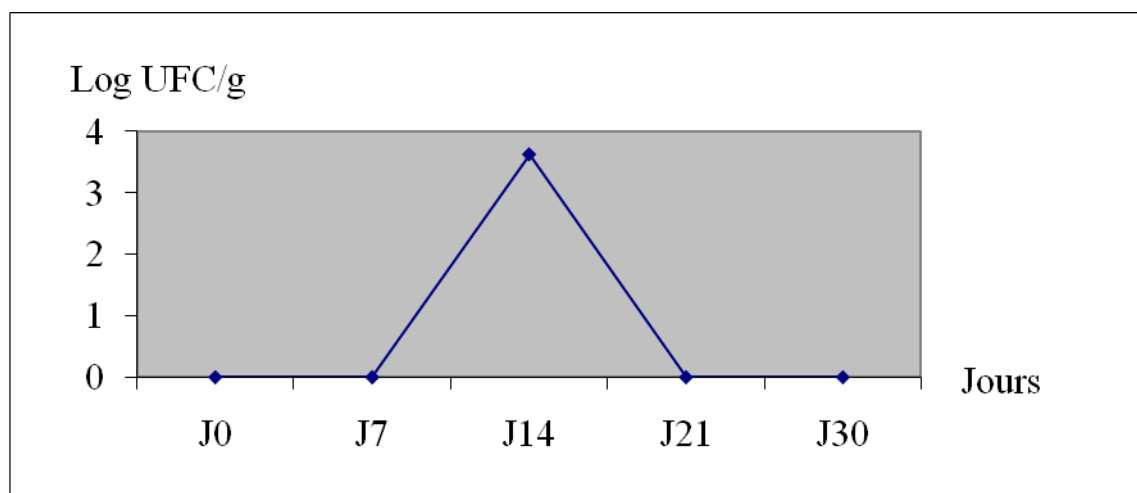
Les œufs prélevés du bâtiment testage ont montré un maximum de contamination pour les œufs âgés de 14 jours (3,33 Log UFC/g). L'analyse des œufs âgés de 21 et 30 J a montré des contaminations plus faibles que celle de 14 jours (2,23 1,89 Log UFC/g) par contre les œufs âgés de 7 jours n'ont montré aucune contamination.



**Figure 32 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par les GT en période d'été (Bâtiment ORAC).

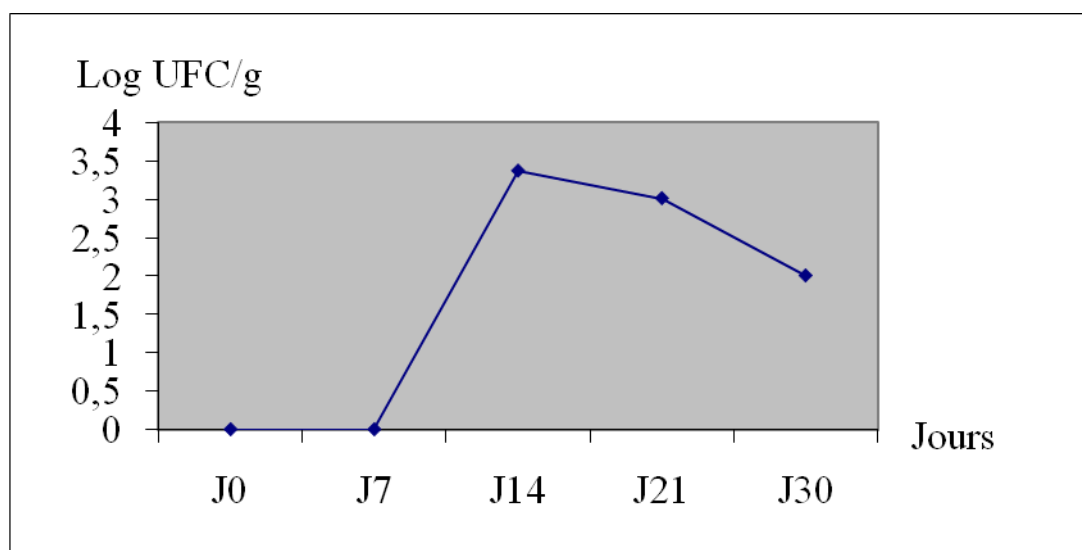
S'agissant des œufs prélevés du bâtiment ORAC, le maximum de contamination a été observé pour les œufs âgés de 21 jours (3,54 Log UFC/g). La valeur de contamination la plus faible a été constaté pour les œufs âgés de 30 jours (1,87 Log UFC/g). Tandis que les valeurs intermédiaires sont notées pour les œufs âgés de 7 et 14 jours qui sont respectivement de l'ordre de 2,27 et 2,94 Log UFC/g.

## 2) Coliformes fécaux.



**Figure 33 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les CF en période d'été bâtiment Testage.

Nous avons relevé un taux de contamination pour les œufs âgés de 14 j 3,63 Log UFC/g. Tandis que l'analyse des œufs âgés de 0, 7, 21 et 30 jours n'a présenté aucune contamination bactérienne.



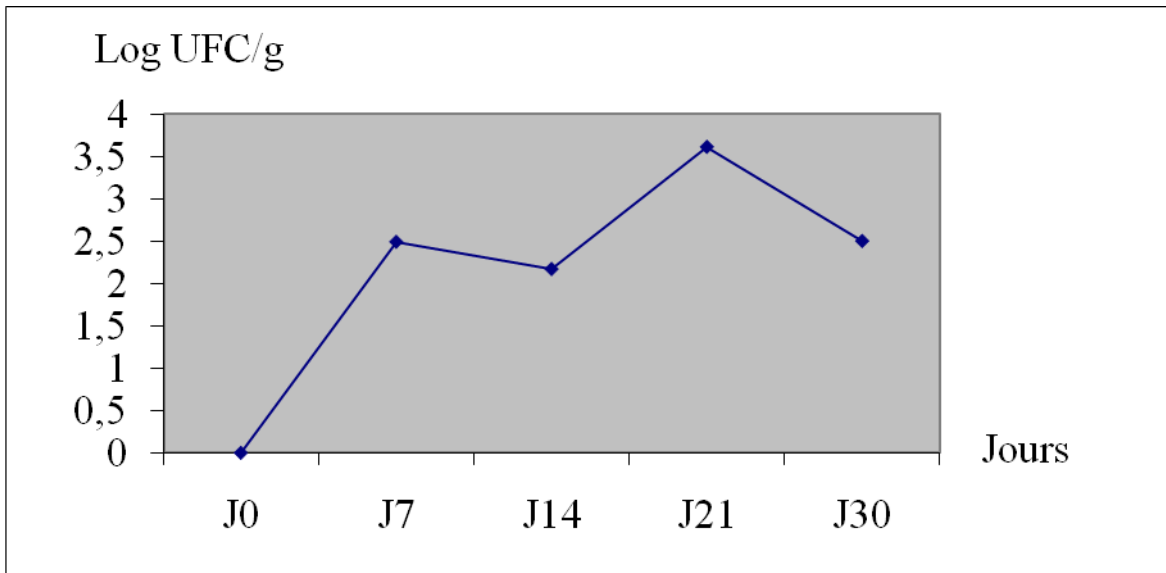
**Figure 34 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les CF en période d'été bâtiment ORAC.

La contamination par les coliformes fécaux pour les œufs prélevés du bâtiment ORAC, a été relevée pour les œufs âgés de 14, 21 et 30 jours avec un pic de contamination à 14 jours de l'ordre de 3,38 Log UFC/g et un minimum à 30 jours évaluée à 2,01 Log UFC/g.

Il a été relevé une contamination de l'ordre de 3,02 Log UFC/g aux œufs âgés de 21 jours, valeur proche de celle de 14 jours.

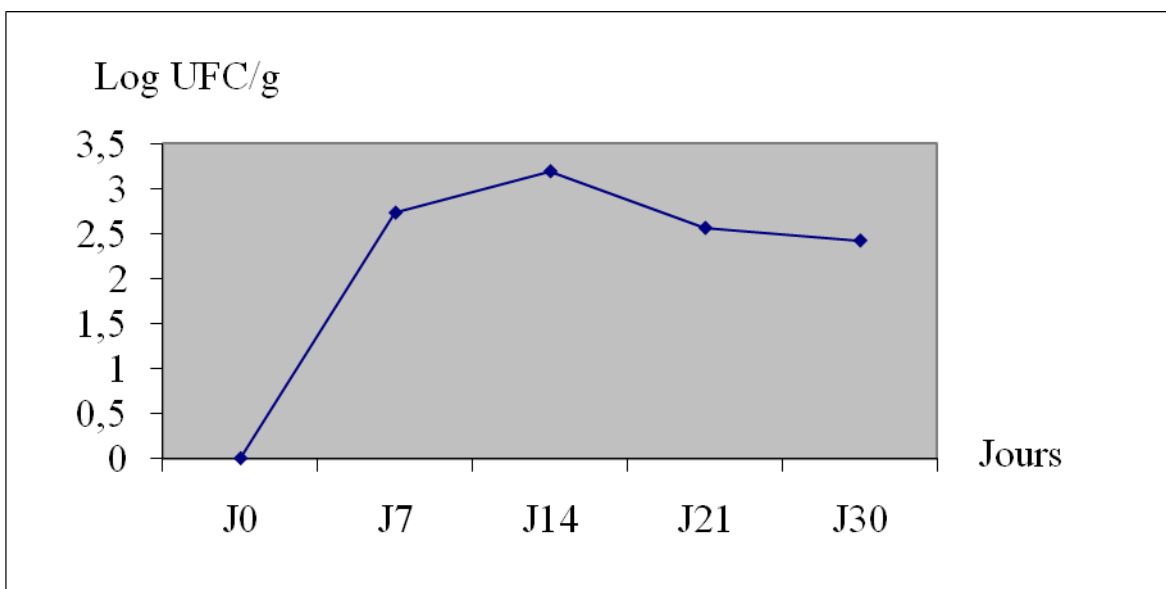


### 3) Streptocoques fécaux



**Figure 35 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Strept fécaux en période d'été bâtiment Testage.

Les œufs prélevés du bâtiment testage âgés de 14 jours ont présenté une contamination de l'ordre de 2,17 Log UFC/g (valeur minimale). Les œufs âgés de 21 jours ont marqué une contamination la plus élevée que le reste des oeufs (3,61 Log UFC/g). Tandis que les œufs âgés de 7 et 21 jours ont présenté des valeurs intermédiaires et proches entre elles (2,49 et 2,50 Log UFC/g respectivement).

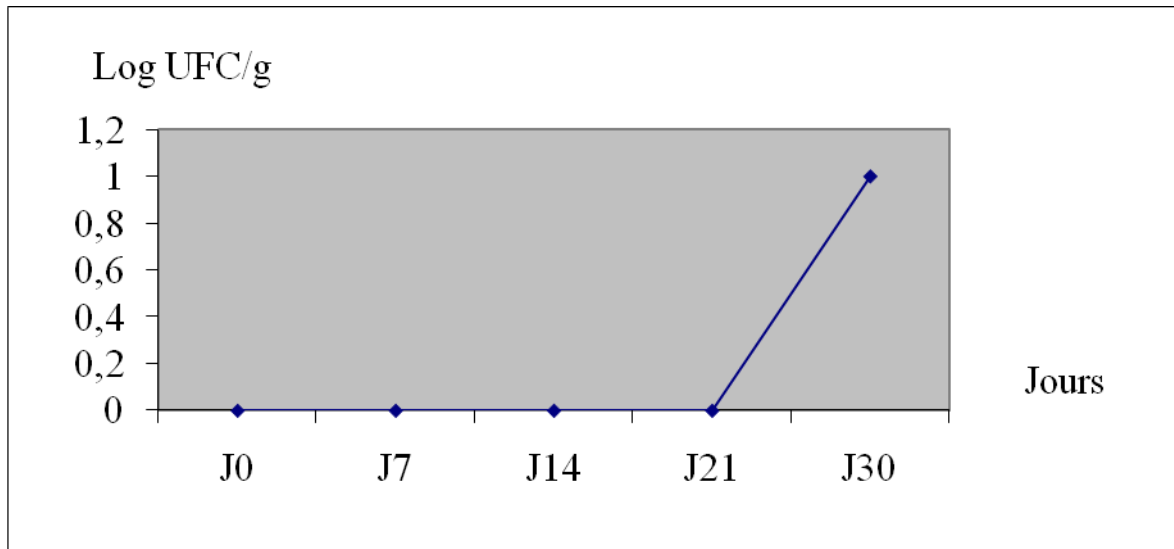


**Figure 36 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'oeuf par les Strept fécaux en période d'été bâtiment ORAC.

Cependant, le pic de contamination pour les œufs prélevés du bâtiment ORAC ; a été enregistré pour les œufs âgés de 14 jours (3,19 Log UFC/g) par contre les œufs âgés de 30 jours (2,42 Log UFC/g) étaient moins contaminés que ceux de J7, J14 et J21 (2,73 et 2,56 Log UFC/g respectivement).

#### 4. Staphylocoques à coagulase positive.

L'analyse bactériologique pour ce germe n'a montré aucune contamination par ce dernier pour le bâtiment testage et pour les différentes périodes de conservation d'œufs.



**Figure 37 :** Evolution de la contamination de l'intérieur de l'œuf par staphylocoques en période d'été (bâtiment ORAC).

Pour le bâtiment ORAC une contamination de l'ordre de 1Log UFC/g a été relevée pour les œufs âgés de 30 jours uniquement.

### III.2.3 Résultats de l'analyse pour les différents lots des deux bâtiments testage et ORAC.

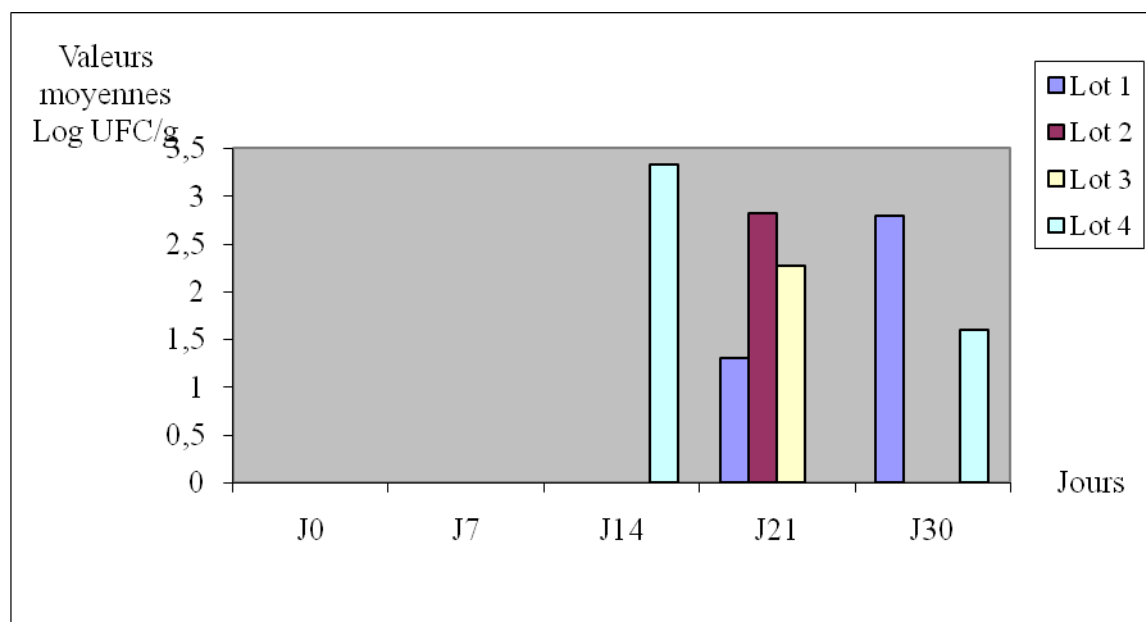
#### III.2.3.1 Bâtiment testage.

##### 1. Germes totaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment Testage est rapporté dans le tableau 28 et la figure 38 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit.

**Tableau 24:** valeurs moyennes des GT des lots prélevés au niveau du bâtiment testage.

Age de l'œuf		J0	J7	J14	J21	J30
lot 1	UFC/g	0,00	0,00	0,00	$1 \times 10^1$	$1,6 \times 10^3$
	Log UFC/g	-	-	-	$1,30 \pm 0,00$	$3,19 \pm 0,00$
lot 2	UFC/g	0,00	0,00	0,00	$1,4 \times 10^3$	0,00
	Log UFC/g	-	-	-	$2,81 \pm 0,85$	-
lot 3	UFC/g	0,00	0,00	0,00	$9,5 \times 10^1$	0,00
	Log UFC/g	-	-	-	$2,27 \pm 0,10$	-
lot 4	UFC/g	0,00	0,00	$2,4 \times 10^3$	0,00	$3 \times 10^1$
	Log UFC/g	-	-	$3,33 \pm 0,55$	-	$1,48 \pm 0,00$



**Figure 38 :** Résultats de la contamination par les GT des lots du bâtiment Testage.

- Pour les échantillons du lot n°1 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J21 de l'ordre de 1,3 Log UFC/g et à J30 de l'ordre de 2,79 Log UFC/g..

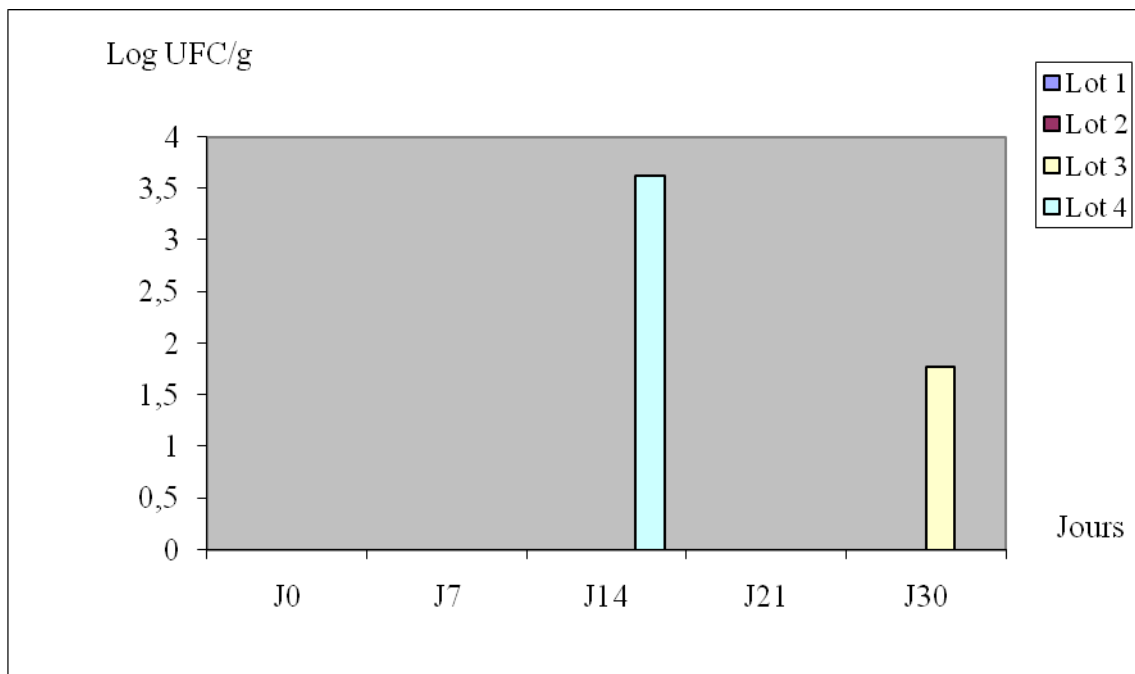
- Pour les échantillons du lot n° 2 et 3 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J21 de l'ordre de 2,81 Log UFC/g 2,27 Log UFC/g respectivement.
- Pour les échantillons du lot n° 4 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à j14 de l'ordre de 3,33 Log UFC/g et une contamination à J30 de l'ordre de 1,59 Log UFC/g.

## 2. Coliformes fécaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment Testage est rapporté dans le tableau 29 et la figure 39 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit.

**Tableau 25:** Valeurs moyennes des CF des lots prélevés au niveau du bâtiment testage.

Age de l'œuf		J0	J7	J14	J21	J30
lot 1	UFC/g	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Log UFC/g	-	-	-	-	-
lot 2	UFC/g	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Log UFC/g	-	-	-	-	-
lot 3	UFC/g	0,00	0,00	0,00	0,00	3,2x10 <sup>1</sup>
	Log UFC/g	-	-	-	-	1,78± 0,25
lot 4	UFC/g	0,00	0,00	2,2x10 <sup>3</sup>	0,00	0,00
	Log UFC/g	0,00	0,00	3,63± 0,21	0,00	0,00



**Figure 39 :** Résultats de la contamination par les CF des lots du bâtiment Testage

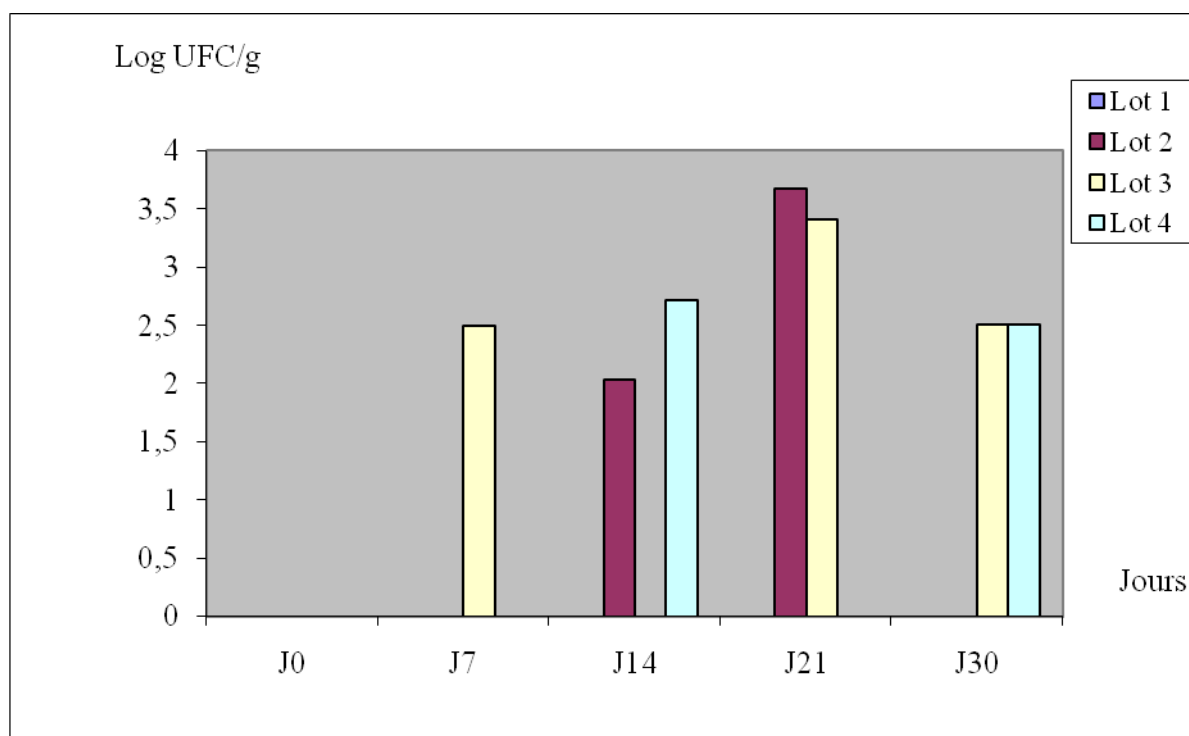
- Pour les échantillons du lot n°1, 2 conservés à température ambiante, les analyses n'ont révélé aucune contamination bactérienne par ce germe.
- Pour les échantillons du lot n°3 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J30 de l'ordre de 1,78 Log UFC/g.
- Pour les échantillons du lot n°4 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J14 de l'ordre de 3,63 Log UFC/g.

### 3. Streptocoques fécaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment Testage est rapporté dans le tableau 30 et la figure 36 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit.

**Tableau 26:** Valeurs moyennes des streptocoques fécaux des lots prélevés au niveau du bâtiment Testage.

Age de l'œuf		J0	J7	J14	J21	J30
lot 1	UFC/g	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Log UFC/g	-	-	-	-	-
lot 2	UFC/g	0,00	0,00	$1,3 \times 10^2$	$3,6 \times 10^3$	0,00
	Log UFC/g	-	-	$2,03 \pm ,051$	$3,67 \pm 0,10$	-
lot 3	UFC/g	0,00	$3,8 \times 10^2$	0,00	$6,5 \times 10^2$	$9 \times 10^2$
	Log UFC/g	-	$2,49 \pm 0,52$	-	$3,41 \pm 0,00$	$2,50 \pm 0,00$
lot 4	UFC/g	0,00	0,00	$8,3 \times 10^2$	0,00	$3,7 \times 10^2$
	Log UFC/g	-	-	$2,71 \pm 0,87$	-	$2,50 \pm 0,58$



**Figure 40 :** Résultats de la contamination par les streptocoques fécaux des lots du bâtiment Testage.

- Pour les échantillons du lot n°1 conservés à température ambiante, les analyses n'ont révélé aucune contamination bactérienne par ce germe.
- Pour les échantillons du lot n°2 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J14 de l'ordre de 2,03 log UFC/g et une contamination à J21 ( $3,67 \text{ Log UFC/g}$ ).

- Pour les échantillons du lot n°3 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J7, J14, J21 et J30 où la contamination la plus élevée est enregistrée pour les œufs de 21 jours d'âge (3,41 Log UFC/g). Or les œufs âgés de 7 et 30 jours présentent des niveaux de contamination proches entre eux qui sont de l'ordre de 2,49 et 2,50 Log UFC/g respectivement.
- Pour les échantillons du lot n° 4 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J14 de l'ordre de 2,71 Log UFC/g et une contamination à J30 de l'ordre de 2,50 Log UFC/g.

### III.2.3.2 Bâtiment ORAC.

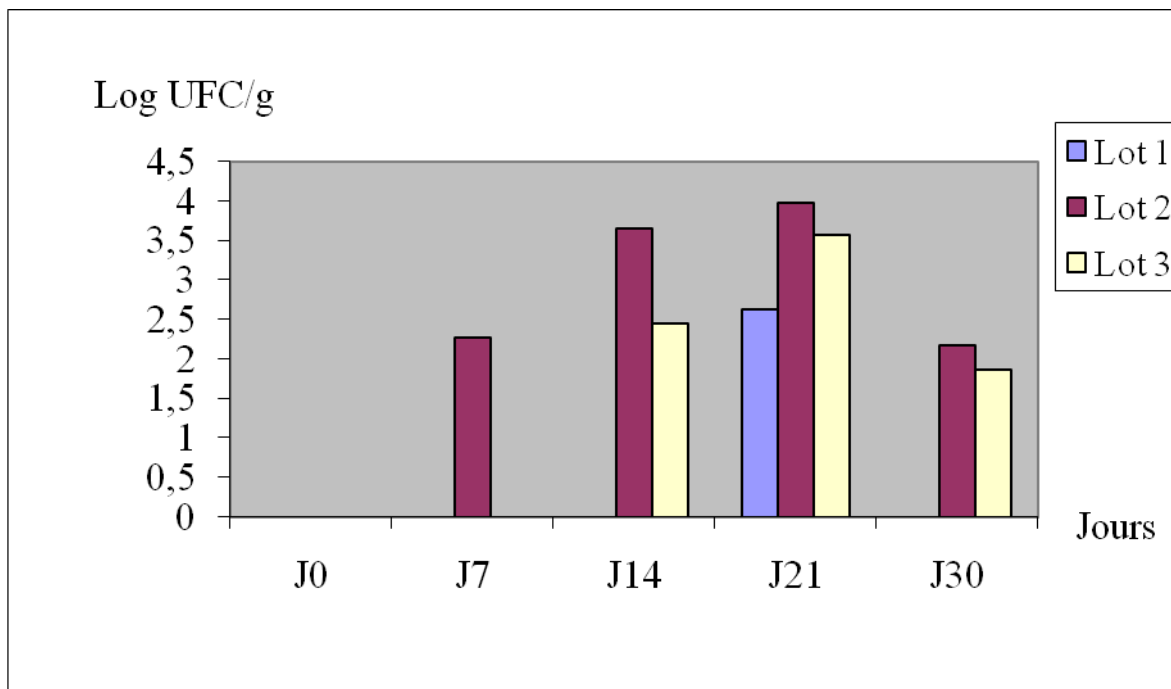
#### 1. Germes totaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment ORAC est rapporté dans le tableau 31 et la figure 37 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit

**Tableau 27:** Valeurs moyennes des GT des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC.

Age œuf	lot 1		lot 2		lot 3	
	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g
J0	0	-	0	-	0	-
J7	0	-	2x10 <sup>2</sup>	2,27 ± 0,16	0	-
J14	0	-	2,3x10 <sup>3</sup>	3,65 ± 0,07	1,1x10 <sup>3</sup>	2,46 ± 1,03
J21	4,8x10 <sup>2</sup>	2,63 ± 0,89	1,1 <sup>4</sup>	3,98 ± 0,26	9,5x10 <sup>2</sup>	3,58 ± 0,00
J30	0	-	5x10 <sup>2</sup>	2,17 ± 1,13	3,2x10 <sup>2</sup>	2,80 ± 0,03





**Figure 41** : Résultats de la contamination par les GT des lots du bâtiment ORAC.

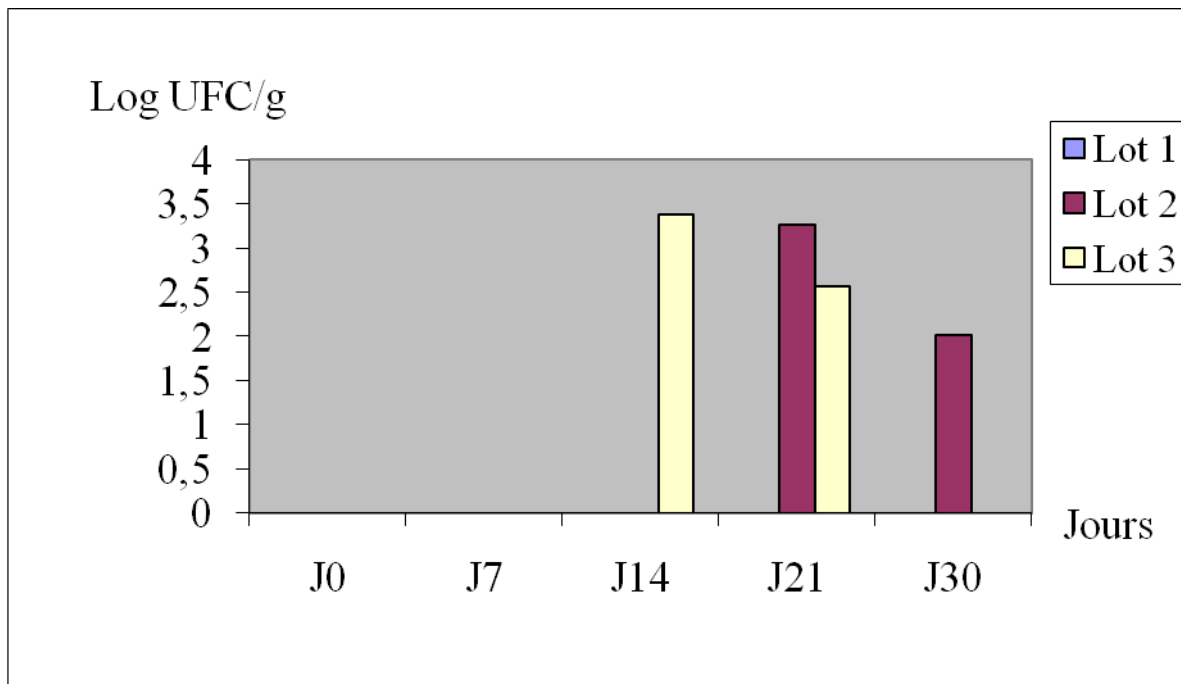
- Pour les échantillons du lot n°1 conservés à température ambiante les analyses ont montré une contamination à J21 de l'ordre de 2,63 Log UFC/g.
- Pour les échantillons du lot n°2 les analyses ont montré une contamination pour les œufs conservés à J7, 14 et 21 avec un pic de contamination pour ces derniers (3,98 Log UFC/g).
- Pour les échantillons du lot n°3 les analyses ont montré une contamination à J14, 21 et 30 tout en notant un pic de contamination pour les œufs conservés pendant 21 jours (3,58 Log UFC/g).

## 2) Coliformes fécaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment ORAC est rapporté dans le tableau 32 et la figure 42 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit.

**Tableau 28:** Valeurs moyennes des coliformes fécaux des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC.

Age œuf	Lot 1		Lot 2		Lot3	
	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g
<b>J0</b>	0	-	0	-	0	-
<b>J7</b>	0	-	0	-	0	-
<b>J14</b>	0	-	0	-	6x10 <sup>2</sup>	3,38 ± 0,00
<b>J21</b>	0	-	3,2x10 <sup>3</sup>	3,26 ± 0,55	1,8x10 <sup>2</sup>	2,56 ± 0,11
<b>J30</b>	0	-	1,1x10 <sup>2</sup>	2,01 ± 0,44	0	-



**Figure 42 :** Résultats de la contamination par les CF des lots du bâtiment ORAC.

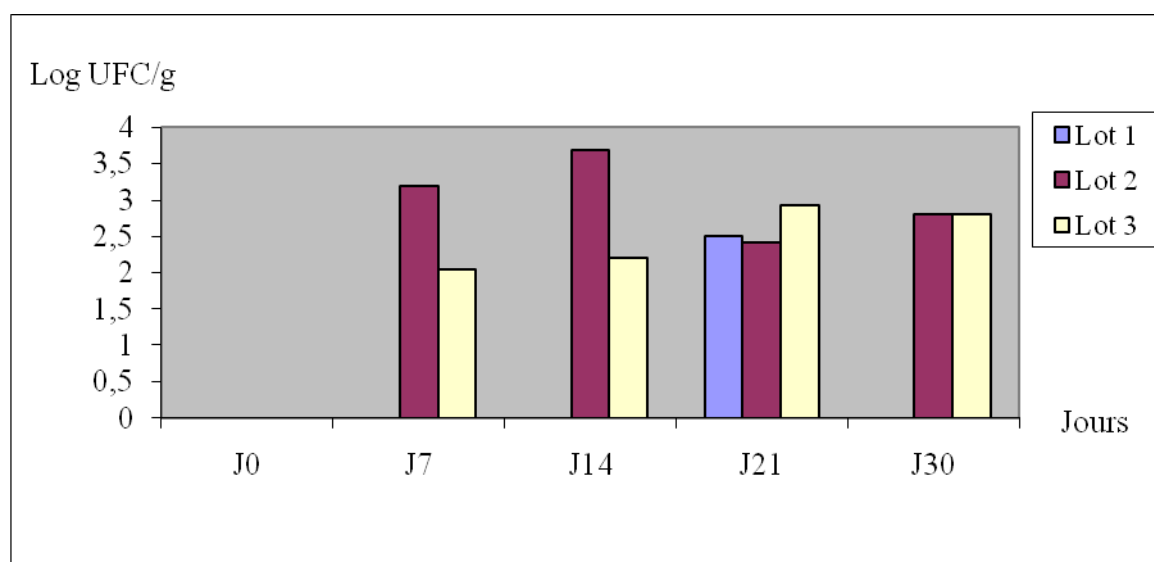
- Pour les échantillons du lot n°1 conservés à température ambiante, les analyses n'ont révélé aucune contamination bactérienne par ce germe.
- Pour les échantillons du lot n°2 les analyses ont montré une plus haute contamination à J14 de l'ordre de 3,38 Log UFC/g.
- Pour les échantillons du lot n°3 les analyses ont montré une contamination élevée à J21 de l'ordre de 3,26 Log UFC/g.

### 3. Streptocoques fécaux.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment ORAC est rapporté dans le tableau 33 et la figure 43 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit.

**Tableau 29:** Valeurs moyennes des streptocoques fécaux des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC.

Conservation	lot 1		lot 2		lot 3	
	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g
J0	0	-	0	-	0	-
J7	0	-	$1,2 \times 10^3$	$3,19 \pm 0,18$	$8,5 \times 10^1$	$2,04 \pm 0,62$
J14	0	-	$2,7 \times 10^3$	$3,68 \pm 0,31$	$4 \times 10^1$	$2,20 \pm 0,00$
J21	$3,9 \times 10^2$	$2,50 \pm 0,54$	$5,1 \times 10^2$	$2,41 \pm 0,70$	$9,3 \times 10^2$	$2,02 \pm 0,88$
J30	0	-	$5 \times 10^2$	$2,17 \pm 1,13$	$3,2 \times 10^2$	$2,80 \pm 0,03$



**Figure 43 :** Résultats de la contamination par les streptocoques fécaux des lots du bâtiment ORAC.

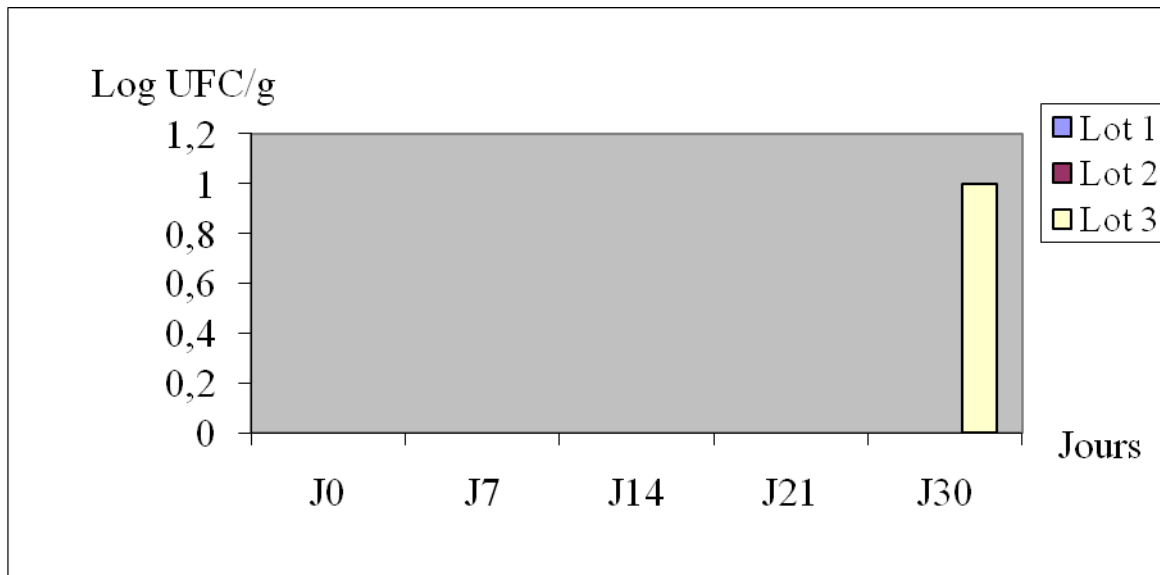
- Pour les échantillons du lot n°1, les analyses ont montré une contamination à J21 de 2,50 Log UFC/g.
- Pour les échantillons du lot N°2 les analyses ont montré une contamination à J7, J14, J21 et J30, avec un pic de contamination pour les œufs conservés pendant 14 jours (3,68 Log UFC/g).
- Pour les échantillons du lot N°3 les analyses ont montré une contamination à J7, J14, J21 et J30, avec un pic de contamination pour les œufs de 21 jours de conservation (2,92 Log UFC/g).

#### 4. Les staphylocoques à coagulase positive.

Le récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des prélèvements réalisés sur œufs prélevés au niveau du bâtiment ORAC est rapporté dans le tableau 34 et la figure 39 les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'UFC/g et de Log UFC/g du produit.

**Tableau 30:** valeurs moyennes des staphylocoques à coagulase positive des lots prélevés au niveau du bâtiment ORAC

Conservation T	lot 1		lot 2		lot 3	
	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g
J0	0,00	-	0,00	-	0,00	-
J7	0,00	-	0,00	-	0,00	-
J14	0,00	-	0,00	-	0,00	-
J21	0,00	-	0,00	-	0,00	-
J30	0,00	-	0,00	-	2,5	1,00 ± 0,00



**Figure 44 :** Résultats de la contamination par les staphylocoques des lots du bâtiment ORAC.

La contamination par les staphylocoques n'a été révélée que pour le lot n°3 et ce uniquement pour les œufs conservés pendant 30 jours. Cependant cette contamination demeure trop faible, elle est évaluée à 1 Log UFC/g

## Discussion

Selon les analyses bactériologiques effectuées sur l'ensemble des œufs prélevés des deux bâtiments (testage et ORAC), nous avons constaté que les œufs prélevés à J0 n'ont révélé aucune contamination bactérienne pour les différents germes dénombrés.

Nos résultats confirment les observations de Mayes et Takeballi, 1983 et Protais et *al*, 2003 qui notent qu'au moment de la ponte, tous les œufs présentent des coquilles, intègres et proviennent de poules saines, sont généralement stériles.

L'augmentation du nombre de micro-organismes avec la durée de conservation (J7, J24, J21) est expliquée par la pénétration des germes à travers la coquille tout en sachant que la coquille et la membrane coquillière contiennent beaucoup de pores par lesquels les bactéries pénètrent avec la facilité modérée (Moran et Haines, 1938).

La formation des pores de diamètre anormalement élevé pourrait également représenter un facteur de contamination rapide des œufs (Bourgeois et *al*, 1990).

Dans une étude d'effet du stockage sur la susceptibilité à l'infection Almaquist et Holst (1931) ont trouvé que la porosité de la coquille était moindre dans les œufs frais mais ça a augmenté avec la longueur du stockage. Haines (1938) a trouvé que les œufs de deuxième qualité ont été pénétrés par des bactéries plus aisément que des œufs de première qualité.

Selon Olive, 1968 l'œuf résiste bien aux contaminations malgré la flore abondante et variée observée sur la coquille, ce qui explique le nombre minime des bactéries trouvées dans les œufs âgés de 30 jours. Ce phénomène peut être expliqué par l'intervention des défenses chimiques et biochimiques tel que l'albumen et son pH alcalin (8-9), le lysozyme, la conalbumine (ovotransferrine), en contribuant à l'appauvrissement du milieu en fer, indispensable à la croissance bactérienne, et en détruisant les parois de certaines bactéries. Ces deux protéines n'expliquent qu'une partie du potentiel antimicrobien. D'autres agents antibactériens présents dans le blanc d'œuf restent à identifier (INRA, 2006).

Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude montrent que les caractéristiques propres de l'œuf exercent une influence décisive sur la durée de conservation des œufs. Bien que les œufs utilisés aient été apparemment intacts à l'œil nu et de même qualité, et qu'ils aient été conservés dans les mêmes conditions de stockage, nous avons observé à la fin de l'expérience une plus ou moins fluctuation de leur contamination à différents âges d'œufs et pour les œufs du même lot. Ce phénomène n'a pas trouvé d'explication claire, mais nous pouvons avancer les hypothèses suivantes:

- Une différence de perméabilité de la coquille;
- Des fissures microscopiques de la coquille;

- Une différence dans l'activité des facteurs inhibant le développement des germes dans le blanc d'œuf (lysozyme).

L'office fédéral de la santé public en 2002 a procédé à des analyses bactériologiques de 10 œufs traités de la même manière, les résultats de ces analyses ont montré des différences parfois considérables entre les œufs en ce qui concerne le nombre de microorganismes.

La recherche de certains germes dans l'œuf montre une contamination par les streptocoques, les coliformes fécaux, et les staphylocoques de façon moindre.

La présence des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux à l'intérieur de l'œuf indique une contamination d'origine fécale (George Daube, 2007). En 2004, Braun et *al*, ont isolé des streptocoques dans des œufs âgés de 10 et 30 jours stockés à 22°C. Aussi en 2004 *Streptocoque α hémolytique* a été isolé à l'intérieur de l'œuf en coquille par l'Institut Pasteur d'Algérie.

Les *Staphylocoques aureus* ont peu de chance de se multiplier dans un œuf en coquille du fait de leur sensibilité à la basicité du lysozyme, retrouvé dans le blanc d'œuf influençant ainsi la viabilité de ces derniers (NG et Garibaldi, 1975), mais également leur sensibilité à la flore compétitive. (ChampeL, 2003).

D'après Mulder et Van der hulst (1973) *Staphylococcus* a pu être isolé à l'intérieur de l'œuf par HaineS en 1964 et par Board en 1964/65. Ce germe a été isolé aussi dans les œufs pourris (Mayes et Takiballi, 1983 ; Board et Tanter, 1986).

Certains auteurs ont noté comme nous la présence de staphylocoque dans l'œuf âgé de 30 jours stockés à 22°C.

L'analyse bactériologique n'a révélé aucune contamination par les salmonelles, la confirmation biochimique de certaines colonies suspectes nous a permis d'identifier certaines souches telles que : *E coli*, *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeroginosa*. Ces mêmes germes ont été isolés par l'institut Pasteur d'Algérie en 2004.

L'analyse statistique n'a donné aucune différence significative entre les œufs prélevés des deux bâtiments ORAC et Testage. Il semblerait que la flore de contamination de l'œuf tend à être indépendante du secteur géographique ou de logement (Mayes et Takeballi, 1983). Ceci indique que les mécanismes de défense intrinsèques de l'œuf influencent le choix des types de contamination (Board et Tranter, 1995).

L'analyse bactériologique des œufs conservés en température ambiante et en température de réfrigération en période d'hiver n'a révélé aucune contamination bactérienne en cette période (sauf exception quelques souches d'*E coli*, *citrobacter* et *prote us* à température ambiante). En revanche, l'analyse bactériologique des œufs conservés en période d'été a révélé une

contamination des œufs stockés à température ambiante et non ceux conservés à température de réfrigération.

Il semblerait que la saison ait un effet sur la contamination de l'œuf, cette observation est confirmée par l'étude de Emery et coll., 1984 qui énonce que l'augmentation de la température provoque une diminution de la qualité de la coquille avec la réduction de son épaisseur de 4.9% ; ce qui facilite la pénétration des germes à l'intérieur de l'œuf ce qui explique la contamination des œufs en période d'été à température ambiante et son absence en période d'hiver. La réfrigération semble donc être un meilleur moyen de conservation en saison estivale.

*CONCLUSION*  
*ET*  
*RECOMMENDATION*



## CONCLUSION

L'œuf de poule est un aliment de base pour une part importante de l'humanité, et sa composition protéique, lipidique, minérale et vitaminique est remarquable quant à sa diversité et sa haute valeur nutritionnelle (Nys, 2001).

Cependant ces qualités nutritives peuvent être altérées si les conditions appropriées de conservation des œufs, notamment de température et d'humidité ne sont pas respectées.

Les risques de toxi-infections liées à la présence de germes susceptibles de se multiplier dans les œufs (essentiellement les salmonelles), nous ont conduit à réaliser cette étude dans le but d'évaluer le niveau de contamination des œufs de consommation et ainsi apprécier le risque encouru par le consommateur.

Le dénombrement des germes sur la surface de l'œuf de consommation par la méthode classique, a concerné les germes totaux, les streptocoques, les coliformes totaux et fécaux, et les staphylocoques à coagulase positive. Tandis que pour la méthode rapide le dénombrement a concerné uniquement les germes totaux, les coliformes totaux, et les *staphylocoques aureus*.

Les résultats de cette recherche bactérienne ont montré une contamination par les streptocoques de  $2,23 \pm 1,13$  Log UFC/cm<sup>2</sup>, par les staphylocoques à coagulase positive de  $2,19 \pm 0,71$  Log UFC/cm<sup>2</sup> et par les coliformes fécaux de façon moindre avec des valeurs de  $2,08 \pm 0,70$  Log UFC/cm<sup>2</sup>, pour la méthode classique. Avec la méthode rapide nous avons relevé une contamination par les coliformes totaux de  $2,35 \pm 1,01$  Log UFC/cm<sup>2</sup> et de  $1,42 \pm 0,83$  Log UFC/cm<sup>2</sup> pour les staphylocoques. A noter l'absence de contamination par salmonella par les deux méthodes. Toutefois, lors de la confirmation des souches suspectées d'être des salmonelles, nous avons pu identifier et confirmer la présence de souches de *E coli*, *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative entre les méthodes rapide et classique. ( $p = 0,16$  pour les germes totaux et  $p=0,06$  pour les coliformes totaux)

La méthode rapide bien qu'étant plus pratique en expérimentation et peu encombrante vu le kit utilisé, reste non concurrente pour la méthode classique, puisque elle nécessite toujours une confirmation biochimique de certaines souches telles que les salmonelles et les *staphylocoques aureus*. Notons également que le coût de la méthode rapide demeure beaucoup plus élevé que celui de la méthode classique. Cependant la méthode rapide peut être utilisée en cas d'urgence et en cas de surcharge de travail.

Les différents germes dénombrés à l'intérieur de l'œuf en plus des germes totaux sont les streptocoques fécaux, les coliformes totaux et fécaux, les staphylocoques à coagulase positive et les salmonelles.

Les œufs conservés en période d'hiver n'ont montré aucune contamination bactérienne à l'exception de quelques souches d'*E coli*, *Citrobacter* et *proteus* dénombrés à température ambiante. En revanche, l'analyse bactériologique des œufs conservés en période d'été a révélé une contamination des œufs stockés à température ambiante mais pas de ceux conservés à température de réfrigération.

Les résultats obtenus lors de l'analyse bactériologique de l'intérieur de l'œuf montrent une absence de contamination à J0 pour les différents germes dénombrés et ce pour les deux bâtiments, durant les deux périodes et aux deux températures de conservation.

Un début de contamination a été relevé à J7 et une augmentation avec la période de conservation (œufs âgés de 14 et 21 jours) pour les différents germes. Bien que la contamination relevée pour les œufs âgés de 30 jours a montré le taux le plus faible par comparaison aux œufs âgés de 14 et 21 jours où l'on enregistre des taux de contamination élevés.

Le dénombrement des différents germes recherchés dans l'intérieur de l'œuf pour l'ensemble des deux bâtiments (Testage et ORAC) en période d'été et à température ambiante, a montré une contamination élevée par les streptocoques, viennent ensuite les coliformes fécaux, et en dernier lieu les staphylocoques.

Le relevé des différents taux de contaminations, des œufs pour les différents lots et à différents âges, a montré que les caractéristiques propres de l'œuf conditionnent de façon déterminante la durée de conservation des œufs.

Il semble que la saison ait un effet sur la contamination de l'œuf, La réfrigération semble donc être un meilleur moyen de conservation en saison estivale.

## RECOMMANDATIONS

### **De façon générale nous recommandons :**

Pour assurer la salubrité alimentaire et lutter efficacement contre les toxi-infections dues aux germes pathogènes dans les œufs et les ovo produits il faudrait prendre une série de mesures préventives en amont et en aval.

- Eviter d'importer des poussins infectés.
- Eviter toute infection des poules apportées par la contamination de l'aliment, de boisson et la litière.
- Effectuer trois analyses d'eau par an dans les poulaillers.
- Respecter les conditions de ramassage des œufs (hygiène et le ramassage quotidien après la ponte).
- La conservation des œufs dans des conditions propres qui ne favorisent pas la multiplication des germes pathogènes jusqu' à des niveaux potentiellement dangereux.

Afin de conserver au moins la qualité initiale de l'œuf obtenue au moment de la ponte, il est vivement conseillé d'entreposer les œufs dans un local propre, aéré, sombre, tempéré dans lequel sont maintenues les conditions suivantes :

- Une température comprise entre 10°C et 15 °C pour limiter les pertes d'eau et de gaz carbonique.
- Un bâtiment isolé thermiquement pour le stockage des œufs s'avère indispensable pour lutter contre les températures élevées de l'été et basses de l'hiver.
- Une humidité relative de 80-85 % pour ne pas affecter l'évaporation.
- Une ventilation appropriée pour éviter les condensations sur les œufs, favorables aux croissances microbiennes.

Enfin pour que toutes ces précautions soient efficaces, elles doivent être mises en œuvre dès que possible après la ponte :

- Eviter de consommer des œufs crus ou insuffisamment cuits.
- Hygiène du matériel et du personnel dans les poulaillers.
- Retirer régulièrement les œufs du poulailler et de les transporter dans des locaux propres, tempérés et désinfectés
- Nettoyer et désinfectés régulièrement l'ensemble des matériels et des bâtiments

**Par rapport à notre expérimentation nous recommandons :**

- Eviter de consommer des œufs crus ou insuffisamment cuits âgés plus de 7jour et conservés à température ambiante.
- Lavage des mains après avoir manipulé des œufs en coquille.
- Mentionner l'âge de l'œuf sur la coquille.

# *ANNEXES*

## Annexe n° 01

### Matériel de laboratoire.

Le matériel utilisé pour l'analyse est le suivant :

- Flacons stériles de 225 ml, 250ml.
- Tubes stériles (tube a essai, tube a hémolyse).
- Pipettes graduées de 01 et 10 ml.
- Pipettes pasteur.
- Pipette de 1000 µl et cônes adaptés.
- Récipients stériles.
- Boîtes de pétri à usage unique.
- Anse en platine.
- Bain marie.
- Stérilisateur (en chaleur sèche et en chaleur humide).
- Incubateurs à 30°C, 37°C, 44°C 35°C.
- Vortex.
- Bec bunsen.
- Lames et lamelles.
- Microscope optique.
- Balance électronique.
- Réfrigérateur.
- Stomacher et sacs stomacher adaptés.
- Sachets de prélèvement.

### II.1.1.3 Milieux et réactifs.

- Milieu gélosé PCA.
- Milieu gélosé VRBL.
- Milieu gélosé Hecktoen.
- Milieu gélosé xylose-lysine-désoxycholate (XLD).
- Milieu gélosé Baird Parker.
- Milieu gélosé Slatetz et Bartley.
- Bile- esculine -azoture (BEA)
- Films gélosés RIDA COUNT.
- Gélose inclinée triple sugar iron (TSI).
- Mannitol mobilité.

- Urée indole.
- Gélose inclinée Citrate de Simmons.
- Lysine décarboxylase (LDC).
- Disques ONPG.
- Bouillon Clark et Lubs.
- Gélose nutritive inclinée.
- Réactif de Kovacs.
- Réactifs VP1 et VP2.
- Réactif rouge de méthyle (RM).
- Huile de Vaseline stérile
- Plasma de lapin.
- Huile à immersion.
- Réactif TDA.
- Eau peptone tamponnée.
- Galeries API 20E.
- Fushine.
- Lugol.
- Alcool.

## Annexe n°02

### Recherche des Salmonelles (norme française de routine NF V 08-52)

La méthode de la recherche des salmonelles est effectuée selon la norme française de routine (Norme NF V 08-52), elle nécessite plusieurs phases successives:

#### A. Pré- enrichissement

- La solution mère est portée à l'étuve à la température de 37°C pendant au moins 16h et au plus 20h.

#### B. Enrichissement

A partir de la culture obtenue après le préenrichissement, 1 ml est transféré dans un tube à essai contenant 10 ml de sélénite cystine (SC), et 0,1 ml dans un tube de 10 ml de Rappaport Vassiliadis (RV). Les deux milieux ensemencés sont incubés de la façon suivante :

- Le milieu RV à 42°C pendant 24h ;
- Le milieu SC à 37°C pendant 24h.

#### C. Isolement

Après la période d'incubation, une goutte de la culture dans le milieu RV est ensemencé par une anse de platine sur la surface des milieux gélosés Hecktoen et XLD coulés préalablement dans des boîtes de pétri.

La même procédure est répétée avec le milieu SC.

Les boîtes sont retournées et placées dans l'étuve à 37°C.

Après 24h d'incubation, les boîtes sont examinées afin de rechercher la présence des colonies caractéristiques de *Salmonella*, si le développement est faible, les boîtes sont réincubées pendant 24 supplémentaires à la même température.

Les colonies caractéristiques des *Salmonella* sont :

- Vertes ou bleues vertes avec ou sans centre noir sur le milieu Hecktoen
- Rouge avec ou sans centre noir sur le milieu XLD.

#### D. Confirmation biochimique

A partir de chaque boîte des milieux d'isolement, deux colonies (au moins) suspectes sont repiquées sur les milieux suivants :



### 1) TSI

A l'aide d'une anse de platine, la pente inclinée du milieu est ensemencée en strie, ensuite le culot et piqué profondément, les tubes ne sont pas fermés hermétiquement pour permettre d'avoir une réaction gazeuse. Les tubes sont ainsi incubés à 37°C pendant 24h.

Les réactions typiques de *Salmonella* spp correspondent à la formation de trois couleurs superposées, une pente rouge (lactose négatif), un culot jaune (Glucose positif), et généralement une couleur noirâtre au centre (formation H<sub>2</sub>S), la formation de gaz se manifeste par la formation d'une bulle latérale ou le décollement du milieu à la base de tube.

### 2) Milieu urée indole

0,5 ml de milieu urée indole est ensemencé par un inoculum raclée de la surface de la pente du milieu TSI à l'aide d'une anse de platine; les tubes sont ensuite portés à l'étuve à 37° Cependant 24h.

**Lecture :** le virage du milieu vers une couleur rouge violacée indique la présence d'une uréase. (La couleur originale du milieu est jaune)

Après 24h d'incubation, quatre à cinq gouttes de réactif de Kovacs sont ajoutées dans le tube ensemencé; la formation d'un anneau rouge à la partie supérieure du milieu indique une réaction indole positive.

### 3) Milieu LDC (Lysine Décarboxylase)

0,5 ml du milieu LDC est ensemencé juste au dessous de la surface de liquide par une goutte d'une suspension bactérienne (une colonie suspecte mise dans environ 5 ml de l'eau physiologique stérile), 3 à 4 gouttes de l'huile de vaseline stérile sont ajoutées dans le milieu pour former une couche superficielle créant des conditions semi anaérobiques.

Un autre tube contenant 0,5 ml du milieu LDC témoin est ensemencé de la même manière.

Les deux tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

**Lecture :** après incubation, une couleur violette sur le milieu LDC indique une réaction positive.

Une couleur jaune indique une réaction négative.

La couleur du milieu témoin doit virer au jaune, si la couleur reste violette, la colonie n'a pas donc développé.

### 4) Milieu pour la réaction de Voges- Proskauer (VP)

Un tube contenant le milieu Clark et Lubs est ensemencé avec 3 à 4 gouttes de la suspension bactérienne préparée dans le test précédent.

Après une incubation de 24h à 37°C, on ajoute 10 gouttes de réactif VP1 et 10 gouttes de réactif VP2.

La formation d'une coloration rose à rouge dans un délai de 15 à 20 minutes indique une réaction positive, dans le cas inverse, la couleur reste inchangée (jaune).

### 5) Milieu Rouge de Méthyle (RM)

Un tube du Clark et Lubs est ensemencé de la même procédure que le test VP, après l'incubation à 37°C pendant 24h, quelques gouttes de réactif RM sont ajoutées.

Une réaction positive est traduite par le virage du milieu vers une couleur rosâtre.

### 6) Milieu Citrate de Simmons

La surface du milieu est ensemencée par une goutte de la suspension bactérienne, l'incubation est de 24h à 37°C. La réaction positive se manifeste par un virage vers le bleu.

### 7) Test $\beta$ -Galactosidase (ONPG)

Un disque ONPG est mis dans la suspension bactérienne restante de l'ensemble des tests précédents. Le tube est porté à l'incubation à 37°C pendant 24h.

L'apparition d'une couleur jaune indique une réaction positive.

### Interprétation des tests biochimiques

Les salmonelles donnent en général les réactions indiquées dans le tableau suivant:

Interprétation des tests biochimiques

Essais	Réaction	Exceptions
Glucose	+	-
Lactose	-	-
Formation de gaz	+	S.Typhi est anaérogène
H <sub>2</sub> S	-	-
Uréase	-	-
Indole	-	-
VP	-	-
RM	+	-
ONPG	-	Les souches de <i>S. arizonae</i> et <i>S. salamae</i> sont ONPG +
Citrate de Simmons	+	-
LDC	+	-

Les colonies suspectes présentant les critères cités dans le tableau sont conservées sur la gélose nutritive inclinée après une incubation de 24h à 37°C.

### h) Galerie biochimique miniaturisée

Les galeries de type api 20E (Biomérieux) sont utilisées, 20 tests biochimiques sont étudiés pour avoir le plus de caractères possibles de manière à identifier de façon plus certaine les différentes entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.

La galerie api 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisant par des virages colorés spontanés, ou révélés par addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture d'identification qui est obtenu avec le catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

**Préparation et inoculation de la galerie :**

Une atmosphère humide est créée par la répartition d'environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles.

Les micro-tubes sont ensuite inoculés avec une suspension bactérienne préparée à l'aide d'une seule colonie fraîche, bien isolée sur un milieu gélosé, mise dans 5 ml de l'eau physiologique stérile, et homogénéisée soigneusement.

- Les tubes et les cupules des tests CIT, VP, et GEL sont remplis avec la suspension bactérienne.
- Uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests sont remplis.
- Les cupules des tests ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE, sont remplis par l'huile de vaseline stérile pour créer une anaérobiose.









































Les galeries sont ensuite portées à l'incubation pendant 18 à 24 h à 37°C.

**Lecture :** Après la période d'incubation, toutes les réactions spontanées sont notées sur la fiche des résultats.

Les tests TDA, IND, et VP, nécessitent l'addition de réactifs :

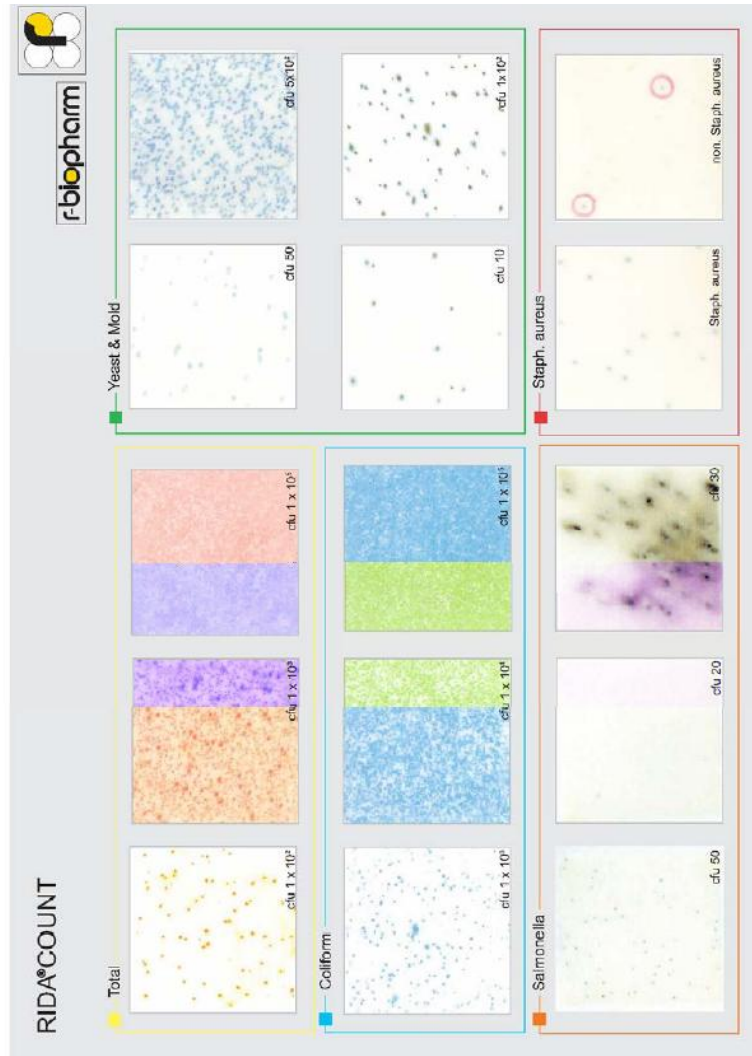
- Le test TDA : Une goutte de réactif TDA est ajoutée.
- Le test IND : Une goutte de réactif Kovacs est ajoutée.
- Le test VP : ajouter une goutte de chacun des deux réactifs VP1 et VP 2.

## Lecture de la galerie miniaturisée api 20 E

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Résultat positif	Résultat négatif
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactosidase	B-galactosidase		
ADH	Arginine	Arginine déshydrogénase		
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase		
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase		
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate		
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S		
URE	Urée	Uréase		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		
IND	Tryptophane	Production d'indole		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne		
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase		
GLU	Glucose	Fermentation/ oxydation		
MAN	Mannitol	Fermentation/ oxydation		
INO	Inositol	Fermentation/ oxydation		
SOR	Sorbitol	Fermentation/ oxydation		
RHA	Rhamnose	Fermentation/ oxydation		
SAC	Saccharose	Fermentation/ oxydation		
MEL	Melibiose	Fermentation/ oxydation		
AMY	Amygdaline	Fermentation/ oxydation		
ARA	Arabinose	Fermentation/ oxydation		

# Annexe n° 03

## Interprétation générale des résultats (Méthode rapide)



## Tableau de numération

Ce document aide au calcul du nombre total de colonies sur le film gélosé, à partir du comptage d'une zone délimitée de carrés.

En effet, si vous rencontrez des difficultés à compter une quantité trop grande de colonies, il est possible de ne compter que les colonies d'une partie du film seulement. Lisez ensuite le nombre correspondant à la surface totale égale à 20 cm<sup>2</sup>, en vous reportant au tableau ci-dessous.

Exemple :

Quantité de colonies dénombrées dans 3 carrés : 40

A l'aide du tableau le calcul du nombre total de colonies sur les film (20 cm<sup>2</sup>) est de 267.

Squares	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
10	200	100	67	50	40	33	29	25	22	20	18	17	15	14	13	13
20	400	200	133	100	80	67	57	50	44	40	36	33	31	29	27	25
30	600	300	200	150	120	100	86	75	67	60	55	50	46	43	40	38
40	800	400	267	200	160	133	114	100	89	80	73	67	62	57	53	50
50	1000	500	333	250	200	167	143	125	111	100	91	83	77	71	67	63
60	1200	600	400	300	240	200	171	150	133	120	109	100	92	86	80	75
70	1400	700	467	350	280	233	200	175	156	140	127	117	108	100	93	88
80	1600	800	533	400	320	267	229	200	178	160	145	133	123	114	107	100
90	1800	900	600	450	360	300	257	225	200	180	164	150	138	129	120	113
100	2000	1000	667	500	400	333	286	250	222	200	182	167	154	143	133	125

## Annexe n° 04

**Tableau 1:** Résultats de l'utilisation des sucres sur TSI.

N ° d'identification de l'échantillon	Glucose	Saccharose	Lactose	H2S	gaz
11	+	+	-	+	+
14	+	+	-	+	+
25	+	+	-	+	+
30	+	+	-	+	+
30	+	+	-	+	+
31	+	+	-	+	+
32	+	+	-	+	+
33	+	+	-	+	+
35	+	+	-	+	+
50	+	+	-	+	+
56	+	+	-	+	+
71	+	+	-	+	+

**Tableau 2 :** Résultats des tests à l'uréase utilisés pour la recherche des salmonelles.

N ° d'identification de l'échantillon	uréase	interprétation
11s	+	absence
14s	+	absence
25s	+	absence
30s	+	absence
30s	+	absence
31s	+	absence
32s	+	absence
33s	+	absence
35s	+	absence
50s	+	absence
56s	+	absence
71s	+	absence

**Tableau 3 :** Résultats de l'utilisation des sucres sur gélose TSI des souches suspectes d'être des *E Coli*.

N ° d'identification de l'échantillon	Glucose	Saccharose	Lactose	H2S	Gaz
9	+	+	+	-	+
12	+	+	+	-	+
14	+	+	+	-	+
15	+	+	+	-	+
17	+	+	+	-	+
19	+	+	+	-	+
20	+	+	+	-	+
22	+	+	+	-	+
23	+	+	+	-	+
30	+	+	+	-	+
31	+	+	+	-	+
36	+	+	+	-	+
43	+	+	+	-	+
48	+	+	+	-	+
49	+	+	+	-	+
64	+	+	+	-	+
65	+	+	+	-	+
66	+	+	+	-	+
72	+	+	+	-	+
73	+	+	+	-	+
76	+	+	+	-	+

**Tableau 4:** Résultats des différents tests biochimiques de confirmation utilisés pour la recherche des *E .Coli*.

N ° d'identification de l'échantillon	Uréase	Indole	TDA	interprétation
9	+	NE	NE	Absence
12	+	NE	NE	Absence
14	+	NE	NE	Absence
15	+	NE	NE	Absence
17	+	NE	NE	Absence
19	+	NE	NE	Absence
20	+	NE	NE	Absence
22	-	-	-	Absence



<b>23</b>	+	NE	NE	Absence
<b>30</b>	+	NE	NE	Absence
<b>31</b>	+	NE	NE	Absence
<b>36</b>	+	NE	NE	Absence
<b>37</b>	+	NE	NE	Absence
<b>43</b>	+	NE	NE	Absence
<b>48</b>	-	+	-	Suspicion E Coli
<b>49</b>	-	-	-	Absence
<b>64</b>	+	NE	NE	Absence
<b>65</b>	+	NE	NE	Absence
<b>66</b>	+	NE	NE	Absence
<b>72</b>	+	NE	NE	Absence
<b>73</b>	+	NE	NE	Absence
<b>76</b>	+	NE	NE	Absence

**NE** : Test non effectué

**+** : test positif.

**-** : test négatif.

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

- 1) AFSSA., 2000. Rapport de la commission *Listeria* de l'AFSSA.
- 2) AMARA MADI F.Z., MERZOUK N., REZINZE M.W, 2006. Qualité bactériologique des œufs et des ovo produits au niveau de la wilaya d'Alger, Ecole mémoire de fin d'étude. P20.
- 3) ANONYMOUS, 2000. Rapport de la commission d'étude des risques liés à *Listeria monocytogenes*. Maisons-Alfort: AFSSA, P 144.
- 4) AUDE C., 2002. Réglementations et conséquences socio-économiques en élevage de poules pondeuses d'œufs de consommation. Université Claude- Bernard. Lyon.
- 5) BAILEY J.S., COX N.A., CRAVEN S.E., COSBY D.E., 2002. Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations. *J. Food Prot.*, **65**, PP 742-745.
- 6) BAKER, 1974. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, P120.
- 7) BARON F., GAUTIER M., BRULE G., 1997. Growth inhibition of *Salmonella* Enteritidis in liquid egg white. In: *Salmonella and salmonellosis proceedings*, PLOUFRAGAN.
- 8) BARON F, JAN S., GAUTIER M., JEANTET R., GUERIN C., NAU F., 2007. Activité anti-microbienne du blanc d'œuf de poule : Identification des systèmes moléculaires et des cibles physiologiques impliquées Champs thématiques : MICA, CT3 et CEPIA, CT1.INRA.
- 9) BARON F., 1998. Etude du comportement de *Salmonella enteritidis* dans le blanc d'œuf. PhD thesis, ENSA Rennes, France, P120.
- 10) BARROW P.A., LOVELL M.A., 1991. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* enteritidis phage type 4. *Avian Pathol.*, 1991, **20**, PP 335-348.
- 11) BEH n°32, 1992. Une toxi-infection alimentaire collective à **Salmonella enteritidis** liée à la consommation d'œufs crus en 1991 In : *MMWR* ., 1992, col 41, n°21
- 12) BEH n° 23, 2002. In : PUJOL-DUPUY C., 2004. Accidents alimentaires d'origine bactérienne liés à la consommation de laits et produits laitiers à AVIGNON. Université Claude-Bernard - Lyon I. P51.
- 13) BELLATIF M. F., 1994. Etude expérimentale de la colonisation du poulet par *Salmonella enteritidis* Type Phagique 4; Thèse microbiologie, Faculté de Poitiers.
- 14) BENSON C.E., KELLER L. H., 1998. Characterization of chicken infection with *salmonella enteric a* serovar enteritidis. In : *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and Control edited by Saeed A.M., *et al.*, P 464.

- 15) BERCHIERI A., BARROW P.A., MURPHY C.K., 1997, Vertical transmission of *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum* and *S. Enteritidis* in commercial brown-egg layers. In: Salmonella and salmonellosis proceedings, Ploufragan, PP 293-294.
- 16) BERRANG M.E., FRANK J.F., BUHR R.J., BAILEY J.S., COX N.A., 1999. Eggshell membrane structure and penetration by *Salmonella Typhimurium*. *J. Food Protect.*, 62, PP 73-76.
- 17) BICHLER L.A., NAGARAJA K.V., HALVORSON D.A. 1996. *Salmonella enteritidis* in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 57, PP 489-495.
- 18) BLONDELET E.D.C., 2001. *Salmonella typhimurium* DT104 : bactériologie, épidémiologie, antibiorésistance. la faculté de médecine de Créteil, p 4.
- 19) BOARD R.G., AYRES J.C., KRAFT A.A. and FORSYTHE R.H., 1964. The microbiological contamination of egg shells and egg packaging materials. *Poultry Science* 43, PP 584-594.
- 20) BOARD, 1966. la coquille de l'œuf de consommation. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris.
- 21) BOARD R.G., 1977. The microbiology of eggs, Egg science and technology, Edited by Stadelman, Avi Publishing company, Westport, PP49-64.
- 22) BONHOMME B.R., 2003. Etude de la contamination des milieux internes de l'œuf par salmonella stéréotype enteritidis, La faculté de Médecine de Créteil page PP 79-90, 74.
- 23) BOURGEOIS C. M., MESCLE J. F., ZUCCA J. Lavoisier Tec et Doc. PP 62- 88.
- 24) BOUVET P., 1995. Salmonelles et salmonelloses en France, In: Moll et Moll : sécurité alimentaire du consommateur. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, PP 2-19.
- 25) BRACKETT et BEUCHAT 1992. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, P121.
- 26) BRAUN, P., FEHLHABER, K. ; WICKE, A., 1999. Salmonella, World Poult. Special: PP 23-24.
- 27) BRISABOIS A., FREMY S., GAUCHARD F., GONCALVES M., LAILLER R., MOURY F., OUDART C., PIQUET C., PIRES GOMES C., 2001. *Inventaire des Salmonella* 1999. Paris, Afssa.
- 28) Bulletin d'information en maladies transmissibles, 1997. Volume 3, numéro 9 juillet-août 1997.
- 29) CASIN I., BREUIL J., BRISABOIS A., MOURY F., GRIMONT F. et COLLATZ E, 1999. Multidrug-resistant human and animal *Salmonella typhimurium* isolates : In France

- belong predominantly to a DT104 clone with the Chromosome- and Integron-encoded  $\beta$ -lactamase PSE-1. *J. Infect. Dis.*, 179, 1173-1182.
- 30) CASTAGNOS S., 2003. Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (AVIGUARD©) contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest l'Université Paul-Sabatier de Toulouse, PP 23-24.
  - 31) CLAY C.E., BOARD R.G., 1991, Growth of *Salmonella enteritidis*. In artificially contemned hens' shell eggs. *Epidemiol. Infec.*; 106, PP 271-281.
  - 32) D'AOUST J. Y., 2001. *Salmonella*. In : Guide to food borne pathogens. LABBAE. R.G., GARCIA. S. Edition W. IEEE. PP 163- 192.
  - 33) D'ARGENIO P., ROMANO A., AUTORINO F., 1999. Epidémie d'infections à *Salmonella enteritidis* associée à un gâteau avec glaçage. *Eurosurveillance*, 4, 2, PP 24-26.
  - 34) DAUBE G., 2007. Technologie, Sécurité et Qualité des Aliments Applications de l'analyse microbiologique (Cours 25). Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire Microbiologie des Denrées Alimentaires.
  - 35) DAVIES R.H., HINTON M.H, *Salmonella* in animal feed. In : Wray, A., Wray, C. (eds.), *Salmonella* in domestic animals. CAB International : Oxford, 2000, PP 285-300.
  - 36) DE BUCK J., VAN IMMERSSEEL F., HAESEBROUCK F., DUCATELLE R., 2004. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *J. Appl. Microbiol.* 2004b, PP 97, 233-245.
  - 37) DE LOUVOIS J, 1993. *Salmonella* contamination of eggs; *Lancet*, PP 342, 366-367.
  - 38) DE LOUVOIS J., 1993. *Salmonella* contamination of eggs: a potential source of human salmonellosis: a report of the public Health Laboratory Service survey of imported and home-produced egg. *PHLS Microbiol. Dig.*, 1993, 10, PP158-162.
  - 39) DENNAÏ N., KHARRATI B., EL YACHIOUI M., 2001. Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 145 : PP 270- 274.
  - 40) DE REU K., GRIJSPEERDT K., HEYNDRICKX M., ZOONS J., DE BAERE K., UYTENDAELE M., DEBEVERE J. and HERMAN L., 2005b. Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems for laying hens. *British Poultry Science* 46: PP 149-155
  - 41) DE REU K., GRIJSPEERDT K., HERMAN L., HEYNDRICKX M., UYTENDAELE M., DEBEVERE J., PUTIRULAN F.F. and BOLDER N.M, 2006a. The effect of a

- commercial UV disinfection system on the bacterial load of shell eggs. *Letters in Applied Microbiology* 42: PP 144-148.
- 42) DE REU K., HEYNDRIKX M., GRIJSPEERDT K., RODENBURG B., TUYTTENS F., UYTENDAELE M., DEBEVERE J. and HERMAN L., 2006g. Assessment of the vertical and horizontal aerobic bacterial infection of shell eggs. *World's Poultry Science Journal* 62 (supplement): P 564.
- 43) DE REU K., HEYNDRIKX M., GRIJSPEERDT K., RODENBURG B., TUYTTENS F., UYTENDAELE M., DEBEVERE J. and HERMAN L., 2007a. Estimation of the vertical and horizontal bacterial infection of hen's table eggs. XVIII European symposium on the quality of poultry meat & XII European symposium on the quality of eggs and egg products - Conference proceedings, Prague, Czech Republic: PP 55-56.
- 44) DE REU<sup>1</sup> K., MESSENS<sup>1</sup> W., HEYNDRIKX<sup>1</sup> M. T.B. RODENBURG<sup>2</sup>, UYTENDAELE<sup>3</sup> M. and HERMAN L., 2008. Bacterial contamination of table eggs and the influence of housing systems. In : *World's Poultry Science Journal, Vol. 64, March 2008* .2, PP 9-12.
- 45) EDEBERG S.G., RICE EW., KARLIN R.G., et MJ, ALLEN, 2000. In : fiche coliformes totaux Institut national de santé public Québec, 2003. P 1.
- 46) EFSA., 2005. Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques relatif aux risques microbiologiques associés au lavage des oeufs de table.
- 47) ELGROUD R., 1999. Appréciation de l'hygiène globale de l'abattoir de Constantine par l'évaluation de la contamination superficielle des carcasses bovines .Thèse de Magistère. Université de Constantine. P 81.
- 48) EMERY et coll., 1984 In : Recherche scientifique et développement des pays africains. 2005.
- 49) ERICKSON et JENKINS, 1992. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, p .121.
- 50) EUZEBY J.P., 1997, Les salmonelles et les salmonelloses aviaires dues aux sérovars ubiquistes. In : *Revue Méd. Vêt.*, **148**(1): PP 61-76.
- 51) FENARRDJI F., 1990. Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie. CIHEAM Options Méditerranéennes Sér. A n°7, PP253- 261.
- 52) FOEGEDING et STANLEY, 1990. In: THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, P121.
- 53) GARBER L., SMELTZER M., FEDORKA-CRAY P., LADELY S., FERRIS K., 2003. *Salmonella enterica* serotype enteritidis in table egg layer house environments and in mice in U.S. layer houses and associated risk factors. *Avian Dis.*, 2003. 47, PP 134-142.

- 54) GENTRY R.F. and QUARLES C.L., 1997. The measurement of bacterial contamination on eggshells. *Poultry Science* 51: PP 930-933.
- 55) GLEDEL. J, 1996. Le genre *Salmonella*. In : Microbiologie alimentaire. Tome 1: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. BOUGEOIS. C. M., MESCLE. J. F., ZUCCA. J. Lavoisier Tec et Doc. PP 62- 88.
- 56) GOULET V., ROCOURT J., JACQUET C.H., VAILLANT V., LAURENT E., DE VALK H., 2003. Surveillance de la listériose humaine en France en 2000. In: Surveillance nationale des maladies infectieuses 1998 - 2000. Saint-Maurice: InVS. PP 137-139.
- 57) GRADEL K.O., RATTENBORG E, 2003. A questionnaire-based retrospective field study of persistence of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in : Danish broiler houses. *Prev. Vet. Med.*, 2003. pp . 56. PP 267-284.
- 58) GRAULOU D et SASLAWSKI C., 2004 /2005, l'œuf, TPE. Lycee La Merci, Montpellier
- 59) GUARD-PETTER J., HENZLER D.J., RAHMAN M.M., CARLSON R.W., 1997. On-farm monitoring of mouse-invasive *Salmonella enterica* serovar enteritidis and a model for its association with the production of contaminated eggs. *Appl. Environ. Microbiol*, 63.PP 1588-1593.
- 60) HAEGHEBAERT S et al, 1998. bulletin épidémiologique hebdomadaire N° spécial ; 1998 : 36-39. In : Manuel de bactériologie alimentaire 1998.
- 61) HALD B., OLSEN A., MADSEN M., 1998 . *Typhaea stercorea* (Coleoptera: Mycetophagidae), a carrier of *Salmonella enterica* serovar Infantis. In a Danish broiler house. *J. Econ. Entomol.*, 91, PP 660-664.
- 62) HARRY, 1963. In: Bacterial contamination of table eggs and the influence of housing systems.
- 63) HARRY E.G., 1963. The relationship between egg spoilage and the environment of the egg when laid. *British Poultry Science* 4 : PP 91-100.
- 64) HAEGHEBAERT S. et SULEM P., 2002. Deux épidémies de salmonellose à *Salmonella enteritidis* lysotype PT8 liées à la consommation de Cantal au lait cru. Aveyron, Cantal, Lot. Saint- Maurice. P33.
- 65) HINCKE M.T., 1995. *Connect. Tissue Res.*, 31. PP 227-233.
- 66) HOLMBERG et BLAKE, 1984. In : microbiologie alimentaire tome1 aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Lavoisier 1989. p 72.

- 67) HUMBERT F., 1992. Salmonelles et filières avicoles : aspects épidémiologiques et incidence sur la santé publique. *Point vétérinaire*, 24. PP 207-214.
- 68) HUMBERT F., 1995. *Salmonella enteritidis* peut-elle être transmise verticalement au poussin ? , Filières avicoles, P 36.
- 69) HUMBERT F. et SALVAT G., 1997. Risques de transmission des salmonelles en aviculture : Détection et prévention en Europe. Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz., 16: PP 83-90.
- 70) HUMBERT F., 1998. Les Salmonelles. In: Manuel de bactériologie alimentaire : SUTRA L., FEDERIGHI M., JOUVE J.L. Polytechnica. PP 27- 52.
- 71) HUMPHREY T.J., BASKERVILLE A., CHART H., ROWE B., WHITEHEAD A., 1991. *Salmonella enteritidis* PT4 infection in specific pathogen free hens: influence of infecting dose, *Veterinary record*. 129: PP 482-485.
- 72) HUMPHREY T.J., 1994. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis* : a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994. 21. PP 31-40.
- 73) JAVED T., HAMEED A., SIDDIQUE M., 1994. Egg shell penetration tendency of different *Salmonella* serotypes by attached ring color method. *Acta Microbiol. Pol.*, 43. PP 67-72.
- 74) JAY J. M., LOESSNER M. J., GOLDEN D. A., 2005. Modern food microbiology. Seventh edition. Food Science Text Series. Springer Edition. P 790.
- 75) JOHNSON. S. M., DODD. C. E. R., TINKER. D. B., 2003. Microbial surveillance of bovine and ovine carcasses .In: Routes of enteric micro organism contamination of beef and lamb carcasses and improved intervention measures. In: TINKER. D. B., WHITE. R. T., DODD. C. E. R., JOHNSON. S. M., REID. C. A., BUNCIC. S., 2003. Technical Report M01006; FSA News Editor, 2003. P 63.
- 76) JOHNSON E.A., 1994. Egg white lysozyme as a preservative for use in foods. *In Egg uses and processing technologies, new developments*, Sim and Nakai Eds, CAB Int., Oxon, UK, PP 177-191.
- 77) KORSACK N., CLINQUART A., DAUBE G, 2004. *Salmonella spp.* dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique *Annales de Médecine Vétérinaire*. 148: PP 174- 193.
- 78) LE BOUCHER, 1999. In : CASTAGNO S., 2003. Contribution a l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (aviguard©) contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest. P19.
- 79) LIEBANA E., GARCIA-MIGURA L., CLOUTING C., CLIFTON-HADLEY F.A., BRESLIN M., DAVIES R.H., 2003. Molecular fingerprinting evidence of the



- contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella enteritidis* infection in layer farms. *J. Appl. Microbiol.*, 2003. 94, PP1024-1029.
- 80) Lock J.L., Board R.G., 1992. Persistence of contamination of hen's egg albumen in vitro with *Salmonella* serotypes. *Epidemiol. Infect.*, 108: PP 389-396.
- 81) MALLET S., GUESDON V., AHMED A. M. H., 2005. Hygiène des oeufs pondus dans deux modèles de cages aménagées. Nys Yves INRA Station de Recherches Avicoles 37380 NOUZILLY France. In : Sixièmes journées de la Recherche Avicole, St Malo, Mars 2005.
- 82) Matthes, 1985. In : SAUVEUR B., 1991. Mode d'élevage des poules et qualité de l'œuf de consommation. INRA, Station de Recherches Avicoles. pp . 128-129.
- 83) MAYES ET TAKEBALLI, 1974. la coquille de l'œuf de consommation. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris.
- 84) MAYES F.J. and TAKEBALLI M.A. , 1983. Microbial contamination of the hen's egg: A review. *Journal of Food Protection* 46: PP 1092-1098.
- 85) MINOR et MARTH, 1976. In : microbiologie alimentaire tome 1 aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Lavoisier 1989. pp .67-68.
- 86) MIYAMOTO T., BABA E., TANAKA T., SASAI K., FUKATA T., ARAKAWA A , *Salmonella enteritidis* contamination of eggs from hens inoculated by vaginal, cloacal and intravenous routes. *Avian Dis.*, 1997. 41. PP 296-303.
- 87) MIYAMOTO T., HORIE T., BABA E., SASAI K., FUKATA T., ARAKAWA A, *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. *J. Food Protect.*, 1998. 61, PP 350-353.
- 88) MOLL M., MOLL N., 2002. Sécurité alimentaire du consommateur 2<sup>ème</sup> édition. Edition Tec et Doc., Paris, P 442.
- 89) MOORE et MADDEN, 1993. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris. P 121.
- 90) NAKAMURA M., NAGAMINE N., NORIMATSU M., SUZUKI S., OHISHI K., KIJIMA M., TAMURA Y., SATO S., 1993. The ability of *Salmonella enteritidis* isolated from chicks imported from England to cause transovarian infection.
- 91) NG et GARIBALDI ,1975. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, P 120.
- 92) NOTERMANS et al, 1991. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, P 121.

- 93) NORRUNG B., 2000. Microbiological criteria for *Listeria monocytogenes*. In: Foods under special consideration of risk assesment approaches. Int. J. Food Microbiol, 62, PP 217-221.
- 94) NYS, 1990. THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994, L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris.
- 95) NYS Y., SAUVEUR S., 2004. Valeur nutritionnelle des œufs, INRA production animale.
- 96) Nys Y., Gautron J., Garcia-Ruiz J.M., Hincke M.T. 2004. C.R. Palevol, 3, 5. PP 49-562.
- 97) OKAMURA M., KAMIJIMA Y., MIYAMOTO T., TANI H., SASAI K., BABA E, Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. *Avian Dis.*, 2001 .45. PP 61-69.
- 98) OKAMURA M., MIYAMOTO T., KAMIJIMA Y., TANI H., SASAI K., BABA E, Differences in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in intravaginally inoculated hens and in vitro adherences to vaginal explants between *Salmonella enteritidis* and other *Salmonella* serovars. *Avian Dis.*, 2001b, 45. PP 962-971. In *Ann. Méd. Vét.*, 2005. PP 149, 34-48.
- 99) OLSEN A.R., HAMMACK T.S., 2000. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. *J. Food Protect.*, pp . 63, 958-960.
- 100) ORLANDINI, 1999. Les bactéries pathogènes à l'origine d'accidents alimentaires en France: rappels généraux et méthodes de détection rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, P 185.
- 101) OUMOKHTAR B., KARIB H., BOUCHRITI N., ARABA A., 1998. Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattus dans les abattoirs de Rabat. Actes de l'Institut Agronomique et Vétérinaire (Maroc). 18(3) : PP 169- 176.
- 102) PORTALIER, 2002. *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers, étude bibliographique. Thèse de Doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 133. In : PUJOL-DUPUY C., 2004. accidents alimentaires d'origine bactérienne lies à la consommation de laits et produits laitiers à AVIGNON. UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I.
- 103) PROTAIS J., QUEGUINER S., BOSCHER E., PIQUET J.C., NAGARD B. and SALVAT G., 2003a. Effect of housing system on the bacterial flora in the air and on egg shells. Xth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products - Conference proceedings, Saint-Brieuc, Ploufragan, France. PP142-149.

- 104) PROTAIS J., QUEGUINER S., BOSCHER E., PIQUET J.-C., NAGARD B, and SALVAT G., 2003b. Effect of housing system on the bacterial flora of the air. *British Poultry Science* 44: PP 778-779, 788-789.
- 105) PROTAIS J., QUEGUINER S., BOSCHER E., PIQUET J.-C., NAGARD B. ET SALVAT G., 2003, Incidence du système d'élevage sur la flore aérobique mésophile des coquilles d'oeufs de consommation.
- 106) QUARLES C.L., GENTRY R.F. and BRESSLER G.O., 1970. Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. *Poultry Science* 49: PP 60-66.
- 107) RENWICK S. A., IRWIN R. J., CLARKE R. C., McNAB W. B., POPPE C., MCEWEN S.A. Epidemiological associations between characteristics of registered broiler chicken flocks in Canada and the *Salmonella* culture status of floor litter and drinking water. *Can. Vet. J.*, 1992, 33, PP 449–458.
- 108) RODRIGUE D.C., TAUXE R.V., ROWE B. International increase in *Salmonella enteritidis* : a new pandemic? *Epidemiol. Infect.*, 1990, 105, PP 21-27.
- 109) ROSE N., MARIANI J.P., DROUIN P., TOUX J.Y., BEAUDEAU F., COLIN P., 1999. Facteurs de risques d'introduction et de persistance de *Salmonella* dans les élevages de poulets de chair, In : 3eme journées de la recherche avicole.
- 110) ROSSEL R., LE ROUX A., MINVIELLE B., 2002. Contamination en Salmonelles des camions de transport de porcs charcutiers et des porcheries d'attente à l'abattoir. *Journal Technical Porc.* 25 (2): PP 27- 31.
- 111) ROSSET R., 1982b. Etat des animaux avant l'abattage. Hygiène et technologie de la viande fraîche. CNERNA. PP 29- 32.
- 112) SALTON M.J.R., 1957. The properties of lysozyme and its action on micro-organisms. *Bacteriol. Rev.*, 21.PP 82-98.
- 113) SAUTER E.A., PETERSEN C.F., 1969. The effect of egg shell quality on penetration by *Pseudomonas fluorescens*. *Poult. Sci.*, 48: PP1525-1528.
- 114) SAUVEUR B., 1988. Reproduction des volailles et production d'œufs. INRA, P449.
- 115) SAUVEUR B., 1988. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994, L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris.
- 116) Schoeni, J. L., Glass., Glass, K. A., Mcdermott, J. L. & Wong, A. C., 1995. *Int. J. Of Food Microbiol.*, 24, PP 385-396.

- 117) SCHUTZE G.E., FAWCETT H.A., LEWNO M.J., FLICE E.L., KIRBY R.S. Prevalence of *Salmonella enteritidis* in poultry shell eggs in Arkansas. *South Med. J.*, 1996, **89**, PP 889-891.
- 118) SKOV M.N., SPENCER A.G., HALD B., PETERSEN L., NAUERBY B., CARSTENSEN B., MADSEN M., 2004, The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and *Thermophilic Campylobacter spp.* Between broiler flocks. *Avian Dis.*, 2004, 48, PP 9-18.
- 119) THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994. L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris, P 5, 6, 3, 15, 16,18, 121, 445.
- 120) TARIL A., 2004. Rapport d'activité. Institut Pasteur d'Alger. P 101.
- 121) TAUSON et al., 2004. Comparaison du bien-être, de l'état sanitaire et des performances zootechniques de poules pondeuses, élevées dans un système classique de cages ou dans un système alternatif de type « volière » : résultats préliminaires.
- 122) TOD W.T.A., et DUNDAS S., 2001.The management of VTEC O157 infection. *Int. J. Food Microbiol.*, 66, (1-2). PP 103-110.
- 123) TOLLET, 1987. In : THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994, L'œuf et les ovo produits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Paris.
- 124) TORGES et al., 1976. In : SAUVEUR B., 199. Mode d'élevage des poules et qualité de l'œuf de consommation. INRA, Station de Recherches Avicoles. P128.
- 125) VALENTI P., ANTONINI G., VON HUNOLSTEIN C., VISCA P., ORSI N.,1983.Studies on the antimicrobial activity of ovotransferrin. *Int. J. Tiss. Reac.* 5 (1), PP 97-105.
- 126) VALENTI P., ANTONINI G., VON HUNOLSTEIN C., VISCA P., ORSI N., ANTONINI E., 1983. Studies on the antimicrobial activity of ovotransferrin. *Int. J. Tiss. Reac.*, 5 (1). PP 97-105.
- 127) VALENTI P., VISCA P., ANTONINI G., ORSI N., 1986. Interaction between lactoferrin and ovotransferrin and *Candida* cells. *FEMS Microbiol. Lett.*, 33. PP 271-275.
- 128) VAN IMMERSEEL F., DE BUCK J., BOYEN F., PASMANS F., BERTRAND S., COLLARD J.M., SAEGERMAN C., HOOYBERGHS J., HAESEBROUCK F., DUCATELLE R., 2005. *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. In : *Ann. Méd. Vet.*, 149, PP 34-48, 38.

- 129) VIDAL M.L BARON F., AHMED A., MICHEL J., SELIER N., GAUTRON J., PROTAIS M., BEAUMONT C., GAUTIER M., NYS Y., 2003. Vers une sélection de poules produisant des oeufs de meilleure qualité bactériologique. INRA Tours, In : Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 2003.
- 130) WANG H., SLAVIK M.F.,1998. Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. *J. Food Protect.*, 1998, **61**, PP 276- 279.
- 131) YAMAMOTO T., JUNEJA L., HATTA H., KIM M., 1997. Hen Eggs. Their basic and applied Science. CRC Press, Boca Raton (USA).

## REFERENCES ELECTRONIQUES

1. [http://www.inra.fr/les\\_recherches/exemples\\_de\\_recherche/defenses\\_naturelles\\_pour\\_1\\_oeuf](http://www.inra.fr/les_recherches/exemples_de_recherche/defenses_naturelles_pour_1_oeuf) consulté 21/ 02/ 2009.
2. [http://laroche.lycee.free.fr/TPE/TPE\\_2004\\_2005\\_Saslowski\\_Graulou\\_oeuf.htm](http://laroche.lycee.free.fr/TPE/TPE_2004_2005_Saslowski_Graulou_oeuf.htm)
3. <http://w3.rennes.inra.fr/stlo/posters/blancoeuf.pdf>
4. <http://www.inra.fr/internet/Directions/DIC/ACTUALITES/NATURE/pdf/volcoquil.pdf>
5. <http://w3.rennes.inra.fr/stlo/posters/blancoeuf.pdf>
6. [www.baganw.admin.ch/SLMB\\_Online\\_PDF/Data%20SLMB\\_MSDA/Version%20F/01\\_Lait.pdf](http://www.baganw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Data%20SLMB_MSDA/Version%20F/01_Lait.pdf).
7. [www.inra.fr/content/download/14379/175603/version/1/file/ResultatSIALoeufPHASE-FR-UK.pdf](http://www.inra.fr/content/download/14379/175603/version/1/file/ResultatSIALoeufPHASE-FR-UK.pdf) - consulté le 19/02/09
8. [http://www.journees-de-la\\_recherche.org/JRA/Contenu/Archives/5\\_JRA/qualite/108-Protails.pdf](http://www.journees-de-la_recherche.org/JRA/Contenu/Archives/5_JRA/qualite/108-Protails.pdf)
9. <http://www.lesoirdalgerie.com/articles/2008/03/30/article.php?sid=66265&cid=4>
10. [www.baganw.admin.ch/SLMB\\_Online\\_PDF/Data%20SLMB\\_MSDA/Version%20F/01\\_Lait.pdf](http://www.baganw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Data%20SLMB_MSDA/Version%20F/01_Lait.pdf).
11. [www.inra.fr/content/download/14379/175603/version/1/file/ResultatSIALoeufPHASE-FR-UK.pdf](http://www.inra.fr/content/download/14379/175603/version/1/file/ResultatSIALoeufPHASE-FR-UK.pdf) - consulté le 19/02/09
12. <http://www.oeuf.ca/fr/encyclopedie/alimentation>
13. [http://www.journees-de-la-recherche.org/JRA/Contenu/Archives/5\\_JRA/qualite/S-NAU.pdf](http://www.journees-de-la-recherche.org/JRA/Contenu/Archives/5_JRA/qualite/S-NAU.pdf)
14. [http://granit.jouy.inra.fr/productions-animales/1991/Prod\\_Anim\\_1991\\_4\\_2\\_02.pdf](http://granit.jouy.inra.fr/productions-animales/1991/Prod_Anim_1991_4_2_02.pdf)

## Résumé

Notre étude a visé deux aspects:

- L'appréciation quantitative de la contamination bactérienne de la surface des œufs par deux méthodes d'analyses, l'une classique et l'autre rapide. Nous avons également étudié, l'évolution du taux de contamination bactérienne de l'intérieur de l'œuf, au cours de sa conservation durant deux périodes (hiver et été) et à deux températures différentes (température ambiante et température de réfrigération) et ce pour une durée de conservation de 30 jours.
- L'autre aspect est une appréciation qualitative (absence ou présence) de la contamination externe et interne de l'œuf, par la recherche des *Salmonella spp.*

Les résultats de cette recherche bactérienne réalisés sur la surface des œufs par la méthode classique ont montré une contamination par les streptocoques, les staphylocoques à coagulase positive et les coliformes fécaux de façon moindre. Avec la méthode rapide nous avons relevé une contamination par les coliformes totaux et les staphylocoques. Nous avons noté l'absence de contamination par salmonella par les deux méthodes. Toutefois, nous avons pu identifier et confirmer la présence de souches de *E coli*, *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les œufs conservés en période d'hiver n'ont montré aucune contamination bactérienne à l'intérieur de l'œuf sauf exception quelques souches d'*E Coli*, *Citrobacter* et *Proteus* dénombrés à température ambiante. En revanche, l'analyse bactériologique de l'intérieur des œufs conservés en période d'été a révélé une contamination des œufs stockés uniquement à température ambiante.

Pour les différents germes étudiés à l'intérieur de l'œuf, nous avons observé une contamination à J7, puis une augmentation du taux de contamination à J14 et J21 et une diminution de ces taux à J30.

**Mots clés :** Œufs de consommation, contamination externe, contamination interne, conservation.

## Abstract

Our study has two aspects:

- The quantitative assessment of bacterial contamination of the surface of eggs by two methods of analysis, one classical and one fast. We also studied the rate of bacterial contamination from inside the egg during its conservation during two periods (winter and summer) and two different temperatures (room temperature and refrigerator temperature) and for a shelf life of 30 days.
- The other aspect is a qualitative assessment (presence or absence) of external and internal contamination of the egg, for the detection of *Salmonella spp.*

The results of this research conducted on the bacterial surface of eggs by the conventional method showed a contamination by streptococci, staphylococci and coliform to a lesser extent. With the rapid method we found contamination by total coliforms and staphylococci.

We noted the absence of contamination with salmonella by the two methods. However, we could identify and confirm the presence of strains of *E coli*, *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas aeroginosa*.

Eggs stored during winter showed no bacterial contamination within the egg except some strains of *E. coli*, *Citrobacter* and *Proteus* counted at room temperature. However, bacteriological analysis of the interior of eggs in summer showed a contamination of eggs stored only at room temperature.

For the different studied germs inside the egg, we found contamination at J7, then an increase in the rate of contamination at J14 and J21 and a decrease in these rates at J30.

**Keywords:** Egg consumption, external contamination, internal contamination, conservation.



دراستنا لها جانبان واحدة كلاسيكية وسريعة. كما أننا درسنا معدل والتقييم الكمي للتلوث الجرثومي سطح البيض واثنان من طرق التحليل ، درجات الحرارة (درجة البيضة خلال الحفظ خلال الفترتين (الشتوية والصيفية) واثنين من مختلف التلوث الجرثومي من داخل حرارة الغرفة ودرجة حرارة التلاجة و لعمر 30 يوما .  
الأخر هو تقييم نوعي (وجود أو غياب) الخارجية والداخلية للتلوث البيض ، للكشف عن السلمونيلة النيابة streptococci ، التقليدية أظهر التلوث نتائج هذا البحث الذي أجري على سطح البيض الجرثومي من قبل الطريقة التلوث والمكورات العنقودية. بطريقتين coliforms إلى حد أقل. مع طريقة سريعة وجدنا مجموع كوليفورم و الستافيلوكوك . لاحظنا عدم وجود تلوث مع السالمونيلا بها. ومع ذلك ، خلال دراسة يشتهبه في أنهم من سلالات السالمونيلا ، تمكنا من ،اونتيروباكتار كلواسيا و سمودوموناس. تحديد وتأكيذ وجود سلالات من ايشريشيا كولي

البيض المخزنة خلال فصل الشتاء لم تظهر اي تلوث جرثومي ، فيما عدا ايشريشيا كولي ، وسيتروباكتار تحصى بروتايوس في درجة حرارة الغرفة. ومع ذلك ، في التحليل الجرثومي للبيض في الصيف وأظهرت تلوث البيض وتخزينه في درجة حرارة الغرفة.  
نتائج تحليل البكتريولوجي الداخلية من البيض لم تظهر اي تلوث للبيض في J0

لاحظنا وجود تلوث J7 ، ومن ثم زيادة معدل التلوث في J14 و J21 ثم انخفاض هذه المعدلات في J30.

#### الكلمات الرئيسية

بيض الاستهلاك، الحفظ، التلوث الخارجي، التلوث الداخلي، البكتريا.