



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE: Des Sciences

DEPARTEMENT : Agronomie

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Elbegaa Asmaa

DOMAINE : Sciences de la nature et de la vie (SNV)

FILIERE : Sciences Agronomiques

OPTION : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

**Contribution à l'étude des contaminants bactériologiques
des œufs de consommation dans la commune de Laghouat**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Oubraham Farid	MAA	Président
Saidi Radhwane	MCA	Examineur
Mokhtarrahmani Med	MAA	Encadreur
Beheur Mourad	MAA	Co- Encadreur

Promotion : Mai - 2017



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة عمار ثليجي - الأغواط

كلية/معهد: العلوم
قسم: العلوم الفلاحية

مذكرة ماستر

تقديم الطالب (ة): البقعة اسماء

ميدان: علوم الطبيعة و الحياة

شعبة: علوم زراعية

تخصص: صناعات غذائية ومراقبة النوعية

موضوع البحث

مساهمة في دراسة الملوثات البكتريولوجية في بيض الاستهلاك ببلدية الأغواط

أعضاء لجنة المناقشة:

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية	الصفة
أبراهام فريد	أستاذ مساعد أ	رئيسا
سعيدى رضوان	أستاذ محاضر أ	ممتحن
مختارحماني محمد	أستاذ مساعد أ	مؤطر
بشور مراد	أستاذ مساعد أ	مساعد مؤطر

الدفعة: ماي- 2017

Elbegaa Asmaa

Contribution à l'étude des contaminants bactériologiques des œufs de consommation dans la commune de Laghouat**Résumé**

Notre étude a été réalisée dans le but d'étudier les contaminants bactériologiques des œufs de consommation vendus dans les points de vents dans la commune de Laghouat.

La recherche de Salmonella a été faite en 4 étapes selon la norme ISO 6579: le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et enfin l'identification. Pour la recherche de staphylocoque, on a utilisé l'Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces), et les méthodes d'identification des principales espèces bactériennes employées par le Laboratoire Inter Départemental d'Analyse du Lait.

Après des analyses bactériologiques effectuées sur 14 échantillons d'œufs de consommation, aucune *Staphylococcus aureus* à coagulase positive n'a été détectée, mais des staphylocoques à coagulase négative ont été trouvées dans le blanc du échantillon n°1 et le jaune du échantillon n°3.

La recherche des salmonella dans tous les échantillons analysés s'est révélée négative. D'autres germes microbiens dans le blanc du échantillon n° 1 ont été détectés ; *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*.

Mots clé: œufs, contaminants bactériologiques, Laghouat, Salmonella, staphylocoques.

Contribution to the study of bacteriological contaminants of eggs for consumption in the region of Laghouat**Summary**

Our study was carried out in order to study the bacteriological contaminants of eggs consumed in the markets of the wilaya of Laghouat. The search for Salmonella was done in 4 steps according to ISO 6579: pre-enrichment, enrichment, isolation and finally identification. For Staphylococcus, the 21 Rajab Order 1435 corresponding to May 21, 2014, which made obligatory the method of enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species), and the methods of identification of the main bacterial species used By the LIDAL. After bacteriological analyzes on 14 batches of for consumption, no coagulase-positive *Staphylococcus aureus* was detected in all the batches tested, but coagulase negative staphylococci were detected in the blank of lot 1 and the yellow Of Lot No 3. The search for salmonella in all batches analyzed is negative. Other microbial germs in lot 1 in the egg white were detected; *Serratia marcescens* and *Proteus mirabilis*.

Key words: Egg, bacteriological contaminants, Laghouat, Salmonella, Staphylococcus

مساهمة في دراسة الملوثات البكتريولوجية في بيض الاستهلاك ببلدية الأغواط**ملخص**

دراستنا اجرية بهدف دراسة الملوثات البكتريولوجية للبيض المستهلك في أسواق ولاية الأغواط. البحث عن السالمونيلا تم بأربعة مراحل وفقا لمعيار ISO 6579: ما قبل الإحياء، والإحياء، العزل وأخير التحديد. من أجل البحث عن المكورات العنقودية استعملنا المرسوم رقم 21 رجب الموافق ل 21مايو 2014 الذي جعل إلزامية طريقة عد المكورات العنقودية إيجابية كواغولاس (المكورات العنقودية الذهبية والأنواع الأخرى)، وطرق تحديد أهم الأنواع البكتيرية المستخدمة من قبل LIDAL. بعد التحاليل البكتريولوجية المجراة على أربعة عشر دفعة من بيض الاستهلاك، لم يتم الكشف عن المكورات العنقودية الذهبية إيجابية الكواغولاس في جميع الدفعات المختبرة، و لكن تم الكشف عنمكورات عنقودية سلبية الكواغولاس في بياض البيض للدفعة رقم 1 وصفار البيض للدفعة رقم 3.

البحث عن السالمونيلا في جميع دفعات المحللة سلبية. تم الكشف عن جراثيم ميكروبية أخرى في بياض البيض للدفعة رقم 1،

Serratiamarcescens و *Proteus mirabilis*.

الكلمات المفتاحية: بيض، الملوثات البكتريولوجية، الأغواط، السالمونيلا، المكورات العنقودية.

Dédicaces

A mes parents

Pour tout leur amour et leur affection ;

Pour leur constante présence et leurs encouragements ;

Pour m'avoir soutenue dans mes moments difficiles ;

Qu'ils trouvent dans ce mémoire mon éternel dévouement et

Reconnaissance.

A ma grand-mère et mon grand-père : pour leur amour

A ma sœur

A mes frères

A tous les autres membres de la famille.

A mes meilleurs amis

A tous les confrères et conseurs de ma promotion.

A tous ceux que j'aime.....

Asmaa



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH tout Puissant et Miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie mon encadreur Mr. Mokhtar Rahmani Mohamed qui m'a initiée à la recherche et en qui j'ai trouvé : des conseils avisés, de la disponibilité et de grandes qualités humaines ; je remercie aussi le co-encadreur Mr. Becheur Mourad pour les corrections apportées.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à M. Oubrahim Farid d'avoir accepté de présider mon jury de soutenance ; comme j'exprime ma gratitude à M. Saïdi Radhwane pour avoir accepté d'examiner le présent travail.

Je remercie tous les enseignants qui m'ont aidée dans l'élaboration de ce mémoire (M. Goudjal et M. Houicher).

Et aussi Mme. Houie.

Enfin, je remercie mes chers enseignants du département de Biologie, d'Agronomie et spécialement les enseignants de l'agroalimentaire et contrôle de qualité pour leurs grands efforts.



Résumé	
Dédicaces	I
Remerciements	II
Tables des Matières	III
Liste des Figures	IV
Liste des Tableaux et Annexes	V
Liste des abréviations et symboles	VI
INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. L'œuf de consommation	3
I.1. Situation de l'appareil reproducteur de la poule	3
I.2. Composition de l'appareil reproducteur de poule	4
I.2.1. L'ovaire	4
I.2.2. L'oviducte	4
a. l'infundibulum	4
b. le magnum	4
c. l'isthme	5
d. l'utérus	5
e. le vagin	5
I. 3. Structure et formation de l'œuf de poule	6
I.3.1. Structure et composition des différents compartiments de l'œuf	6
a. Le jaune	6
b. La membrane vitelline	7
c. Le blanc	8
d. La coquille	9
I.3.2. Formation de l'œuf dans l'appareil reproducteur de poule	9
a. Synthèse du jaune d'œuf dans l'ovaire: vitellogénèse	10
b. Dépôt des autres compartiments de l'œuf dans l'oviducte	11
II. La contamination microbienne des œufs	14
II.1. Salmonella	14
II.1. 1. Caractéristique bactériologiques	14
II. 1. 2. Hôtes de salmonella	14
II. 1. 3. Pathogénèse de salmonella	15
a. La contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille	15
b. Contamination de l'œuf pendant sa formation	16
II.1. 4. Réglementation Algérienne de salmonella dans les œufs	16
II.1. 5. Pouvoir pathogène de <i>Salmonella</i>	17

II. 2. Staphylocoques	19
II.2. 1. Caractéristiques bactériologiques	19
II. 2. 2. Hôtes de <i>Staphylococcus</i>	19
II. 2. 3. Pouvoir pathogène de <i>Staphylococcus</i>	20
II.3. <i>Escherichia. Coli</i>	20
II.3. 1. Caractéristique bactériologiques	20
II. 3. 2. Hôtes d'Escherichia Coli	21
II.3.3. Pouvoir pathogène d'Escherichia Coli	21
PARTIE EXPERIMENTALE	22
I. MATERIEL ET METHODES	22
I.1 Matériel	22
I.1.1 Présentation du matériel biologique : les œufs	22
I.1.2 Matériel de laboratoire	22
I.1.3 Les milieux de culture	23
I.2 Méthodes	23
I.2.1 Le prélèvement	23
I.2.2 Analyses bactériologiques	24
I.2.2.1. Recherche des staphylocoques	24
a. Pré-enrichissement	25
b. Enrichissement	25
c. Identification	26
I.2.2.2. Recherche des <i>Salmonella</i>	27
a. Enrichissement	27
b. Isolement	28
c. Identification	28
II. RESULTATS ET DISCUSSION	30
II. Résultats	30
II. 1. Caractéristiques de l'échantillon	30
II.2 Recherche des staphylocoques	30
II.2. 1. Recherche dans le milieu Chapman	30
II. 2. 2. Identification des colonies	30
a. Test de Gram	30

TABLES DES MATIERES

b. Test de catalase	31
c. Test de coagulase	32
II. 3. Recherche des salmonella	32
II. 3. 1. Recherche dans le milieu Hektoen	32
II. 3. 2. Identifications par les galeries API 20 E	33
III. Discussion	34
CONCLUSION	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38
ANNEXES	47

LISTE DES FIGURES

N°	Titres	Page
01	Situation de l'appareil reproducteur de poule dans la cavité abdominale	3
02	Composition de l'appareil reproducteur de poule	5
03	Représentation schématique des différents compartiments de l'œuf	6
04	Formation spatio-temporelle de l'œuf	10
05	Bactérie <i>Salmonella</i>	14
06	Bactérie <i>Staphylococcus</i>	19
07	La pèse de l'œuf par la balance	24
08	Phase de pré-enrichissement	25
09	Phase d'enrichissement	25
10	Phase d'enrichissement	27
11	Phase d'isolement	28
12	Phase identification	28
13	Résultat sur le milieu Chapman	30
14	Résultat de Test de (KOH) ;(a) réaction positive, (b) réaction négative	31
15	Résultats de test catalase ; (en haut) réaction positive, (en bas) réaction négative	31
16	Résultat négative de test coagulase.	32
17	Résultat négatif sur le milieu Hektoen	32
18	Résultat positif (colonies suspectes) sur le milieu Hektoen	32
19	Identifications par les galeries API 20E des bactéries isolées	33

LISTE DES TABLEAUX ET ANNEXES

Liste des tableaux

N°	Titres	Page
01	Critères microbiologiques des œufs.	17
02	Caractéristiques des prélèvements des œufs de consommation	24

Liste des Annexes

N°	Titres	Page
01	les compositions des milieux de culture (g/l)	47
02	Tableau de lecture de galerie API 20 E	49

Liste des abréviations

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

Cat: Catégories

CIT: Citrate

E.H.C.E : Entéro-Hémorragic-Colitis E .coli

E.H.E.C : Escherichia coli entérohémorragiques (*Enterohaemorrhagic Escherichia coli*).

E.I.E.C : Entéro-Invasive E. coli

E.P.E.C : *E.coli* entéro-pathogènes

E.P.E.C : Entéropathogènes ou Entero-pathogenic E. coli

E.T.E.C: Entero-Toxigenic E. coli

FAO: Food and Agriculture Organization

G.E.I: Gastro-Entérites Infantiles

HDL: High-Density Lipoprotein

IND: Indole

INRA : Institut National De Recherche Agricole

ISO : International standard officiel

JORADP : Journal officielle de république algérienne démocratique de population.

KOH : Hydroxyde De Potassium

LH: Luteinizing Hormone

LIDAL : Laboratoire Inter Départemental d'Analyse du Lait

LPS: Lipopolysaccharide

LRV : Laboratoire régionale vétérinaire

OVAX : Ovalbumin-Related Protein X

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

pH: Potentiel Hydrogène

TIAC : Toxi-Infections Alimentaires Collectives

Ure: Urée

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

VMO: Vitelline Outer Membrane

ZP : *Zona Pellucida*

Liste des symboles

°C	Degré Celsius
cm	Centimeter
g	Gramme
h	Heure
kDa	kilo dalton
mg	Milligramme
min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre
µg/ml	Microgram par milliliter
µm	Micromètre
n°	Numéro
/	Par
%	Percentage
±	Plus ou moins

L'œuf est un aliment d'une grande valeur nutritive. Il représente une source équilibrée de protéines et de lipides, il est aussi une source riche en phosphore, fer (surtout au niveau du jaune d'œuf, où il couvre 30% des besoins quotidiens de l'homme pour cet élément), soufre, sodium, potassium, chlore et en vitamines; mais à l'opposé, il est déficient en glucides, calcium et vitamine C (Sauveur, 1988).

Les œufs constituent également une excellente source de vitamine B2. La richesse du jaune de l'œuf en acides gras insaturés et particulièrement en acide linoléique en fait un aliment de haute qualité pour l'homme (Baribeau, 2004).

Les œufs de consommation ont une importance hygiénique en raison des conséquences pathologiques qu'ils entraînent chez le consommateur. La plupart des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont dues à la consommation des aliments contaminés (dont les œufs) par Salmonelles, qui posent un véritable problème de santé publique. A cet effet, *Salmonella Enteritidis* est devenue l'une des principales causes d'infection humaine (Bertrand, 2003).

En 2011, la production d'œufs au niveau mondial a été estimée par la FAO à plus de 70 616 000 tonnes. Dans la même année, l'Algérie a produit 195 000 tonnes d'œufs avec une augmentation de 6,2% par rapport à la décennie précédente (FAO, 2014). Au vu de cette production importante, la qualité sanitaire de l'œuf de table nécessite une attention particulière.

La réglementation Algérienne spécifique aux denrées alimentaires traite de la recherche de salmonella dans les œufs et exige l'absence totale de celle-ci. Par contre, on peut trouver d'autres germes microbiens dans les œufs et qui peuvent présenter un risque pour la santé du consommateur mais dont la réglementation en vigueur ne consacre texte (Guiraud et Galzy, 1980 ; Hechachna, 2016 ; Arzour, 2006).

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude qui a comme objectifs d'étudier les contaminants bactériologiques des œufs de consommation vendus sur les points de vente dans la commune de Laghouat par la recherche de bactéries pathogènes (prévues dans la

réglementation ou pas) telles que *Salmonella*, *Staphylocoques* et autre germes microbiens susceptibles de se localiser dans le jaune et le blanc de ces œufs.

Le présent manuscrit est divisé en deux parties :

-Une partie bibliographique qui comporte un premier chapitre «L'œuf de consommation» qui traite de l'appareil reproducteur de la poule : sa situation et sa composition ; il rappelle aussi le processus de formation de l'œuf de poule ; suivi d'un chapitre sur«La contamination microbienne des œufs» par les différentes bactéries telles *Salmonella*, *Staphylocoques* et *Escherichia Coli*.

-Une partie expérimentale qui comporte un chapitre « matériel et méthodes », un autre « résultats et discussion », le tout couronné par une conclusion qui fera ressortir l'essentiel des résultats de notre travail ainsi que les leçons à tirer et les recommandations à formuler.

I. L'œuf de consommation

I.1. Situation de l'appareil reproducteur de la poule

L'appareil génital des femelles des oiseaux est dissymétrique; la partie droite du tractus génital (ovaire et oviducte) est restée à l'état vestigial, par contre la partie gauche occupe progressivement un volume important (Brugère, 1988) ; donc l'appareil reproducteur des poules n'est développé que du côté gauche (voir figure 1) (Pascal, 1968).

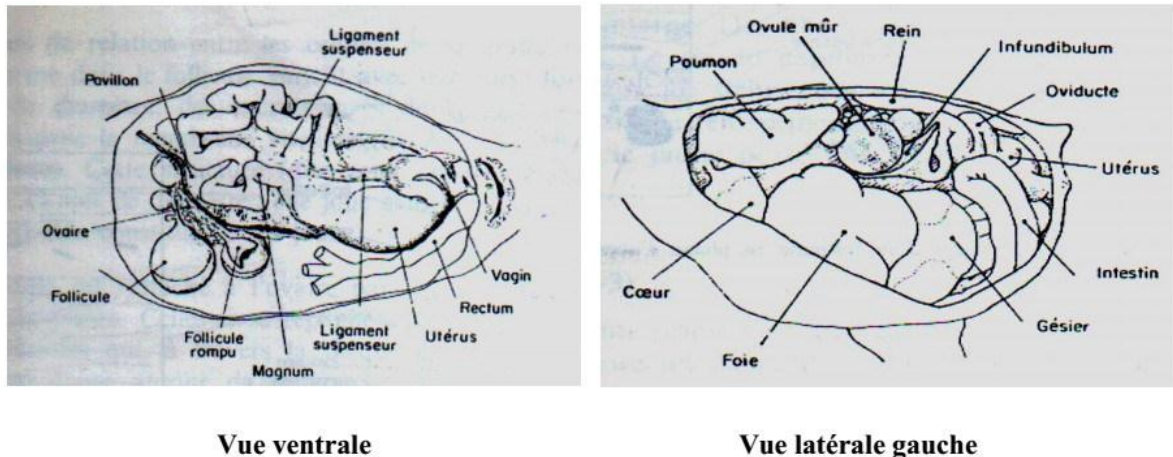


Figure 1 : Situation de l'appareil reproducteur de poule dans la cavité abdominale.

L'appareil génital femelle comprend l'ovaire où se forment les ovules, l'oviducte qui aboutit au cloaque et dans lequel l'ovule s'entoure des principaux constituants de l'œuf tel que l'albumen ou blanc d'œuf (Lakehal, 2006).

Au repos, l'ovaire est une petite masse grisâtre discrète placée près de la glande surrénale gauche.

En activité l'ovaire a l'aspect d'une grosse grappe jaunâtre placée au niveau du lobe crânial du rein. Le tractus génital femelle se compose uniquement d'un oviducte, c'est un tube musculéux muqueux dont l'extrémité crâniale est ouverte dans la cavité abdominale près de l'ovaire et l'extrémité caudale abouchée au cloaque. Dans l'oviducte en activité, on peut reconnaître 5 segments aux limites bien marquées (voir figure 2); le pavillon, le magnum, l'isthme, l'utérus et le vagin (Beghoul, 2006).

I.2. Composition de l'appareil reproducteur de poule

L'appareil reproducteur de la poule est composé de (voir figure2):

I.2.1. L'ovaire

L'ovaire gauche coincé entre le lobe crâna du rein, et les poumons en avant (Lakehal, 2006).

I.2.2. L'oviducte

L'oviducte est présente comme un tube droit de couleur rose pale s'étendant de la région de l'ovaire jusqu'au cloaque, il mesure environ 70cm et son poids à vide est de 40 g (Pichereau, 2012).

On lui reconnaît d'un point de vue histologique et physiologique plusieurs segments :

a. L'infundibulum

Également appelé pavillon, il a une forme d'entonnoir (Sauveur et De revier, 1988). Par des mouvements péristaltiques propres, il vient happer l'ovule mûr, lequel le traverse en une vingtaine de minutes. C'est à cet endroit qu'a lieu la fécondation et que sont stockés une partie des spermatozoïdes (Pichereau, 2012).

b. Le magnum

Partie la plus riche en cellules et glandes sécrétrices, c'est également la partie la plus longue de l'oviducte (30-50cm) (Sauveur et De revier, 1988); L'ovule y transite pendant trois heures environ. Il s'entoure alors de 40 à 50% de l'albumen total, sécrété par les glandes albuminipares (Pichereau, 2012).

c. L'isthme

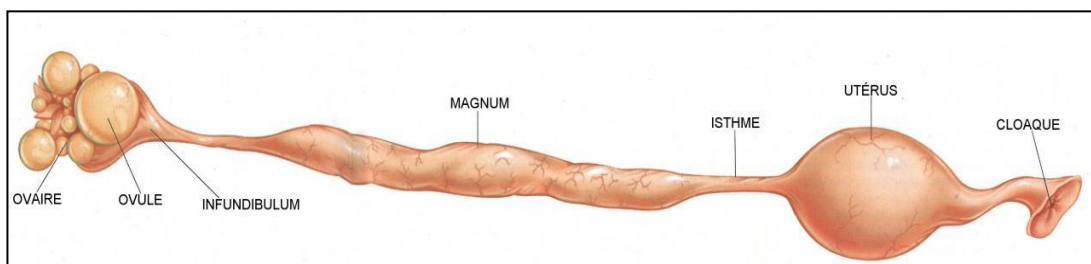
Sa longueur n'est que de 4 à 6 centimètres et la durée du transit y est d'une heure chez la poule. C'est à ce niveau que sont déposées les membranes coquillères qui forment deux enveloppes de kératine autour de l'albumen (Pichereau, 2012).

d. L'utérus

C'est une sorte de poche dilatée (Sauveur et De revier, 1988), il a une longueur totale de dix à douze centimètres et la durée de passage de l'œuf y est de vingt heures. C'est là que la formation de l'albumen s'achève par imbibition ou « plumping » correspondant à une hydratation et un dépôt de sels minéraux par osmose (sa taille est multipliée par deux), que les membranes coquillères sont mises sous tension et que la coquille minéralisée se dépose à une vitesse de trois cents milligrammes par heure (Johnson, 2000). Cette coquille est constituée majoritairement de sels de calcium d'où les besoins importants en calcium des femelles en ponte (Pichereau, 2012).

e. Le vagin

Partie étroite et musculaire, il est séparé de l'utérus par la jonction utéro-vaginale et se termine au niveau du cloaque (Sauveur et De revier, 1988). Il n'a aucun rôle dans la formation de l'œuf mais il participe à l'expulsion de ce dernier (Johnson, 2000). Il débouche latéralement à l'uretère gauche dans l'*urodeum*. L'œuf n'y transite qu'un quart-d'heure environ. Au moment de la ponte, le vagin s'extériorise et dépose l'œuf à l'extérieur ce qui évite le contact avec les matières fécales et urinaires. C'est le mécanisme d'oviposition (Villate, 2001).



Source : Lakehal, 2006.

Figure 2: Composition de l'appareil reproducteur de poule

La reproduction ; Le sperme contient un très grand nombre de spermatozoïdes microscopiques qui sont déposés avec le sperme à l'extrémité de l'oviducte ; ils remontent le long de l'oviducte jusqu'à l'autre extrémité où ils attendent les ovules qui y entrent une à une tous les deux jours à peu près.

Un seul spermatozoïde pénètre dans l'ovule et forme avec la cellule germinative femelle, le germe qui commence tout de suite à grandir. C'est le début de la formation du futur poussin.

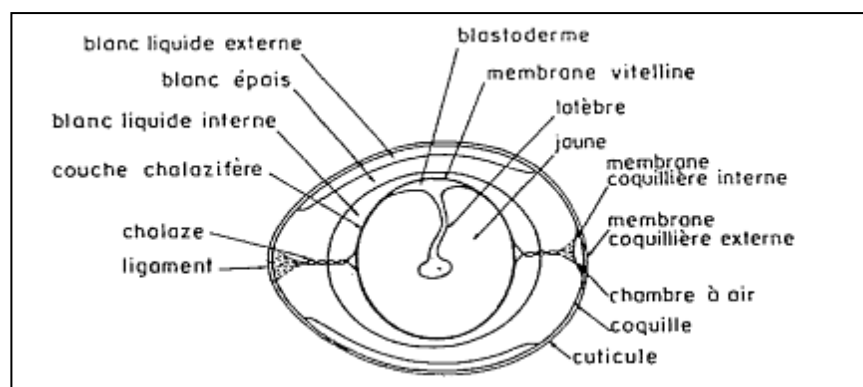
Ce développement du germe s'arrête lorsqu'environ 24 heures plus tard, l'œuf est pondu.

Il est préférable que les œufs vendus pour la consommation ne soient pas fécondés, car ainsi ils se conservent mieux ; il ne faut pas dans ce cas mettre de coqs avec les poules (Pascal, 1968).

I. 3. Structure et formation de l'œuf de poule

I.3.1. Structure et composition des différents compartiments de l'œuf

L'œuf de poule est divisé en trois compartiments principaux : le jaune (ou vitellus), le blanc (ou albumen), et la coquille qui sert d'enveloppe protectrice. La membrane vitelline entoure le jaune et contient les constituants de ce dernier (voir figure 3) (Pauline, 2015).



Source : Sauveur et De Reviens, 1988

Figure 3: Représentation schématique des différents compartiments de l'œuf.

a. Le jaune

Le jaune contient le gamète femelle qui pourra être fécondé. Ce dernier est localisé au niveau du disque germinatif, situé en surface du jaune. Le jaune est composé de 51%

d'eau, de 30% de lipides, de 16% de protéines et de 0,6% de glucides. Il est également riche en phosphore, contient la plupart du fer de l'œuf et renferme des vitamines (la totalité des vitamines liposolubles et un certain nombre de vitamines hydrosolubles) (Guerin-Dubiard *et al.*, 2010).

Deux fractions du jaune peuvent être mises en évidence lors d'une centrifugation : le plasma (environ 78%), correspondant au surnageant, et la fraction granulaire ou globulaire (environ 22%), correspondant au précipité (Li-Chan et Kim, 2008). Dans le plasma, les principales protéines identifiées sont l'albumine sérique (ou α -livetine), l' α -2 microglobuline (ou β -livetine) et l'immunoglobuline Y (ou γ -livetine). La fraction granulaire, riche en gouttelettes lipidiques, contient notamment des HDL avec des lipovitellines issues des vitellogénines et des VLDL avec des apoprotéines (Burley et Vadehra, 1989). Deux études protéomiques ont permis l'identification de près de 300 protéines dans le jaune (Mann et Mann, 2008 ; Farinazzo *et al.*, 2009). Les protéines majoritaires apparaissent comme étant l'albumine sérique, l'apovitelline-I, une protéine de 12 kDa ayant une réactivité croisée avec la β -2 microglobuline, la vitellogénine 2 et l'ovalbumine (Mann et Mann, 2008).

b. La membrane vitelline

La membrane vitelline est de nature protéique ; elle entoure et contient le jaune (Nys et Guyot, 2011). Elle a une épaisseur totale d'environ 10 μ m (Mineki et Kobayashi, 1997) et peut être divisée en trois couches : une couche médiane continue au centre comprise entre deux couches fibreuses que sont la couche interne (équivalent de la *zona pellucida* chez les mammifères) et la couche externe (Nys et Guyot, 2011).

Certains auteurs évoquent la présence d'une quatrième couche, le *zona radiata*, située sous la couche interne fibreuse. Une étude protéomique a permis l'identification de 137 protéines présentes dans la membrane vitelline (Mann, 2008). Les protéines majoritaires identifiées sont l'ovalbumine, le lysozyme, les protéines VMO I et II et l'ovotransferrine. Les protéines du *zona pellucida* ZP C/ZP 3, ZP 1 et ZP D sont également identifiées parmi les protéines les plus abondantes. Elles pourraient être associées aux événements de fertilisation (Pauline, 2015).

c. Le blanc

Le blanc constitue une réserve nutritive de nature protéique pour l'embryon au cours de son développement. Il peut être divisé en quatre structures distinctes : le blanc liquide interne, le blanc épais, le blanc liquide externe et les chalazes (voir figure 3) (Guerin-Dubiard *et al*, 2010).

Le blanc liquide interne, au contact du jaune, est entouré par le blanc épais. Ce dernier, présentant l'aspect d'un gel, est en contact avec la coquille aux deux extrémités de l'œuf. Le blanc liquide externe est en contact direct avec les membranes coquillières. Les chalazes sont des fibres qui maintiennent le jaune en suspension au milieu de l'œuf. La différence de texture entre le blanc liquide et le blanc épais est liée à la répartition inégale d'une protéine majeure du blanc, l'ovomucine, cette dernière étant quatre fois plus abondante dans le blanc épais, lui donnant sa texture gélatineuse (Anton *et al*, 2010).

Le blanc est composé de 88% d'eau, de 10,6% de protéines et de 0,9% de glucides. Il contient également des minéraux (0,5%) et une faible quantité de vitamines hydrosolubles, uniquement du groupe B (Guerin-Dubiard *et al* ; Nys, 2010). Les protéines majeures du blanc sont l'ovalbumine (qui représente 54% des protéines du blanc), l'ovotransferrine (13%), l'ovomucoïde (11%), le lysozyme (3,5%) et l'ovomucine (1,5 à 3,5%) (Li-Chan et Nakai, 1989).

Le blanc contient également les acteurs antimicrobiens les plus concentrés et les plus actifs qui assurent la défense moléculaire antimicrobienne principale de l'œuf. Le lysozyme, l'ovotransferrine ou les β -défensines sont les plus connus mais des études récentes ont mis en évidence l'ovoinhibiteur, l'OVAX et ainsi que de nombreux autres candidats antimicrobiens dans le blanc d'œuf (Bourin *et al*, 2011, Rehault-Godbert *et al*, 2011, Rehault-Godbert *et al*, 2013).

L'OVAX, les chercheurs de l'unité de recherche avicole de l'INRA ont découvert et caractérisé une nouvelle molécule aux propriétés anti-listéria. Il s'agit de l'OVAX (pour "ovalbumin-related protein X"), qu'ils ont isolée à partir de blanc d'œufs de poule grâce à une méthode qui permet de conserver son activité antimicrobienne.

Les chercheurs de l'INRA ont étudié l'effet dose-réponse de l'OVAX sur la croissance bactérienne :

- L'OVAX réduit la croissance de la souche de *Listeria monocytogenes*.
- L'effet des solutions d'OVAX sur la croissance de listeria est dose-dépendant.

- Cet effet est observé pour des concentrations de protéine purifiée comprises entre 25 et 60 µg/ml.
- Les solutions d'OVAX ont un effet anti-listéria durable jusqu'à 25 h d'incubation avec le pathogène.
- L'OVAX inhiberait aussi la croissance d'autres pathogènes alimentaires (ex : *Salmonella enterica Enteritidis*).

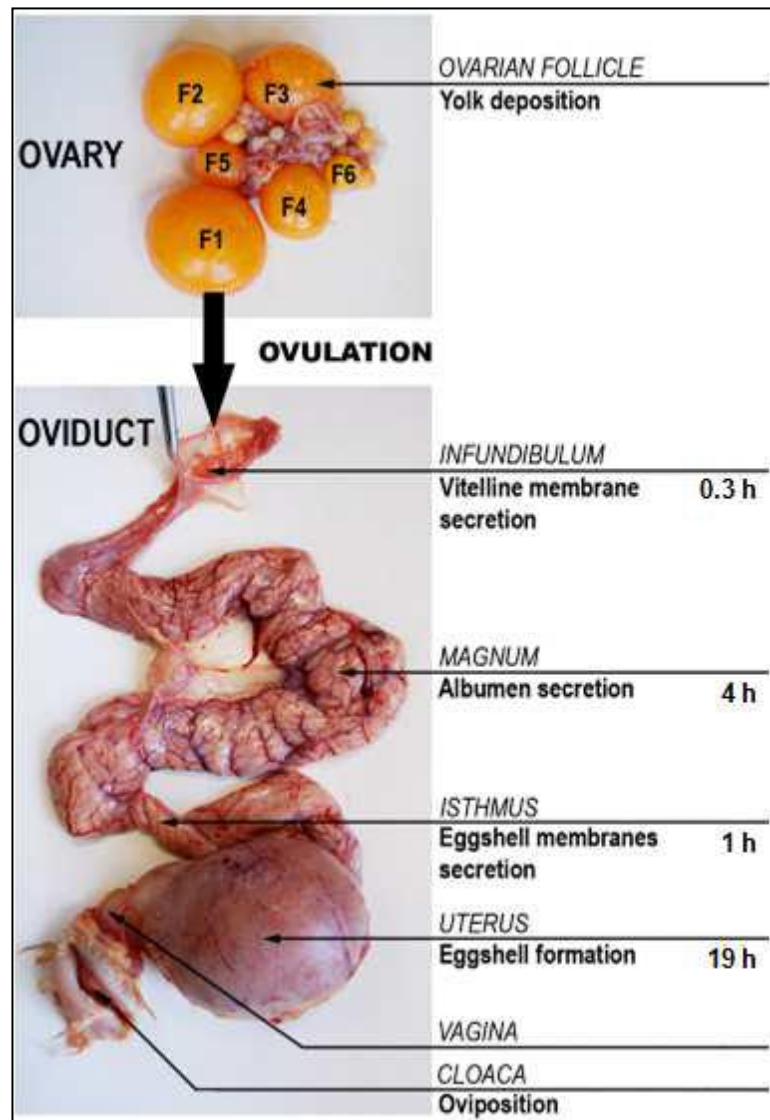
Ce nouvel agent antimicrobien trouve des applications dans les domaines de l'agroalimentaire mais aussi de la santé, à l'instar du lysozyme, une protéine du blanc d'œuf largement utilisée comme principe actif de médicaments ou comme conservateur alimentaire (Le Guerhier, 2013).

d. La coquille

La coquille, compartiment le plus externe de l'œuf, assure la protection de l'embryon contre les agressions extérieures (voir figure 3). Elle est composée de 95% de matière minérale (carbonate de calcium sous forme de calcite), de 3,5% de matière organique ou matrice organique (protéines, polysaccharides et protéoglycanes) et de 1,5% d'eau (Nys et Guyot, 2011). La coquille d'œuf de poule est divisée en 5 couches de l'intérieur vers l'extérieur : les membranes coquillières, la couche mamillaire ou couche des cônes, la couche palissadique, la couche des cristaux verticaux et la cuticule (Nys *et al.*, 1999).

I.3.2. Formation de l'œuf dans l'appareil reproducteur de poule

La formation de l'œuf suit un processus spatio-temporel bien déterminé (voir figure 4), qui permet la mise en place des différents compartiments de l'œuf le long de l'appareil reproducteur femelle. Chez les oiseaux, seul le côté gauche de l'appareil reproducteur est développé et est constitué de l'ovaire et de l'oviducte. Une fois formé dans l'ovaire et à maturité, le jaune est ovulé puis capté par le pavillon de l'oviducte où le dépôt des autres compartiments aura lieu dans les différents segments. (Sauveur et De Reviers, 1988; Nys, 2010; Nys et Guyot, 2011).



Source : Nys et Guyot, 2011.

Figure 4 : Formation spatio-temporelle de l'œuf.

a. Synthèse du jaune d'œuf dans l'ovaire : vitellogénèse

Au moment de l'éclosion, le poussin femelle possède une réserve d'environ 12000 ovocytes primaires au niveau de l'ovaire. Les ovocytes vont ensuite subir un développement en trois phases qui va aboutir à la formation du jaune et à son ovulation. Au cours de ce processus, la majorité des ovocytes vont dégénérer, essentiellement par atrophie, et moins de 2000 seront effectivement ovulés au cours de la vie de la poule (Pauline, 2015).

La première phase est une phase d'accroissement lent par accumulation de protéines. Elle a lieu entre l'éclosion et la maturité sexuelle (environ 15 à 16 semaines chez la poule).

Elle concerne tous les ovocytes, dont le diamètre passe d'environ 10 μm à 1 mm (Pauline, 2015).

A partir de la maturité sexuelle, certains des ovocytes sont sélectionnés à chaque cycle d'ovulation de la poule et poursuivent leur développement. Les autres restent bloqués dans la première phase pendant une durée plus ou moins longue (quelques semaines voire plusieurs mois) en attente de continuer leur maturation. Les ovocytes sélectionnés entrent dans la deuxième phase qui est une phase d'accroissement intermédiaire. Elle dure environ 60 jours chez la poule. Les dépôts de protéines et de lipides conduisent à une multiplication par 4 du diamètre des ovocytes. Cette sélection est d'origine hormonale (Pauline, 2015).

A chaque cycle d'ovulation, un seul ovocyte est également sélectionné pour entrer dans la troisième phase qui est une phase de grand accroissement. Il vient s'ajouter aux 7 à 10 ovocytes en phase de grand accroissement déjà présents au niveau de l'ovaire. Les ovocytes voient leur masse augmenter fortement durant les 6 à 14 jours précédant l'ovulation, chacun d'entre eux présentant un développement particulier en décalage d'une journée avec les autres. Les protéines et les lipides s'accumulent autour de l'ovocyte, ce qui correspond au dépôt de la quasi-totalité du jaune (98%). La majorité des constituants du jaune est synthétisée au niveau du foie puis acheminée par la circulation sanguine au niveau de l'ovaire. Ces constituants pénètrent dans le jaune par un mécanisme d'endocytose grâce à des récepteurs spécifiques situés à sa surface. Durant cette transformation, la masse des ovocytes passe ainsi de 200 mg à 15-18 g. L'ovocyte est alors recouvert de la première couche des membranes vitellines, la couche interne fibreuse (Pauline, 2015).

Chaque jour, l'ovulation de l'ovocyte le plus développé a lieu. Cette ovulation est placée sous contrôle hormonal : elle fait suite à une sécrétion importante de LH (Luteinizing Hormone), dite décharge ovulante, effectuée et régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire.

A sa sortie de l'ovaire, l'ovocyte est capté par l'oviducte, où les autres compartiments de l'œuf sont synthétisés par les différents segments de cet organe (Pauline, 2015).

b. Dépôt des autres compartiments de l'œuf dans l'oviducte

L'oviducte est divisé en 5 segments différents (l'infundibulum, le magnum, l'isthme, l'utérus et le vagin), ayant chacun des particularités anatomiques et une fonction propre dans la formation de l'œuf. L'oviducte mesure environ 70 cm de long chez une poule

adulte. Tous les segments présentent la même organisation en couches cellulaires distinctes, de l'extérieur vers la lumière de l'utérus : une couche séreuse externe, une couche de fibres musculaires longitudinales, une couche conjonctive externe, une couche de fibres musculaires circulaires, une couche conjonctive interne, une couche dite « lamina propria » qui contient des glandes tubulaires pluricellulaires et un épithélium composé de deux types cellulaires, les cellules caliciformes et les cellules ciliées (Pauline, 2015).

➤ **Achèvement de la membrane vitelline dans l'infundibulum**

Une fois ovulé, le jaune est tout d'abord capté par l'infundibulum où il reste environ 20 minutes. C'est le lieu d'une éventuelle fécondation ainsi que celui de la synthèse des couches médiane continue et externe fibreuse de la membrane vitelline (Pauline, 2015).

➤ **Dépôt du blanc dans le magnum**

Le jaune recouvert de la membrane vitelline transite ensuite dans le magnum, le plus long segment de l'oviducte. Le magnum est le lieu de la synthèse de l'ensemble des protéines du blanc. Ces protéines sont fabriquées de façon quasi-continue puis stockées dans les cellules sécrétrices. Lors du passage du jaune, les protéines sont excrétées et déposées autour de celui-ci pour former le blanc. Ce processus dure environ 4 heures. A la sortie du magnum, le blanc n'est pas totalement hydraté (Pauline, 2015).

➤ **Synthèse des membranes coquillières dans l'isthme**

L'œuf en formation traverse ensuite l'isthme où il séjourne environ 1 heure. Ce dernier est lui-même divisé en deux parties : l'isthme blanc et l'isthme rouge. Dans chacune de ces deux parties se déroulent respectivement le dépôt des membranes coquillières et la mise en place des noyaux mamillaires, points de départ de la calcification (sites de nucléation de la minéralisation) (Pauline, 2015).

➤ **Hydratation du blanc et formation de la coquille dans l'utérus**

Deux phénomènes se produisent dans l'utérus. Le blanc est tout d'abord hydraté, phénomène appelé « plumping ». L'œuf acquiert ainsi sa forme ovoïde définitive et entre

en contact étroit avec la paroi cellulaire de l'utérus. Le second phénomène est la calcification de la coquille, l'étape la plus longue de la formation de l'œuf, qui se déroule selon un processus de biominéralisation à partir des ions et des constituants de la matrice organique sécrétés par l'utérus. La biominéralisation de l'œuf de poule est l'une des plus rapides du monde vivant : en effet, six grammes de coquille sont formés en 19 heures environ. Celle-ci a lieu à basse pression et à basse température sous le contrôle de la matrice organique.

L'œuf ainsi formé transite par le vagin avant de rejoindre le cloaque et d'être pondu environ 24 heures après l'ovulation du jaune. (Pauline, 2015).

II. La contamination microbienne des œufs

Les risques pour la santé publique reliés à la consommation des œufs contaminés par des agents bactériens comme le suivant :

II.1. Salmonella

II.1. 1. Caractéristique bactériologiques

La *Salmonella* est une bactérie à Gram négatif en forme de bâtonnet, mobile et pourvue de flagelles, facultativement anaérobie, jamais sporulés, parfois encapsulés (voir figure 5), appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (Pierré, 2013), Cette famille regroupe des genres de bactéries qui sont des hôtes habituels du tube digestif. Il existait deux sous-espèces dans le genre *Salmonella* : *Salmonella bongori* et *Salmonella choleraesuis*, également appelée *Salmonella enterica*. Les salmonella sont des bactéries mésophiles, ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, cependant les Salmonelles peuvent se multiplier de 5°C à 45/47°C avec une croissance nettement retardée par les températures inférieures à 10°C (Bertrand, 2003).



Source : (Pierré, 2013).

Figure 5: Bactérie *Salmonella*.

II. 1. 2. Hôtes de salmonella

Le réservoir des Salmonelles ubiquistes est très large et de nombreux animaux (mammifères, oiseaux, reptiles, poissons, insectes), sont susceptibles d'héberger ces bactéries mais, le principal réservoir est constitué par l'intestin des vertébrés. La sous-espèce *enterica* contient généralement les souches isolées de l'homme et des animaux à sang chaud, pour lesquels elles sont pathogènes. Il est aussi fréquent d'isoler des *Salmonella* appartenant aux autres sous-espèces chez les animaux à sang froid comme les

reptiles, les batraciens ou les tortues .Elles sont dans ce cas moins pathogènes et peuvent faire partie de la flore intestinale (Grimont. *et al.*, 1994).

Ou dans les aliments destinés à l'homme proviennent d'une contamination fécale, elles sont aussi retrouvées dans l'environnement (sol, boues, eau, matières premières pour l'alimentation du bétail) dans lequel elles sont disséminées par les excréta. Elles peuvent y survivre pendant plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables (Bertrand, 2003).

III. 1. 3. Pathogénèse de salmonella

Après la ponte, il est possible que les œufs soient contaminés par *Salmonella Enteritidis* à travers la coquille de l'œuf quand l'œuf est contaminé par des matières fécales (Van immerseel *et al.*, 2005 ; Gast et Beard, 1990a). Il est également possible que la contamination ait lieu directement dans le jaune d'œuf, le blanc d'œuf, la membrane interne de la coquille ou la coquille même avant la ponte de l'œuf, suite à l'infection du système de reproduction de la poule pondeuse (Timoney *et al.*, 1989 ; Shivaprasad *et al.*, 1990).

a. La contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille

La présence de *Salmonella* sur la surface extérieure de la coquille de l'œuf et contamination du contenu de l'œuf présente 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 (Van immerseel *et al.*, 2005).

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* (Javed *et al.*, 1994 ; Miyamoto *et al.*, 1998 ; Wang et Slavik, 1998 ; Berrang *et al.*, 1999).

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 (De Buck *et al.*, 2004).

b. Contamination de l'œuf pendant sa formation

Il est probable que la contamination du contenu de l'œuf ait lieu pendant sa formation dans le tractus reproducteur de la poule. Par ailleurs, des études sur la contamination des œufs pondus par des poules infectées expérimentalement n'ont pas permis de mettre en évidence une relation entre le portage intestinal/fécal et la présence de la bactérie dans le contenu de l'œuf (Gast et Beard, 1990b; Humphrey *et al.*, 1991). De plus, des *Salmonella Enteritidis* peuvent être isolées du système reproducteur de poules pondeuses en l'absence de colonisation intestinale (Bygrave et Gallagher, 1989 ; De Buck *et al.*, 2004).

Salmonella Enteritidis a été isolé du jaune aussi bien que du blanc d'œuf provenant de poules infectées (Humphrey *et al.*, 1991c; Keller *et al.*, 1995 ; Bichler *et al.*, 1996).

La plupart des auteurs concluent que l'albumen constitue le compartiment de l'œuf le plus fréquemment contaminé (Gast and Beard, 1990a; Shivaprasad *et al.*, 1990 ; Humphrey *et al.*, 1991; Gast and Beard, 1993 ; Humphrey, 1994 ; Methner *et al.*, 1995 ; Price *et al.*, 1995). Cette contamination du blanc d'œuf aurait lieu pendant le passage de l'œuf dans l'oviducte (Gast and Beard, 1990b ; Shivaprasad *et al.*, 1990 ; Humphrey *et al.*, 1991c ; Hoop and Pospischil, 1993). Par contre, la contamination du jaune d'œuf indiquerait une contamination de l'ovaire (Van Immerseel *et al.*, 2005).

II.1. 4. Réglementation Algérienne de salmonella dans les œufs

Arrêté interministériel du Aouel Safar 1419 correspondant au 27 mai 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (voir tableau 1).

Tableau 1 : Critères microbiologiques des œufs.

Aouel Safar 1419 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N°35 15 27 mai 199			
TABLEAU V CRITERES MICROBIOLOGIQUE DES OVOPRODUITS DES PATISSERIES ET DES CREMES PATISSIERES			
PRODUITS	n	c	m
Œufs en coques -Salmonella	5	0	absence

Source : JORADP n°035 du 27 mai 1998.

II.1. 5. Pouvoir pathogène de Salmonella

La salmonellose est une maladie infectieuse causée par un groupe de bactéries appelé *Salmonella*, Les personnes qui consomment des aliments contaminés par la *Salmonella* sont susceptibles de contracter la salmonellose.

On a trois types de symptômes de la salmonellose :

❖ Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

Sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire : *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A*, *Salmonella Paratyphi B* et *Salmonella Paratyphi C*. Les *Salmonella* sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé. La dose infectante serait de l'ordre de 10⁵ bactéries.

Les symptômes apparaissent après une période incubation entre 10 à 15 jours, selon l'état Physiologique de l'hôte, la durée des symptômes est de 1 à 7 jours, les signes cliniques observés sont ; une fièvre continue accompagnée de maux de tête, d'anorexie, d'abattement et de douleurs abdominales avec diarrhée ou constipation (Harizi, 2009).

Les *Salmonella* responsables des fièvres typhoïdes ayant l'homme pour seul réservoir, la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine. Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire, et frappent

principalement les pays en développement en Asie, en Afrique ou en Amérique Latine. Les données mondiales les plus récentes font état de 17 millions de cas annuels de fièvre typhoïde, et de 600 000 morts (Hu et Kopecko, 2003).

❖ Les gastro-entérites

Sont provoquées par des *Salmonella* ubiquistes présentes chez l'homme et les animaux. La durée d'incubation est généralement de 1 à 2 jours et dépend de la dose ingérée, de la santé de l'hôte et des caractéristiques de la souche de *Salmonella*. Les principaux symptômes de la salmonellose (infections non typhoïdiques) sont la diarrhée non sanglante, les douleurs abdominales, la fièvre, les nausées et des vomissements qui surviennent généralement 12-36 heures après l'ingestion. Chez des adultes de condition physique normale, une gastro-entérite disparaît sans traitement après 3 à 5 jours en moyenne. Le traitement employé repose essentiellement sur la réhydratation (Harizi, 2009).

❖ Toxi-infections alimentaires collectives

La consommation simultanée par plusieurs personnes d'un aliment massivement contaminé par des *Salmonella* «mineures» (*Salmonella typhi murium*, *S. enteritidis*, *S. dublin*, etc...) entraîne une cascade des cas de gastro-entérites, qui, simulant un véritable empoisonnement, est appelé toxi-infection alimentaire collective (TIAC). La période d'incubation est de 10 à 18 heures. Les troubles durent en général 2 à 5 jours. Les complications sont rares sauf chez les sujets à faibles moyens de défense. L'aliment responsable est identifié par enquête épidémiologique (enquête cas-témoin). Le diagnostic se fait par recherche de *Salmonella* dans les selles des malades et dans l'aliment incriminé (s'il est encore accessible).

Le traitement est le même que celui des gastro-entérites (Avril et *al.*, 1992). La prévention repose essentiellement sur l'hygiène des cuisines collectives (détection des porteurs sains, techniques de préparation, techniques de conservation : « chaîne du chaud » ou « chaîne du froid », etc...), (Harizi, 2009).

II. 2. Staphylocoques

II.2. 1. Caractéristique bactériologiques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des Micrococcaceae. Il est à deux groupes ; Le groupe des *Staphylococcus* à coagulase négative avec 33 espèces est le plus important et ne présente pas de risque sanitaire majeur. Le groupe des *Staphylococcus* à coagulase positive est constitué de sept espèces. Celles-ci peuvent être impliquées dans des infections humaines (Alomar, 2007).

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à coloration de Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin (voir figure 6), immobiles, non sporulés, catalase positive sauf *S. aureus* subsp. *anaerobius* et *S. saccharolyticus* et oxydase négative, des bactérie aéro-anaérobie facultative, habituellement des staphylocoques non capsulés. Se sont des Colonies lisses, légèrement convexes, de 6 à 8 mm de diamètre et de couleur jaune-orangé généralement (Freney *et al.*, 1999).



Source : Alomar, 2007.

Figure 6 : bactérie *Staphylococcus*.

II. 2. 2. Hôtes de *Staphylococcus*

Les espèces du genre *Staphylococcus* sont très ubiquitaire, sont présentes sur la peau et les muqueuses des animaux à sang chaud et des humains, le sol, l'air et l'eau. Elles font partie des communautés microbiennes des laits, des produits fermentés, des fromages et des produits de salaison. La majorité des humains sont porteurs sains de *S. aureus* (Leyden *et al.*, 1974) et les fosses nasales, les mains et la peau en sont des réservoirs importants (Nagase *et al.*, 2001). Les peaux des mamelles et des trayons des animaux sont contaminés par *S. aureus* (Matos *et al.*, 1991; Zadoks *et al.*, 2002).

II. 2. 3. Pouvoir pathogène de *Staphylococcus*

Les *Staphylococcus aureus* peut être la cause de différentes infections chez l'homme. Il est impliqué dans des infections cutanées plus ou moins localisées. Les infections à *S. aureus* les plus fréquentes sont les infections cutanées de muqueuses telles que les abcès. Parfois, ces infections se compliquent par extension loco-régionale de l'infection, ou par diffusion hématogène de la bactérie. *S. aureus* peut être responsable d'endocardites, de septicémies, de pneumopathies, d'ostéomyélites, d'arthrites, d'infections urinaires ou de méningites. Il est responsable d'infections nosocomiales (Grundmann et al., 2002) et sa résistance aux antibiotiques en particulier à la méthicilline est une préoccupation majeure. Sa virulence est liée à la production d'enzymes, de toxines, à la présence de protéines de surface (adhésions), de protéines de liaison au fibrinogène et à sa capacité à former des biofilms par production d'exopolysaccharide (Fox et al., 2005; Oliveira et al., 2006). Ainsi, *S. aureus* est capable de synthétiser de nombreuses toxines à l'origine de plusieurs infections spécifiques et de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) (Alomar, 2007).

II.3. *Escherichia. Coli*

II.3. 1. Caractéristique bactériologiques

Escherichia coli est un bacille Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit d'une bactérie aéro-anaérobie facultative, oxydase négative, mesurant de 2 à 4 µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 µm. De nombreux sérotypes sont définis en fonction de la nature des antigènes de surface (en particulier les antigènes O portés par le LPS et les antigènes H, flagellaires, pour les souches mobiles). Il s'agit d'une bactérie commensale des portions terminales du tube digestif des animaux homéothermes (dont l'homme) : *Escherichia coli* est donc un **marqueur de contamination fécale**. L'Anses considère d'ailleurs ce bacille comme le critère d'hygiène du règlement (CE) n° 2073/2005 à privilégier quand l'objectif est de mettre en évidence la contamination fécale d'une denrée alimentaire (ANSES, 2011).

II. 3. 2. Hôtes d'*Escherichia Coli*

Hôte normal de l'intestin et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif. La présence de colibacilles ou espèces voisines dans l'eau est un témoin de contamination fécale (Bossert et Young, 1986).

II.3.3. Pouvoir pathogène d'*Escherichia Coli*

D'après Avril et al (1992), l'existence de diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotypes particuliers qui provoquent soit des cas sporadiques, soit des petites épidémies. Les différents syndromes cliniques sont dus à des *E. coli* différents en ce qui concerne le support de la virulence. On reconnaît aujourd'hui 4 types de souches responsables des diarrhées :

- Les souches entéropathogènes ou Entero-pathogenic *E. coli* (E.P.E.C) : elles étaient responsable de diarrhées infantiles grave ou toxiques survenant par épidémies dans des crèches ou des maternités, ces souche encore appelées *E. coli* G.E.I. (des gastro-entérites infantiles) sont plus rarement rencontrées aujourd'hui.
- Les souches intérotoxinogènes ou Entero-Toxigenic *E. coli* (E.T.E.C) : Elles sont responsables de diarrhées très liquides survenant dans les pays en développent. Ces diarrhées s'observent principalement chez les voyageurs. Elles sont souvent épidémiques chez les enfants de ces payes.
- Les souches entéro-invasives ou Entéro-Invasive *E. coli* (E.I.E.C) : Elles sont isolées de syndromes dysentériques tant chez l'adulte que chez l'enfant.
- Les souches entéro-hémorragiques ou Entéro-Hémorragic-Colitis *E. coli* (E.H.C.E) : Les souches pathogènes d'*E. coli* sont responsables de maladies intestinales qui varient en gravité depuis des formes extrêmement bénignes jusqu'à des formes graves et pouvant mêmes être mortelles (Ahmed, 1991).

I. Matériel et Méthodes

Notre mémoire a été réalisé dans le but d'étudier les contaminants bactériologiques des œufs de consommation vendus dans les points de ventes dans la commune de Laghouat, par la recherche des bactéries pathogènes telles que les salmonella, staphylocoques et autres germes microbiens pouvant se localiser dans le jaune et le blanc des œufs de consommation.

I.1 Matériel

I.1.1 Présentation du matériel biologique : les œufs

Au cours de notre étude, on a réalisé l'échantillonnage des œufs au moment de mars - avril, à partir de différents points de vente de la ville de Laghouat, les prélèvements effectués ont concerné 14 échantillons, chaque échantillon est constitué de 03 œufs. Les œufs ont été transportés dans une température ne dépassant pas 6°C et y ont été conservés dans un réfrigérateur jusqu'au jour d'analyse (le sept mars jusqu'à le vent-cinq avril).

I.1.2 Matériel de laboratoire

Pendant le travail expérimental, on a utilisé le matériel de laboratoire suivant :

- Une étuve à 37°C, autoclave.
- Papier hygiénique, flacons d'éthanol, spatule.
- Pince, bec bunsen, Anse de platine, éprouvette.
- Seringue stérile, Pipettes stériles, gants, les lames.
- Flacons en verre de 250ml, boites de prélèvement stériles, erlenmeyer.
- Boites de pétrie, tubes à essai.
- Micropipette (0,1ml et 1ml), pipettes pasteur, pipettes en plastique.
- Agitateur vortex, balance, balance de précision.

I.1.3 Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés étaient :

- **Eau peptonnée tamponnée:** ce milieu a été utilisé pour le pré-enrichissement des germes du genre *Salmonella* et *Staphylococcus*.
- **Chapman :** utilisé pour la sélection des germes du genre *Staphylococcus*.
- **BHIB (brainheart infusion broth):**utilisé pour l'enrichissement des germes et la revivification.
- **SFB (bouillon au tryptone cystine) :** utilisé pour l'enrichissement des germes du genre *Salmonella*.
- **Hektoen :** La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant les isolements et différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, et des autres produits alimentaires. Elle est utilisée aussi dans la recherche des salmonelles chez les mammifères.

La composition et le mode d'emploi de ces milieux de culture sont cités en annexe (1).

I.2 Méthodes

I.2.1 Caractéristiques de l'échantillon

L'étude de quatorze échantillons d'œufs de consommation dans la commune de Laghouat d'origine industrielle prélevés à partir de locaux commerciaux présente des caractéristiques qui sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau : 2 Caractéristiques des prélèvements d'œufs de consommation

Echantillon	Moyenne de poids des œufs (g)	La conservation des œufs	Catégorie du poids
1	49,62	Oui	S
2	55,46	Non	M
3	68,05	Non	L
4	58,44	Oui	M
5	52,79	Oui	S
6	62,02	Oui	M
7	62,88	Oui	M
8	57,07	Non	M
9	53,04	Non	M
10	50,54	Non	S
11	55,58	Oui	M
12	53,37	Oui	M
13	53,52	Oui	M
14	54,9	Oui	M

I.2.2 Analyses bactériologiques

La méthode utilisée dans l'analyse microbiologique des œufs de consommation pour la recherche de Salmonella a été déployée en 4 étapes selon la norme ISO 6579: le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et enfin l'identification. Pour la recherche de staphylocoque, on a utilisé l'Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) sur les aliments destinés à la consommation humaine, et les méthodes d'identification des principales espèces bactériennes employées par le LIDAL.

I.2.2.1. Recherche des staphylocoques

On commence la manipulation microbiologique des œufs par la pesée des œufs de chaque lot à l'aide d'une balance (Figure 7).



Source : photo personnelle, 2017

Figure 7: La pesée de l'œuf par la balance.

Avant de casser l'œuf, on nettoie avec du papier hygiénique (pulvérisé par l'éthanol) pour éviter toute sorte de contaminations due à la coquille. A côté du bec bunsen et à l'aide d'une pince, on réalise un orifice dans la coquille d'œuf, puis on verse le blanc d'œuf dans une boîte de prélèvement stérile et le jaune d'œuf dans une autre boîte.

a. Pré-enrichissement

Avec une seringue stérile, on prend 10 ml de blanc d'œuf et on l'ajoute à un flacon en verre rempli avec 90 ml d'eau peptonnée tamponnée (voir figure 8), (la même étape avec le jaune d'œuf), puis les flacons ont été mis dans l'étuve à 37°C pendant 24h.



Source : photo personnelle, 2017

Figure 8 : Phase de pré-enrichissement.

b. Enrichissement

Après étuvage, et à l'aide d'une micro – pipette on prélève 0,1ml des flacons et on ensemence des boîtes de pétrie stériles déjà coulées par le milieu Chapman (voir figure9),

puis avec le râteau de pipettes pasteur on fait l'étalement, puis on incube les boîtes à 37°C/24h.



Source : photo personnelle, 2017

Figure 9 : Phase d'enrichissement.

c. Identification

Après incubation, on procède à l'identification selon le schéma suivant :

- Propagation des souches suspectes

On prélève une colonie bien isolée sur la gélose Chapman et on effectue une propagation de la souche par étalement sur gélose inclinée cœur-cervelle. On place dans l'incubateur à $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ pendant 18 à 24 heures.

- Epreuve de Gram

A partir de la croissance présente sur la gélose on examine la forme des bactéries. Une goutte de suspension est placée entre lame et lamelle puis on procède à l'observation microscopique à l'objectif x40 avec peu de lumière pour ne pas tuer les bactéries, car le but de cette observation est de voir leur morphologie.

Pour ce qui de Gram, Il suffit de mettre en contact (sur une lame) une colonie isolée avec une goutte d'une solution de KOH 3 %. À l'aide d'une pipette Pasteur, on mélange. Quelques secondes plus tard, on tire le mélange vers le haut; si un filament se forme entre la pipette et la lame, la colonie isolée est alors constituée de bactéries gram négatives. Si rien n'est entraîné par la pipette, on a affaire à des bactéries gram positives.

- Épreuve de la catalase

À partir de la croissance présente sur la gélose de propagation, on effectue une suspension dense de la souche bactérienne sur une lame de microscope et y on ajoute 1 ou 2 gouttes de la solution de peroxyde d'hydrogène à 3%. L'effervescence qui en résulte indique la présence de catalase (réaction positive). *Staphylococcus* sp. et *Micrococcus* sp. sont catalase positif.

- Epreuve de coagulase

On prélève une colonie sélectionnée et on l'ensemence dans un tube ou dans du bouillon cœur-cerveau. On incube à 35°C ou 37°C pendant 24 h ± 2 h. Puis on ajoute aseptiquement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin dilué à 1/3 dans des tubes stériles à hémolyse ou flacons et on incube à 35°C ou à 37°C. En inclinant le tube, on examine la coagulation du plasma après 4 h à 6 h d'incubation et, si le test est négatif, on réexamine après 24 h d'incubation.

On considère que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus de la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

I.2.2.2. Recherche des Salmonella

a. Enrichissement

A partir du même flacon de pré-enrichissement, on prélève 1 ml avec micropipette et on ensemence des tubes à essais remplis de 10 ml de bouillon au **tryptone cystine** (voir figure 10), puis on incube dans l'étuve à 37°C pendant 24h.



Source : photo personnelle, 2017

Figure 10 : Phase d'enrichissement.

b. Isolement

A l'aide d'une anse de platine flambée, on fait l'isolement dans le milieu Hektoen (figure 11), par la méthode de strie puis on incube les boîtes de pétrie à 37°C pendant 24h.



Source : photo personnelle, 2017

Figure 11 : Phase d'isolement.

c. Identification

S'il existe des colonies de couleur verte avec ou sans centre noir sur le milieu Hektoen après l'incubation, on fait l'identification sur la galerie API 20 E (Figure 12) par la méthode suivante :



Source : photo personnelle, 2017

Figure 12 : Phase identification.

On prend une seule colonie bien isolée sur la gélose et on la met dans 5 ml d'eau physiologique. Après homogénéisation, on ensemence la galerie selon l'indication suivante :

• pour les tests VP, Gel et CIT : remplir le tube et cupule.

• pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et Ure : remplir les cupules par huile de paraffine.

• pour les autres tests : remplir tous les tubes.

On dépose 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, on ajoute des réactifs :

- Le test TDA : on ajoute une goutte de réactif TDA.
- Le test IND : on ajoute une goutte de réactif Kovacs.
- Le test VP : on ajoute une goutte VPI et une goutte VPII (voir annexe 2).

Noter sur les fiches accompagnées les résultats et les interpréter à partir d'un logiciel (Api Web)

Selon la réglementation Algérienne, et surtout l'Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, aucune *Salmonelle* ne devrait être présente dans 25g d'œufs.

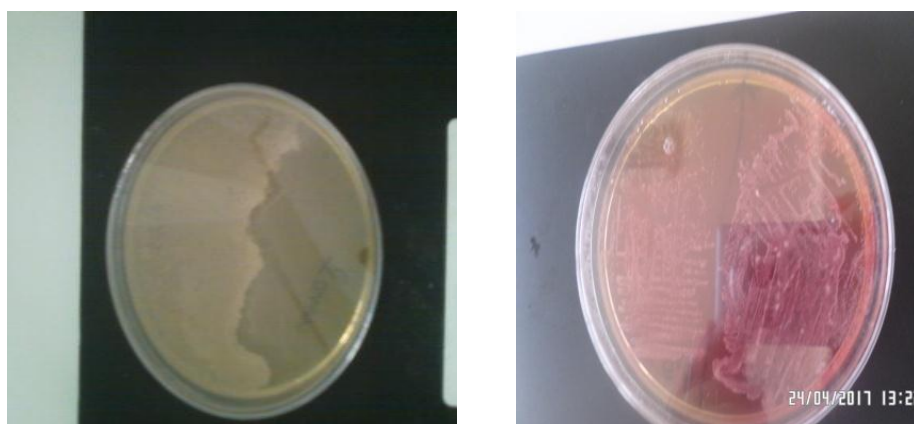
II. Résultats

Dans cette étude qui s'intéresse essentiellement à l'étude des contaminants bactériologiques des œufs de consommation vendus dans les points de ventes dans la commune de Laghouat, on a procédé à la recherche des staphylocoques, des Salmonelles et autre germes microbiens.

II.1 Recherche des staphylocoques

II.1. 1. Recherche dans le milieu Chapman

L'analyse bactériologique des œufs de consommation dans le milieu Chapman démontre qu'il y a des colonies suspectes d'être des staphylocoques dans le blanc d'œuf (les échantillons 1, 6, 8, 9, 13 et 14) et le jaune d'œuf (les échantillons 3, 6, 8, 9, 1, 14) (voir figure13). Par contre, on a enregistré une absence totale des staphylococcies dans les autres échantillons analysés.



Source : photo personnelle, 2017

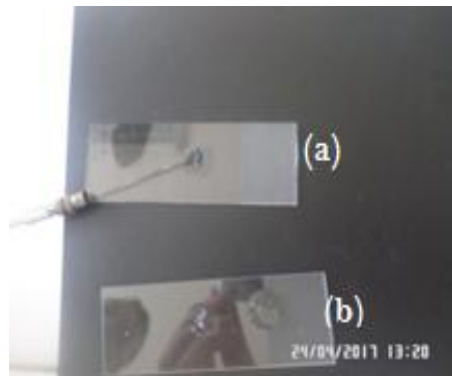
Figure13 : Résultat sur le milieu Chapman.

II. 1. 2. Identification des colonies

a. Test de Gram

L'examen à l'état frais montre que toutes les bactéries issues de colonies suspectes d'être des staphylococcies sont des coques. Après l'application de test KOH, nous avons

observé l'absence de fil visqueux pour toutes les colonies des échantillons testés (réaction négative) donc ces colonies sont Gram positif (voir figure14).



Source : (photo personnelle 2017)

Figure14 : Résultat de Test de (KOH) ;
(a) réaction positive, (b) réaction négative

b. Test de catalase

Pour toutes les colonies des échantillons testés, nous avons obtenu une réaction négative, donc l'absence de la catalase signifie l'absence de staphylocoques sauf pour le blanc d'œuf de l'échantillon n°1 et le jaune d'œuf de l'échantillon n° 3 où il existe une réaction positive (catalase positive), ce qui fait suspecter la présence des staphylocoques (voir figure 15).



Source : (photo personnelle 2017).

Figure 15 : Résultats de test catalase ;
(en haut) réaction positive, (en bas) réaction négative

c. Test de coagulase

Après le passage de temps d'incubation des tubes à essai à coagulase, on observe qu'il n'existe aucun trouble dans ces tubes ce qui indique une coagulase négative pour les échantillons testés (voir figure 16). Les staphylocoques détectés dans ces échantillons sont des staphylocoques à coagulase négative.



Source : photo personnelle, 2017

Figure 16 : Résultat négative de test coagulase.

II.2. Recherche des salmonella

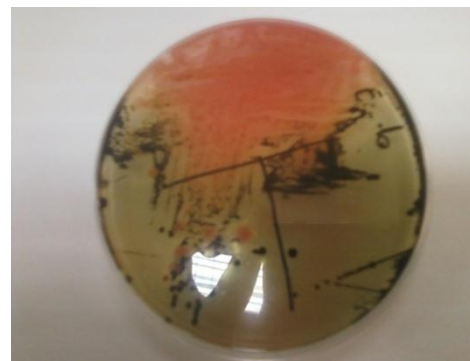
II. 2 .1 Recherchent dans le milieu Hektoen

Selon les analyses bactériologiques sur milieu Hektoen, nous avons observé que tous les échantillons ne présentent aucune colonie suspectée d'être Salmonella (colonie bleu verte avec ou sans centre noir), (figure 17) sauf dans le blanc d'œuf de l'échantillon n°1(figure 18).



Source : photo personnelle 2017

Figure 17 : Résultat négatif sur le milieu Hektoen

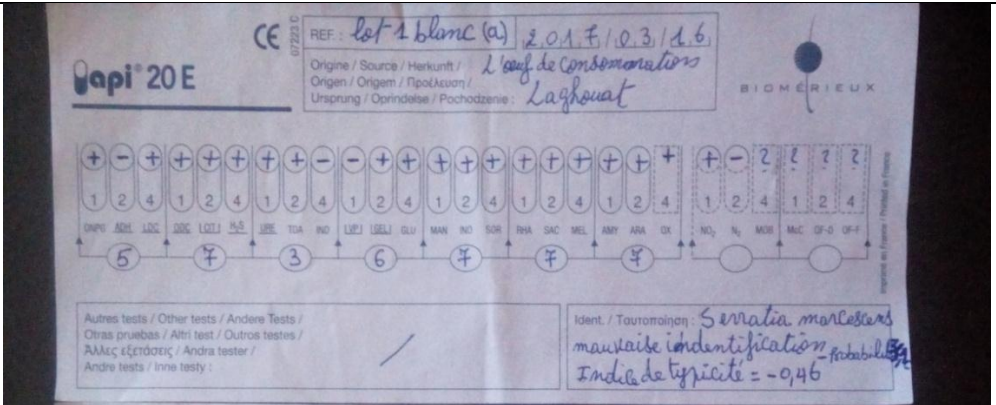
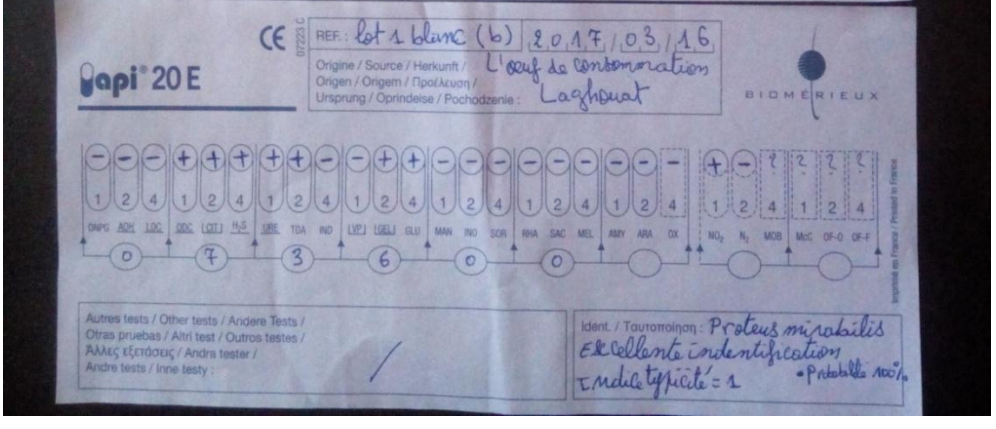


Source : photo personnelle 2017

Figure 18 : Résultat positif (colonies suspectes) sur le milieu Hektoen

II. 2 .1 Identifications par les galeries API 20E

Après l'identification biochimique de colonies suspectes sur le milieu Hektoon (blanc d'œuf de l'échantillon 1), par la galerie APE 20, les résultats obtenus ont montré la présence d'autres germes qui ne sont pas des salmonella, il s'est avéré que c'était *Serratia marcescens* avec une mauvaise indentation et *Proteus mirabilis* avec excellente indentation (figure 19).

Bactéries	Identification API 20E
<p><i>serratiamarcescens</i></p>	
<p><i>Proteus mirabilis</i></p>	

Source : photos personnelles, 2017

Figure 19: Identifications par les galeries API 20E des bactéries isolées

III. Discussion

Notre étude a été réalisée dans le but d'étudier, les contaminants bactériologiques des œufs de consommation, vendus dans les différents points de vente dans la commune de Laghouat par la recherche de germes microbiens tels que *Salmonella*, *Staphylocoques* et autres germes dans le jaune et le blanc d'œuf de consommation.

Après les analyses bactériologiques effectuées sur 14 échantillons des œufs de consommation, et en ce qui concerne la recherche des staphylocoques dans le blanc et le jaune d'œuf, aucune *Staphylococcus aureus* à coagulase positive n'a été détectée ; toutefois, des staphylocoques à coagulase négative ont été détectés dans le blanc de l'échantillon n°1 et le jaune de l'échantillon n°3.

Selon Alomar (2007), le genre *Staphylococcus* a deux groupes : le groupe des *Staphylococcus* à coagulase négative et le groupe des *Staphylococcus* à coagulase positive ; en plus, des bactéries à coloration de Gram positif, catalase positive (Freneyetal., 1999).

Les colonies observées au cours de notre étude ne sont pas des staphylocoques aureus car selon ANSES (2012), les *Staphylococcus aureus* sont des coques à coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, possède une catalase et une coagulase.

D'après Guiraud et Galzy (1980), les germes pathogènes sont responsables de troubles plus ou moins graves chez le consommateur, appartiennent au genre: *Staphylococcus*. Les différents troubles causés par l'ingestion d'œufs contaminés par ce germe pathogène sont étudiés plus loin dans l'importance hygiénique et médicale des œufs de consommation.

La recherche des salmonella dans tous les échantillons analysés a été négative, ce résultat est conforme aux normes du Journal Officiel de la République Algérienne (1998). Nos résultats confortent amplement ceux rapportés dans la littérature, notamment celle Sabarinath et al. (2009) ; GhasemianSafaei et al. (2011) et Hechachna (2016).

Selon Arzour (2006), aucune Salmonella n'a été isolée sur 1350 œufs achetés de différents points de vente de la filière œufs. L'auteur avance aussi qu'aucune salmonelle n'a été isolée au niveau des œufs pendant 10 années d'analyses bactériologiques effectuées au niveau du LRV de Constantine.

Par contre, des études montrent que la recherche de salmonella dans l'œuf a été positive. Dans ce contexte, les salmonelles, et en particulier *Salmonella Enteritidis*, posent un véritable problème de santé publique car elles sont responsables de toxi-infections alimentaires collectives. En 2001, *Salmonella* a été l'agent le plus souvent isolé, dans 64 % des cas, lors de toxi-infections alimentaires collectives ; le sérotype *Enteritidis* était prédominant et présentait 52% des isollements de *Salmonella* chez l'homme. Les œufs et les préparations à base d'œufs étaient les aliments les plus souvent en cause (Bertrand, 2003).

Ensuite, les aliments les plus souvent incriminés étaient, par ordre décroissant d'importance, les plats préparés en général (ex : salades de pomme de terre), les œufs, les viandes de poulet et de dinde, les crèmes glacées, les pâtisseries et la viande de bœuf (Bean et al., 1997).

Dans une autre étude ayant trait aux infections à *Salmonella Enteritidis*, il a été établi que les œufs constituent un vecteur majeur pour les humains. La plupart des sérotypes de *Salmonella* contaminent les œufs en coquille sur leur surface extérieure, puis pénètrent dans leur contenu par les fissures dans la coquille ou en raison d'autres facteurs susceptibles d'entraîner la pénétration de la coquille de l'œuf (durée ou température inadéquates, lavage inadéquat de l'œuf) (Shahzad et al. 2012).

La contamination des œufs de commerce par *Salmonella* a été de 7,7%. La contamination de la surface des coquilles a été de 5,9%. Cependant, celle des contenus de l'œuf a été de 1,8%. Le sérotype le plus incriminé est *Salmonella Typhimurium* (Suresh et al., 2006).

Durant la recherche de salmonella, on a observé des germes microbiens dans l'échantillon n°1 au niveau du blanc d'œuf, ces germes seraient des *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*.

Selon Guiraudet Galzy (1980), les bactéries contaminant les œufs peuvent être classées en deux groupes selon leur conséquence pour l'œuf ou pour le consommateur ; une flore pathogène pour le consommateur et une flore saprophyte responsable d'altérations des œufs. Cette dernière est représentée par des germes généralement dépourvus de tout pouvoir pathogène vis-à-vis des consommateurs. Ils appartiennent surtout au groupe des

Gram négatifs avec deux grandes familles: la famille des Enterobacteriaceae et celle des Pseudomonaceae.

Les Entérobactéries en cause regroupent les genres *Proteus*, *Serratia* ainsi que les coliformes (*Escherichia*, *Citobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*). Les bactéries saprophytes de la famille des Pseudomonaceae que l'on retrouve dans les œufs sont représentées essentiellement par le genre *Pseudomonas*.

Notre étude a été réalisée dans le but d'étudier les contaminants bactériologiques des œufs de consommation, vendus sur différents points de vente dans la commune de Laghouat par la recherche de bactéries pathogènes telles que : *Salmonella*, *Staphylocoques* et autres germes microbiens qui pourraient se localiser dans le jaune et le blanc des œufs de consommation.

Après des analyses bactériologiques effectuées sur 14 échantillons d'œufs de consommation, et en ce qui concerne la recherche des staphylocoques dans le blanc et le jaune d'œuf, aucune *Staphylococcus aureus* à coagulase positive n'a été détectée dans tous les échantillons analysés, mais des staphylocoques à coagulase négative ont été détectés dans le blanc de l'échantillon n°1 et le jaune de l'échantillon n°3.

La recherche de *Salmonella* dans tous les échantillons analysés a été négative. Durant la recherche de cette bactérie, on a décelé la présence des germes microbiens dans l'échantillon n°1 au niveau du blanc d'œuf. Après identification, il s'agissait de *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*.

Au terme de cette étude, les œufs de consommation commercialisés dans la wilaya de Laghouat ne sont pas exempts de quelques contaminants bactériologiques qui pourraient présenter un risque pour la santé publique mais dont la réglementation Algérienne spécifique aux denrées alimentaires n'en tient pas compte; celle-ci ne traite que de la recherche de salmonella dans les œufs de consommation.

Les autorités compétentes doivent être alertées en vue d'apporter des révisions à ces lois, exigeant ainsi la recherche des *Staphylococcus*, d'autres Entérobactéries et d'autres germes microbiens (*Pseudomonas*, *Campylobacter*). Aussi, il est souhaitable de faire la recherche des résidus des médicaments vétérinaires issus du traitement des poules pondeuses. Par ce que, sont dangereuses à la santé de consommateur et provoquent des maladies dans le cas d'ingestion des aliments contaminés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agence Nationale De Securite Sanitaire Alimentation, Environnement, Travail (ANSES). 2011. Avis de l'Anses relatif à la révision de la définition des *E.coli* entéro-hémorragiques (EHEC) majeurs typiques, à l'appréciation quantitative des risques liés à ces bactéries à différentes étapes de la chaîne alimentaire, selon les différents modes de consommation des steaks hachés, et à la prise en compte du danger lié aux *E.coli* entéro-pathogènes (EPEC) dans les aliments. 11 janvier 2011. 58p.

Ahmed, F. E. 1991. Seafood safety. National Academy Press. Washington. D-C, Etats Unis. 224p.

Alomar, J. 2007. Etude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. The Doctorat. École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA). 115p.

Anton, M., Nau, F., Lechevalier, V. et al. 2010. Egg products: functional ingredients for complex matrices Les ovoproduits: des ingrédients fonctionnels pour des matrices complexes. *INRA Productions Animales*, 23, (2): p. 215-224.

Arzour, L. N. 2006. Appréciation des risques Bactériologiques dans les œufs et Les ovo produits. Université Mentouri- Constantine. 117p.

Avril. J. L., Dabernat, H., Denis, F. 1992. Bactériologie clinique. 2^{ème} Édition. Paris. P. 168-171.

Bean, N., Goulding, J., Daniels, M. et al. Surveillance for foodborne disease outbreaks- United States, 1988- 1992. *J. Food Prot.*, 1997, 60, p. 265-1286.

Beghoul, S. 2006. Bilan lésionnel des autopsies des volailles effectuées au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Constantine. Mémoire de Magister en médecine vétérinaire : Université Mentouri De Constantine. 89p.

Berrang M, E., Frank J.F., Buhr, R.J. et al. 1999. Eggshell membrane structure and penetration by *Salmonella Typhimurium*. *J. Food Protect.* 62, p. 73-76.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bertrand, R. B. 2003. Etude de la contamination des milieux internes de l'œuf par salmonella sérotype enteritidis. Thèse pour le doctorat vétérinaire. La faculté de médecine de Créteil. École nationale vétérinaire d'ALFORT. 106p.

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**, p. 489-495.

Bossert, I. D., Yung L.Y. 1986. Anaerobic oxidation of paracresol by adenitrifying bacterium. *Applied and environmental microbiology*, 52(5): p. 1117-1122.

Bourin, M., Gautron, J., Berges, M. et al. 2011. Antimicrobial Potential of Egg Yolk Ovoinhibitor, a Multidomain Kazal-like Inhibitor of Chicken Egg. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, (23): p. 12368-12374.

Brugere, H. 1988. Particularité de la physiologie des oiseaux. Editions Rosset. *L'aviculture Française*. P.77-78.

Burley, R. W. And Vadehra, D. V. 1989, *The Avian Egg - Chemistry and Biology*. New York, John Wiley and Sons. p.56.

Bygrave, A.C., Gallagher, J. 1989. Transmission of *Salmonella* Enteritidis in poultry. *Vet. Rec.*, **124**. p. 333.

De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F. et al. 2004. Effect of type 1 fimbriae of *Salmonella*, enterica serotype Enteritidis on bacteremia and reproductive tract infection in laying hens. **33**. *Avian Pathol.* P. 314-320.

FAO.2014.FAO STATISTICAL YEARBOOK 2014: Near East and North Africa Food and Agriculture. Regional Office for the Near East and North Africa. Cairo. 257.P.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Farinazzo, A., Restuccia, U., Bachi, A. et al. 2009. Chicken egg yolk cytoplasmic proteome, mined via combinatorial peptide ligand libraries. *Journal of Chromatography A*, 1216, (8): p. 1241-1252.

Fox, L. K., Zadoks, R. N., Gaskins, C. T. 2005. Biofilm production by *Staphylococcus aureus* associated with intramammary infection. *Veterinary Microbiology*. 107. P. 295-299.

Freney, J., Kloos, W., Hajek, V., et al. 1999. Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species. *International Journal of Systematic Bacteriology* **49**, p. 489-502.

Gast, R. K., Beard C.W. 1990a. Isolation of *Salmonella* Enteritidis from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Dis.*, **34**, p. 991-993.

Gast, R.K., Beard, C. W. 1990b. Production of *Salmonella* Enteritidis-contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Dis.***34**. p. 438-446.

Gast R, K., Beard, C.W. 1993. Recovery of *Salmonella* Enteritidis from inoculated pools of egg contents. *J. Food Protect.* **56**. P. 21-24.

GhasemianSafaei,H., Jalali, M., Hosseini, A.,Narimani, T., Sharifzadeh, A., Raheimi, E.(2011).The prevalence of bacterial contamination of table eggs from retails markets by *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* in Shahrekord.Jundishapur *Journal of MicrobiologyIran*4(4): p.249-253.

Grimont, P.A.D., Grimont, F. Et Bouvet, P.J.M. 1994. *Salmonella* In Manuel de bactériologie clinique. Vol2. 2^{ème} Édition Ed. Elsevier. p. 42.

Grundmann, H., Hori, S., Enright, M. C., et al. 2002. Determining the Genetic Structure of the Natural Population of *Staphylococcus aureus*: a Comparison of Multilocus Sequence Typing with Pulsed- Field Gel Electrophoresis Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis, and Phage Typing. *Journal of Clinical Microbiology* 40. P. 4544-4546.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Guerin-Dubiard, C., Anton, M., Gautron, J. et al.** 2010. Composition de l'œuf, Science et technologie de l'œuf Volume II De l'œuf aux ovo- produits. Thapon: 176p.
- Guiraud, J; Galzy,P.** 1980. L'Analyse micro biologique dans les industries alimentaires Collection. Génie alimentaire Paris: Edition de l'usine nouvelle. P.25.
- Harizi, K.** 2009. Recherche et Identification des Bactéries Pathogènes *Salmonella* et *Listeria* dans les aliments. Rapport de stage de mastère professionnel. Institut Supérieure de Biologie Appliquée de Médenine: Université de Gabés. 46p.
- Hechachna, R.** 2016. Contribution a l'étude de la qualité bactériologique des œufs de consommation au niveau de la région de Laghoat. Mémoire de master : Université Amar Téliidji de Laghouat. 40p.
- Hoop, R.K., Pospischil, A.** 1993. Bacteriological, serological, histological and immunohistochemical findings in laying hens with naturally acquired *Salmonella* Enteritidis phage type 4 infections. *Vet. Rec.* **133**. p. 391-393.
- Hu, L., Kopecko, D.** 2003. typhoid *salmonella.*, Bier J., International Handbook of Foodborne pathogens. Edition. Milotis N, New York. P. 151-165.
- Humphrey T.J., Chart H., Baskerville A. et al.** 1991. The influence of age on the response of SPF hens to infection with *Salmonella* Enteritidis PT4. *Epidemiol. Infect.* **106**p. 33-43.
- Humphrey, T.J., Whitehead, A., Gawler, A.H.L. et al.** 1991c. Numbers of *Salmonella* Enteritidis in the contents of naturally contaminated hens' eggs. *Epidemiol. Infect.* **106**. p. 489-496.
- Humphrey, T.J.** 1994. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella* Enteritidis : a review. *Int. J. Food Microbiol.* **21**. P. 31-40.
- Javed, T., Hameed, A., Siddique, M.** 1994. Egg shell penetration tendency of different *Salmonella* serotypes by attached ring color method. *Acta Microbiol. Pol.*, **43**, p. 67-72.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Johnson, Al.** 2000. Reproduction in the female. *In: Sturkie's Avian Physiology*. 5^{ème} édition. Academic Press, USA. P.569-600.
- JORADP. 1998** : Journal officielle de république algérienne démocratique de population, n°035 du 27 mai, Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
- Keller L.H., Benson C.E., Krotec K. et al.**1995. *Salmonella* Enteritidis colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs. *Infect. Immun.*, **63**, p. 2443-2449.
- Lakehal, N.** 2006. Appréciation des risques bactériologiques dans les œufs et les ovo-produits. Magister en Médecine Vétérinaire : Université Mentouri- Constantine. 146p.
- Leyden, J. J., Richard, R., Marplesand, A et al.** 1974. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology* **90**. P. 525- 530.
- Li-Chan, E. And Nakai, S.** 1989. Biochemical basis for the properties of egg white. *Critical Reviews of Poultry Biology*. 2: p. 21-58.
- Li-Chan, E., Kim, H. O.** 2008. Structure and chemical composition of eggs, *Egg Bioscience and Biotechnology*, Y. Mine. Hoboken, New Jersey, John Wiley and Sons: p.1-95.
- Mann, K. And Mann, M.** 2008. *The chicken egg yolk plasma and granule proteomes*, *Proteomics*, 8, (1): p.178-191.
- Mann, K.** 2008. *Proteomic analysis of the chicken egg vitelline membrane*. *Proteomics*. 8. (11): p. 2322-2332.
- Matos, J. S., White, D. G., Harmon, R. J. et al.** 1991. Isolation of *Staphylococcus aureus* from Sites Other than the Lactating Mammary Gland. *Journal of Dairy Science* **74**. p. 1544-1549.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Methner, U., Al-Shabibi, S., Meyer H.** 1995. Experimental oral infection of specific pathogen-free laying hens and cocks with *Salmonella* Enteritidis strains. *J. Vet. Med.* **42**. p. 459-469.
- Mineki, M. and Kobayashi, M.** 1997. Microstructure of yolk from fresh eggs by improved method. *Journal of Food Science*, 62, (4): p. 757-761.
- Miyamoto, T., Horie, T., Baba, E., Sasai, K., Fukata, T., Arakawa, A.** 1998. *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. *J. Food Protect.* **61**. P. 350-353.
- Nagase, N., Sasaki, A., Yamashita, K., Shimizu, A., Wakita, Y., Kitai, S. and Kawano, J.** 2001. Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *Journal of Veterinary Medical Science* **64**.p. 245-250.
- Nys, Y., Hincke, M. T., Arias, J. L., Garcia-Ruiz, J. M., and Solomon S. E.** 1999. Avian eggshell mineralization. *Poultry and Avian Biology Reviews*. 10. (3): p. 143-166.
- Nys, Y. and Guyot. N.** 2011. Egg formation and chemistry. *Improving the safety and quality of eggs and egg products. Volume 1: Egg chemistry, production and consumption*, Y. Nys, M. Bain and F. v. Immerseel. Cambridge, UK, Woodhead Publishing Ltd: p. 83-132.
- NYS, Y.** 2010. Structure et formation de l'œuf. *Science et technologie de l'œuf Volume I : Production et qualité*, F. Nau, C. Guerin-Dubiard, F. Baron and J.-L. Thapon: p.161-250.
- Oliveira, M., Bexiga, R., Nunes, S. F., Carneiro, C., Cavaco, L. M., Bernardo, F. and Vilela, C. L.** 2006. Biofilm-forming ability profiling of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates. *Veterinary Microbiology* 118.p. 133-140.
- Pascal, P.** 1968. Comment élever les poules. Guide d'aviculture africaine de la ferme - école de l'Eglise. Presbytérienne Camerounaise. Cameroun — Afrique équatoriale. P.16.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pauline, M. 2015. Biominéralisation de la coquille d'œuf de poule : caractérisation des protéines de la matrice organique impliquées dans l'initiation de la minéralisation. Pour obtenir le grade de : Docteur de l'université François – Rabelais de Tours. 229p.

Pichereau, A. 2012. Les techniques de prélèvement et d'insémination artificielle chez les oiseaux. Thèse pour le doctorat vétérinaire : École nationale vétérinaire d'Alfort. 84p.

Pierre, E. 2013. Plan d'Action Salmonelles. Lutte contre les salmonelles zoonotiques chez les volailles. Version 2013. 42p.

Price, K.A., Keller, L.H., Davison, S., Eckroade, R.J. 1995. Optimal parameters of incubation for detection of *Salmonella* Enteritidis contamination in Grade A table eggs by monoclonal antibody-based ELISA. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7.p. 265-268.

Rehault-Godbert, S., Herve-Grepinet, V., Gautron, J. et al. 2011. Molecules involved in chemical defence of the chicken egg. *Improving the safety and quality of eggs and egg products. Volume 1: Egg chemistry. production and consumption*, Y. Nys, M. Bain and F. v. Immerseel. Cambridge, UK, Woodhead Publishing Ltd: p. 183-208.

Rehault-Godbert, S., Labas, V., Helloin, E. et al. 2013. Ovalbumin-related Protein X Is a Heparin-binding Ov-Serpin Exhibiting Antimicrobial Activities, *Journal of Biological Chemistry*, 288, (24): p. 17285-17295.

Sabarinath, A., Guillaume, V., Guillaume, B., Mathew, V., DeAlliea, C., NathSharma, R. (2009). Bacterial contamination of commercial chicken eggs in Grenada, **Salihu, MD., Garba, B., Isah, Y. (2015).** Evaluation of microbial contents of table eggs at retail outlets in Sokoto metropolis. *Nigeria Journal of Veterinary Sciences* 13(1): p. 22-28.

Sauveur, B., De Revier, M. 1988. Reproduction des volailles et production d'œufs. Editions Quae. 449p.

Sauveur, B. 1988. Reproduction des Volailles et production d'œufs. Edition INRA. p. 11-49.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Shahzad, A., Shahid, M., Hussain, I. et al. 2012. Prevalence of Salmonella Species In Hen Eggs and Eggstoring-Trays Collected From Poultry Farms And Marketing Outlets Of Faisalabad, Pakistan Vol. 49(4), P. 565-568.

Shivaprasad, H.L., Timoney, J.F., Morales, S. et al. 1990. Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding, and serologic responses. *Avian Dis.*, **34**, p. 548-557.

Spécifications Techniques Applicables Aux Oeufs Et Aux Ovoproduits, 2015.

Suresh T., Hathab A.A.M., Sreenivasan D. et al. 2006: Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella enteritidis* and other salmonellas in the eggs and egg-storing trays from retail markets of Coimbatore, South India *Food Microbiology* 23 294-299

Timoney, J.F., Shivaprasad H.L., Baker R.C., 1989. Egg transmission after infection of hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Vet. Rec.*, **125**, p. 600-601.

Van Immerseel, F., De Buck, J., Boyen, F. et al. 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. *Ann. Méd. Vét.* **149**. Merelbeke. P.34-48.

Villate, D. 2001. *Maladie des volailles*. 2^{ème} édition. France Agricole Editions. 400p.

Wang, H., Slavik, M.F. 1998. Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. *J. Food Protect.* **61**. P. 276-279.

Zadoks, R. N., Van Leeuwen, W. B., Kreft, D et al. 2002. Comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates from Bovine and Human Skin, Milking Equipment, and Bovine Milk by Phage Typing, Pulsed-Field Gel Electrophoresis, and Binary Typing. *Journal of Clinical Microbiology* **40**. P. 3894-3902.

Site web:

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Baribeau, H. 2004. L'œuf. Site: <http://www.reseau-proteus.net>. Consulter le 10/3/2017.

Le Guerhier, F. Publié Le 05/04/2013. Extraction de la protéine OVAX pour lutte contre *listiria*. <http://www.inra.fr/Entreprises-Monde-agricole/Offres-de-technologie/Toutes-les-actualites/OT-OVAX>. Consulter le 26/02/2017.

Annexes1: les compositions des milieux de culture (g/l)

1. Eau peptonnée tamponnée

composition	Quantité (g/l)
Peptone	10
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate Disodique dodecahydrate	9
Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	1,5
pH	7,0

2. Chapman medium Typical Composition (g/ Litre)

Composition	Quantité (g/l)
Peptone from casein	10.0
Yeast extract	2.5
Di-potassium hydrogen phosphate	5.0
Gelatin	30.0
Lactose	2.0
D (-) mannitol	10
sodium chloride	75.0
Agar-agar	12.0

3. BHIB (brain heart infusion broth):

Brain heart infusion broth en boudre	7.4 g
Eau distillie	200 ml

4. Bouillon au sélénite-cystine : SFB

composition	Quantité (g/l)
Peptone	5
Tryptone	5
Mannitol	4
Phosphate	-
Disodique	4
L-cystine	-

5. Milieu de Hektoen (g/l)

composition	Quantité (g/l)
Peptone pepsique de caséine	15
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Lactose	12
Salicine	2
Saccharose	12
Chlorure de sodium	5
Bleu de bromothymol	0,064
Fushine	0,1
Agar-Agar	18

Annexe 2 : Tableau de lecture de galerie API 20 E

Tests	Composants actifs	Réactions- enzymes	Résultats	
			négatif	positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	β-galactosidase	incolore	jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	Arginine DiHydrolase	jaune	Rouge – orangé
<u>LCD</u>	L-lysine	Lysine DéCarboxydase	jaune	Rouge – orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	Ornithine DéCarboxydase	Jaune	Rouge – orangé
<u>CIT</u>	Trisodium citrate	Utilisation du CITrate	Vert pâle – jaune	Bleu- vert
<u>H₂S</u>	Sodium thiosulfate	Production d'H ₂ S	Incolore- grisâtre	Dépôt noir – fin liseré
<u>URE</u>	Urée	UREase	Jaune	Rouge – orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane DésAminase	Ajouter une goutte de réactif de TDA et lire immédiatement la réaction.	
			Jaune	Maron – rougeâtre
IND	L- tryptophane	Production d'INDole	Ajouter une goutte de kovac puis lire immédiatement la réaction.	
			Incolore – vert pâle – jaune	Rose
<u>VP</u>	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	Ajouter une goutte de VP1 puis VP2, lire la résultat après 10min.	
			Incolore – rose pâle	Rose – rouge
<u>GEL</u>	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase (GELatine)	Non diffsion	Diffusion du pigment noir

GLU	D- glucose	Fermentation – oxydation	Bleu – bleu- vert	Jaune – jaune-gris
MAN	D-mannitol	Fermentation- oxydation(MANnitol)	Bleu – bleu- vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation- oxydation(INOsitol)	Bleu – bleu- vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation oxydation(SORbitol)	Bleu – bleu- vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation oxydation(RHAMnose)	Bleu – bleu- vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation oxydation(SACcharose)	Bleu – bleu- vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation oxydation(MELbiose)	Bleu – bleu- vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation oxydation(AMYgdaline)	Bleu – bleu- vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation oxydation(ARABinose)	Bleu – bleu- vert	Jaune

❖ Classification des œufs selon le poids

XL : œuf très gros, poids supérieur à 73g.

L : œuf gros, poids compris entre 63 et 73g.

M : œuf moyen, poids compris entre 53 et 63g.

S : petit œuf, poids inférieur à 53g (Spécifications Techniques Applicables Aux Œufs Et Aux Ovo-produits, 2015).

Partie

bibliographique

Partie expérimentale

Introduction

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques