

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

KOUDIRI Mokhtaria

MARSIT Khadidja

TERBOUCHE Messaouda

Thème

**Détection de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* et
Clostridium perfringens dans les œufs de consommation
commercialisés au niveau de la région de Tiaret**

Soutenu publiquement le 30 juin 2019

Jury:

Président: BOUMEZRAG Assia

Encadreur: MERATI Rachid

Examineur: BEN BELKACEM Idir

Grade

MCB

MCB

MAA

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

En premier, nous remercions tout d'abord ALLAH qui nous a donné la volonté et le courage pour avoir réalisé ce travail, ainsi qu'aux personnes qui nous ont apporté leur aide.

La réalisation de ce travail a été possible grâce à la collaboration de plusieurs personnes, c'est l'occasion de les remercier et de leurs avouer nos profondes reconnaissances.

Nous tenons à remercier notre encadreur monsieur « MERATI Rachid » et nos examinateurs monsieur « BEN BELKACEM I. » et madame « BOUMEZRAG A. », Sans oublier tous nos enseignants, les travailleurs de la faculté des S.N.V. et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.



Dédicace

A mes chers parents

Sources de mes joies, secrets de ma force, Vous serez toujours le modèle.

*Maman, dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour
Nous, Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants
Grandissent et prospèrent Merci de trimer sans relâche, malgré
les péripéties de la vie, Au bien être de vos enfants Merci d'être
tout simplement mes parents, C'est à vous que je dois cette
réussite et je suis fière de vous l'offrir.*

A mes sœurs et mes frères

*Témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je
porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de
bonheur, santé et de réussite.*

A mes amis

. Merci pour ton encouragement et ton aide.

Ames collègues de travail Messaouda et Khadidja

A tous les membres de la famille KOU DIRI, SAMAD, BRIKI,

RIZMI

KOU DIRI Mokhtaria

Dédicace

*Avec l'aide de dieu tout puissant, nous avons pu achever ce
modeste travail que je dédie à:*

*Ma mère ROKAYA, merci pour m'avoir toujours supporté dans
mes décisions. Merci pour tout votre amour et votre confiance,
pour m'avoir aidé à ranger mon éternel désordre. A mon père
MOHAMMED en vous, je vois un père dévoué à sa famille. Ta
présence en toute circonstance m'a maintes fois rappelé le sens de
la responsabilité. Aux joies de ma vie mon fils TAREK et son
père ABDELHAK, A ma 2ème famille à DAHMOUNI. A ma
2ème mère FATMA. A mes sœurs FATIMA, AMEL, et
SARAH. A mon frère OMAR, Et les petits LINDA et
YOUNES. A mes collègues de travail MOKHTARIA et
MESSAOUDA. Merci pour tout. A tous mes amis, IMEN,
ZAHRA, JAWIDA, SALIMA, et FATIMA. A tous les profs
de faculté S.N.V. A tous les étudiants de l'université de
TIARET. Et à tous ceux qui me sont chers... dieu vous garde.*

MARSIT Khadidja

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*A la mémoire de ma sœur, SARA, décédée le 21/12/2018, qui a
tant attendue ce moment.*

A mes chers parents pour son amour infini.

A mes frères et mes sœurs.

Et à tous les membres de ma famille.

A tous mes amis, tous mes professeurs.

A Mes collègues de ce travail

Khadidja et Mokhtaria

TERBOUCHE Messaouda

Résumé

Notre étude avait pour but d'évaluer la qualité des œufs destinés à la consommation dans la région de Tiaret et de détecter la présence de *Salmonella* spp., *E.coli* et *Clostridium perfringens* responsables de leur contamination. Un total de 120 œufs de consommation collectés à partir de différents points de vente (épiceries/30, boucheries/30, grossistes/30, marchands ambulants/30), sur une période de 3 mois (février 2019 à avril 2019), ont été analysés par des méthodes classiques de détermination de qualité et d'isolement bactériologique. La majorité des œufs ont présenté un poids de catégories S (46.66%) et M (49,16%) et un indice de fraîcheur compris entre 1 (88,33%) et 2 (10,83%). De même, 63,33% des œufs ont présenté un contenu interne normal. Toutefois, sur les 120 œufs analysés, *salmonella* été la seule bactérie isolée avec un taux de 8,33% (jaune d'œuf) et 7,5% (blanc d'œuf). Nos résultats indiquent que la majorité des œufs de consommation collectés à partir de différents points de vente au niveau de la région de Tiaret présentent une bonne qualité physique, mais *Salmonella* était la seule bactérie détectée.

Mots clés : Œufs de consommation, Qualité, *Salmonella*, *E coli*, *Clostridium perfringens*, Tiaret.

Abstract

Our study aimed to assess the quality of commercial eggs in Tiaret province and to detect the presence of *Salmonella*, *E coli* and *Clostridium perfringens* responsible for their contamination. A total of 120 eggs collected from different outlets (grocery stores / 30, butcher shops / 30, wholesalers / 30, street vendors / 30) in a period of 3 months (February 2019 to April 2019) were analyzed by standard methods of determination of quality and bacteriological isolation. The majority of eggs were S (46.66%) and M (49.16%) category weight, with a freshness rating from 1 (88.33%) to 2 (10.83%). As far as, 63.33% of the eggs had normal internal content. However, out of the 120 eggs analyzed, *Salmonella* was the only isolated bacteria at the rate of 8.33% (egg yolk) and 7.5% (egg white). Our results indicate that the majority of commercial eggs collected from different outlets in Tiaret province are of good quality, and *Salmonella* was the only bacterium detected.

Key words: Commercial eggs, Quality, *Salmonella*, *E coli*, *Clostridium perfringens*, Tiaret.

الملخص

تهدف دراستنا إلى تقييم جودة بيض الاستهلاك في منطقة تيارت والكشف عن وجود السالمونيلا والأشريكية القولونية والكلوستريديوم بيرفرينجنز المسؤولة عن تلوثها. تم جمع 120 بيضة استهلاك من منافذ مختلفة (محلات البقالة / 30 ، ومحلات الجزارة / 30 ، وتجار الجملة / 30 ، والباعة المتجولين / 30) ، على مدى فترة 3 أشهر (من فبراير 2019 إلى أبريل 2019) ، حيث تم تحليلها بواسطة الطرق التقليدية لتحديد الجودة والعزل البكتريولوجي. كانت غالبية البيض من فئة الوزن 46.66S % و 49.16 M % (وكان مؤشر حيوية من 1 (88.33 %) إلى 2 (10.83 %)). وبالمثل، كان 63.33 % من محتوى البيض الداخلي طبيعي. ومع ذلك ، من بين 120 بيضة تم تحليلها ، كان السالمونيلا هو البكتيريا الوحيدة المعزولة بمعدل 8.33 % (صفار البيض) و 7.5 % (بياض البيض). تشير نتائجنا إلى أن غالبية بيض الاستهلاك التي تم جمعها من منافذ بيع مختلفة في منطقة تيارت ذو جودة جيدة ، وأن السالمونيلا هي البكتيريا الوحيدة المكتشفة.

الكلمات المفتاح : بيض الاستهلاك ، الجودة ، السالمونيلا ، الأشريكية القولونية ، كلوستريديوم بيرفرينجنز ، تيارت.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

α :	alpha
β :	bêta
ε :	epsilon
i :	iota
EMB:	Éosine Bleu de Méthylène
FAO:	Food and Agricultural Organization
GPM :	Glycoprotéine Membranaire
H ₂ S :	Sulfure d'hydrogène
INVS:	Institut de Veille Sanitaire Français
ITAVI :	Institute Technique d'Aviculture
Mt :	Million de tonne
NaCl :	Chlorure de sodium
ONPG:	Ortho-Nitrophényl- β -Galactoside
RFA :	République Fédérale d'Allemagne
<i>spp</i> :	plusieurs espèces
TIAC:	Toxi-Infections Alimentaires Collectives
TSC :	Typtone-Sulfite-Cyclosérine
TSI :	Triple Sugar Iron
UE :	Union Européenne
UH:	UnitesHaugh
USA:	United State of America
VMO :	Vitelline Outer Membrane protein

LISTE DES FIGURES

Figure 01. Structure interne de l'œuf quelques heures après la ponte.	07
Figure 02. Organigramme du protocole expérimental..	24
Figure 03. Numérotation des œufs.	25
Figure 04. Procédé d'évaluation de la densimétrie en solution de NaCl à 12%	26
Figure 05. Ensemencement sur milieu de culture EMB.....	28
Figure 06. Milieu de culture utilisé pour l'enrichissement de <i>Clostridium perfringens</i>	33
Figure 07. Répartition du nombre total des œufs par classe de poids	34
Figure 08. Densimétrie en eau salée à 12% (NaCl).....	35
Figure 09. Colonies caractéristiques de <i>salmonella</i> sur milieu Hektoën	37
Figure 10. Résultat microscopique	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. Les dimensions moyennes de l'œuf de poule.	8
Tableau 02. Producteurs des œufs de consommation dans le monde	13
Tableau 03. Principaux producteurs d'œufs de consommation de l'union européenne.....	14
Tableau 04. Développement de la production des œufs en Afrique entre 1990 et 2008	15
Tableau 05. Evolution de la consommation des œufs par habitant en an 1966 à 2005.	16
Tableau 06. Classification des œufs par catégorie de poids.....	26
Tableau 07. Barème de notion de la densimétrie.	26
Tableau 08. Répartition des œufs de consommation par classe de poids.	34
Tableau 09. Résultats de la Densimétrie en eau salée à 12% (NaCl).....	36
Tableau 10. Nature du milieu interne des œufs de consommation.	37
Tableau 11. Taux de détection de <i>Salmonella</i> spp, <i>E.coli</i> et <i>Clostridium perfringens</i>	38
Tableau 12. Résultat des tests biochimiques.....	39

SOMMAIRE

Liste des Abréviations.....	i
Liste des Tableaux.....	ii
Liste des Figures.....	iii
Liste des Annexes.....	vi
Introduction générale.....	1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : L'ŒUF DE POULE

I.1. Appareil génital	3
I.2. Formation de l'œuf	4
I.2.1. Formation du vitellus (jaune d'œuf).....	4
I.2.2. Formation de l'albumen (blanc d'œuf)	5
I.2.3. Formation des membranes coquillières	5
I.2.4. Formation de la coquille	5

CHAPITRE II : STRUCTURE, COMPOSITION ET DEFENSE ANTIMICROBIENNES DE L'ŒUF

II.1. Structure de l'œuf.....	7
II.1.1. Le vitellus	8
II.1.2. L'albumen	8
II.1.3. La coquille.....	9
II.1.3.1. <i>Les membranes coquillières</i>	9
II.1.3.2. <i>La couche mamillaire</i>	9
II.1.3.3. <i>La couche palissadique</i>	9
II.1.4. Cuticule	10
II.2. Composition moyen de l'œuf.....	10
II.2.1. Composition du jaune.....	10
II.2.2. Composition de la membrane vitelline.....	10
II.2.3. Composition du blanc.....	10
II.2.4. Composition des membranes coquillières.....	10
II.2.5. Composition de la coquille.....	10

II.2.6. Composition de la cuticule.....	11
II.3. Défense antimicrobienne des œufs.....	11
II.3.1. La cuticule.....	11
II.3.2.La coquille.....	11
II.3.3. Les membranes coquillères.....	12
II.3.4. L'albumen.....	12
II.3.5. La membrane vitelline.....	12

CHAPITRE III. PRODUCTION ET CONSOMMATION DES ŒUFS

III.1. Production des œufs de consommation.....	13
III.1.1. Production mondiale des œufs.....	13
III. 1.2. Production des œufs de consommation en Europe.....	13
III.1.3. Production des œufs de consommation en Afrique.....	14
III. 1.4. La productionalgérienne des œufs de consommation.....	15
III. 2. La consommation des œufs.....	15
III. 2.1. Consommation mondiale des œufs.....	15
III. 2.2. Consommation Européenne des œufs.....	15
III. 2.3. Consommation Africain des œufs.....	16

CHAPITRE IV. QUALITE DE L'ŒUF

IV. 1. Poids de l'œuf.....	17
IV. 2. Densimétrie (fraicheur de l'œuf).....	17
IV. 3. Principaux index de forme.....	17
IV. 4. La solidité de la coquille.....	18
IV. 5. l'épaisseur de la coquille.....	18
IV. 6. Unité Haugh.....	18
IV. 7. Couleur du vitellus.....	18

CHAPITRE V : CONTAMINATION MICROBIENNE DES ŒUFS DE CONSOMMATION

V. 1. Les salmonelles.....	19
V. 2. <i>Escherichia coli</i>	21
V. 3. <i>Clostridium perfringens</i>	22

ETUDE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Objectif.....	23
I. 2. Lieu et durée de l'étude.....	23
I.3. Matériel.....	23
I. 3.1. Matériel biologique.....	23
I.3.2. Matériel de laboratoire.....	23
I.4. Méthodes.....	24
I.4. 1. Collecte des échantillons	25
I.4. 2. Analyse des œufs	25
I.4. 2.1. Examen avant cassage de l'œuf.....	25
I. 4. 2.1.1. <i>Pesée de l'œuf entier</i>	25
I. 4. 2.1.2. <i>Mesures de la densimétrie des œufs</i>	26
I.4. 2.2. Examen après cassage de l'œuf	27
I. 4. 2.2.1. <i>Préparation de l'échantillon</i>	27
I. 4. 2.2.2. <i>Examen des milieux internes de l'œuf</i>	27
I.4. 2.2.3. <i>Examen bactériologique des œufs</i>	27
I.4. 2.2.3.1. <i>Détection de salmonella et E. coli</i>	27
I.4. 2.2.3.2. <i>Détection de Clostridium perfringens</i>	33

II. RESULTAT ET DISCUSSION

II.1. RESULTAT	34
II. 1.1. Poids des œufs	34
II.1. 2. Densimétrie des œufs de consommation	35
II.1. 3. Contrôle du milieu interne des œufs	36
II.1. 4. Examen bactériologique	37
II.2. DISCUSSION	41
II.2.1. Examen avant cassage e l'œuf	41
II.2.1.1. Poids de l'œuf.....	41

II.2.1.2. Densimétrie des œufs	41
II. 2. 2. Examen après cassage de l'œuf.....	41
II.2.2.1. Examen du contenu interne des œufs	41
II.2.2.2. Examen bactériologique des œufs.....	42
CONCLUSION	43
RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	46
ANNEXES	

Introduction générale

Dans le monde en général et en Algérie en particulier, face à une forte pression démographique, les sources de protéines animales sont devenues de plus en plus insuffisantes. L'aviculture occupe une place primordiale pour la couverture des besoins de la population en protéines d'origine animale en général et en œufs de consommation en particulier. L'œuf est une bonne source de lipides, de minéraux, de vitamines et de protéine à faible cout; de ce fait il présente un intérêt potentiel majeur en nutrition humaine (**Nau et al., 2010c**). D'après Lederer (1978) l'œuf de consommation a une valeur nutritionnelle élevée (2 œufs et demi équivalent à 100 g de viande ou de poisson).

Dans le monde, la consommation d'œufs est très variable, de quelques dizaines à plus de 250 œufs par an et par personne, voire près de 300 comme au Japon. En 2010, environ 64 millions de tonnes d'œufs (coquille et produit transformé) ont été produits dans le monde (**Pascale, 2013**).

Les œufs de consommation font partie des principales sources de protéines animales. C'est dans cette optique que la production d'œufs de consommation représente l'une des voies sur laquelle s'est engagée l'Algérie, afin de subvenir aux besoins de sa population. L'Algérie était un pays importateur d'œufs de consommation durant les années 1980, Le développement réel de la production locale a débuté en 1982. En 1992, l'importation de l'œuf de consommation s'est arrêtée totalement. En 1993, la production nationale couvrait largement les besoins du pays. En 2010 la production nationale des œufs de consommation a atteint 4,82 milliards unités (**Alloui et Bennoune, 2013**).

La bonne qualité des œufs de consommation est un critère très important pour le consommateur, La qualité de l'œuf regroupe la qualité externe de l'œuf en générale, la qualité de la coquille et la qualité interne de l'œuf, il est donc important d'accorder une attention particulières aux problèmes de conservation et de commercialisation des œufs pour maintenir la qualité (**Çağlayan et al., 2009 ; Bobbo et al., 2013**).

L'œuf de consommation peut aussi présenté une contamination bactérienne qui peut être acquise par voie verticale, due à une particularité anatomique des poules qui est la présence d'un tractus digestif, urinaire et génital commun qui peut contribuer à la contamination externe de la coquille durant son passage dans cette région, ou bien par voie horizontale à travers la contamination de la surface de la coquille des œufs après la ponte, par contact avec les microorganismes des fientes, de l'environnement d'élevage ou, en aval, au niveau du centre de conditionnement (**Baron et Jan, 2010**).

Introduction générale

En Algérie en général, les œufs sont stockés et commercialisés dans les conditions naturelles. L'œuf de consommation est un produit vivant qui échange des gaz avec le milieu extérieur, ce qui entraîne des modifications de sa structure , ses caractéristiques physico-chimiques, ainsi que ses barrières naturelles de défense contre la pénétration des micro-organismes, l'œuf peut devenir ainsi un milieu de prolifération intense de moisissures et surtout de bactéries qui sont responsables de toxi-infections alimentaires collectives (*Salmonella* (86%), *E.coli* (13,88%), *Clostridium perfringens* (2%) ,) (Nau *et al.*, 2010a).

Dans ce contexte, notre travail de mémoire vise deux objectifs:

1- Evaluer la qualité des œufs destinés à la consommation, commercialisés dans différents points de vente au niveau de la région de Tiaret.

2- Détecter la présence de *Salmonella* spp., *E.coli* et *Clostridium perfringens* responsables de la contamination des œufs de consommation.

L'œuf de poule

La formation de l'œuf fait appel à deux structures anatomiques différentes (ovaire pour le jaune et oviducte pour le blanc et coquille (**Sauveur, 1988**). Le premier se forme progressivement dans l'ovaire, tandis que le blanc et la coquille sont synthétisés respectivement dans le magnum et l'utérus (**Michel, 1992**).

1. Appareil génital femelle de la poule pondeuse

A l'opposé des mammifères, l'appareil génital femelle des oiseaux est dissymétrique, parce qu'au cours de l'ontogenèse, le tractus génital femelle gauche est très développé et orienté vers la production des œufs, alors que la partie droite est restée à l'état vestigial. Ce dernier est composé :

- d'un ovaire gauche coincé entre le lobe crânial du rein, les vertèbres lombaires et les poumons. Il est constitué par une glande unique, en grappe appendue sur le côté gauche le long de la ligne médiane de la cavité abdominale. La surface de cette glande est parsemée d'une granulation de follicules ovariens, dont chacun est destiné à constituer un œuf. Le nombre de ces follicules correspond au total d'œufs que pondra la poule au cours de son existence (**Arzour, 2006**).

- d'un oviducte qui se présente comme un tube droit de couleur rose pâle, s'étendant de la région de l'ovaire jusqu'au cloaque, composé de plusieurs parties dont:

- **L'infundibulum** ou **pavillon**: zone très fine, non rattachée à l'ovaire, en forme d'entonnoir. Il capte l'ovocyte au moment de l'ovulation. L'infundibulum est le lieu de la fécondation de l'œuf. Sa paroi est particulièrement fine et sa muqueuse contient plusieurs catégories cellulaires ayant pour les unes, une fonction sécrétoire (dépôt des protéines formant la membrane péritelline externe du jaune d'œuf), et pour les autres, une fonction de stockage des spermatozoïdes (**Kasmi, 2017**).
- **Le magnum**: est la partie la plus longue de l'oviducte. Sa paroi est très extensible, et contrairement à celle du pavillon, présente sur sa face interne des plis très importants dont l'épaisseur peut atteindre 5mm. C'est la zone la plus riche en cellules et glandes

sécrétrices de tous types. Le magnum est nettement séparé de la zone suivante par une étroite bande translucide sans glande ni repli interne (**Sauveur, 1988**).

- **L'isthme:** est d'une longueur d'environ 15 cm, présente un léger rétrécissement du diamètre par rapport au magnum. Ses quatre derniers centimètres sont richement vascularisés. Les deux régions sont ainsi distinguées appelées isthme blanc et isthme rouge (**Kasmi, 2017**).
- **L'utérus ou glande coquillière:** se distingue nettement des segments précédents par sa forme de poche et l'épaisseur de sa paroi musculaire. Ses replis internes sont moins continus que ceux des segments antérieurs car interrompus par des protubérances transverses, l'ensemble formant un relief extrêmement complexe.
- **le vagin:** est une partie étroite et musculaire. Il est séparé de l'utérus par un resserrement appelé jonction utéro-vaginale qui joue un rôle primordial dans la progression et la conservation des spermatozoïdes (**Sauveur, 1988**).

2. Formation de l'œuf de poule

2.1. Formation du vitellus (jaune d'œuf)

L'ovaire synthétise des hormones stéroïdiennes et comporte les follicules qui existent déjà à l'éclosion. Il se différencie rapidement en une partie vascularisée appelée medulla, entourée d'une couverture « **cortex** » dont l'aspect devient de plus en plus granuleux au cours du développement (**Michel, 1992**). On distingue trois phases essentielles:

➤ **Phase initiale d'accroissement lent**

A la naissance, le stock de gamètes présent sur l'ovaire est d'environ 12000 ovocytes, l'ensemble de ces ovocytes sont affectés et individualisés par la mise en place de l'épithélium folliculaire au cours des premières semaines après éclosion, puis elle correspond à une accumulation de protéines issues de la granulosa ou du fluide périvitellin. Un grand nombre de ces follicules disparaît par atrophie à ce stade. Le diamètre d'un ovule porté par un ovaire est multiplié par quatre à l'âge de six semaines et atteint un millimètre entre quatre et cinq mois, après dépôt de quelques gouttelettes lipidiques.

➤ **Phase intermédiaire**

Dans une durée de 60 jours, la taille du follicule sélectionné passe de 1 à 4 mm, grâce au dépôt de protéines et de lipides constituant « le vitellus blanc ».

➤ **Phase de grand accroissement**

Pendant cette phase, la croissance de l'ovule s'accélère rapidement par dépôt de protéines et de lipides (6 à 14 jours).

2.2. Formation de l'albumen (blanc d'œuf)

Le jaune d'œuf libéré du follicule par le stigma est capté par la partie supérieure, l'oviducte ou infundibulum assure alors la formation de la couche externe de la membrane vitelline en déposant une couche de fibrilles de même composition que le blanc d'œuf.

Les protéines de l'albumen sont synthétisées plus tard dans le magnum (15 – 20minutes après l'ovulation). L'activité anabolique continue. Les cellules glandulaires sont fortement spécialisées. Celles qui sécrètent l'ovalbumine et le lysozyme sont tubulaires tandis que les cellules calciformes produisent l'avidine et l'ovomucine. En quittant le magnum, le jaune d'œuf se retrouve recouvert d'un gel protéique épais contenant des ions minéraux: sodium, calcium, magnésium et chlorure, en quantités relativement importantes: 50 – 80% de celles que l'on retrouvera dans le blanc d'œuf définitif. A ce stade, le blanc est peu hydraté. Il recevra la majeure partie de son eau dans l'utérus (**Michel, 1992**).

2.3. Formation des membranes coquillières

Elles sont situées entre l'albumen et la surface interne de la coquille, les membranes coquillières présentent une structure en deux couches interne et externe (**Kasmi, 2017**). Elles ont une épaisseur totale de 70 µm (20 µm pour la membrane interne et 50 µm pour la membrane externe) (**Arzour, 2006**).

Chacune est formée d'une superposition de couches de fibres protéiques entrecroisées synthétisées par l'isthme. Elles sont fortement adhérentes l'une à l'autre sauf au niveau de la chambre à air qui n'existe pas au moment de la ponte, mais qui apparaît par la suite lorsque le refroidissement de l'œuf, après la ponte, entraîne une légère contraction de ses constituants (**Arzour, 2006**).

2.4. Formation de la coquille

La coquille, compartiment le plus externe de l'œuf, assure la protection de l'embryon contre les agressions extérieures (**Pauline, 2015**). Son élaboration commence dans l'isthme par la formation des membranes coquillières constituées de fibres protéiques. Mais c'est dans

Etude bibliographique

l'utérus que la calcification de la coquille a lieu. L'œuf pénètre dans ce dernier quatre à cinq heures après l'ovulation et va y séjourner une vingtaine d'heures. Au début, il a un aspect ridé. La première étape est une forte hydratation du blanc d'œuf « plumping ». L'eau transférée à travers les membranes coquillères renferme du sodium, du potassium et du bicarbonate. Le dépôt des cristaux de calcium autour de ces membranes s'effectue à raison de 0,3 à 0,35 g/heure, en commençant avant la fin de l'hydratation, soit environ 10 heures après l'ovulation. La cristallisation du carbonate de calcium s'arrête lorsque le liquide utérin s'enrichit fortement en ions phosphates. La calcification de la coquille est alors achevée, soit deux à quatre heures avant la ponte ou oviposition (**Michel, 1992**).

Structure, composition et défense antimicrobienne de l'œuf

1. Structure de l'œuf

La structure de l'œuf est analogue chez les différentes espèces d'oiseaux. Il est constitué de divers compartiments décrits en **Figure 01**. De l'intérieur vers l'extérieur, on distingue; le jaune d'œuf ou vitellus, le blanc d'œuf ou albumen, les membranes coquillières et la coquille (**Nau et al., 2010a**). Les proportions relatives de ces parties peuvent, en revanche, varier en fonction de divers facteurs zootechniques ou des conditions et durée de conservation des œufs. Les dimensions moyennes d'un œuf de poule sont résumées dans le **Tableau 1**.

Du fait d'une sélection intense depuis de nombreuses années, les œufs de poule aujourd'hui commercialisés ont un poids relativement constant de 60g en moyenne, plus ou moins 5g, dont la coquille représente environ 10%, le blanc 60% et le jaune 30% (**Nau et al, 2010b**).

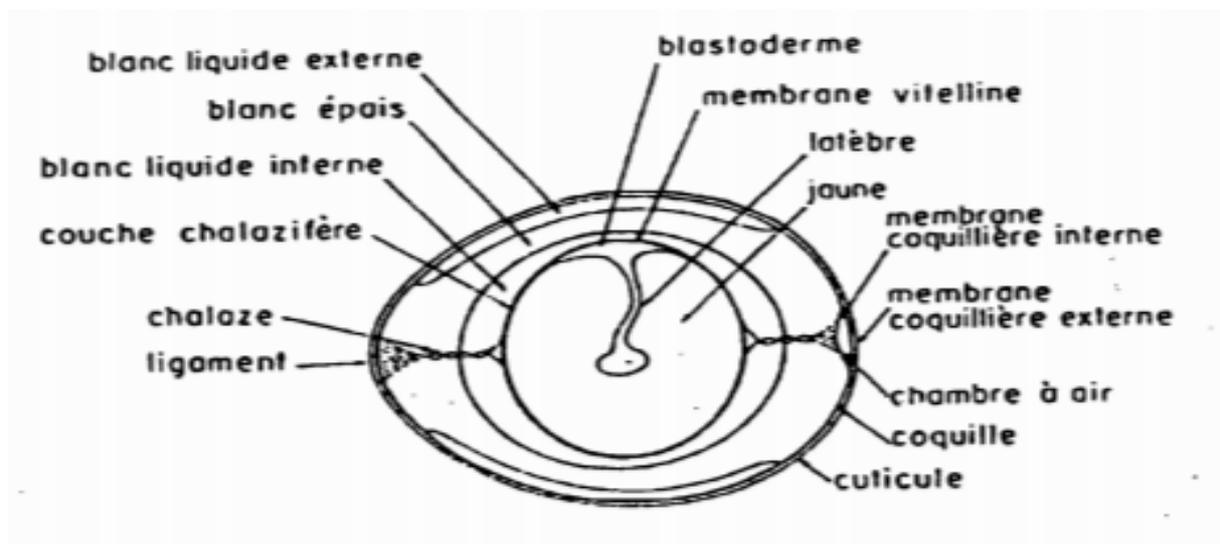


Figure 01. Structure interne de l'œuf quelques heures après la ponte (**Sauveur, 1988**).

Tableau 01. Les dimensions moyennes de l'œuf de poule (Arzour, 2006).

Poids	Gand axe	Petit axe	Grand circ	Petite circ.	Volume	Surface
60g	5.8 cm	4.2 cm	16 cm	13 cm	55 cm ²	70 cm ²

1.1. Le vitellus

Le vitellus ou le jaune d'œuf désigne le contenu du sac vitellin présent dans les œufs des animaux ovipares (Nau et al, 2010b), il est limité par la membrane plasmique de l'ovocyte, lui-même contenu à l'intérieur d'une très fine membrane acellulaire transparente appelée membrane vitelline, elle est très résistante et perméable à l'eau et aux sels (Arzour, 2006). Cette membrane extracellulaire protéique limite les échanges entre l'albumen et le jaune et constitue une barrière contre la pénétration bactérienne, elle est composée de trois couches; une couche médiane, une couche péritelline et une couche interne (la zona radiata) (Nau et al., 2010a). A la surface du vitellus est visible un petit disque blanc (le blastodisque), lieu de division des cellules embryonnaires, qui se transforme en blastoderme lors de la fécondation de l'œuf (Arzour, 2006).

1.2. L'albumen

L'albumen ou le blanc d'œuf est un milieu hétérogène d'une densité de 1,024, constitué de quatre zones qui diffèrent à la fois par leur composition protéique et leurs propriétés physiques, on distingue: Le blanc liquide interne qui est enfermé entre le blanc épais et le jaune; Le blanc épais situant entre les deux extrémités de l'œuf et présentant l'aspect d'un gel; Le blanc liquide externe qui est au contact des membranes coquillères. C'est la portion qui s'étale rapidement lorsque l'œuf est cassé sur une surface plane; Et finalement, les chalazes qui sont des filaments spiraux issus du jaune et fixés à la coquille. Ils assurent la suspension du vitellus au centre de la coquille (Sauveur, 1969; Sauveur, 1988; Gueye, 1999; Nau et al., 2010a).

La proportion de ces zones varie en fonction du poids de l'œuf d'une part (celle du blanc épais augmente par rapport au blanc liquide interne) et de la conservation de l'œuf après la ponte d'autre part (le blanc liquide externe augmente fortement) (Sauveur, 1988; Nau et al., 2010b). Ces différentes zones de l'albumen se distinguent notamment par leurs teneurs en eau.

1.3. La coquille

La coquille c'est le compartiment le plus externe de l'œuf, assure la protection de l'embryon contre les agressions extérieures (**Marie, 2015**). Cette dernière, épaisse de 300 à 400 μm , est composée d'une trame protéique sur laquelle se développent des cristaux de carbonate de calcium (**Thapon, 1994**). La coquille d'œuf de poule est divisée en 5 couches: 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**).

1.3.1 Les membranes coquillières

Les membranes coquillières interne (20 μm) et externe (50 μm) forment une couche de 70 μm d'épaisseur totale. Elles déterminent la forme de l'œuf dans l'utérus avant le dépôt de la coquille (**Nau et al., 2010a**). Elles sont de nature protéique et permettent des échanges gazeux entre l'albumen et le milieu extérieur (**Gueye, 1999**). Elles adhèrent l'une à l'autre sauf au niveau de la chambre à air qui n'existe pas au moment de la ponte mais apparaît durant la conservation de l'œuf. Elle augmente de volume avec l'âge de l'œuf, et le passage des micro-organismes serait facilité lors de sa formation (**Thapon, 1994**).

1.3.2. La couche mamillaire ou couche des cônes

La couche mamillaire ou couche des cônes, épaisse d'environ 70 μm , est formée de noyaux mamillaires qui sont des amas organiques déposés sur la membrane coquillière externe, à partir desquels se forme une structure en forme de cônes ou mamelon (**Nau et al., 2010b**).

1.3.3. La couche palissadique

La couche palissadique, épaisse d'environ 200 μm , représente les 2/3 de la hauteur de la coquille (**Marie, 2015**). Elle correspond à une couche compacte de minéraux, associée à une trame organique. Cette continuité est rompue au niveau des pores qui traversent la coquille, pour permettre les échanges gazeux nécessaires au développement de l'embryon (**Nau et al., 2010b**).

1.3.4. La couche des cristaux verticaux

La couche des cristaux verticaux, épaisse de moins de 10 μm , est une fine couche de cristaux déposés verticalement à la surface de l'œuf sur la couche palissadique (**Marie, 2015**).

1.4. La cuticule

La cuticule d'une épaisseur de 10 µm, couvre l'ensemble de la coquille, y compris les pores (environ 10000 pores, soit 200 pores/cm²). Cette cuticule insoluble et de nature organique limite les pertes en eau de l'œuf et la pénétration bactérienne (Nau *et al.*, 2010a).

2. Composition moyenne de l'œuf

2.1. Composition du jaune

Le jaune est composé de 51% d'eau, 30% de lipides, 16% de protéines et 0,6% de glucides. Il est également riche en phosphore, contient la plupart du fer de l'œuf et renferme des vitamines (la majorité des vitamines liposolubles et un certain nombre de vitamines hydrosolubles) (Marie, 2015).

2.2. Composition de la membrane vitelline

Elle est constituée de glycoprotéines (GPM I, II, et III). La couche externe contient de l'ovomucine, du lysozyme et les protéines de la membrane vitelline externe (VMO I et II). Selon une étude protéomique, la membrane vitelline contient 137 protéines (Mann, 2008).

2.3. Composition du blanc

Le blanc est composé de 88% d'eau, 10,6% de protéines et 0,9% de glucides. Il contient également des minéraux (0,5%) et une faible quantité de vitamines hydrosolubles, uniquement du groupe B. Les protéines majeures du blanc sont l'ovalbumine (54% des protéines du blanc), l'ovotransferrine (13%), l'ovomucoïde (11%), le lysozyme (3,5%) et l'ovomucine (1,5 à 3,5%) (Marie, 2015).

2.4. Composition des membranes coquillières

Les membranes coquillières sont constituées de 2% de cendres sous forme de: P, Ca, K, Mg, Na, Zn, Mn, Fe, Cu, B et Al. La partie organique est composée de 95% de protéines, 3% de lipides et 2% de glucides (Nau *et al.*, 2010b).

2.5. Composition de la coquille

La coquille de l'œuf d'oiseau renferme en moyenne 1,6% d'eau, 3,3 à 3,5% de matière organique et 95% de matières minérales, si les membranes coquillières sont incluses. La coquille est composée majoritairement de carbonate de calcium (94%) et d'une faible

proportion de constituants organiques (2,3%) inclus dans la partie minéralisée. Elle contient 37,5% de calcium, 58% de carbonate et également du magnésium et du phosphore, ce dernier étant concentré dans les couches superficielles. Elle contient aussi de nombreux oligo-éléments dont le manganèse (7 mg.kg⁻¹) qui influence sa solidité (Nau et al., 2010a).

2.6. Composition de la cuticule

La cuticule se compose de 3% de minéraux, 5% de sucres, et plus de 90% de protéines et glycoprotéines (Nau et al., 2010a). Elle est divisée en une couche interne plus riche en minéraux et une couche externe pauvre en minéraux. Contrairement au reste de la coquille, il est à noter la présence de phosphate de calcium, au niveau de la couche interne. La cuticule contient également la majorité des pigments (protoporphyrines) qui donnent sa couleur à la coquille des œufs bruns (Marie, 2015).

3. Défense antimicrobienne de l'œuf

Les œufs sont soumis à diverses contaminations d'origine intestinale lors de leur passage au niveau du cloaque; comme ils peuvent subir diverses autres contaminations après la ponte, mais le jaune, qui est la partie essentielle de l'œuf, est protégé contre l'attaque des microorganismes par plusieurs barrières efficace (Thapon, 1994).

3.1. La cuticule

C'est une enveloppe protéique de consistance muqueuse, qui se dessèche rapidement après la ponte et assure la protection de l'œuf pendant les premières heures, après celle-ci Cette cuticule est fragile et très sensible aux traitements utilisés pour le nettoyage des œufs, son efficacité est de durée limitée, cette protection dure au moins 100 heures (Thapon, 1994).

3.2. La coquille

La coquille constitue une couche protéique calcifiée qui représente une barrière physique peu efficace en raison du passage possible des microorganismes à travers les pores qui la traversent. Elle contient cependant du lysozyme et de l'ovotransferrine qui peuvent jouer un rôle dans la protection contre la pénétration des microorganismes (Baron et Jan, 2010).

3.3. Les membranes coquillières

Ces deux membranes formées de fibres de kératine, ont une action antibactérienne liée au fait qu'elles contiennent du lysozyme, une enzyme particulièrement active contre les bactéries à Gram positif.

3.4. L'albumen

L'albumen liquide externe est caractérisé par son pH élevé, ce qui est défavorable à la croissance bactérienne. Alors que l'albumen épais arrête la progression des microorganismes vers le jaune par sa consistance visqueuse liée aux l'ovomucine. Mais il intervient surtout :

✓ Par le lysozyme: cet enzyme attaque le composant caractéristique de la paroi bactérienne(le peptidoglycane), donc il détruit les bactéries à Gram positif (chez les quelles le peptidoglycane est dominant dans la paroi, jusqu'à 90%), alors que les bactéries à Gram négatif sont moins sensibles (chez les quelles le polymère est moins abondant, 5 à 10%).

✓ Par la conalbumine: une protéine qui piège le fer, en privant les microorganismes, ce qui bloque leur croissance.

✓ Par l'avidine : un polypeptide qui a la propriété de capter la biotine ou vitamine H, un facteur de croissance nécessaire notamment aux levures ; cet enzyme joue un rôle important dans le métabolisme azoté.

3.5. La membrane vitelline et le jaune

Cette membrane a un rôle très limité comme une barrière pour la pénétration des bactéries. Le jaune est un milieu riche en nutriments favorables à la prolifération bactérienne et qui ne contient que peu de substances antibactériennes (**Thapon, 1994**).

Production et consommation des œufs

1. Production des œufs de consommation

1.1. Production mondiale des œufs

Durant la dernière décennie, la production d'œufs de poules dans le monde a atteint 63,6 millions de tonnes en 2010 (**Tableau 02**), cette production se montre dynamique avec une croissance annuelle moyenne de 2,3% (**Marie et Pierre, 2014**).

La chine premier producteur mondial, représente à elle seule 41% de la production mondiale en 2007 (contre 35% en 1997), suivie de l'union européenne (10,5% contre 14% en 1997), des Etats-Unis (8% contre 10% en 1997), de Linde (4% contre 3% en 1997) et du japon (4% contre 6% en 1997). dix provinces chinoises assuraient 80% de la production d'œufs de ce pays en 2006, contre 70% il y a 20 ans (**Nau et al., 2010a**).

Tableau 02. Producteurs des œufs de consommation dans le monde.

Pays	chine	UE	USA	Russie	Inde	Japon	Mexique	Brésil
Production annuelle (Mt)	25	6,2	5,3	2,1	2,7	2,5	2,3	1,7

1.2. La production des œufs de consommation en Europe

Entre 1970 et 1984, la production européenne est passée de 65,6 à 71 milliards d'œufs soit une augmentation de 8 %. Cet accroissement, très inégalement réparti, a surtout été le fait des Pays-Bas, qui ont multiplié leur volume de production par 2,5. La Grèce et la France ont augmenté leur production de 43 et 29 % respectivement. Alors que La production italienne est restée stable (+ 4 %) et celle des autres pays partenaires a sensiblement diminué : -27 % en Belgique, -15 % en RFA, -12 % au Royaume-Uni, -10 % au Danemark et en Irlande (**Stevens. 1988**)

La France a produit 9,89milliards d'œufs sur les 3 premiers trimestres de 2011 (soit 6,7% par rapport à 2010)

La production française est fortement concentrée en Bretagne, région qui assure 45% de la production nationale d'œufs de consommation, mais seulement 30% de l'activité

nationales de conditionnement et 19% de la production d'ovoproduits. Les régions Rhône-Alpes et pays de la Loire assurent chacune un peu moins de 10% de la production nationale. (Marie et Pierre, 2014).

Tableau 03 : Principaux producteurs d'œufs de consommation de l'union européenne (Marie et Pierre, 2014).

Pays	Production en 2010 (milliards d'œufs – convertis sur la base de 16,4 œufs/Kg)	Evolution moyenne annuelle entre 2000 et 2010	Evolution annuelle moyenne entre 2009 et 2010
France	14 ,4	-0,7%	+5,9%
Espagne	12,1	-0,3%	+1,9%
Italie	11,5	-1,3%	-1,7%
Royaume-Uni	10,2	+1,4%	+10,0%
Allemagne	9,8	-3,3%	-3,3%
Pays-Bas	10,2	+0,2%	+4,6%
Pologne	9,3	+2,3%	-
Europe	102,4	Non disponible	+0,5%

1.3. Production d'œuf de consommation en Afrique

La production d'œufs de poules en Afrique a atteint 3 Mt en 2012, soit une hausse de 3,9% par rapport à 2000. La part de l'Afrique dans la production mondiale est passée de 3,7% en 2000 à 4,5% en 2012. Cette production se montre avec croissance annuelle moyenne de 3,9%, dépassant le taux de croissance mondial estimé à 2,2%. Une grande partie de la production est assurée principalement par 5 pays (Nigeria, Afrique du Sud, Egypte, Algérie et Maroc) en 2012, produisant 2,06 Mt d'une production totale de 3 Mt (The Poultry Site, 2014).

Dans les pays d'Afrique du nord où la démographie et l'urbanisation sont en très forte croissance. Le Maroc vient en tête avec 175 000 tonnes d'œufs, suivi de l'Algérie (144000 tonnes d'œufs), puis la Tunisie (80 000 tonnes d'œufs) (Coulibaly, 2011).

Tableau04. Développement de la production des œufs en Afrique entre 1990 et 2008 (Tonnes) (Wattagnet, 2011).

Pays Année	Afrique du Nord	Afrique de l'Est	Afrique du Centre	Afrique du Sud	Afrique de l'Ouest	total
1990	574 000	261 000	31 000	217 000	458 000	1541 000
2000	700 000	281 000	33 000	325 000	578 000	1917 000
2008	821 000	308 000	34 000	495 000	780 000	2438 000
Evolution entre 1999 et 2019(%)	+43,9	+18	+9,8	+128,1	+70,3	+58,1

1.4. La production algérienne d'œufs de consommation

la production d'œufs de consommation en Algérie a atteint 1,49 milliard d'œufs de consommation en 2000. Le nombre de poulettes démarrées mises à la disposition des producteurs avec un taux de mortalité de 8% a atteint 21 millions. Sur la base d'une production moyenne de 250 œufs par poule, le nombre d'œufs de consommation produits a été estimé à 5 milliards d'unités (Alloui, 2011).

2. La consommation des œufs

2.1. Consommation mondiale des œufs

Au niveau mondial, la consommation annuelle moyenne était estimée par la FAO à 9,1 kg par personne en 2005, soit environ 145 œufs. Les niveaux de consommation varient toutefois fortement selon les pays: de plus de 300 œufs par personne et par an au Japon, de 230 à 240 aux USA et en Europe, et moins de 100 dans de nombreux pays africains ou d'Asie du sud-est (Nau *et al.*, 2010a).

2.2. Consommation européenne des œufs

Entre 1970 et 1984, la consommation moyenne en Europe a augmenté de 5 % passant de 228 à 239 œufs/habitant/an. Cette moyenne recouvre des disparités nationales importantes. En effet, si la consommation individuelle a sensiblement augmenté au Danemark (+ 29 %), en Grèce (+ 15 %), en France (+ 13 %), en Irlande (+ 7 %), et en Italie (+ 2 %), elle est restée stable aux Pays-Bas, et a diminué au Royaume-Uni (-14 %), en Belgique, au Luxembourg (-9 %) et en Allemagne (-2 %) (Stevens, 1988).

2.3. Consommation Africaine des œufs

En Afrique, la consommation annuelle moyenne était estimée par la FAO à 2,5 kg/personne/an en 2011. Entre 2000 et 2011, la disponibilité des œufs en Afrique a augmenté de près de 0,4 kg/an (de 2,1 kg/habitant/an en 2000 à 2,5 kg/habitant/an en 2011) (**The Poultry Site, 2015b**).

2.4. Consommation algérienne des œufs

L'évolution de la consommation moyenne des œufs en Algérie à partir de 1966 à 2005 est reportée dans le **Tableau 05**.

Tableau 05. Evolution de la consommation des œufs par habitant/an de 1966 à 2005
(**Kaci et Boukella, 2007**).

Année	1966/67	1979/67	1988	1989	1998	2004	2005
Consommation							
Œufs consommés par habitant et par an	0,47	1,06	3,02	120	70	105	117

La qualité des œufs

La qualité de l'œuf produit est un déterminant important de son devenir commercial et de sa valorisation. Elle est appréciée par différents critères: poids des œufs; l'index des œufs; le poids de la coquille; l'épaisseur de la coquille; l'index d'albumen; l'index du jaune et l'unité Haugh (**Çağlayanetal., 2009; Bobboet al., 2013**).

1. Poids de l'œuf

Le poids des œufs d'une jeune poule atteint 60 g à 26 semaines puis tend à se stabiliser à 65 g à partir de 50 semaines. Il s'élève à environ 68 g vers 80 semaines d'âge. L'évolution du poids de l'œuf avec l'âge de la poule est accompagnée de l'évolution de différents compartiments principaux de l'œuf (coquille, blanc et jaune). Les variations du poids de l'œuf au cours de l'année de ponte de la poule ainsi que de la part relative des différents compartiments affecte le rapport blanc/jaune. Cette proportion constitue la source la plus importante de variation de la composition d'œuf, du fait de la composition très différente de ces deux (**Kasmi, 2017**).

2. Densimétrie (Fraîcheur de l'œuf)

Deux moyens tout simples permettent de vérifier la fraîcheur des œufs. Si un œuf ne fait aucun bruit lorsque vous le secouez près de votre oreille, il est frais. L'autre moyen est de placer l'œuf dans l'eau (l'eau salée à 12%NaCl) (**Olivier, 2007**). S'il reste au fond, il est frais, s'il flotte, il a perdu de sa fraîcheur. Dans ce dernier cas, vérifiez la date de péremption sur l'emballage. Saviez-vous qu'à la température de la pièce un œuf perd autant de fraîcheur en une seule journée qu'en une semaine au réfrigérateur (**Olivier, 2011**).

3. Index de forme

En début de production, les œufs ont plutôt une forme ronde qui tend progressivement à s'allonger au cours de l'année de ponte. Cette modification de la forme de l'œuf résulterait d'un affaiblissement de la tonicité musculaire de la glande coquillière chez les poules âgées (**Travel, 2010**).

4. La solidité de la coquille

La solidité de la coquille diminue avec le vieillissement des troupeaux de poules. Cela peut être dû à l'augmentation de la taille de l'œuf et aux modifications du métabolisme conduisant à une réduction de l'approvisionnement en minéraux précurseurs du carbonate de calcium (Martens, 2010).

5. L'épaisseur de la coquille

L'épaisseur est mesurée à l'aide d'un micromètre électronique de précision 0,001 mm après que les coquilles soient débarrassées de leurs membranes internes. Pour un œuf, trois mesures sont prises au niveau de la région équatoriale de la coquille et une moyenne est calculée (Houndonougbo, 1991).

6. Unité Haugh

La hauteur de l'albumen et de jaune de l'œuf (vitellus) sont mesurées à l'aide d'un trépied micrométrique électronique de précision 0,01 millimètre. Le poids de l'œuf (W) en gramme et la hauteur de l'albumen (H) en millimètre sont alors utilisés pour calculer l'unité Haugh grâce à la formule de Haugh (1937) (Houndonougbo, 1991).

$$HU=100\log (H-1,7W^{0,37}+07, 57)$$

7. Couleur de vitellus (jaune)

La coloration du vitellus est appréciée à l'aide d'un éventail colorimétrique dont les valeurs s'échelonnent entre 6 (jaune clair) et 13 (jaune orangé). L'index vitellinique correspond au rapport (hauteur du vitellus/ largeur du vitellus), il est situé entre 40 et 45 pour un œuf frais (Arzour, 2006).

Contamination microbienne des œufs de consommation

Malgré ces protections, la durée de conservation de l'œuf est limitée et très liée aux conditions de récolte, de traitement et de conservation. En outre les œufs sont susceptibles de transmettre certaines bactéries responsables de toxi-infections alimentaires (**Thapon et Bourgeois, 1994**). En France, entre 1996 et 2005, les microorganismes pathogènes responsables de Toxi-Infections Alimentaires Collectives(TIAC) pour lesquels la famille «œuf et produits à base d'œuf » a été incriminée sont *Salmonella* (86%), *Staphylococcus aureus* (7,4%), *Clostridium perfringens* (2%) ou d'autres agents (4%), selon l'institut de veille sanitaire français(INVS) (**Nau et al., 2010a**).

La contamination interne de l'œuf est très rare; lorsqu'elle existe, elle est le fait de Salmonelles (*S. Typhimurium*), et de staphylocoque (*S. aureus*). En revanche, la surface de la coquille porte tout à fait normalement un nombre de bactéries qui peut osciller de 10^3 - 10^4 (coquille très propre) à plus de 10^7 (coquille très contaminée). Ces bactéries appartiennent à une quarantaine de groupes différents dont la plupart sont heureusement non pathogènes. Elles peuvent provenir soit des fientes, soit de l'environnement (**Sauveur, 1988**). Les contaminations importantes sont donc le plus souvent exogènes; la coquille de l'œuf est contaminée par les bactéries du cloaque de la poule, par les bactéries de la surface sur laquelle est déposé l'œuf, ou encore par les bactéries de l'eau utilisée pour laver les œufs. (**Thapon et Bourgeois, 1994**).

1. Les salmonelles

Les salmonelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, à la tribu des Salmonella et au genre *Salmonella*. Ce sont des bacilles aéro-anaérobies à coloration Gram négative, hôtes facultatifs du tractus digestif et potentiellement pathogènes pour l'homme et les animaux. Les espèces de salmonelles sont classées en sérovar selon les propriétés antigéniques des lipopolysaccharides (O), des protéines flagellaires (H) et parfois capsulaires (Vi). La plupart des souches pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent à la sous-espèce *Salmonella enterica subsp enterica* (**Nau et al., 2010a**).

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

Parmi ces denrées, les produits de viande de volaille et, en particulier, les œufs sont fortement impliqués. Le sérotype *Enteritidis* est actuellement le plus répandu dans le secteur avicole. Chez les poules pondeuses ce sérotype est prédominant (**Van immerseel et al., 2005**).

➤ *Salmonella Enteritidis* et les œufs

L'émergence de *Salmonella Enteritidis* dans l'industrie avicole a eu lieu dans tous les pays occidentaux entre 1965 et 1980. Depuis lors, ce sérotype est devenu le plus commun chez la volaille. Comme il se transmet verticalement dans les œufs, il constitue la cause principale de la pandémie de salmonellose non-typhoïde qui est observée chez l'homme. En outre, la bactérie se transmet aussi horizontalement dans les exploitations de volaille. Le mécanisme de transmission dans les œufs n'est toujours pas complètement élucidé, ce qui constitue un obstacle majeur pour le développement de nouvelles mesures de prévention et de traitement. *Salmonella Enteritidis* a une affinité particulière pour le tractus génital de la volaille, ce qui explique la contamination des œufs et, par voie de conséquence, son introduction dans la chaîne alimentaire (**Van immerseel et al., 2005**). La compréhension des modes de contamination des œufs apparaît donc comme un élément indispensable pour permettre la lutte contre la circulation des salmonelles dans la filière poule pondeuse et ainsi assurer au consommateur final une entière sécurité. La contamination des œufs par des salmonelles peut s'établir par une contamination verticale ou une contamination horizontale (**Bonhomme, 2003**).

- **Contamination verticale :**

Au moment de la ponte, le contenu de l'œuf provenant d'un élevage sain est en général stérile. Dans le cas des salmonelles, l'œuf peut être contaminé par voie verticale, lors de sa formation, si les poules présentent une infection des ovaires ou de l'oviducte (**Nau et al., 2010a**). Des études menées sur des poules expérimentalement infectées ont montré que la contamination pouvait apparaître à toutes les étapes de la formation de l'œuf. La contamination verticale de l'œuf est possible mais elle reste faible, sporadique et beaucoup moins importante que la contamination des œufs après la ponte (**Baron et Jan, 2010**).

- **Contamination horizontale :**

La contamination horizontale, beaucoup plus fréquente que la contamination verticale correspond à la contamination de la surface de la coquille des œufs. Elle intervient après la

ponte, par contact avec les microorganismes des fientes, de l'environnement d'élevage ou, en aval, du centre de conditionnement (**Baron et Jan, 2010**).

2. *Escherichia coli*

Bacille à coloration de Gram négative, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, mesurant de 2 à 4 µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 µm, *Escherichia coli* (*E.coli*) est une bactérie normalement présente parmi la microflore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Mais certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes car elles ont acquis des facteurs de virulence (**Stordeur et Mainil, 2002**).

Les *E.coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de celles-ci appelées « Avian Pathogenic *E.coli* » ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées au syndrome de la colibacillose. Les *E.coli* pathogènes aviaires (APEC) restent encore responsables à l'heure actuelle de pertes économiques majeures dans nos élevages. Aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché pour l'instant et l'antibiothérapie ciblée demeure encore le seul moyen de lutte contre cette maladie malgré l'incidence croissante des résistances et la publicité faite du risque potentiel de transfert à l'homme (**Stordeur et Mainil, 2002**).

Les *E.coli* sont très facilement véhiculés par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage. La transmission des souches pathogènes via l'œuf est aussi très fréquente et responsable d'un taux important de mortalité chez le jeune poussin. La source majeure d'infection de l'œuf semble être la contamination fécale de sa surface lors de la ponte avec, ensuite, une transmission rapide de la souche pathogène à l'ensemble du lot après l'éclosion. La contamination de l'œuf et plus précisément de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte, au passage de celui-ci par le cloaque. Les bactéries alors présentes dans les matières fécales de la poule viennent se déposer à la surface de l'œuf. Ensuite, celles-ci pénètrent à travers les membranes coquillières et vont contaminer la membrane vitelline. La possibilité de contamination des œufs à partir de lésions de salpingite ou d'ovarite existe mais reste peu fréquente. De 0,5 à 6% des œufs sont contaminés par *E. coli*. Dans cette pathologie, on peut considérer que celle-ci est l'agent primaire de l'infection (**Stordeur et Mainil, 2002**).

3. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens est une bactérie sporulée à Gram positif, anaérobie, mésophile, c'est-à-dire qu'elle croît dans un milieu tempéré entre 25°C et 40°C. Elle cause de nombreuses maladies sévères chez les animaux notamment une entérite nécrotique des jeunes porcelets, des volailles. Elle est divisée en cinq toxinotypes (A, B, C, D et E) selon la combinaison de la production par la bactérie de quatre exotoxines majeures (α , β , ϵ , ι). Il est reconnu que seuls les types A et C causent l'entérite nécrotique chez la volaille. Dans les élevages, l'entérite nécrotique apparaît chez les poules pondeuses de 3 à 6 mois élevées au sol, et chez les poules pondeuses de remplacement élevées en cage de 12 à 16 semaines **(Parent, 2015)**.

Clostridium perfringens a été identifié comme agent responsable de 2,9 % des TIAC en 2001, en France **(Haeghebaert et al., 2002)**. Elle forme des spores en milieu aérobie, mais elle est tolérante dans les milieux micro aérophiles. Elle est ubiquitaire dans le sol, l'environnement et dans la flore microbienne intestinale des humains et des animaux **(Wells et Wilkins, 1996)**. Elle peut aussi se retrouver sur la viande destinée à la consommation humaine et ainsi causer des toxi-infections alimentaires **(Wells et Wilkins, 1996)**.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Objectif

L'objectif de cette étude est d'évaluer la qualité des œufs de consommation dans la région de Tiaret et de détecter la présence de *Salmonella*, *E.coli* et *Clostridium perfringens* responsables de leur contamination.

I.2. Lieu et durée de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie (clinique pathologies aviaires) de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'université de TIARET.

I.3. Matériel

I.3.1. Matériel biologique

Cent vingt œufs de consommation ont été collectés à partir de 4 points de vente (gros et détail) situés dans différentes zones de la commune de Tiaret.

I.3.2. Matériel de laboratoire

Appareillage	Verrerie et instruments	Milieus de culture
Autoclave	Boîtes de pétri	Eau peptonée tamponnée
Plaque chauffante	Pipettes de pasteur	Milieu Rappaport-Vassiliadis
Etuve	Tubes à essai	Bouillon à la Viande-cuite
Balance électronique	Erlenmeyers	Milieu EMB
	Eprouvettes	Gélose Salmonella-Shigella
	Bec bunsen	Milieu TSI
	Pinces, ciseaux, marqueur, sachets stériles	
	Jarre d'anaérobiose	

N.B : la composition des milieux de culture est donnée dans l'annexe 01

I.4. Méthodes

La démarche expérimentale globale est illustrée dans la figure ci-dessous :

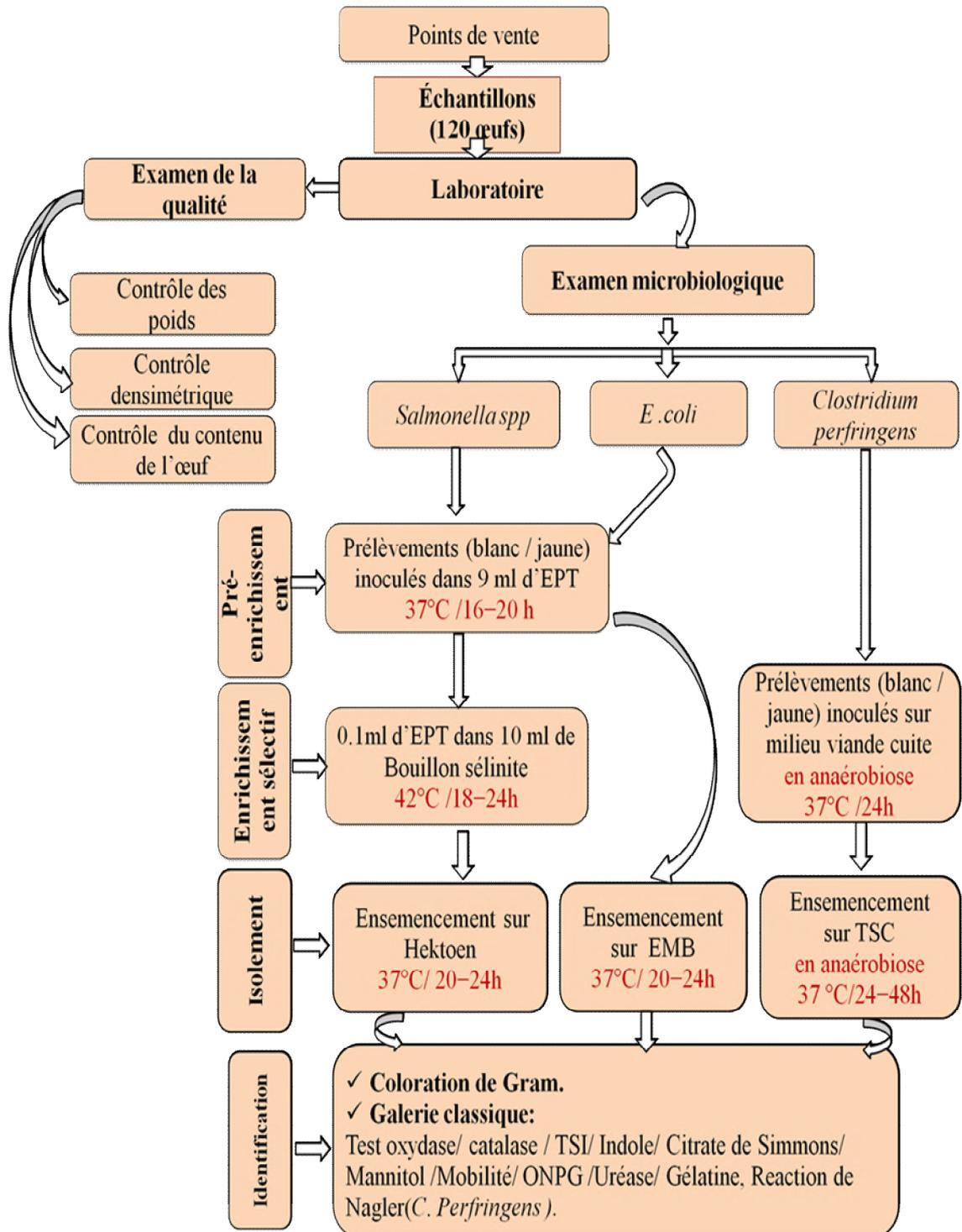


Figure 02. Organigramme du protocole expérimental.

I.4. 1. Collecte des échantillons

Au total, 120 œufs de consommation ont été prélevés au hasard à partir de différents points de vente (30/épiceries, 30/boucheries, 30/grossistes, 30/marchands ambulants), situés au niveau de la région de Tiaret. Les prélèvements ont été effectués sur une période de 3 mois (Février 2019 - Avril 2019). Tous les échantillons ont été transférés directement au laboratoire « hygiène et pathologie Animal » de l'université de Tiaret pour analyse de qualité et examen bactériologique.

I.4.2. Analyse des œufs

I.4.2.1. Examen avant cassage de l'œuf

I.4.2.1. 1. Pesée de l'œuf entier

Après numérotation (**figure 02**), les œufs sont pesés individuellement sur une balance, le résultat est donné par lecture directe sur le cadran de l'appareil.

Les œufs sont répartis par 4 catégories de poids, selon la classification de Main (2015) présentée dans le **Tableau 06**.

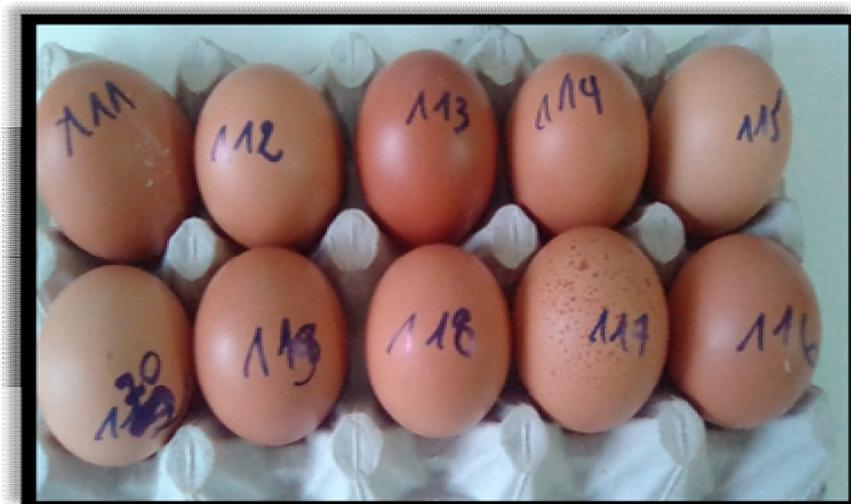


Figure 03. Numérotation des œufs

Tableau 06. Classification des œufs par catégorie de poids (Main, 2015)

Poids (g)	Catégories
< 53	S (œuf petit)
53 – 62	M (œuf moyen)
63 – 72	L (œuf gros)
≥73	XL (œuf très gros)

I.4.2.1. 2. Mesures de la densimétrie des œufs

Dans une solution saline de 12% contenue dans un bécher, les œufs à tester sont plongés délicatement, les différentes positions de l'œuf dans cette solution permettent d'estimer son âge et donc son degré de fraîcheur (**Figure 04**), une note est attribuée en suivant le barème présenté dans le **Tableau07**.

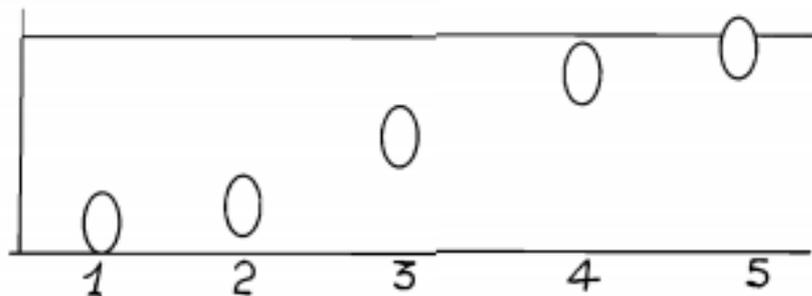


Figure 04. Procédé d'évaluation de la densimétrie en solution de NaCl 12%

Tableau 07. Barème de notion de la densimétrie.

Note	Position
1	Verticalement au fond (œuf extra frais)
2	Légèrement décollé (œuf frais)
3	Entre 2 eaux (jusqu'à 20 jours d'âge)
4	Flottant sous la surface (20 à 30 jours d'âge)
5	Flottant à la surface (au-delà de 30 jours d'âge)

I.4.2.2. Examen après cassage l'œuf

I.4.2.2.1. Préparation de l'échantillon

Chaque œuf est nettoyé avec une solution contenant un détergent (eau de javel) Ensuite, nous procédons à la désinfection de la coquille en émergeant l'œuf dans une solution à base d'alcool à 70% pendant 30 secondes. Les œufs sont alors mis à sécher dans des récipients recouverts d'un papier aluminium stérile. Une fois la coquille séchée, l'œuf est pré à être cassé de façon aseptique par des ciseaux préalablement stérilisés, à côté d'une flamme.

I.4.2.2.2. Examen des milieux internes de l'œuf

A l'aide de ciseaux stérilisés, un opercule de coquille est découpé au niveau du gros pole de l'œuf. Le contenu est alors vidé en séparant le jaune du blanc dans des sachets en plastique stériles. L'examen consiste à apprécier les caractéristiques suivantes:

- La couleur: verdissement, noircissement, ...;
- La présence de striations rouges ou roses sur le jaune;
- L'odeur (désagréable ou normale);
- La présence d'autres caractères (embryons, corps étrangers, tâches diverses, ...).

I.4.2.3. Examen bactériologique des œufs:

I.4.2.3.1. Recherche de *Salmonella* spp. et *Escherichia coli*

La recherche consiste en la détermination de la présence ou de l'absence du genre *Salmonella* ou *E. Coli*. Quatre étapes sont à distinguer:

➤ Pré- enrichissement (*Salmonella* spp, *E. coli*)

Chaque prise d'essai doit être inoculée dans 9 ml d'eau peptonée tamponnée (Biokar, France), incubée à 37°C pendant 16 à 20 h (**Elgroud et al., 2008**).

➤ Enrichissement sélectif (*Salmonella* spp):

Transférer 1 ml du pré-enrichissement dans un tube contenant 9 ml de bouillon Rappaport vassiliadis, incubé à 42°C pendant 18 à 24 h (**Nair et al., 2015**).

➤ **Isolement :**

Par la technique des stries d'épuisement

- Une goutte à partir de la culture de pré-enrichissement est ensemencée sur l'un des milieux suivants: EMB (**Biokar, France**), pour l'isolement d'*E.coli* (**Figure 05**).
- Une goutte à partir de la culture d'enrichissement sélectif est ensemencée sur l'un des milieux suivants : Hektoën ou Salmonella-Shigella (SS) (**Biokar, France**), pour l'isolement de *Salmonella*.

Les boîtes de pétri sont incubées à 37° C pendant 20 à 24 h, après incubation, on examine les boîtes afin de rechercher la présence de colonies caractéristiques de *Salmonella* ou *E.coli* sur les milieux d'isolement utilisés (**Delrras, 2014**).



Figure 05. Ensemencement sur milieu de culture EMB

➤ **Identification :**

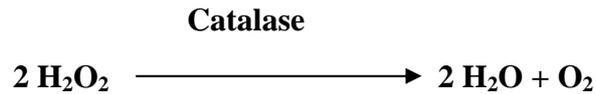
Les colonies suspectes de *Salmonella* spp ou *E. coli* sont purifiées sur les milieux de culture sélectifs, suivi par la coloration de Gram (**Annexe 02**) une identification des caractères biochimiques par la galerie classique telle recommandée par (**Boko et al. 2013**).

Identification biochimique

1. Test de la catalase

➤ **Principe**

D'après **Marchal et al., (1982)**, la catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



➤ **Technique**

Une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur est émulsionnée dans une goutte d'eau oxygénée à 3% préalablement déposée sur une lame propre. Une réaction positive se traduit par la formation immédiate de bulles de gaz, par contre l'absence de bulles indique un résultat négatif (**Marchal *et al.*, 1982**).

2. Test de l'oxydase

➤ **Principe**

Ce test permet de déterminer si la bactérie possède le système enzymatique cytochrome C oxydase lui permettant d'utiliser l'oxygène libre comme accepteur final d'électrons dans sa chaîne respiratoire. La présence de cette enzyme oxyde certains composés chimiques comme l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine (**Marchal *et al.*, 1982**).

➤ **Technique**

Un disque d'oxydase imprégné de l'oxalate de N-Diméthyl Paraphénylène Diamine est déposé sur une lame propre puis imbibé avec une goutte d'eau. Une colonie bactérienne prélevée à l'aide de la pipette pasteur est ensuite déposée sur la surface du disque.

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit par l'apparition immédiate d'une couleur violette foncée.

3. Détermination du profil biochimique sur le milieu TSI (Triple Sugar Iron)

➤ **Principe**

Ce milieu permet de confirmer la fermentation du glucose avec ou sans production de gaz (caractère d'identification de la famille) et d'orienter l'identité du genre par l'étude de l'attaque du lactose et de la production de H₂S. (**Marchal *et al.*, 1982**)

➤ **Technique**

Insemencer la surface abondamment, puis le culot par piqure (à la pipette ou au fil) puis étuver 24 h à 37°C.

➤ **Lecture**

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

a. Fermentation du glucose

Culot rouge : glucose non fermenté

Culot jaune : glucose fermenté

b. Fermentation du lactose et/ou du saccharose

Pente rouge : lactose et saccharose non fermentés

Pente jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

c. Production de gaz

Apparition de gaz dans le culot.

d. Formation d'H₂S

Formation d'une coloration noire. (Marchal et al., 1982)

4. Test de l'uréase

➤ **Principe**

L'hydrolyse de l'urée en carbonate d'ammonium est un élément important du diagnostic des bactéries qui utilisent l'urée comme seule source d'azote. L'alcalinisation produite dans le milieu est détectable par un indicateur coloré.

➤ **Technique**

Insemencer une anse pleine de colonies dans le milieu urée-indole puis incubé à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture**

Milieu rose-violacé : bactérie uréase positive

Pas de changement de couleur : bactérie uréase négative (Marchal et al., 1982)

5. Recherche de la production d'indole

➤ **Principe**

Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une tryptophanase. L'indole réagit avec la fonction aldéhyde du paradiméthyl-aminobenzaldéhyde pour donner un composé coloré en rouge.

➤ **Technique**

Même technique que le test de l'uréase mais après incubation, il faut ajouter quelques gouttes du réactif de Kovacs.

➤ **Lecture**

- Apparition d'un anneau rouge en surface : bactérie indole positive
- Apparition d'un anneau brunâtre : bactérie indole négative

6. Recherche de la Bêta galactosidase (Test ONPG)

➤ **Principe**

Pour que le lactose soit attaqué par une bactérie, il faut qu'il pénètre dans la cellule bactérienne. Cette pénétration dépend d'une enzyme appelée **β-galactoside perméase**. Une autre enzyme intracellulaire **β-galactosidase** scinde le lactose en glucose et galactose. Pour rechercher directement la présence de la β-galactosidase et distinguer les bactéries potentiellement lactose positives des bactéries lactose négatives, on la met en présence de l'ONPG (Ortho-Nitrophenyl- β- D- galactopyranoside) qui est scindé par cette enzyme en libérant l'Orthonitrophénol) de couleur jaune (**Marchal et al., 1982**).

➤ **Technique**

Préparer une suspension bactérienne puis ajouter un disque ONPG et incuber à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture :**

- Suspension de couleur jaune : Bactérie ONPG+
- Pas de changement de couleur : bactérie ONPG-

(Marchal et al., 1982)

7. Recherche de l'utilisation du citrate sur le milieu de Simmons

➤ Principe

Certaines bactéries sont capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent une citrate perméase et elles sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu au citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH.

La croissance sur le milieu au citrate de Simmons s'accompagne généralement d'une alcalinisation provoquant le virage au bleu (bleu outre-mer) du bleu de bromothymol.

8. Recherche de la mobilité sur le milieu Mannitol-mobilité

➤ Principe

Le milieu Mannitol Mobilité Nitrate est utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du mannitol, la mobilité et sur la réduction des nitrates en nitrites.

➤ Technique

Ensemencer avec un fil de platine, par pique centrale, jusqu'au fond du tube de la gélose puis incuber à 37°C pendant 24h.

➤ Lecture

Fermentation du mannitol

- Milieu jaune : bactérie mannitol positive.
- Milieu rouge : bactérie mannitol négative.

Mobilité

- Diffusion des bactéries dans la gélose : les bactéries sont mobiles.
- Culture uniquement au niveau de la pique centrale : les bactéries sont probablement immobiles

2.2.3.2. Recherche de *Clostridium Perfringens*

➤ **Isolement**

Chaque prise d'essai doit être ensemencée dans des tubes contenant du milieu viande cuite (Oxoid, UK) et incubées en anaérobiose à 37 °C pendant 24 heures pour enrichissement (**Figure 06**). Par la suite, la culture est ensemencée sur gélose TSC (Oxoid, UK) et incubée en anaérobiose à 37 °C pendant 24 - 48 heures pour isolement du *C. perfringens* (Harmon, 1984).

Les colonies noires typiques, supposées être *Clostridium perfringens* sont repiquées et ensemencées sur gélose au jaune d'œuf (gélose nutritive + émulsion de jaune d'œuf) (Biokar, France) et incubée en anaérobiose à 37 °C pendant 24 - 48 heures (**Cruickshank et al., 1975**).



Figure 06. Milieu de culture utilisé pour l'enrichissement de *Clostridium perfringens*

➤ **Identification du *Clostridium perfringens***

Les colonies suspectées d'être *Clostridium perfringens* sont identifiées par les caractères morphologiques et biochimiques tel recommandés par Koneman *et al.* (1992) et Macfaddin (2000).

II. 1. Résultats

II.1.1. Poids des œufs:

La classification des œufs de consommation par point de vente selon les catégories de poids est reportée dans le **Tableau 08**.

Tableau 08. Répartition des œufs de consommation par classe de poids

Points de Vente Classification	Epiceries (30 œufs)	Boucheries (30 œufs)	Grossistes (30 œufs)	Marchands ambulants (30 œufs)	Total (120 œufs)
S	14 (46,66%)	13 (43,33%)	11 (36,66%)	18 (60%)	56 (46,66%)
M	15 (50%)	13 (43,33%)	19 (63,33%)	12 (40%)	59 (49,16%)
L	1 (3,33%)	3 (10%)	0 (00%)	0 (00%)	4 (3,33%)
XL	0 (00%)	1 (3,33%)	0 (00%)	0 (00%)	1 (0,83%)

S (petit œuf); **M** (œuf moyen); **L** (gros œuf), **XL** : très gros œuf.

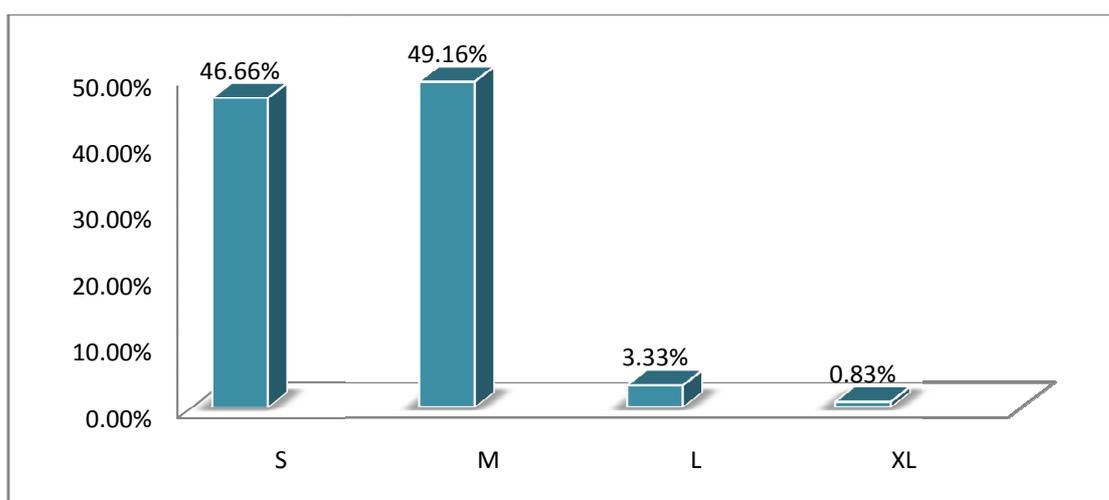


Figure 07. Répartition du nombre total des œufs par classe de poids

RESULTATS ET DISCUSSION

Le contrôle des poids des œufs de consommation a permis de les répartir en 4 catégories. En considérant le nombre total des œufs collectés, nous constatons que le taux des œufs de catégorie moyenne (M) est le plus élevé (49,16%) par rapport aux autres catégories et presque similaire aux œufs de catégorie S (46,66%), tandis que le taux des œufs de catégories XL (0,83%) et L (3,33%) est inférieur comme l'indique la **Figure 07**.

II.1.2. Densimétrie des œufs de consommation:

Cette méthode permet d'apprécier la fraîcheur de l'œuf (**Figure 08**), mais elle n'est pas très précise. Les résultats après immersion des œufs dans la solution saline à 12% (NaCl) sont illustrés dans le **Tableau 09**.



Figure 08. Densimétrie en eau salée à 12% (NaCl)

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 09. Résultats de la densimétrie en eau salée à 12% (NaCl)

Positions Points de vente	1	2	3	4	5
Epiceries	26 (86,66%)	4 (13,33%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Boucheries	24 (80%)	6 (20%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Grossistes	30 (100%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Marchands Ambulants	26 (86,66%)	3 (10%)	1 (3,33%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Total	106 (88,33%)	13 (10,83)	1 (0,83%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)

1: Œuf extra frais; **2:** Œuf frais; **3:** Jusqu'à 20 jours d'âge; **4:** 20 à 30 jours d'âge; **5:** Au-delà de 30 jours d'âge.

Selon les valeurs enregistrées, la densimétrie appliquée sur les 120 œufs de consommation indique que les taux des œufs extra frais et frais sont de 88,33% et 10,83% respectivement.

Si nous considérons la densimétrie des œufs par rapport aux points de vente, nous constatons que les grossistes présentent un taux de 100% pour les œufs extra frais, alors que les épiceries et les marchands ambulants présentent un taux de 86,66% d'œufs extra frais. Toutefois, nous remarquons que les boucheries présentent le taux le plus bas d'œufs extra frais avec 80%.

En ce qui concerne les œufs frais, les boucheries présentent le taux le plus élevé avec 20%, tandis que les épiceries et les marchands ambulants présentent des taux de 13,33% et 10% respectivement.

Finalement, aucun œuf n'a été détecté comme étant âgé de plus de 20 jours.

II. 1.3. Contrôle du milieu interne des œufs:

Les résultats de l'examen du contenu interne des œufs de consommation collectés à partir de différents points de vente sont reportés dans le **Tableau 10**.

Tableau10. Nature du milieu interne des œufs de consommation

Points de vente / Nature du contenu de l'œuf	Epiceries	Boucheries	Grossistes	Marchands ambulants	Total
Normal	29 (96,66%)	8 (26,66%)	13 (43,33%)	26 (86,66%)	76 (63,33%)
Mauvaise odeur	0 (00%)	0 (00%)	0 (00%)	3 (10%)	3 (2,5%)
Taches de sang	1 (3,33%)	14 (46,66%)	15 (50%)	4 (13,33%)	34 (28,33%)
Taches marron	0 (00%)	8 (26,66%)	2 (6,66%)	0 (00%)	10 (8,33%)

L'examen du contenu interne des œufs de consommation nous a permis de constater que, sur les 120 œufs examinés, 76 œufs ne présentent aucun changement de la nature du contenu interne, soit un taux de 63,33%. Alors que 28,33% des œufs ont présenté des taches de sang et 8,33% ont présenté des taches marron, cependant nous avons remarqué que seulement 2,5% des œufs ont présenté une mauvaise odeur.

II.1.4. Examen bactériologique des œufs:

Examen bactériologique des œufs a concerné les 240 échantillons (120 blancs d'œufs/ 120 jaunes d'œufs), qui représentent les 120 œufs collectés à partir de différents points de vente. Les résultats de l'analyse sont consignés dans le **Tableau 11**.

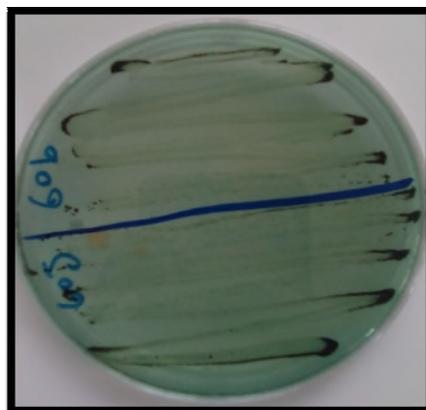


Figure 09. Colonies caractéristiques de *Salmonella* sur milieu Hektoën

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 11. Taux de détection de *Salmonella* spp, *E. coli* et *Clostridium perfringens*.

Points de vente Contenu de l'œuf		Epiceries	Boucheries	Grossistes	Marchands ambulants	Total
Jaune	<i>Salmonella</i> spp	0 (00%)	2 (6,66%)	1 (3,33%)	7 (23,33%)	10 (8,33%)
	<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0
	<i>C. perfringens</i>	0	0	0	0	0
Blanc	<i>Salmonella</i> spp	0 (00%)	1 (3,33%)	4 (13,33%)	4 (13,33%)	9 (7,5%)
	<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0
	<i>C. perfringens</i>	0	0	0	0	0

En considérant le nombre global des œufs collectés, nous constatons que les salmonelles sont les seules bactéries présentes comme agent de contamination des œufs de commerce avec un taux de 8,33% pour le jaune d'œuf et 7,5% pour le blanc d'œuf. Cependant, nous remarquons une absence totale d'*E.coli* et *Clostridium perfringens* au niveau du contenu interne des œufs de consommation analysés.

En ce qui concerne le taux de détection des bactéries par rapport aux points de vente, nous constatons que les marchands ambulants présentent le taux le plus élevé de contamination par les salmonelles avec 23,33% pour le jaune d'œuf et 13,33% pour le blanc d'œuf, suivi par les grossistes avec un taux de 3,33% pour le jaune et 13,33% pour le blanc, de même, les boucheries présentent un taux de détection de 6,66% pour le jaune et 3,33% pour le blanc.

Finalement, nous remarquons une absence totale de contamination bactérienne des œufs collectés à partir des épiceries.

Résultat d'identification de *salmonella*

- **Caractères morphologiques**

On observe des bacilles colorés en rose à gram négatif

RESULTATS ET DISCUSSION

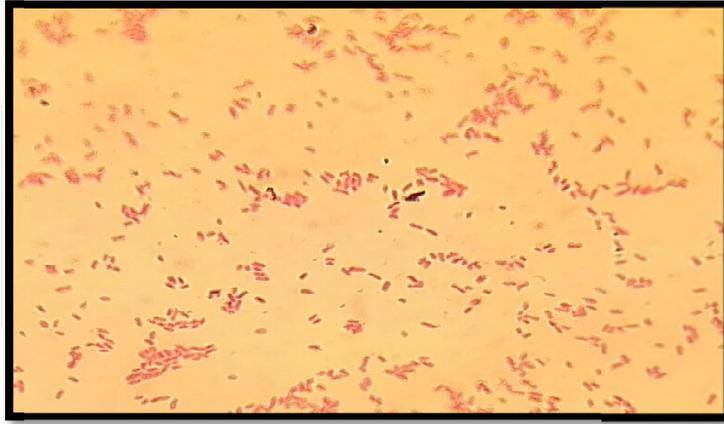


Figure 10. Observation microscopique d'un frottis bactérien coloré par la coloration de Gram (X100)

- **Identification biochimique**

Tableau 12. Résultat des tests biochimiques

Test	catalase	oxydase	glucose	lactose	saccharose	H2S	uréase	indole	Citrate	ONPG	Mobilité
résultat	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+

II. 2. Discussion

II. 2. 1. Examen avant cassage de l'œuf

II. 2.1. 1. Poids des œufs

Les résultats de notre étude montrent que la majorité des œufs collectés possèdent des poids de catégories S et M avec un taux de 46,66% et 49,16% respectivement. Les résultats obtenus sont en partie en accord à ceux démontrés par Kasmi (2017) qui a rapporté que 86,46% des œufs issus d'élevages industriels avaient un poids qui se situe entre 53 et 73 g correspondant aux deux catégories centrales gros et moyen (L et M) souhaitées par les consommateurs, alors que les œufs issus d'élevages traditionnels ont présenté des poids qui se situent entre les deux catégories moyen (M) et petit (S) avec un taux 90,59%. Contrairement à nos résultats, Saïdo (2005) a enregistré des poids moyens d'œufs inférieurs avec 46,90 g au Niger et 48,89 g au Ghana.

Ces variations constatées peuvent être expliquées par la sélection des échantillons, l'évaporation des œufs au cours du stockage ou bien l'âge de la poule. Les poules âgées donnent de gros œufs.

II.2.1.2. Densimétrie des œufs

Dans notre étude la mesure de la densimétrie des œufs de consommation en eau salée à 12% (NaCl) a révélé que 88,33% étaient des œufs extra frais et 10,83% étaient des œufs frais, ceci est en désaccord avec les résultats de Salifou (2007) qui a mentionné que 61% des œufs du marché et 65,3% de ceux du supermarché flottent à la surface de la solution saline. De même, Bijve (2006) a démontré que 62,67% et 66% des œufs collectés à partir du marché et du supermarché respectivement à Dakar étaient des œufs âgés de près de 1 mois.

La différence des résultats sur la fraîcheur des œufs serait probablement due soit à la modernisation des méthodes de transport et de stockage des œufs en Algérie, retardant ainsi leur vieillissement, ou bien à une consommation importante des œufs commercialisés dans la région de Tiaret, aboutissant ainsi à une diminution de la durée du stockage des œufs.

II. 2. 2. Examen après cassage de l'œuf

II. 2.2.1. Examen du contenu interne des œufs

L'examen du contenu interne des œufs de consommation a révélé que 63,33% des œufs étaient indemnes de toute anomalie. Cependant 28,33% et 8,33% des œufs analysés ont présenté des

taches de sang et des taches marron respectivement. Ceci est peut être liée à des microhémorragies ovariennes ou à une desquamation de l'oviducte dues à des infections virales ou à certaines contraintes environnementales (Jacob et Pescatore, 2009).

Selon les résultats obtenus, nous avons remarqué que seulement les œufs collectés à partir des marchands ambulants ont présenté une mauvaise odeur avec un taux de 10%. Cela peut être expliqué par le fait que les œufs commercialisés par les marchands ambulants sont mis en vente dans des conditions défavorables puisqu'ils sont exposés au soleil toute la journée.

II. 2. 2.2. Examen bactériologique des œufs

Les résultats de notre étude montrent que, sur les 240 échantillons analysés, les salmonelles sont les seules bactéries présentes comme agent de contamination des œufs de commerce avec un taux de 8,33% pour le jaune d'œuf et 7,5% pour le blanc d'œuf. Ceci est en accord avec les résultats démontrés par Parveen *et al.* (2017) qui ont mentionné que *Salmonella* a été isolée avec un taux de 11,11% à partir du contenu interne de l'œuf. De même, Abdulah (2010) a démontré un taux d'isolement de 11% pour *salmonella*. Contrairement à nos résultats, Mansour *et al.* (2015) ont rapporté une absence totale de *Salmonella* dans les œufs de consommation analysés.

Cependant, selon les résultats de notre étude, nous avons constatés que les marchands ambulants présentent le taux le plus élevé de contamination par les salmonelles par rapport aux autres points de vente, avec 23,33% pour le jaune d'œuf et 13,33% pour le blanc d'œuf. On suggère que les mauvaises conditions de stockage et de commercialisation des marchands ambulants sont la cause du taux élevé de contamination des œufs.

Selon les résultats de détection d'*E. Coli* et *clostridium perfringens*, nous avons remarqué une absence totale de ces bactéries au niveau du contenu interne des œufs de consommation analysés. Ces résultats sont en désaccord avec plusieurs recherches qui ont rapporté plusieurs taux d'isolement d'*E. coli* (Abdulah, 2010; Mansou *et al.*, 2015; Parveen *et al.*, 2017).

CONCLUSION

Durant les deux dernières décennies, La production moderne d'œufs de consommation a connu une progression considérable en Algérie. Avec son développement on assiste à un accroissement important du nombre d'exploitants avicoles souvent inexpérimentés et non informés, ainsi qu'un accroissement des circuits de commercialisation. Cela n'est sans doute pas sans conséquences sur la qualité des œufs commercialisés, sachant que la consommation des œufs est devenue de plus en plus importante avec des modes de préparation bien diversifiés, ce qui engendre une augmentation des risque d'intoxication surtout par les Salmonelles, *E.coli* et *Clostridium perfringens* qui représentent les bactéries les plus incriminées dans l'émergence de toxi-infection alimentaire collective

Nous avons essayé dans notre étude d'évaluer la qualité des œufs de consommation commercialisés dans différents points de vente à Tiaret et de détecter la présence de *Salmonella*, *E. coli* et *Clostridium perfringens* responsables de leur contamination.

En termes de qualité, sur les différents niveaux de commercialisation, la majorité des œufs présentent un poids presque idéal pour le consommateur et une excellente qualité de fraîcheur, avec un taux élevé d'œufs indemnes de toute anomalie.

En termes de qualité bactériologique, notre étude montre que les Salmonelles sont les seules bactéries détectées dans les œufs de consommation collectés dans la région de Tiaret, avec une absence totale d'*E. Coli* et *Clostridium perfringens*.

Recommandations

Nous recommandant les points suivants :

Au niveau du ramassage des œufs

- ✓ Il faut récolter les œufs au moins deux fois par jour afin d'éviter la casse et le salissement.
- ✓ Eviter le contact des œufs avec les fientes, alors qu'un contact prolongé des œufs avec les fientes provoquera des contaminations par des bactéries d'origine fécale.

Au niveau du transport des œufs

- ✓ Les véhicules de transport seront complètement fermés, de préférence frigorifiques, et devront être utilisés exclusivement pour le transport des œufs.
- ✓ Les ouvriers préposés à la manipulation des œufs devront avoir des vêtements de travail parfaitement propres.

Au niveau de la conservation et stockage des œufs

- ✓ le stockage des œufs doit se faire à une température ne dépassant pas les 10°C et une humidité relative de 75%.
- ✓ Les locaux doivent être pourvus d'une aération et d'un éclairage suffisant, la température comprise entre 8°C et 15°C, l'humidité comprise entre 70% et 85%.
- ✓ Les œufs déclassés par les centres de conditionnement doivent être réceptionnés dans des locaux à part avec toutes les précautions sanitaires.

Au niveau des points de vente

- ✓ Les œufs mis en vente dans le commerce doivent être présentés séparément en fonction des catégories de qualités et de poids.
- ✓ Ils doivent être entreposés dans des endroits propres, secs, exempts d'odeurs étrangères et préservant des écarts excessifs de température.
- ✓ Optimisation des conditions de stockage et de conservation des œufs au cours de la commercialisation pour minimiser la dégradation de la qualité de fraîcheur.

Perspectives

Les résultats obtenus et les observations faites pendant cette étude ont permis de répondre à certaines interrogations, mais ont aussi contribué à soulever d'autres questionnements.

Il serait intéressant de mener d'autres investigations sur un plus grand nombre d'échantillons, et sur d'autres régions au niveau de la wilaya de Tiaret.

D'autres études bactériologiques devraient mieux préciser les différentes bactéries responsables de la contamination des œufs de consommation, commercialisés au niveau de la région de Tiaret, autres que ceux isolées dans notre étude.

Enfin, il semble être nécessaire d'utiliser d'autres moyens complémentaires à ceux utilisés lors de notre étude pour une évaluation plus complète de la qualité des œufs de consommation.

Références bibliographiques

A

Abdulah I.N. (2010). Isolation and identification of some bacterial isolates from table egg. Al-Anbar J. Vet. Sci., Vol: 3 No. (2)

Akhtar F., Hussain I., Khan A., Rahman U. (2009). Prevalence and antibiogram studies of salmonella Enteritidis isolated from human and poultry sources. Pakist. Vet. J. 2074-7764. 30 (1): 25-28

Alloui N. (2011). Situation actuelle et perspectives de modernisation de la filière avicole en Algérie. 9èmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, France.

Alloui N., Bennoune O. (2013). Poultry production in Algeria: Current situation and future prospects. World. Poult. Sci. J 69(3):601-612

Arzour N. (2006). Appréciation des risques bactériologiques dans les œufs et les ovo produits. Thèse de Magister en Médecine Vétérinaire Université Mentouri- Constantine Faculté des sciences Département des sciences vétérinaires. 141 pp

B

Baron F., Jan S. (2010). Microbiologie de l'œuf et des ovoproduits. Productions Animales, 23(2), 193–204.

Bernard L., Michel. L. (1992). Nutrition et alimentation des volailles. Paris. INRA.198-199 pp.

Bijve Y. (2006). Etude l'évolution des oeufs de consommation dans les conditions de stockage naturelles Th. :Méd.Vét. : Dakar ; 17

Bobbo A.G., Baba S.S., Yahaya Y.M.S. (2013). Egg quality characteristics of three phenotypes of local chickens in Adamawa State. Journal of Agriculture and Veterinary Science, 4(2),.13-21 pp.

Boko C. K. (2013). Identification and typing of salmonella entericaserotypes isolated from guinea fowl (*Numidameleagris*) farms in Benin during four laying seasons (2007 to 2010). *Avian Pathology*. Vol. 42, No, 1, 1-8.

Bonhomme B.R. (2003). Étude de la contamination des milieux internes de l'œuf par *Salmonella* sérotype *Enteritidis*.

C

Çağlayan T., Alaşahan S., Kırıkçı K., Günlü A. (2009). Effect of different egg storage periods on some egg quality characteristics and hatchability of partridges (*Alectorisgraeca*). *Poultry Science*, 88.1330-1333 pp

Chrysostom C.A.A.M., Houndonougbo M.F., Houndonougbo V.P. (1991). Performances de ponte et qualité des œufs des poules pondeuses ISA Brown alimentées avec des rations à base de feuilles séchées de manio (*Manihotesculenta*, Crantz). Consulté sur <http://ajol.info/index.php/ijbcs>

Coulibaly Z. (2011). Projet pilote de production d'œufs de consommation à petite échelle comme outil de réduction de la pauvreté au Sénégal.

Cruickshank R., Duguid J.P., Marimo B.R., Swain. (1975). *Medical Microbiology* 12th ed. Vol. II, Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York.

D

Dellaras C. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures-moisissures.* Lavoisier .Paris .340 pp

E

Elgroud R. (2009). contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques dans les élevages et abattoirs de l wilaya de Constantine. *Science & Technologie C – N°27* :37-48.

Elgroud R., Zerdoumi. F., Benazzouz M., Bouzitouna C., Granier S., Brisabois A., Dfour B., Millemann Y. (2009). Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques dans les élevages et abattoirs de l wilaya de Constantine. Science & Technologie C_ N°27 :37-48.

G

Gueye L. (1999). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des œufs de consommation de la région de DAKAR (SENEGAL). Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Ecole inter- états des sciences et médecine vétérinaires. 111 pages

H

Haeghebaert S., Le Querrec F., Bouvet P., Gallay A., Espié E., Vaillant V. (2002). Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. Bulletin épidémiologique hebdomadaire 50.

Harmon S. (1984). *Clostridium perfringens* enumeration and identification. In: FDA Bacteriological Analytical Manual. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. 1701 – 1710 pp

I

ITAVI (2015). Situation de la production et des marchés des œufs et des ovoproduits d'œufs. Note de conjoncture. Paris.

J

Jacob J., Pescatore T. (2009). Common questions about eggs. Lexington : university of kentucky.

K

Kaci A., Boukella. M. (2007). La filière avicole en Algérie : structures, compétitivité, perspectives. Cahiers du CREAD, 81-82.129-153 pp.

Kasmi Y. (2017) Influence du mode d'élevage des poules pondeuses sur la qualité des œufs. Thèse de doctorat. Université BATNA1 institut des sciences vétérinaires et des sciences Agronomique. 139 pp

Koneman E.W., Stephen D. Allen M.D., Dowel V.R., Herbert M. Sommers M.D. (1992). Color atlas and tex book of diagnostic microbiology.4th ed. J.B Lippincott Company, Pyladelphia.

L

Lederer J. (1978). Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. paris : Maloine.870pp

M

Macfaddin J.F. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria 3rd ed., Lippin Cott Willians Wilkins, Philadelphia. Smith, L.D., Holdeman, L.V. (1968). The Pathogenic Bacteria. 1st ed. Charles C-Thomas Publisher, USA. 201-205 pp

Mansour A.F.A., Zayed A.F., Bacha O.A.A. (2015). Contamination of the chell and intrnal content of table eggs with pathogens during different storage periods. Assiut Vet. Med. J. vol. 61 No. 146 July 2015

Marie P. (2015). Biominéralisation de la coquille d'œuf de poule : caractérisation des protéines de la matrice organique impliquées dans l'initiation de la minéralisation. Thèse de doctorat : science de la vie. Université François – Rabelais de Tours. 207 pp

Marie P.E. (2014). Les filières animales françaises caractéristiques, enjeux et perspectives Lavoisier paris Bordeaux Sciences agro

Mertens K., Bain. M., Perianu C., De Baerdemaker J. Decuypere E. (2010). Nouvelles techniques non invasives d'évaluation de la qualité de l'œuf : Jeudis WPSA France.

N

Nair A., Balasaravanan T., Malik S.V.S, Mohan V., Kumar M., Vergis J., Rawool D.B. (2015). Isolement and identification of *Salmonella* from diarrheagenic infants and young animals, sewage waste and fresh vegetables.vol.8.2231-0916.

Nau F., Guérin C., Baron F., Thapon J.L. (2010a). Science et technologie de l'œuf: Production et qualité, volume 1, Lavoisier TEC et DOC.

Nau F., Guérin C., Baron F., Thapon J.L. (2010b). Science et technologie de l'œuf: De l'œuf aux ovoproduits, volume 2, TEC et DOC.

Nau F., Nys Y., Yamakawa Y., Rehault-Godbert S. (2010c). Intérêt nutritionnel de l'œuf en alimentation humain. INRA. Prod. Anim., 23 (2), 225- 236

O

Olivier ph. (2011). journal qui parle d'œuf: la douzaine consulté sur www.oeuf.ca.

Olivier K. (2007). Contribution à l'étude de l'évolution des œufs de consommation en fonction des conditions de stockage. Faculté des sciences et techniques 31pp

P

Parent E. (2015). Caractérisation et évaluation de la virulence de souches cliniques de *Clostridium perfringens* chez le poulet à griller élevé sans antibiotique. Thèse de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en sciences vétérinaires option sciences cliniques. Université de Montréal Département de sciences cliniques Faculté de médecine vétérinaire. 75 pp

Parveen A., Rahman M.M., Fakhruzzaman M., Rowshan Akter M., Shofiqul M.I. (2017). Carachterization of bacterial pathogens from egg shell, egg yolk, feed and air samples of poultry houses. *Asian J. Med. Biol.Res.* 2017, 3 (2), 168-174

Pascale I. (2013). L'œuf aux trésors. Inra-Micom

R

Richard M. (2011). Essai d'incorporation de la farine de feuilles de Cassia Tora dans l'alimentation chez les poulets locaux du Sénégal : Effets sur les performances de croissance, les caractéristiques de la carcasse et le résultat économique : Thèse diplôme d'état de docteur vétérinaire : Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Robineau B., Moalic P.Y. (2010). Une Maladie d'actualité en production aviaire : la colibacillose. (Communication).

S

Saidou A.A. (2005). Contribution à l'étude de la qualité des oeufs de consommation vendus au Niger : cas de la communauté urbaine de Niamey Th. :Méd. Vét. : Dakar; 17

Salifou N. (2007). Contribution à l'étude comparative de la qualité commerciale des œufs du marché et des œufs des grandes surfaces : cas de la zone urbaine de la ville de Dakar. Thèse PFE. Ecole Inter - Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires.79 pp

Sauveur B. (1991). Mode d'élevage des poules et qualité de l'œuf de consommation. INRA Productions animales : Nouzilly (France), INRA.

Sauveur B. (1969). Étude de la composition électrolytique des différentes zones de l'albumen de l'œuf chez deux races de poules. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys*, 9 (4), 563–573.

Sauveur B. (1988). Reproduction des volailles et production d'œufs. Paris. INRA. 19-121pp

Sentenac H. (2015). Causes possibles de non-éclosion chez le Saint-Martin (circus cyaneus).Thèse de doctorat. Université Claude Bernard- LYON I (Médecine - Pharmacie). 198 pp

Smith L.D., Holdeman L.V. (1968). The Pathogenic Bacteria. 1st ed. Charles C-Thomas Publisher, USA. 201-205 pp

Stevens P. (1988). Evolution récente et perspectives de l'aviculture. INRA Productions Animales, Paris: INRA, 1 (3), pp.155-163. fihal-00895827f

Stordeur P., Mainil J. (2002). La colibacillose aviaire. Ann. Méd. Vét., 146, 11-18.

T

Thapon J.L., Bourgeois C.M. (1994). L'œuf et les ovoproduits: sciences et technologies agro-alimentaires, Lavoisier TEC et DOC.

The poultry site. (2014). Global poultry trends 2013 – hen egg production in Africa. [En ligne] Consulté sur : <<http://www.thepoultrysite.com/articles/3119/global-poultry-trends-2013-hen-egg-production-in-africa-and-oceania/>>.

V

Van Immerseel F., De Buck G., Boyen F., Pasmans F., Bertrand S., Collard J.M., Saegerman C., Hooyberghs J., Haesebrouck F., Dcatelle 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. Ann Méd. Vét., 149, 34-48.

Viviane M. (2016). Les bienfaits de l'œuf au quotidien (MM 44, 31.10.2016) 99)

W

Wattagnet. (2011). Dramatic regional variation in Africa's egg production. [En ligne] Disponible sur : <<http://www.wattagnet.com/articles/9662-dramatic-regional-variation-in-africa-s-egg-production>>

Wells C.L., Wilkins T.D. (1996). Clostridia: Sporeforming Anaerobic Bacilli. In S. Baron (Ed.), Medical Microbiology 4th ed. Galveston (TX).

Annexe 1

1. Eau peptonée tamponnée**Formule :**

- Peptone	10,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Phosphate disodique dodécahydraté	9,0 g
- Phosphate monopotassique	1,5 g
-Eau.....	1000 ml

2. Bouillon RAPPAPOT-VASSILIADIS Soja (RVS)**Formule :**

-peptone papainique de soja.....	4,50 g
-Chlorure de sodium	7,20 g
-Phosphate monopotassique.....	1,26 g
-Phosphate dipotassique.....	0,18 g
-Chlorure de magnésium anhydre	13,40 g
-Vert malachite (oxalate)	36,0 mg

3. Gélose EMB :**Formule :**

- Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Phosphate dipotassique.....	2,0 g
- Eosine Y	0,4 g
- Bleu de méthylène	65,0 mg
- Agar agar bactériologique	15,0 g

4. La gélose Hektoën**Formule :**

- Peptone peptique de viande	12,0 g
- Extrait auto lytique de levure.....	3,0 g

- Lactose.....	12,0 g
- Saccharose.	12,0 g
- Salicine	2,0 g
- Sels biliaires.....	9,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide	40 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

5. Urée Indole :

Formule :

-L-Tryptophane	3,0
-KH ₂ PO ₄	1,0
-K ₂ HPO ₄	1,0
-Chlorure de sodium	5,0
-Urée.....	20
-Alcool à 95°	10 ml
-Rouge de phénol	0,05

6. Milieu Citrate de Simmons :

Formule :

-Citrate de sodium.....	1,0
-Chlorure de sodium	5,0
-Sulfate de magnésium.....	2,0
-Phosphate mono-ammonique	1,0
-Phosphate dipotassique.....	1,0
-Bleu de bromothymol	0,08
-Agar.....	15,0

7. Milieu Viande cuite :**Formule :**

-Cœur	454,0
-Peptone	10,0 g/l
-Extrait de viande de bœuf	10,0 g/l
-Chlorure de sodium	5,0 g/l
-Glucose	2,0 g/l

8. Gélose TSC (base) :**Formule :**

- Tryptone.....	15,0 g
- Peptone papainique de soja.....	5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
- Métabisulfite de sodium	1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	1,0 g
- D-Cyclosérine	0,4 g
- Agar agar bactériologique	15,0 g

9. Gélose TSI (Triple Sugar Iron) :**Formule :**

- Tryptone.....	14,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Glucose	1,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Saccharose	10,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal	0,3 g
- Rouge de phénol	24,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

Annexe 2

Coloration de Gram

- Préparer un frottis bactérien en transférant un petit fragment d'une colonie dans une goutte d'eau déposée préalablement sur une lame de verre propre.
- Disperser la colonie dans l'eau afin d'obtenir une suspension laiteuse.
- Étaler la suspension sur une surface d'un à deux centimètres carrés.
- La suspension est ensuite séchée de façon à obtenir le frottis. Ce dernier est fixé en le passant rapidement une ou deux fois dans la flamme du bec bunsen.
- Recouvrir le frottis d'une solution de violet de gentiane pendant une minute.
- Verser le lugol et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée.
- Décolorer avec l'alcool à 95% en plaçant la lame dans une position oblique puis rincer à l'eau.
- Recouvrir le frottis avec une solution de fuchsine pendant une minute puis rincer et sécher le frottis.
- Observation microscopique à immersion (X100) : les bactéries à Gram- apparaissent roses et les bactéries à Gram+ se colorent en violet