

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme de Master en: Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Recherche de contamination bactérienne dans le contenu des œufs issus des élevages traditionnels de poule

Soutenu le : 24/06/2026

Présenté Par :

- 1) Melle SENHADJI Nesrine
- 2) Melle RAHMANI Lina

Devant le jury composé de :

Dr BENLHADJ DJELOUL Saadia	M C A	UAT.B. B (Ain Temouchent)	Président
Dr BOUCHACHIA Souad	M C A	UAT.B. B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr MADANI Khadidja	M C B	UAT.B. B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2025/2026

Remerciements

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Nous rendons grâce à Allah, le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail. Louange à Lui pour toutes Ses bénédictions.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons tout particulièrement nos sincères remerciements à notre directrice de mémoire, Madame MADANI Khadidja, pour son encadrement précieux, sa disponibilité, ses conseils avisés ainsi que la qualité de ses orientations scientifiques tout au long de ce travail.

Son soutien, sa patience et ses remarques constructives ont grandement contribué à l'amélioration et à l'aboutissement de ce mémoire.

Nous exprimons également notre reconnaissance à Madame BOUCHACHIA Souad et à Madame BENLHADJ DJELOUL Saadia, qui ont contribué à notre formation universitaire au cours des années précédentes grâce à leurs enseignements, leurs conseils et leur accompagnement. Nous les remercions également d'avoir accepté de faire partie du jury de soutenance et de consacrer leur temps à l'évaluation de notre travail.

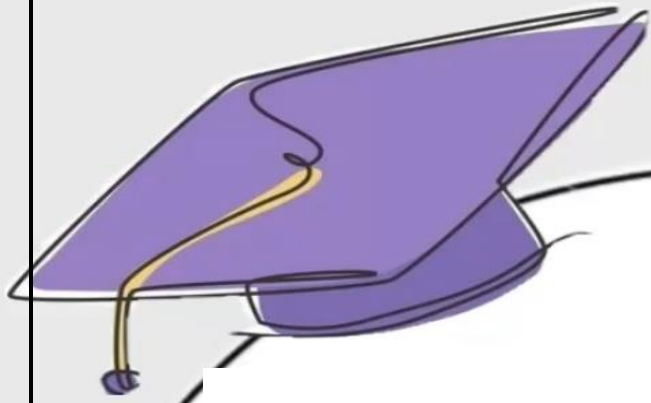
Nos sincères remerciements s'adressent aussi au personnel du laboratoire d'Hygiène d'Aïn Témouchent, notamment à Madame BRIKI Fatima et à Madame ABDELAOUI Fatiha pour leur encadrement lors des travaux pratiques au laboratoire, leur disponibilité, leur aide précieuse ainsi que les connaissances et compétences qu'elles nous ont transmises tout au long de la réalisation de notre partie expérimentale.

Nous remercions également l'ensemble des enseignants et du personnel pédagogique qui ont contribué à notre formation et à notre parcours universitaire, en partageant leurs connaissances et leur expérience avec dévouement.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui nous ont soutenus et encouragés, et qui ont contribué, de près ou de loin, moralement ou matériellement, à la réalisation de ce travail.

À tous, nous exprimons notre profonde gratitude.

Louange à Allah, au commencement comme à la fin.



Dédicace

À la mémoire de mes chers grands-parents paternels, que Dieu les accueille dans Son vaste paradis et leur accorde Sa sainte miséricorde. Votre souvenir restera à jamais gravé dans mon cœur, et votre amour continuera d'éclairer mon chemin.

À mes très chers grands-parents maternels, que Dieu vous prête longue vie et vous garde en bonne santé. Votre tendresse, vos prières et votre affection ont toujours été pour moi une source de paix et de courage. Puisse ce modeste travail être le témoignage de mon profond respect et de ma reconnaissance infinie.

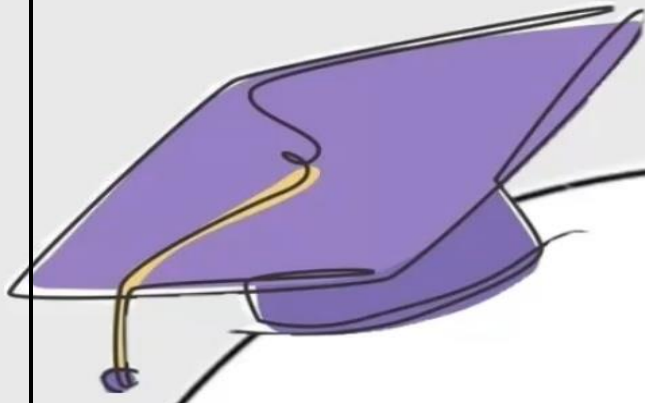
À mes très chers parents, BRAHIM TAZI Amina et SENHADJI Toufik, Aucune parole ne saurait exprimer l'amour, le respect et la gratitude que je vous porte. Merci pour tous les sacrifices consentis afin de me voir réussir, pour votre patience, votre soutien indéfectible et vos encouragements dans les moments les plus difficiles. Vous avez toujours été ma force, mon refuge et mon inspiration. Que ce travail soit le fruit de vos efforts, de vos prières et de votre confiance en moi. Puisse Dieu vous protéger et vous accorder bonheur et santé.

À mes chers frères, SENHADJI Fayçal et Mohamed, Merci pour votre présence, votre soutien et tous les moments partagés ensemble. Votre affection fraternelle m'a toujours apporté force et motivation. Je vous souhaite une vie remplie de réussite, de bonheur et de sérénité. Que Dieu vous garde pour moi.

À toute ma famille, petits et grands, Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection, de mon respect et de ma profonde reconnaissance.

À tous ceux qui m'ont soutenue, encouragée et accompagnée tout au long de mon parcours universitaire, Je dédie humblement ce travail avec toute ma gratitude et mon estime.

SENHADJI Nesrine



Dédicaces

À mon cher grand-père, qu'Allah lui fasse miséricorde Maazouz Abdelkader, Tu as toujours été pour nous un véritable soutien semant dans nos cœurs l'espoir et la force grâce à tes paroles bienveillantes et à ta grande tendresse. Malgré ton départ ta belle empreinte demeure vivante dans nos vies et ton souvenir restera à jamais gravé dans nos cœurs Je te dédie ce travail avec tout mon amour et ma fidélité et je prie Allah de t'accorder Sa vaste miséricorde et de faire du Paradis ta demeure éternelle.

À ma mère adorée Maazouz Fouzia, Toi qui as été pour moi bien plus qu'une mère, Toi qui as su remplir à la fois le rôle de mère et de père avec amour, courage et dignité, Tu as consacré ta vie à mon bonheur et à ma réussite, malgré les difficultés et les sacrifices. Tes prières ton soutien et ton affection ont toujours été ma plus grande source de motivation. Aujourd'hui je t'offre ce mémoire avec tout mon amour et mon immense reconnaissance Qu'Allah te protège et t'accorde une longue vie pleine de bonheur.

À mes chères sœurs Rahmani ibtissem, Bouchra et Zahida Merci pour votre amour sincère, votre présence dans les moments difficiles comme dans les plus beaux, et pour chaque parole qui m'a redonné la force d'avancer.

À mes chers frères Rahmani Abdelkader et Younes Merci pour votre présence, votre soutien et vos encouragements qui m'ont accompagnée tout au long de ce parcours.

À ma famille et à toutes les personnes qui ont cru en moi et m'ont soutenue de près ou de loin, Je dédie ce travail avec une profonde gratitude et une grande émotion

RAHMANI Lina



Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer la qualité microbiologique du contenu interne des œufs issus d'élevages traditionnels et de rechercher la présence de bactéries pathogènes susceptibles de représenter un risque pour le consommateur. Trente-cinq (35) œufs répartis en trois lots ont été analysés au laboratoire. Les recherches ont porté sur *les staphylocoques*, *les coliformes* et *les salmonelles* à l'aide de milieux de culture sélectifs et d'étapes d'enrichissement adaptées. Les colonies suspectes obtenues ont ensuite été soumises à des examens macroscopiques, microscopiques et biochimiques.

Les résultats ont montré une absence totale de *staphylocoques* et de coliformes dans l'ensemble des échantillons analysés. Aucune souche de *Salmonella* spp n'a été détectée. Toutefois, des colonies bactériennes isolées après enrichissement sélectif ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *Citrobacter freundii*. Les analyses microscopiques ont révélé des bacilles à Gram négatif mobiles et oxydase négative, tandis que les profils biochimiques obtenus par API 20E ont confirmé l'identification de cette bactérie.

La présence de *Citrobacter freundii* dans le contenu interne de certains œufs suggère une contamination d'origine fécale ou environnementale favorisée par des conditions d'hygiène insuffisantes au sein des élevages traditionnels. Cette bactérie constitue un indicateur de contamination microbiologique et un risque sanitaire potentiel pour le consommateur. Les résultats soulignent ainsi l'importance du respect des bonnes pratiques d'élevage, de collecte, de transport et de conservation des œufs afin de garantir leur qualité microbiologique et de réduire les risques de transmission bactérienne par voie alimentaire.

Mots-clés : Œufs, qualité microbiologique, contamination bactérienne, *Citrobacter freundii*, élevage traditionnel.

Abstract

This study was conducted to evaluate the microbiological quality of the internal contents of eggs from traditional farms and to investigate the presence of pathogenic bacteria that may pose a risk to consumers. Thirty-five (35) eggs, divided into three batches, were analyzed in the laboratory. The analyses focused on *staphylococci*, coliforms, and *salmonellae* using selective culture media and appropriate enrichment procedures. Suspected colonies obtained were subsequently subjected to macroscopic, microscopic, and biochemical examinations.

The results showed a complete absence of *staphylococci* and coliforms in all analyzed samples. No strains of *Salmonella spp.* were detected. However, isolated bacterial colonies recovered after selective enrichment were identified as belonging to the species *Citrobacter freundii*. Microscopic analyses revealed motile, Gram-negative bacilli that were oxidase-negative, while biochemical profiles obtained using the API 20E system confirmed the identification of this bacterium.

The presence of *Citrobacter freundii* in the internal contents of some eggs suggests contamination of fecal or environmental origin, favored by insufficient hygienic conditions in traditional farming systems. This bacterium represents an indicator of microbiological contamination and a potential health risk to consumers. These findings highlight the importance of adhering to good practices in egg production, collection, transportation, and storage in order to ensure microbiological quality and reduce the risk of foodborne bacterial transmission.

Keywords: Eggs, microbiological quality, bacterial contamination, *Citrobacter freundii*, traditional farming.

المخلص

أُجريت هذه الدراسة بهدف تقييم الجودة الميكروبيولوجية للمحتوى الداخلي للبيض الناتج عن التربية التقليدية، والبحث عن وجود بكتيريا ممرضة قد تشكل خطراً على المستهلك. تم تحليل خمسة وثلاثين (35) بيضة موزعة على ثلاث مجموعات في المختبر. وشملت التحاليل البحث عن المكورات العنقودية والقولونيات والسالمونيلا باستعمال أوساط زرع انتقائية ومراحل إغناء مناسبة. ثم خضعت المستعمرات البكتيرية المشتبه بها لفحوصات عيانية ومجهريّة وكيميائية حيوية.

أظهرت النتائج غياب المكورات العنقودية والقولونيات وكذلك بكتيريا السالمونيلا (*Salmonella spp.*) في جميع العينات المدروسة. ورغم ذلك، سمحت مرحلة الإغناء الانتقائي بعزل بعض المستعمرات البكتيرية، التي أظهرت التحاليل المورفولوجية والكيميائية الحيوية انتماءها إلى النوع *Citrobacter freundii* وتميزت هذه البكتيريا بكونها عصيات سالبة الغرام، متحركة وسلبية لاختبار الأوكسيداز، وهو ما تم تأكيده نهائياً بواسطة نظام التعرف البيوكيميائي API 20^E.

يشير وجود بكتيريا *Citrobacter freundii* في المحتوى الداخلي لبعض عينات البيض إلى تعرضها لتلوث ذي أصل برازي أو بيئي، مما يعكس احتمال انتقال هذه البكتيريا إلى داخل البيضة خلال مراحل الإنتاج أو المناولة.

ساعدت عليه ظروف النظافة غير الكافية في أنظمة التربية التقليدية وتُعد هذه البكتيريا مؤشراً على التلوث الميكروبيولوجي وتمثل خطراً صحياً محتملاً على المستهلك. وتبرز هذه النتائج أهمية الالتزام بالممارسات الجيدة في تربية الدواجن وجمع البيض ونقله وحفظه، من أجل ضمان جودته الميكروبيولوجية والحد من مخاطر انتقال البكتيريا عبر الأغذية.

الكلمات المفتاحية : البيض، الجودة الميكروبيولوجية، التلوث البكتيري، *Citrobacter freundii*، التربية التقليدية.

Table des matières

Lste des abréviations

La liste des figures

Introduction 1

Synthèse bibliographique

1. Généralité..... 3

2. La structure 3

3. Les condition d'élevage traditionnelle de poule : 5

3.1. Température..... 5

3.2. Humidité relative 5

3.3. L'éclairage 6

3.4. Ventilation..... 8

3.5. Hygiène et biosécurité 8

3.6 . L'alimentation 9

4. production d'œuf..... 10

4.1. Récolte des œufs 10

4.2. Le stockage des œufs..... 10

4.3. Emballage des œufs 10

4.4. Conserve des œufs..... 10

5. La flore microbienne de l'œuf..... 11

5.1. La flore microbienne de la coquille 11

5.2. La flore microbienne du contenu de l'œuf 11

6. Contamination des œufs (modalité de la contamination biologique) 12

6.1. Contamination de l'œuf avant la ponte 12

6.2. Contamination de l'œuf après la ponte..... 12

6.2.1. Contamination de la surface de l'œuf..... 12

6.2.2. Contamination de l'intérieur de l'œuf 12

7. Risques pour le consommateur liés à la consommation d'œufs contaminés..... 13

8. La prévention 14

8.1. La vaccination 14

8.2. Désinfection 15

8.3. vide sanitaire 15

Matériel et Méthode

1. Matériel	17
1.1. Matériel de base	17
1.2. Milieux de dilution et de préparation	18
1.3. Milieux de culture	18
1.4. Milieux d'enrichissement	19
1.5. Additifs et réactifs	20
1.6. Tests biochimiques	21
1.7. Matériel d'analyse microscopique.....	22
1.8. Réactifs de coloration de Gram	22
1.9. autre méthodes.....	23
2.Méthodes	24
2.1. Origine des échantillons	24
2.2. Préparation aseptique des échantillons	24
2.3. Préparation de la suspension mère et des dilutions.....	25
2.4. Recherche des staphylocoques.....	26
2.4.1. Préparation du milieu.....	26
2.4.2. Ensemencement.....	26
2.4.3. Incubation	27
2.4.4. Lecture	27
2.5. Recherche des coliformes.....	27
2.5.1. Ensemencement.....	28
2.5.2. Incubation	28
2.5.3. Lecture	28
2.6. Recherche de <i>Salmonella</i>	28
2.6.1. Pré-enrichissement.....	28
2.6.2. Enrichissement sélectif.	29
2.6.3. Isolement	29
2.6.4. Lecture	29
2.7. Etude microbiologique.	30
2.7.1. Coloration de gram.	30
2.7.2. Observation à l'état frais.....	30
2.7.3. Test de mobilité sur gélose semi-solide.	31
2.8. Etude biochimique.....	31
2.8.1. Test TSI	31

2.8.2. Test de l'oxydase.....	32
2.8.3. identification biochimique par la galerie API 20 E.....	32
2.8.3.1. Préparation de la galerie	32
2.8.3.2. Préparation de l'inoculum.....	32
2.8.3.3. Inoculation de la galerie	32
2.8.3.4. Incubation.....	33
Résultats et discussion	
1. Résultat.....	35
1.1. Résultat du premier échantillon (05 œufs).	35
1.1.1. Recherche des <i>staphylocoques</i>	35
1.1.2. Recherche des coliformes.....	35
1.1.3. Recherche des <i>salmonelles</i>	36
1.2. Résultats du deuxième échantillon (15 œufs)	36
1.2.1. Recherche des <i>staphylocoques</i>	37
1.2.2. Recherche des coliformes.....	37
1.2.3. Recherche des <i>salmonella</i>	37
1.3. Résultats du troisième échantillon (15 œufs).....	38
1.3.1. Recherche des <i>staphylocoques</i>	38
1.3.2. Recherche des coliformes.....	39
1.3.3. Recherche des <i>salmonelles</i>	39
1.4. Étude macroscopique des colonies (issues du SFB) :.....	40
1.5. Résultats de l'identification microbiologique.....	41
1.6. Résultats de l'identification biochimique	42
2. Discussion.....	44
Conclusion.....	48
Référence bibliographique.....	51
Annexe	

Liste des abréviations

APS : Algérie presse service

BP: Baird Parker

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

EFSA : European Food Safety Authority

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

FSH: Follicle Stimulating Hormone

GnRH: Gonadotropin Releasing Hormone

HPG: Hypothalamo-Hypophyso-Gonadique

LH: Luteinizing Hormone

SFB: Sélénite F Broth

USDA: United States Department of Agriculture

VRBL: Violet Red Bile Lactose

WHO: World Health Organization

La liste des figures

Figure 01 : structure d'œuf (Sauveur et <i>al.</i> , 1987)	3
Figure 02 : la température optimale (NutriNews, 2020)	5
Figure 03 : l'éclairage dans l'élevage (Guilhem,2016)	6
Figure 04 : la lumière bleue (Puybasset, 2023)	7
Figure 05 : la lumière rouge(https://share.google/HUcUWnNGyeCa5tWBR)	8
Figure 06 : désinfection des bâtiments d'élevage (Guilhem, 2016)	9
Figure 07 : œuf contaminé (Board, 2000)	13
Figure 08 : La vaccination (Le Roi de la Poule, 2023)	14
Figure 09 : Échantillon d'œuf soumis à l'analyse.....	18
Figure 10 : Milieux de culture.....	19
Figure 11 : Milieux d'enrichissement.....	19
Figure 12 : Additifs et réactifs.....	20
Figure 13 : disque oxydase	21
Figure 14 : Réactifs de la galerie API.....	21
Figure 15 : Galerie API20.....	22
Figure 16 : Réactif de coloration de gram.....	23
Figure 17 : tube McFarlane et huile de vaseline	24
Figure18 : mélange des contenus des œufs	25
Figure 19 : Dilution décimales successives.....	26
Figure20 : ensemencement des boîtes.....	27
Figure 21 : incubation.....	27
Figure22 : technique d'ensemencement.....	28

Figure23 : pré-enrichissement pour <i>salmonella</i>	29
Figure 24 : incubation de la galerie API 20 ^E	33
Figure25 : absence de croissance de <i>staphylocoque</i>	35
Figure 26 : absence de croissance des coliformes	35
Figure 27 : Absence de croissance des <i>salmonelles</i> sur gélose Hektoen après enrichissement sélectif en SFB.....	36
Figure28 : Absence de croissance des <i>salmonelles</i> sur gélose Hektoen après enrichissement sélectif en bouillon Rappaport.....	36
Figure 29 : absences de croissance de <i>staphylocoque</i>	37
Figure 30 : absence de croissance des coliformes	37
Figure 31 : absence de croissance des <i>salmonelles</i>	38
Figure 32 : présence de croissance bactérienne	38
Figure 33: absence de croissance de <i>staphylocoque</i>	39
Figure 34 : absence de croissance des coliformes	39
Figure 35: absence de croissance des <i>salmonelles</i>	40
Figure36: présence de croissance bactérienne	40
Figure 37 : résultat du deuxième prélèvement.....	41
Figure 38 : résultat du troisième prélèvement.....	41
Figure 39 : test mobilité positif	42
Figure 40 : résultat du test TSI.....	42
Figure 41 : résultat de deuxième prélèvement.....	43
Figure 42 : résultat de troisième prélèvement.....	43
Figure 43 : résultat de 2-ème prélèvement après incubation de la galerie API20E.....	44
Figure 44 : résultat de 3eme prélèvement après incubation de la galerie API20E.....	44

Introduction

Introduction

Les œufs de table sont consommés dans le monde entier dans divers plats et sont considérés comme très nutritifs et une source de protéines peu coûteuse.

Malgré la présence de barrières naturelles de protection (la coquille, la cuticule et les membranes coquillières), l'œuf reste exposé à différentes contaminations microbiennes au cours de la ponte, de la manipulation, du transport et du stockage (**De Reu *et al.*, 2006**).

Plusieurs microorganismes pathogènes peuvent être retrouvés à la surface de la coquille ou dans le contenu interne de l'œuf, notamment des bactéries appartenant aux genres *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Pseudomonas*. Ces microorganismes peuvent entraîner des altérations de la qualité des œufs ainsi que des infections d'origine alimentaires chez le consommateur. Selon plusieurs études scientifiques, les mauvaises conditions d'hygiène, les variations de température, l'humidité élevée et l'utilisation excessive des antibiotiques dans les élevages avicoles favorisent la prolifération de bactéries résistantes aux antibiotiques (**Kilonzo-Nthenge *et al.*, 2016**).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est aujourd'hui une menace mondiale pour la santé humaine et animale. L'utilisation fréquente et parfois incontrôlée des antimicrobiens dans les élevages avicoles favorise la sélection de souches multirésistantes qui peuvent contaminer les produits alimentaires, y compris les œufs (**Hinson *et al.*, 2025**).

L'étude de la qualité microbiologique des œufs revêt une importance majeure en santé publique. Elle permet d'isoler et d'identifier les micro-organismes contaminants. Cette évaluation contribue à déterminer les risques potentiels pour le consommateur et à mettre en place des mesures préventives appropriées visant à améliorer les conditions de production, de manipulation, de stockage et de commercialisation des œufs afin de garantir leur innocuité alimentaire (**Hemeda *et al.*, 2025**).

Dans ce cadre, nous avons réalisé notre travail pour objectif de chercher une contamination et identifier les bactéries pathogènes qui peuvent être présentes dans le contenu des œufs de consommation de poules élevées dans des élevages traditionnels.

Pour atteindre l'objectif de notre étude, nous avons commencé par une synthèse bibliographique pour mettre en évidence l'état de connaissance suivie d'une étude expérimentale microbiologique sur les œufs, puis nous avons interprété et discuté nos résultats et nous avons fini notre travail par une conclusion.

Synthèse bibliographique

1- Généralité

L'Œuf est depuis toujours un des aliments de base, d'excellente valeur nutritive, facile à digérer, très employé en diététique et dans les platsculinaires. Les familles algériennes apprécient et préfèrent les œufs qu'elles consomment majoritairement plus que les viandes et les poissons (APS, 2018)

L'œuf est un aliment riche en éléments nutritifs. Il s'agit d'une source peu énergétique de protéines parfaitement équilibrées et de lipides très bien digestibles ; en plus des protéines et des lipides, il contient de nombreux minéraux et vitamines. L'œuf fournit de 20 % à 30 % des besoins quotidiens de l'homme. Il manque cependant de glucides, de calcium et de vitamine C (Coimbra *et al.*, 2005).

2- La structure

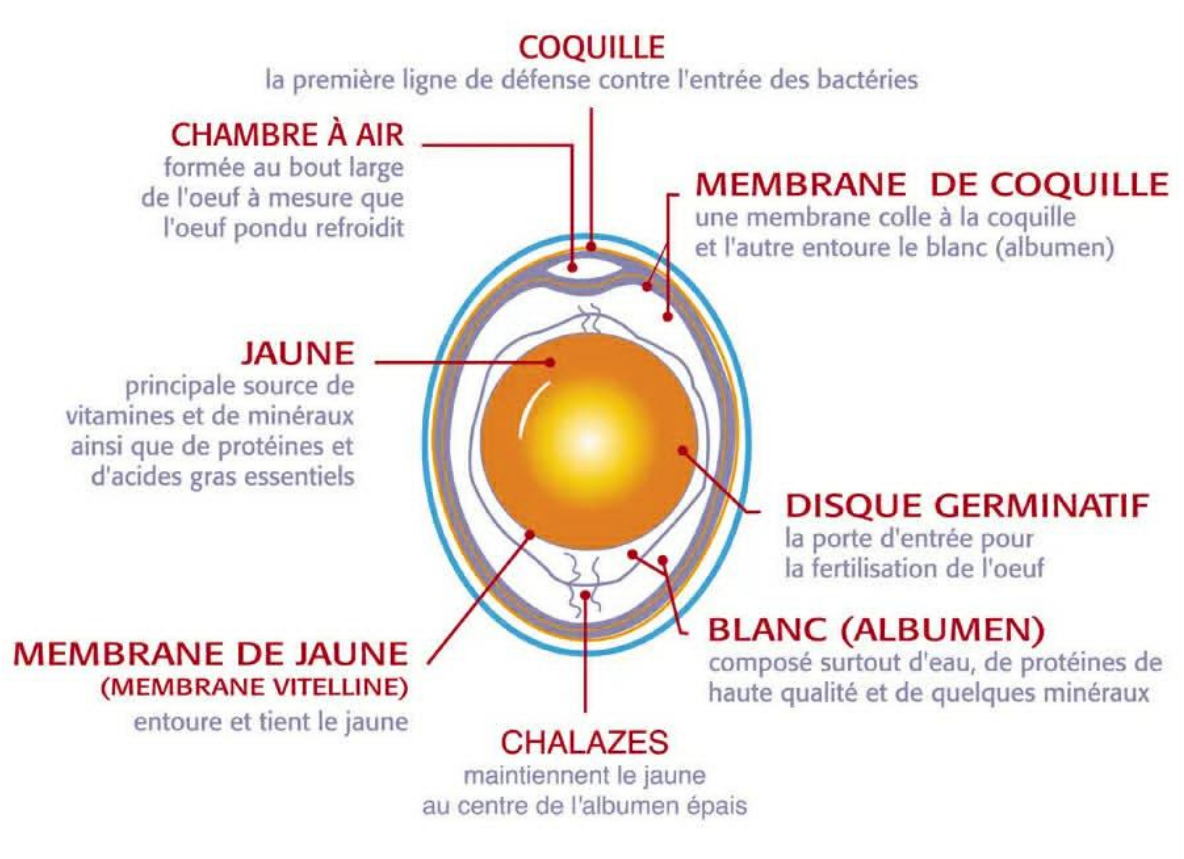


Figure 01 : structure d'œuf (Sauveur et *al.*, 1987).

L'œuf comprend du centre vers la périphérie le jaune ou vitellus, le blanc ou albumen, les membranes coquillières qui délimitent une chambre à air et la coquille recouverte d'une cuticule.

2.1. Le vitellus : C'est une masse visqueuse renfermée dans une membrane vitelline de forme sphérique. Il est formé de nombreux globules lipidiques et porte à sa surface l'ovocyte. Son pH est de 5,8 à 6,0. Le vitellus occupe le centre de l'œuf et est ainsi bien protégé par la coquille et l'albumen. Sa composition chimique (présence de lécithine) et son pH en font un milieu de stockage de métabolites liposolubles et un très bon substrat nutritif pour la croissance rapide des microorganismes (**Dayon et Arbelot, 1997**).

2.2. L'albumen ou blanc d'œuf : est une solution aqueuse qui contient des protéines, des sucres et des sels minéraux. Il ne contient pas de lipides, on n'en trouve que des traces, Le blanc, grâce à ses protéines, forme un liquide épais et visqueux, transparent et très riche en eau. Il enrobe le jaune par plusieurs couches dont deux sont liquides et la troisième épaisse ; il représente 70 % du poids de l'œuf. Il se sépare en quatre couches, chacune ayant des propriétés particulières (**Thieulin et al., 1976**).

2.3. Les membranes coquillières : L'enveloppe secondaire qui entoure l'œuf, c'est la membrane coquillière et est la deuxième barrière de défense de l'œuf contre les bactéries. Elle est constituée de deux feuillets : un feuillet interne profond qui entoure l'albumen et un feuillet externe qui tapisse la paroi interne de la coquille (**Rodriguez et Romanek, 2002**).

2.4. La chambre à air : Elle ne préexiste pas à la ponte de l'œuf mais se forme immédiatement après le refroidissement de l'œuf par une légère contraction de son contenu. Le volume de la chambre à air croît en fonction de la durée et des conditions de conservation (**Musabimana Kagaj, 2005**).

2.5. La coquille: Elle est à la fois lisse, dure, rigide et fragile. Son épaisseur varie de 300 à 400 μm . Elle est formée d'une trame protéique dans laquelle se développent des cristaux de carbonates de calcium. La coquille, par sa fragilité, est fortement exposée au risque de rupture sous l'action des chocs subis au cours de toutes les manipulations : piétinage par les poules au moment de la ponte, ramassage, conditionnement, stockage, transport. Ainsi, la coquille cassée ou fêlée offre toutes les voies de contamination de l'œuf, tandis que la coquille intacte recouverte de sa cuticule est protégée contre toute pénétration microbienne dans l'œuf. L'âge de l'œuf ou le lavage (voire le brossage) provoque la destruction de la cuticule, libère les pores de la coquille (6 à 8000 pertuis de 20 à 45 μm de diamètre) qui peuvent être traversés par les

bactéries et les moisissures, surtout si la coquille est humide ou encore si l'œuf est soumis à des variations de température (Le Grand, 1988).

3- Les condition d'élevage traditionnelle de poule :

3.1. Température

La température optimale (zone thermoneutre) pour les poules pondeuses permettant une performance optimale se situe entre 19 et 22 °C. Les poules pondeuses exposées à des températures ambiantes supérieures à la zone thermoneutre subissent un stress thermique qui déclenche des mécanismes de défense physiologiques (Saeed *et al.*, 2021).



Figure 02 : la température optimale (NutriNews, 2020)

Des études montrent que l'exposition longue à la chaleur fait baisser la consommation de nourriture. Cette baisse réduit l'apport en nutriments nécessaires à la formation de l'œuf. Le manque de nutriments diminue le taux de ponte et le poids des œufs produits (Mashaly *et al.*, 2004).

Il faut garder la température correcte dans le bâtiment d'élevage. Cette température assure une production stable et des œufs de bonne qualité (Mashaly *et al.*, 2004).

3.2. Humidité relative

L'humidité relative de l'air dans le bâtiment d'élevage est un facteur clé pour le bien-être et la productivité des poules pondeuses. Les conditions sont jugées optimales lorsque l'humidité relative se situe entre 50 % et 70 %, car l'humidité relative maintient un bon équilibre thermique et préserve la qualité de la litière. Dans ces conditions, les poules pondeuses conservent leurs performances de ponte et maintiennent un état physiologique normal (Kim *et al.*, 2021).

Synthèse bibliographique

Une humidité relative trop élevée rend la litière très humide et crée un environnement qui aide les bactéries, les champignons et d'autres micro-organismes pathogènes à se développer (Tinôco, 2001.).

Quand l'humidité est élevée à une température élevée, les poules ont du mal à évacuer la chaleur de leur corps et provoque un stress thermique. Dans ces mêmes conditions, les poules mangent moins et pondent moins d'œufs (Kim *et al.*, 2021.). À l'inverse, une humidité trop basse fait monter la poussière dans le bâtiment ; la poussière irrite alors les voies respiratoires des poules et favorise des troubles respiratoires. Contrôler l'humidité et assurer une ventilation adéquate sont donc indispensables pour garder un environnement sain dans l'élevage (FAO, 2010).

3.3. L'éclairage

L'éclairage contrôle la reproduction des poules pondeuses. Chez les oiseaux, la lumière agit directement sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG). L'axe HPG déclenche la sécrétion d'hormones telles que : gonadotropin releasing hormone (GnRH), de luteinizing hormone (LH) et de follicle stimulating hormone (FSH) qui assurent le développement des follicules ovariens et le déclenchement de la ponte. Une exposition lumineuse plus longue augmente les hormones et encourage l'activité reproductive (Dawson *et al.*, 2001).



Figure 03 : l'éclairage dans l'élevage (Guilhem, 2016)

Dans les élevages commerciaux, les éleveurs recommandent des photopériodes de 14 à 16 heures de lumière chaque jour pour garantir une production d'œufs régulière et optimale. Les

Synthèse bibliographique

photopériodes longues favorisent l'activité reproductrice et assurent une stimulation hormonale suffisante (**Geng *et al.*, 2018**).

Une intensité lumineuse inadéquate ou une durée d'éclairage inadaptée perturbe les performances et le comportement des poules pondeuses. La gestion du programme lumineux est alors un facteur essentiel pour maintenir une production d'œufs régulière (**Lewis & Morris, 2006**).

Un éclairage trop court retarde la maturité sexuelle et diminue la production d'œufs, parce que le manque de lumière diminue (HPG) qui régule la reproduction chez les oiseaux (**Dawson *et al.*, 2001 ; Geng *et al.*, 2018**).

En revanche, une lumière trop forte ou une exposition longue sans assez d'obscurité peut causer du stress, déranger les rythmes circadiens et favoriser des comportements indésirables chez les poules, comme l'agressivité ou le picage entre les poules (**Lewis & Morris, 2006**).

La gestion de l'éclairage doit aussi tenir compte de la qualité du spectre lumineux, car chaque longueur d'onde a un effet physiologique propre. Par exemple, la lumière rouge stimule davantage l'activité reproductive. En revanche, la lumière bleue influence le comportement et d'autres paramètres de production (**Li *et al.*, 2024**).



Figure 04 : la lumière bleue (Puybasset, 2023)



Figure 05 : la lumière rouge (<https://share.google/HUcUWnNGyeCa5tWBR>)

3.4. Ventilation

La ventilation est très importante dans l'élevage des poules elle renouvelle l'air du bâtiment et garde la qualité de l'air bonne et fournit l'oxygène dont les poules ont besoin et élimine l'excès d'humidité, la poussière et les gaz nocifs produits par les déjections, comme l'ammoniac et le dioxyde de carbone (Miles, 1984 ; USDA, 2015). On observe qu'une ventilation insuffisante fait s'accumuler de l'air pollué dans le poulailler et augmente la concentration de poussières et de gaz irritants. L'ammoniac qui provient de la décomposition des déjections irrite les yeux et provoque des troubles respiratoires chez les volailles. Ces irritations favorisent aussi la croissance et la diffusion des micro-organismes dans l'environnement d'élevage (Miles, 1984 ; Zhao et al., 2023). La ventilation adéquate maintient la bonne qualité de l'air, limite l'humidité de la litière et réduit la formation de gaz toxiques. La ventilation adéquate améliore la santé des volailles et diminue les risques de contamination microbienne dans l'élevage (Wei et al., 2015 ; USDA, 2015).

3.5. Hygiène et biosécurité

L'hygiène est très importante dans l'élevage des poules, parce que l'hygiène réduit les micro organismes pathogènes dans l'environnement et limite la contamination bactérienne des œufs. Après la ponte, le contact avec la litière, les déjections, la poussière ou les surfaces du bâtiment contamine la coquille des œufs, favorisant la présence de bactéries comme *Salmonella* spp ou *Escherichia coli* sur la coquille (Harage et Al-Aqaby, 2024 ; El Ftouhy et al., 2024).

Le nettoyage et la désinfection réguliers du bâtiment, des nids et du matériel d'élevage sont des mesures essentielles pour diminuer le nombre de germes dans l'environnement. ils limitent la survie et la diffusion des microbes dans les fermes de poules et renforcent la sécurité des œufs (Santos *et al.*, 2025).

le contrôle des rongeurs et le contrôle des insectes constitue une mesure de biosécurité essentielle. Ce contrôle empêche les rongeurs et les insectes de transporter des micro organismes pathogènes dans le bâtiment d'élevage. La bonne gestion de la litière et la collecte fréquente des œufs réduisent le contact avec les matières contaminées et de limiter la croissance des bactéries dans l'environnement (Gomes *et al.*, 2022).



Figure 06 : Désinfection des bâtiments d'élevage (Guilhem, 2016)

3.6 . L'alimentation

Une alimentation équilibrée est indispensable pour que les poules pondeuses produisent des œufs de façon régulière. La ration doit apporter l'énergie et les nutriments dont le corps a besoin pour assurer les fonctions physiologiques et soutenir la ponte. Des études montrent que la composition de l'aliment agit directement sur la performance de ponte et sur la qualité des œufs (Oluwabiya *et al.*, 2022).

Les protéines construisent le blanc et le jaune de l'œuf. Un apport suffisant en protéines et en acides aminés essentiels augmente la production d'œufs et améliore la qualité des œufs, alors qu'une carence réduit la ponte et la qualité des œufs (Oluwabiya *et al.*, 2022).

Le calcium et la vitamine D₃ assurent la formation et la solidité de la coquille d'œuf. Un apport suffisant en calcium garantit une bonne qualité de la coquille d'œuf et augmente la production des poules pondeuses (**Jiang *et al.*, 2013**).

4- Production d'œuf

4.1. Récolte des œufs

Dans l'élevage traditionnel, la récolte des œufs se fait plusieurs fois par jour pour limiter la contamination et la casse. Les éleveurs retirent les œufs rapidement des nids et manipulent les œufs avec soin pour éviter le contact prolongé avec les matières fécales, la poussière ou l'humidité. Une collecte fréquente des œufs préserve la qualité interne de l'œuf et réduit le risque de pénétration des micro organismes à travers les pores de la coquille (**Jones, 2007**).

4.2. Le stockage des œufs

Après la collecte, il faut placer les œufs dans un lieu propre, sec et frais pour garder la qualité des œufs. La température et les conditions d'entreposage influencent fortement la qualité interne des œufs et la croissance microbienne. Un stockage à basse température ralentit les changements physico chimiques des œufs et prolonge la durée de conservation des œufs (**Sokolowicz *et al.*, 2023**).

4.3. Emballage des œufs

L'emballage protège les œufs contre les chocs et les contaminations pendant le transport et le stockage. Les plateaux ou les cartons maintiennent les œufs séparés et évitent les fissures de la coquille. Un emballage adapté préserve la qualité microbienne et physique des œufs (**Davis et Beeckler, 1962**).

4.4. Conserve des œufs

La conservation des œufs dépend surtout du temps de stockage, de la température et du taux d'humidité. Le stockage fait perdre de l'eau et du dioxyde de carbone à l'œuf à travers la coquille, cette perte change le pH de l'albumen et fait baisser la qualité interne de l'œuf. Des conditions de conservation adéquates ralentissent ces changements et gardent la qualité de l'œuf plus longtemps (**Tainika *et al.*, 2023**).

5- La flore microbienne de l'œuf

5.1. La flore microbienne de la coquille

Des microbes peuvent contaminer la surface de la coquille d'œuf lorsque la poule pond, en provenance de la litière, de la poussière, des fientes ou du cloaque. Ces microbes sont surtout des bactéries aérobies, comme des espèces des genres *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus* et *Pseudomonas*. Le nombre de microbes sur la coquille dépend fortement des conditions d'élevage, de l'hygiène du bâtiment et de la façon dont on manipule les œufs après la ponte (**Baron et Jan, 2010**).

La diversité microbienne observée sur la coquille est principalement dominée par plusieurs grands groupes bactériens comme les Firmicutes, les Proteobacteria et les Actinobacteria. Ces bactéries reflètent généralement la microflore de l'environnement d'élevage. Parfois, des bactéries pathogènes comme *Salmonella* peuvent se trouver sur la coquille et sa pénétration dans l'œuf par les pores entraîne un risque de contamination (**Zhang et al., 2024**).

5.2. La flore microbienne du contenu de l'œuf

Le blanc et le jaune d'un œuf restent stériles au moment où la poule pond, à condition que la poule soit en bonne santé. Cette stérilité provient de plusieurs défenses naturelles, la coquille de l'œuf possède des membranes qui protègent le contenu, le blanc d'œuf présente un pH alcalin qui inhibe la croissance des micro-organismes. Certaines protéines antimicrobiennes, comme le lysozyme et l'ovotransferrine, inhibent la croissance bactérienne (**Baron et Jan, 2010**).

Une contamination interne de l'œuf se produit de deux manières. La première est la contamination verticale, elle provient de l'appareil reproducteur de la poule. La seconde est la contamination horizontale, elle apparaît quand des bactéries traversent les pores de la coquille. Les bactéries les plus souvent retrouvées sont *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp. Et *Proteus* spp. Ces bactéries provoquent l'altération de l'œuf pendant le stockage (**Jin et al., 2022**).

6- Contamination des œufs (modalité de la contamination biologique)

6.1. Contamination de l'œuf avant la ponte

Elle est due à la présence dans l'appareil génital de la pondeuse de microorganismes pathogènes. Chez environ 50 % des poules, l'oviducte est contaminé par des bactéries non pathogènes appartenant le plus souvent aux genres *Lactobacillus* et *Micrococcus* (**Harry, 1963**), elles ne se retrouvent que très rarement dans les œufs et jouent donc un rôle négligeable dans le phénomène de la « pourriture » des œufs. L'œuf peut également être contaminé lors de sa formation par des bactéries introduites par l'alimentation et qui passent par les voies digestives et sanguines jusqu'à l'ovaire. On a pu signaler des contaminations internes de l'œuf par d'autres espèces comme *Staphylococcus*, *Listeria*, *Pseudomonas*, etc. Toutefois, on peut estimer que plus de 90 % des œufs contaminés le sont aujourd'hui après la ponte (**Mayes et Takeballi, 1974**).

6.2. Contamination de l'œuf après la ponte

6.2.1. Contamination de la surface de l'œuf

La surface de la coquille est contaminée par différents micro-organismes de l'environnement. Ces micro-organismes sont amenés par les fientes, les poussières, le matériel et les manipulations. Le nombre de germes comptés par coquille varie de 10^3 à 10^7 UFC, la moyenne étant de 10^5 UFC. On a pu identifier parmi ces germes des bactéries, des levures, des champignons mais l'œuf résiste bien aux contaminations malgré la flore abondante et variée observée sur la coquille. Elle peut également être contaminée par les bactéries présentes dans l'eau utilisée pour laver les œufs (**Thapon et Bourgeois, 1994**).

6.2.2. Contamination de l'intérieur de l'œuf

Au moment de la ponte, l'œuf de poule saine à coquille intacte est en général stérile (**Mayes et Takeballi, 1974 ; Protais et al., 1989**).

Le passage des bactéries à travers la coquille s'expliquerait par un phénomène de succion consécutif à la formation de la chambre à air. La formation de pores de diamètre anormalement élevé pourrait également être un facteur de contamination rapide des œufs (**Bourgeois et al., 1990**).

Si la pénétration a lieu, on peut différencier les œufs rouges, contaminés par les Coliformes, les œufs noirs par les *Proteus*, et les œufs verts par les *Pseudomonas*, d'après les caractéristiques de l'œuf atteint. Le mycélium des moisissures peut pénétrer sous les membranes coquillières et y croître. Des petites taches se forment, dont la dimension augmente peu à peu, et qui semouvent avec la coquille. Au mirage, ces taches diffèrent des taches de chair ou de sang qui se trouvent dans le blanc et ne sont pas attachées à la coquille (**Bonhomme, 2003**).



Figure 07 : œufs contaminés (Board, 2000)

7- Risques pour le consommateur liés à la consommation d'œufs contaminés

Manger des œufs contaminés expose le consommateur à un risque sanitaire majeur, surtout quand les œufs contaminés sont consommés crus ou insuffisamment cuits. Le risque vient des micro-organismes pathogènes comme les bactéries entériques (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* pathogènes, *Staphylococcus aureus*) et de la possible production de toxines bactériennes lorsque l'hygiène ou la conservation ne sont pas adéquates. La contamination peut toucher l'intérieur par infection du système reproducteur ou par pénétration de la bactérie à travers la coquille (**Gantois *et al.*, 2009 ; EFSA & ECDC, 2024**).

Les toxi-infections alimentaires provoquent un syndrome gastro-intestinale aigu qui comprend diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, nausées et parfois fièvre. Dans la plupart des cas, l'évolution reste favorable, mais les formes sévères peuvent apparaître, surtout quand la charge microbienne est élevée ou chez les personnes fragiles (**Lamichhane *et al.*, 2024 ; Alhumaidan *et al.*, 2024**).

Chez les enfants, les personnes âgées, les femmes enceintes et les individus immunodéprimés qui sont les plus exposés, une infection alimentaire peut rapidement devenir grave et peut entraîner une perte importante de liquide (déshydratation), prolonger les symptômes et parfois se propager dans tout le corps, provoquant une bactériémie ou une septicémie. Dans de rares cas, des complications neurologiques comme la méningite peuvent apparaître, surtout chez les

nouveaux-nés et les individus immunodéprimés (Crump et Sjölund-Karlsson, 2023 ; Lamichhane et al., 2024).

Chez la femme enceinte, les infections provoquent des complications générales, comme une fièvre prolongée ou une altération de l'état général. Les infections représentent aussi un risque indirect pour le fœtus (EFSA et ECDC, 2024).

Les œufs provenant d'élevages traditionnels ou gardés dans de mauvaises conditions d'hygiène peuvent présenter un danger microbien pour le consommateur, surtout si les œufs ne sont pas assez cuits (EFSA et ECDC, 2024 ; Hinson et al., 2025).

8- La prévention

8.1. La vaccination

La vaccination des poules pondeuses a permis de réduire avec succès la contamination des œufs par *Salmonella Enteritidis*, diminuant ainsi les cas de salmonellose humaine dans le monde. Les vaccins utilisés actuellement chez les pondeuses sont soit des vaccins inactivés, soit des souches vivantes atténuées réalisées par mutagenèse. Les mutants par suppression spécifique de gènes constituent une approche prometteuse pour les vaccins futurs, puisque l'on peut supprimer des fonctions bactériennes particulières afin d'améliorer la sécurité et de pouvoir distinguer les souches vaccinales des souches sauvages (Kilroy et al., 2016).



Figure 08 : La vaccination (Le Roi de la Poule, 2023)

8.2. Désinfection

L'efficacité d'un désinfectant à tuer les microorganismes dépend de plusieurs facteurs, notamment la concentration, la température, le pH et la présence de matière organique résiduelle (**Pasanen *et al.*, 1997 ; Maillard, 2005**).

Cependant, aucun désinfectant unique ne possède toutes les caractéristiques souhaitables, comme la capacité de tuer les pathogènes tout en restant non toxique, sûr pour l'environnement, non corrosif et inoffensif pour les surfaces (**Maillard, 2005**).

Bien que les mécanismes d'action de chaque désinfectant soient différents, la plupart perturbent l'intégrité ou le fonctionnement des cellules microbiennes, en ciblant principalement la membrane cytoplasmique et les enzymes, bloquant ainsi leur reproduction ou entraînant leur mort (**Maillard et Pascoe, 2024**).

8.3. vide sanitaire

En élevage avicole, le vide sanitaire correspond à la période comprise entre la désinfection des bâtiments et l'arrivée de la nouvelle bande de volailles. Le vide sanitaire remplit plusieurs fonctions :

- Il compense les défauts de la désinfection puisqu'il est vrai que les germes ont moins de chance de survivre en l'absence des animaux qui leur permettent de se développer.
- Il permet de lutter contre les rongeurs.
- Il permet d'effectuer les réparations nécessaires et de bien préparer l'arrivée de la nouvelle bande.

La durée du vide sanitaire dépend des contraintes propres à chaque élevage et de la qualité et de la rigueur de la désinfection en fin de bande. Il est cependant conseillé de prévoir un vide sanitaire prolongé lorsqu'on n'est pas sûr de la qualité de la désinfection (**Alloui, 2005**).

Matériel et Méthode

Matériel et Méthode

La présente étude expérimentale s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de la qualité microbiologique des œufs issus d'élevages traditionnels de poules pondeuses. Les travaux ont été réalisés du 23 février 2026 au 16 avril 2026 au laboratoire d'hygiène d'Aïn Témouchent. Un total de 35 œufs a été analysé. L'échantillonnage reposait sur deux modes de collecte : une collecte directe au niveau des sites d'élevage traditionnels et l'achat d'œufs sur le marché public. Cette étude est pour objectif d'évaluer la qualité microbiologique des œufs, de rechercher la présence de microorganismes pathogènes, notamment les coliformes, les staphylocoques et *Salmonella* spp.

1- Matériel

1.1. Matériel de base

- Boîtes de Pétri ; Récipients stériles utilisés pour cultiver les micro-organismes sur des milieux solides.
- Pipettes (Pasteur / graduées) ; Instruments permettant de prélever et transférer des volumes précis de liquides de manière aseptique.
- Tubes à essai ; Utilisés pour les dilutions, les cultures et la conservation des échantillons.
- Portoir ; Support permettant de maintenir les tubes à essai en position stable.
- Bécher gradué ; Récipient servant à mesurer et préparer les solutions.
- Entonnoir ; Permet de verser les liquides sans perte ni contamination.
- Pince ; Utilisée pour manipuler du matériel stérile ou chaud.
- Anse bactériologique ; Instrument métallique servant à prélever et ensemercer les bactéries.
- Râteau (étaloir) ; Permet d'étaler l'inoculum uniformément sur la surface du milieu.
- Bec Bunsen : source de flamme utilisée pour créer une zone stérile et éviter les contaminations lors des manipulations.
- Œufs : échantillons biologiques utilisés pour l'analyse microbiologique de leurs contenus.

Matériel et Méthode



Figure 09 : Échantillon d'œuf soumis à l'analyse

1.2. Milieux de dilution et de préparation

- Eau peptone tamponnée et Buffered Peptone Water ; Milieux utilisés pour diluer les échantillons et favoriser la récupération des bactéries.
- TSE (Tryptone Salt Broth) ; Milieu de dilution permettant de maintenir la viabilité des bactéries.
- Eau physiologique stérile ; Solution saline utilisée pour les dilutions et la préparation des suspensions bactériennes.

1.3. Milieux de culture

- Baird-Parker agar ; Milieu sélectif utilisé pour l'isolement de *Staphylococcus aureus*.
- VRBL agar (Violet Red Bile Lactose agar) ; Milieu sélectif pour l'isolement et la numération des coliformes.
- Hektoen agar ; Milieu différentiel permettant d'identifier les entérobactéries pathogènes, notamment les salmonelles.

Matériel et Méthode



Figure10: Les milieux de culture utilisés.

1.4. Milieux d'enrichissement

- Bouillon Sélénite (SFB); Milieu d'enrichissement favorisant la croissance des salmonelles.
- Bouillon Rappaport-Vassiliadis ; Milieu sélectif utilisé pour l'enrichissement des salmonelles dans les échantillons alimentaires.



Figure11 : Milieux d'enrichissement

Matériel et Méthode

1.5. Additifs et réactifs

- Tellurite de potassium Agent sélectif ajouté au milieu Baird-Parker pour inhiber les autres bactéries.
- Jaune d'œuf stérile qui permet de mettre en évidence certaines activités enzymatiques des *staphylocoques*.
- Additif Hektoen ; Mélange chimique renforçant la sélectivité et la différenciation du milieu.
- Disque SFB (sélénite stérile) : Disque contenant du sélénite utilisé dans le bouillon SFB pour favoriser l'enrichissement sélectif des salmonelles.

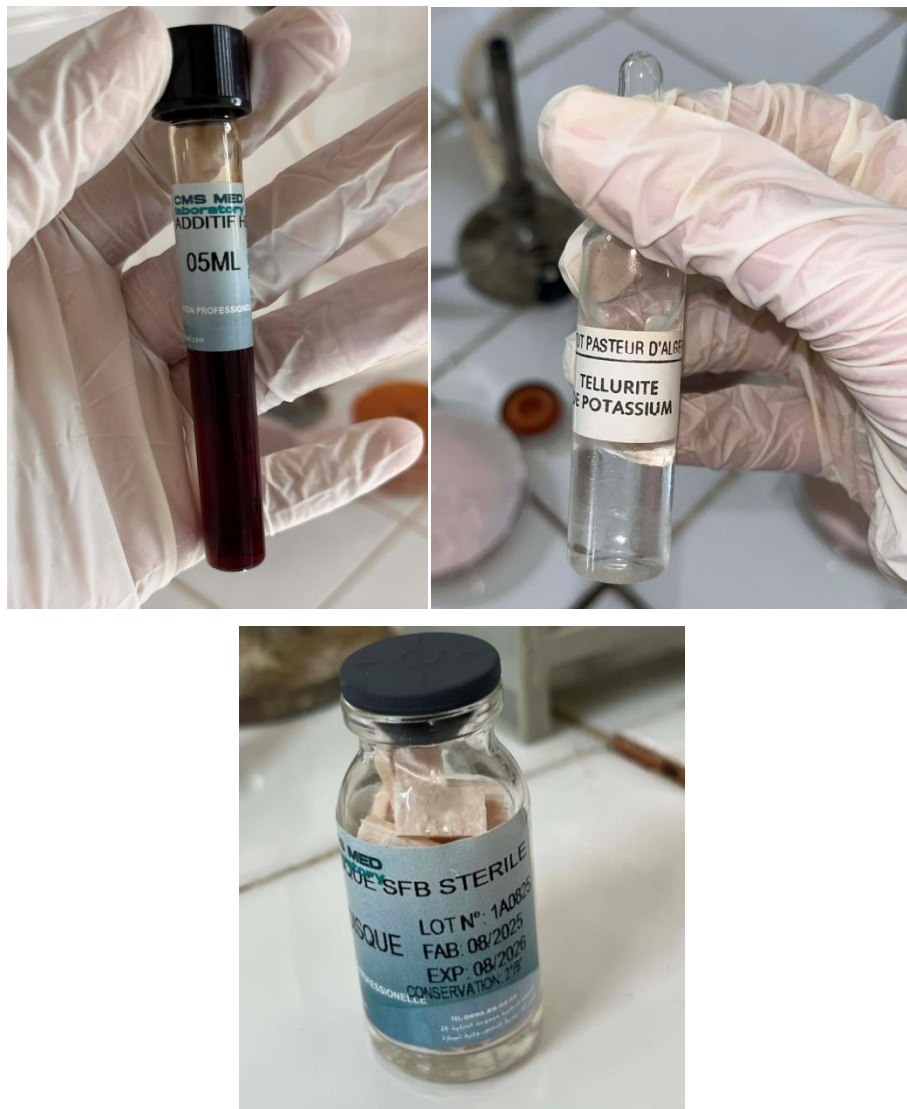


Figure12: Additifs et réactifs

1.6. Tests biochimiques

- Galerie API 20^E : système permettant l'identification des entérobactéries.
- Réactif de Kovacs : Utilisé pour détecter la production d'indole.
- Réactifs VP1 et VP2 (Voges-Proskauer) : Permettent de détecter la production d'acétoïne.
- TDA : Test enzymatique utilisé pour certaines bactéries.
- Disque oxydase : Permet de détecter l'enzyme oxydase.



Figure 13 : Disque oxydase



Figure 14 : reactifs de la galerie API (kovacs, TDA, VP1, VP2)

Matériel et Méthode



Figure15 : Galerie API 20^E

1.7. Matériel d'analyse microscopique

- Microscope : Appareil permettant l'observation des micro-organismes.
- Lame et lamelle : Support pour préparer les échantillons à observer.
- Huile d'immersion : Améliore la résolution lors de l'observation au microscope.

1.8. Réactifs de coloration de Gram

- Violet de gentiane → colorant principal.
 - Lugol → fixateur.
 - Alcool → décolorant.
 - Fuchsine → contre-colorant.
- La coloration de Gram est utilisée pour différencier les bactéries Gram positives et Gram négatives.



Figure16: *Réactifs de coloration de Gram*

1.9. Autres matériels

- Seringues → prélèvement et transfert précis.
- Tube McFarlane 0.5 → standard de concentration bactérienne.
- Huile de vaseline stérile → utilisée dans certains tests.
- Film plastique → protection contre la contamination.

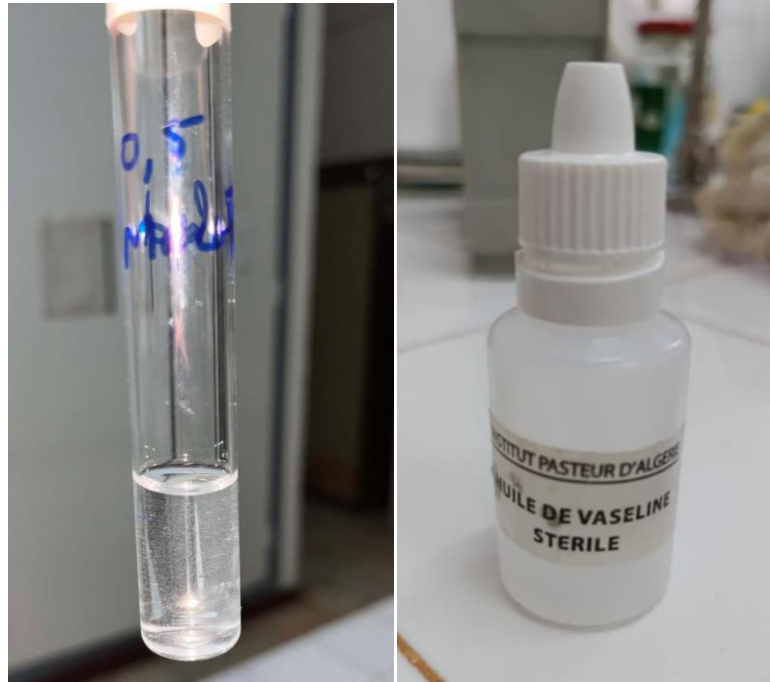


Figure 17 : tube McFarlane et huile de vaseline

2- Méthodes

Ces méthodes sont extraites des protocoles de l'Institut Pasteur d'Algérie (2005). (Annex 01)

2.1. Origine des échantillons

Les œufs analysés ont été achetés à partir des marchés locaux dans des conditions similaires à celles d'un consommateur ordinaire. Après acquisition, ils ont été placés dans une boîte propre, fermée et transportés rapidement au laboratoire afin de préserver leur état microbiologique initial.

2.2. Préparation aseptique des échantillons

Avant toute manipulation, les œufs ont été soigneusement lavés à l'eau courante, cette étape est essentielle afin d'éliminer les souillures visibles présentes sur la coquille et de limiter la contamination externe. Après lavage, les œufs ont été séchés à l'air libre.

L'objectif de l'étude est d'analyser uniquement la flore microbienne du contenu interne de l'œuf et non celle de la coquille.

Matériel et Méthode

Les manipulations ont été réalisées dans des conditions d'asepsie (proximité d'une flamme). La coquille de chaque œuf a été cassée délicatement, puis le contenu (blanc et jaune) a été recueilli dans un récipient stérile.

Les contenus de plusieurs œufs ont été mélangés afin d'obtenir un échantillon composite homogène.



Figure 18 : mélange des contenus des oeufs

2.3. Préparation de la suspension mère et des dilutions.

À l'aide d'une pipette graduée stérile, un volume précis du mélange d'œufs a été prélevé et introduit dans un tube contenant un diluant stérile (TSE)

Une suspension mère a ainsi été obtenue. Des dilutions décimales successives ont été réalisées jusqu'à 10^{-3} selon la méthode suivante :

- 1 mL de la suspension mère (œuf) a été transféré dans 9 mL de diluant stérile → dilution 10^{-1}
- 1 mL de la dilution 10^{-1} a été transféré dans 9 mL de diluant → dilution 10^{-2}
- 1 mL de la dilution 10^{-2} a été transféré dans 9 mL de diluant → dilution 10^{-3}

Chaque transfert a été réalisé à l'aide d'une pipette stérile différente afin d'éviter toute contamination croisée.



Figure 19 : Dilutions décimales successives

2.4. Recherche des *staphylocoques*

La recherche des *staphylocoques*, notamment *Staphylococcus aureus*, a été réalisée sur le milieu sélectif Baird-Parker agar.

2.4.1. Préparation du milieu

Le milieu Baird-Parker a été préparé conformément aux instructions du fabricant. Un supplément a été ajouté comprenant :

- du tellurite de potassium (1,5 ampoule)
- du jaune d'œuf stérile

Le mélange a été homogénéisé, puis environ 15 mL ont été coulés dans des boîtes de Pétri stériles.

2.4.2. Ensemencement

À l'aide d'une pipette stérile, des gouttes de chaque dilution (suspension mère, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) ont été déposées à la surface des boîtes. L'étalement a été réalisé à l'aide d'un étaloir stérile afin d'obtenir une répartition homogène de l'inoculum.

Matériel et Méthode



Figure 20: Ensemencement des boîtes.

2.4.3. Incubation

Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures, position (couvercle en haut, fond de la boîte en bas).



Figure 21: incubation

2.4.4. Lecture

Les colonies caractéristiques sont noires, brillantes, entourées d'un halo clair Le dénombrement est exprimé en UFC/mL.

2.5. Recherche des coliformes

La recherche des coliformes, incluant *Escherichia coli*, a été effectuée sur le milieu Violet Red Bile Lactose agar (VRBL agar) .

Matériel et Méthode

2.5.1. Ensemencement

À l'aide d'une pipette stérile, 1 mL de chaque dilution a été introduit dans une boîte de Pétri vide. Ensuite, la gélose VRBL en surfusion a été ajoutée. Le mélange a été homogénéisé par agitation douce (mouvement en 8).



Figure 22: Technique d'ensemencement

2.5.2. Incubation

Les boîtes ont été incubées à 44 °C pendant 24 heures, en position (couvercle en bas, fond de la boîte en haut).

2.5.3. Lecture

Les colonies caractéristiques apparaissent rouges à violacées avec un halo de précipitation Les résultats sont exprimés en UFC/mL.

2.6. Recherche de Salmonella.

2.6.1. Pré-enrichissement.

À l'aide d'une pipette graduée stérile, 25 mL du mélange d'œufs ont été introduits dans 225 mL d'eau peptonée tamponnée stérile. Le mélange a été homogénéisé puis incubé à 37 °C pendant 24 heures.



Figure 23: Pré-enrichissement pour Salmonella

2.6.2. Enrichissement sélectif.

Deux milieux ont été utilisés :

- Bouillon au sélénite (SFB) :
2 mL du pré-enrichissement ont été transférés dans un tube contenant 20 mL de ce milieu et deux disques de sélénite.
- Bouillon Rappaport-Vassiliadis broth :
0,1 mL du pré-enrichissement a été inoculés dans le milieu.

Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures.

2.6.3. Isolement

Après incubation, un ensemencement a été réalisé à l'aide d'une anse stérile sur gélose Hektoen enteric agar. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Lors de la préparation du milieu Hektoen, l'additif spécifique Hektoen a été ajouté conformément aux recommandations du fabricant afin d'assurer sa sélectivité et ses propriétés différentielles.

2.6.4. Lecture

Les colonies suspectes de *Salmonella enterica* apparaissent vertes ou bleu-vert avec un centre noir, traduisant la production de sulfure d'hydrogène (H₂S).

Matériel et Méthode

2.7. Etude microbiologique.

2.7.1. Coloration de gram.

Une petite quantité de colonie bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse stérile et déposée sur une lame propre contenant préalablement une goutte d'eau distillée. La suspension a été étalée de manière à obtenir un frottis mince et homogène, puis laissée à sécher à l'air libre.

Après séchage, la fixation a été effectuée en passant rapidement la lame à travers la flamme du bec Bunsen à deux ou trois reprises. Cette étape permet de fixer les bactéries sur la lame et de les tuer tout en conservant leur morphologie.

La coloration primaire a ensuite été réalisée en recouvrant le frottis avec du violet de cristal pendant une minute. La lame a ensuite été rincée délicatement à l'eau distillée, ce qui colore toutes les bactéries en violet. Par la suite, un mordantage a été effectué par ajout de Lugol (solution iodée) pendant une minute, suivi d'un rinçage. Cette étape permet de former un complexe violet de cristal-iode à l'intérieur des cellules bactériennes.

La décoloration, étape critique de la coloration de Gram, a été réalisée à l'aide d'un mélange alcool-acétone appliqué pendant 10 à 20 secondes, puis immédiatement rincé à l'eau. À ce stade, les bactéries à Gram positif conservent la coloration violette, tandis que les bactéries à Gram négatif deviennent incolores.

Une contre-coloration a ensuite été effectuée en appliquant de la fuchsine pendant 30 secondes à une minute, suivie d'un rinçage et d'un séchage de la lame. Cette étape permet de colorer les bactéries décolorées (Gram négatif) en rose.

Enfin, l'observation a été réalisée au microscope optique à l'objectif $\times 100$ avec immersion à l'huile, permettant de déterminer la morphologie (cocci ou bacilles) et la réaction de Gram des bactéries observées.

2.7.2. Observation à l'état frais.

Une goutte d'eau distillée stérile a été déposée sur une lame propre, puis une petite quantité de colonie bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse stérile et mise en suspension dans la goutte afin d'obtenir une préparation homogène. Une lamelle a ensuite été délicatement déposée sur la préparation en évitant la formation de bulles d'air.

Matériel et Méthode

La préparation a été immédiatement observée au microscope optique à l'objectif $\times 100$ avec immersion à l'huile, afin d'obtenir une meilleure résolution des bactéries et de leurs mouvements. L'observation a été réalisée sans coloration pour conserver les bactéries vivantes et apprécier leur comportement réel.

2.7.3. Test de mobilité sur gélose semi-solide.

Un milieu à base de gélose au mannitol, préparé avec une faible concentration en agar afin de permettre la diffusion des bactéries mobiles, a été utilisé. Une colonie bactérienne isolée a été prélevée puis inoculée par piqûre verticale unique au centre du tube contenant la gélose. L'inoculation a été réalisée de manière rectiligne, en enfonçant l'aiguille jusqu'au fond du milieu puis en la retirant selon le même trajet, afin d'éviter toute diffusion artificielle. Le tube a ensuite été incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

2.8. Etude biochimique

2.8.1. Test TSI

Une colonie bactérienne isolée a été prélevée. L'inoculation du milieu a été effectuée en deux étapes : une piqûre profonde dans le culot (butt) du tube, suivie d'un ensemencement en stries à la surface inclinée (pente). Cette technique permet d'évaluer à la fois les conditions aérobies (pente) et anaérobies (culot). Le tube inoculé a ensuite été incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, la lecture des résultats a été réalisée en observant les modifications de couleur du milieu ainsi que la production éventuelle de gaz ou de sulfure d'hydrogène. Le virage du milieu du rouge au jaune indique une fermentation des sucres (glucose, lactose et/ou saccharose). Une coloration jaune du culot seule traduit une fermentation du glucose uniquement, tandis qu'une coloration jaune de la pente et du culot indique la fermentation de plusieurs sucres. L'apparition de fissures ou de bulles dans le milieu témoigne d'une production de gaz. Enfin, la formation d'un précipité noir dans le culot indique une production de sulfure d'hydrogène (H_2S).

2.8.2. Test de l'oxydase

Le test de l'oxydase a été réalisé afin de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome c oxydase chez la souche bactérienne étudiée. Un disque d'oxydase a été préalablement imbibé avec de l'eau distillée stérile. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, une colonie bactérienne fraîche a été prélevée puis déposée sur le disque.

La lecture du résultat a été effectuée immédiatement après le dépôt de la colonie. L'apparition d'une coloration violette indique un test positif, tandis que l'absence de changement de couleur traduit un test négatif.

2.8.3. identification biochimique par la galerie API 20 E.

2.8.3.1. Préparation de la galerie

La galerie a été préparée en ajoutant de l'eau distillée dans les compartiments prévus à cet effet afin de créer une atmosphère humide, nécessaire au bon déroulement des réactions biochimiques.

2.8.3.2. Préparation de l'inoculum

Des colonies bactériennes isolées ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et mises en suspension dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile. La suspension obtenue a été homogénéisée puis comparée à l'étalon de McFarland (généralement 0,5) afin d'obtenir une turbidité équivalente, garantissant une concentration bactérienne standardisée.

2.8.3.3. Inoculation de la galerie

La galerie API 20E a été légèrement inclinée, puis les cupules ont été remplies à l'aide d'une pipette ou d'une seringue, en évitant la formation de bulles d'air.

- Les tests dont le nom est encadré ont été remplis complètement (tube + cupule).
- Les tests avec un trait sous le nom ont été remplis uniquement au niveau de la cupule, puis recouverts d'huile de paraffine (ou vaseline) afin de créer des conditions anaérobies.
- Les autres tests ont été remplis uniquement à moitié (cupule seule).

Matériel et Méthode

2.8.3.4. Incubation

La galerie a été ensuite placée dans la boîte d'incubation préalablement humidifiée. L'ensemble a été soigneusement refermé puis enveloppé avec du film plastique (papier film) afin de maintenir l'humidité pendant l'incubation. L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 24 heures.

Les résultats des réactions ont été lues selon les recommandations du fabricant. Certaines nécessitent l'ajout de réactifs spécifiques :

- Test TDA : ajout du réactif TDA, lecture immédiate.
- Test IND (indole) : ajout du réactif de Kovacs, lecture immédiate.
- Test VP (Voges-Proskauer) : ajout de KOH et d' α -naphtol, puis lecture après environ 10 minutes.



Figure 24: Incubation de la galerie API 20E

Les résultats obtenus ont été interprétés en attribuant des valeurs numériques à chaque test, permettant d'obtenir un profil biochimique caractéristique de la souche étudiée.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1- Résultat

Le protocole de notre étude a été adapté en fonction des premières observations. Initialement, un échantillonnage de cinq (05) œufs a été prélevé pour une première caractérisation microbiologique. Ces œufs ont été achetés à partir d'un marché public.

1.1. Résultat du premier échantillon (05 œufs).

1.1.1. Recherche des *staphylocoques*.

Aucune croissance bactérienne n'a été observée sur le milieu sélectif (Baird-Parker agar) des staphylocoques après incubation. Les boîtes de culture sont restées stériles, indiquant l'absence de staphylocoques dans ce prélèvement.

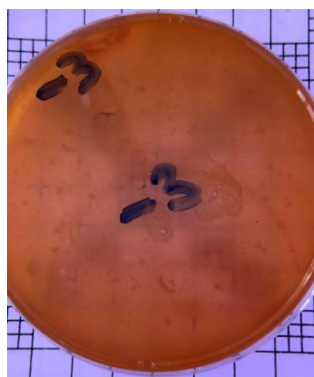


Figure 25 : Absence de croissance de staphylocoque

1.1.2. Recherche des *coliformes*

Les résultats obtenus montrent également une absence totale de colonies sur le milieu de culture (VRBL) destiné aux coliformes. Le milieu est resté stérile après incubation.



Figure 26 : Absence de croissance des coliformes

Résultats et discussion

1.1.3. Recherche des salmonelles

Aucune croissance bactérienne n'a été observée sur le milieu SFB et le milieu repapport utilisé pour la recherche des salmonelles. Les résultats indiquent une absence de salmonelles dans ce prélèvement.

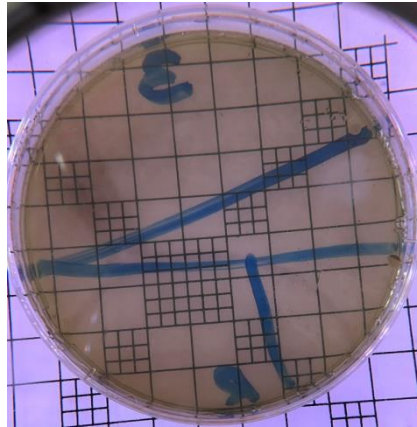


Figure 27 : Absence de croissance des salmonelles sur gélose Hektoen après enrichissement sélectif en SFB.

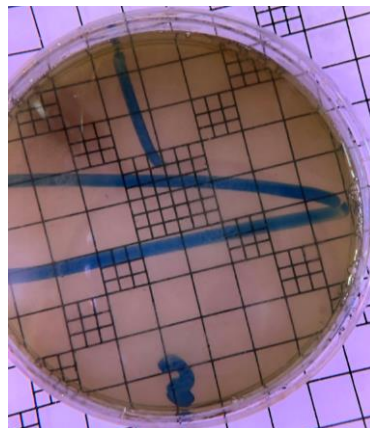


Figure 28: Absence de croissance des salmonelles sur gélose Hektoen après enrichissement sélectif en bouillon Rappaport.

1.2. Résultats du deuxième échantillon (15 œufs)

Dans le but d'atteindre nos objectifs et d'obtenir un échantillon plus représentatif, nous avons augmenté le nombre d'œufs à 15œufs. Les œufs constituant cet échantillon ont été collectés directement sur un site d'élevage traditionnel de poules pondeuses.

Résultats et discussion

1.2.1. Recherche des *staphylocoques*

Les analyses n'ont révélé aucune croissance bactérienne sur le milieu Baird-Parker agar . Les boîtes de culture sont restées stériles après incubation.

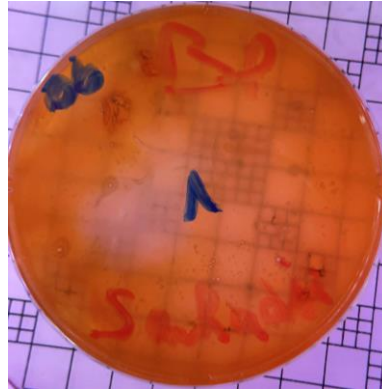


Figure 29: Absence de croissance de staphylocoque

1.2.2. Recherche des coliformes

Aucune colonie n'a été observée sur le milieu de culture des coliformes (VRBL), indiquant un résultat négatif pour ce groupe bactérien.

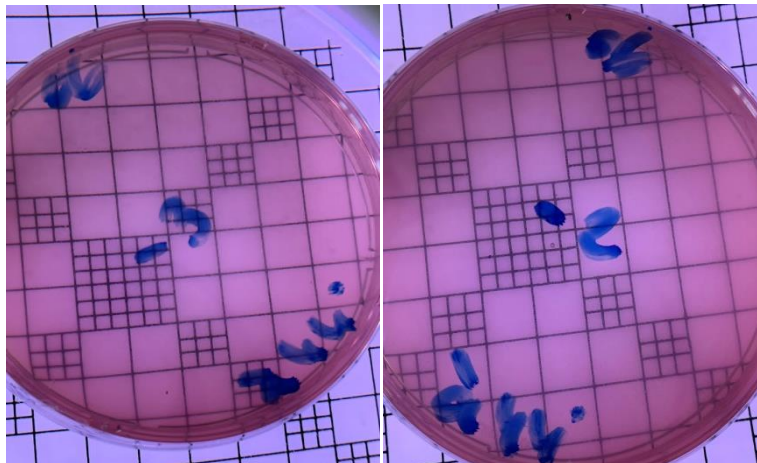


Figure 30 : Absence de croissance des coliformes

1.2.3. Recherche des *salmonella*

- Après enrichissement sélectif sur Rappaport : absence de croissance (stérile)

Résultats et discussion

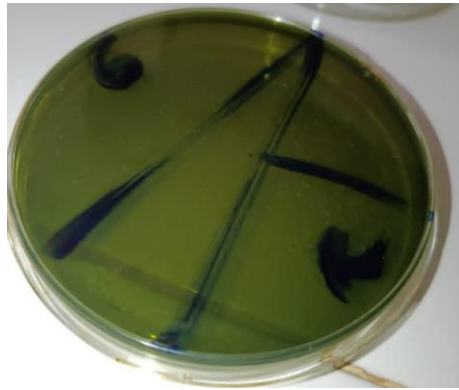


Figure 31 : Absence de croissance des salmonelles

- **Après enrichissement sélectif sur SFB.:** apparition de colonies

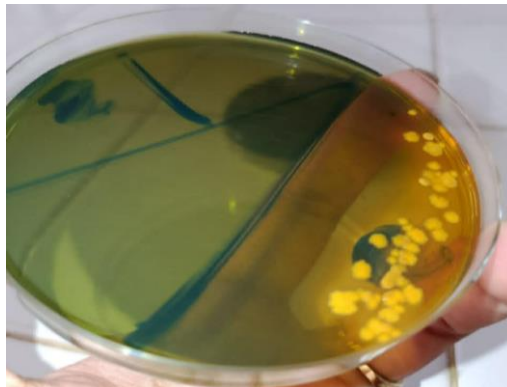


Figure32 : présence de croissance bactérienne

1.3. Résultats du troisième échantillon (15 œufs)

Après l'obtention de colonies bactériennes sur le milieu Hektoen, une nouvelle analyse microbiologique a été réalisée sur 15 autres œufs issus du même élevage, afin de confirmer la contamination et de rechercher d'autres souches bactériennes.

1.3.1. Recherche des *staphylocoques*

Aucune colonie n'a été observée. Les milieux sont restés stériles.



Figure 33: Absence de croissance de staphylocoque

1.3.2. Recherche des coliformes

Les résultats sont négatifs, avec absence de colonies après incubation.

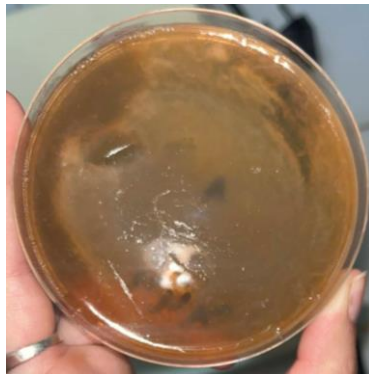


Figure 34 : Absence de croissance des coliformes

1.3.3. Recherche des salmonelles

- Après enrichissement sur Rappaport : absence de croissance (stérile)

Résultats et discussion

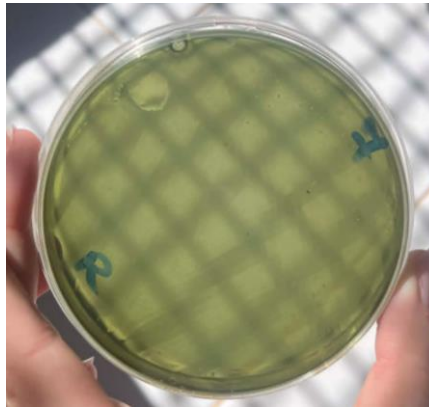


Figure 35 : Absence de croissance des salmonelles

- **Après enrichissement sélectif sur SFB :** apparition de colonies après ensemencement sur Hektoen

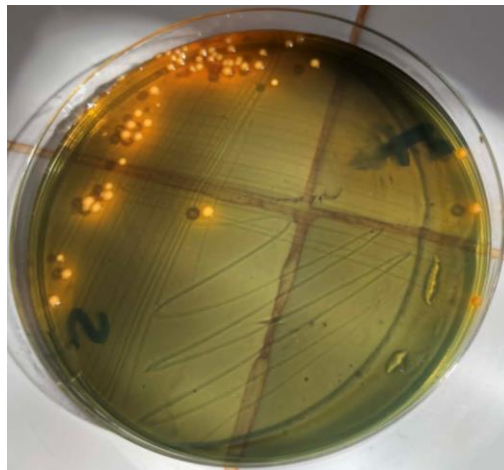


Figure 36: Présence de croissance bactérienne

1.4. Étude macroscopique des colonies (issues du SFB) :

- **Forme :** circulaire.
- **Relief :** convexe.
- **Contour :** irrégulier.
- **Taille :** environ 2 mm.
- **Surface :** lisse et brillante.
- **Opacité :** opaque.
- **Couleur :** jaune-orangée.
- **Consistance :** non visqueuse.

Résultats et discussion

Ces caractéristiques macroscopiques ne correspondent pas à celles typiques des Salmonella.

1.5. Résultats de l'identification microbiologique

Dans le but de déterminer la morphologie et le type de paroi bactérienne des colonies jaune clair observées sur le milieu Hektoen, une coloration de Gram a été réalisée

L'étude microscopique des colonies isolées (2ème et 3ème prélèvements) a montré :

- Des bactéries Bacilles Gram négatif.

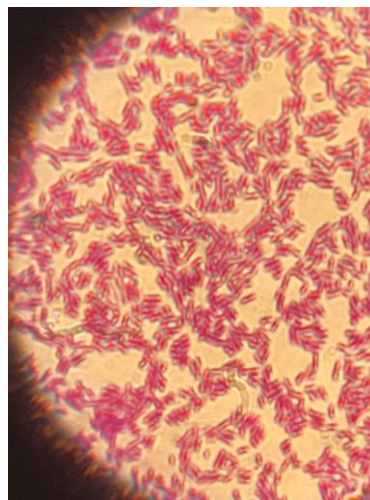


Figure 37 : résultat du deuxième prélèvement

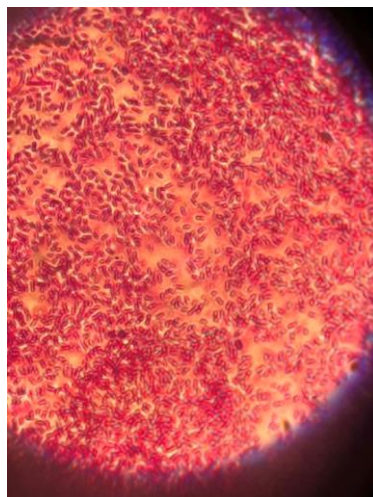


Figure 38: resultat du troisième prélèvement

Résultats et discussion

- **Bactéries mobiles**

Dans le but de confirmer la mobilité des bactéries observées à l'état frais, un test de mobilité sur gélose semi-solide a été réalisé



Figure 39 : Test Mobilité positif (gélose manitole mobilité)

Ces caractéristiques orientent vers des entérobactéries.

1.6. Résultats de l'identification biochimique

- Test TSI

Dans le but de compléter l'identification des bactéries isolées, un test TSI a été réalisé à l'aide du milieu Triple Sugar Iron agar.



Figure 40: resultat du test TSI (négative aucun virage de couleur)

Résultats et discussion

- Test d'oxydase

Le test de l'oxydase a montré que les souches sont oxydase négative.



Figure 41: résultat du deuxième prélèvement



Figure 42 : résultat du troisième prélèvement

Résultats et discussion

Identification par galerie API 20 E

L'identification a été complétée par la galerie API 20E, donnant les profils suivants :

- Deuxième prélèvement : 3204573



Figure 43 : Résultat du 2^{ème} prélèvement après incubation de la galerie API20E.

- Troisième prélèvement : 1244773



Figure 44 : Résultat du 3^{ème} prélèvement après incubation de la galerie API20E.

L'interprétation des deux profils a permis d'identifier les bactéries comme appartenant à l'espèce *Citrobacter freundii*.

2- Discussion

Les résultats obtenus montrent que la plupart des œufs examinés ne possédaient pas de staphylocoques ni de coliformes. Plusieurs auteurs montrent que le contenu de l'œuf est normalement stérile au moment de la ponte grâce aux barrières de défense naturelles que constituent la coquille, les membranes coquillières et les protéines antimicrobiennes du blanc d'œuf notamment le lysozyme et l'ovotransferrine (Baron et Jan, 2011).

Résultats et discussion

L'absence de croissance sur les milieux destinés à la recherche des staphylocoques et des coliformes peut également être due au lavage préalable des oeufs avant analyse. Cette étape a permis de limiter la contamination externe de la coquille pour ne cibler que la flore interne. En outre, la faible contamination observée peut s'expliquer par une manipulation aseptique correcte et un transport rapide des échantillons. Ces observations confirment les travaux de **Mayes et Takeballi** qui ont montré que les œufs de poules saines restent en général stériles tant que la coquille est intacte (**Mayes et Takeballi, 1983**).

Pour ce qui est de la recherche des salmonelles, aucune colonie typique de *Salmonella* spp. n'a été observée sur le milieu de Hektoen après enrichissement dans le bouillon de Rappaport. Après enrichissement dans le bouillon SFB, une croissance bactérienne a été observée dans le deuxième et le troisième prélèvement. Les colonies isolées avaient une morphologie atypique pour *Salmonella* : des colonies jaune-orangées sans centre noir. Cette différence morphologique a motivé la réalisation d'examen complémentaires afin d'identifier avec précision les bactéries isolées. Les tests biochimiques réalisés sur les colonies isolées ont montré l'absence de *Salmonella* spp et la présence de *Citrobacter freundii*.

L'étude de **Afroz et coll (2023)** montre que *Citrobacter freundii* est une bactérie à Gram négatif, en forme de coccobacille, anaérobie facultatif et mobile grâce à ses flagelles. Elle fait naturellement partie de la flore intestinale des animaux et de l'homme, mais peut aussi devenir pathogène et provoquer chez l'homme plusieurs infections, en particulier des diarrhées, des infections urinaires, des pneumonies et plus rarement des méningites et des abcès intracrâniens. Cette bactérie est aussi à l'origine de plusieurs maladies d'origine alimentaire chez les animaux puisqu'elle colonise le tube digestif (**Bai et al, 2012; Plakkal et al, 2013 ; Liu et al, 2017**).

Ainsi, la présence de *C. freundii* dans les œufs provenant des élevages traditionnels observée dans notre étude pourrait être attribuée à plusieurs facteurs combinés : la contamination fécale des œufs lors de la ponte, les mauvaises conditions d'hygiène, la contamination de l'environnement d'élevage et le manque de contrôle sanitaire. Ces conditions favorisent la contamination microbienne des œufs et la circulation de souches bactériennes multirésistantes de danger potentiel pour le consommateur (**Rodriguez-Mozaz et al., 2015**).

Les résultats de notre étude sont conformes à ceux de plusieurs travaux récents ayant montré que cette bactérie est fréquemment isolée chez les volailles et dans les produits avicoles destinés à la consommation humaine.

Résultats et discussion

En 2022, une étude a montré que *C. freundii* est naturellement présente dans l'intestin des volailles, mais aussi dans l'environnement d'élevage (sol, eau, matières fécales). La bactérie peut ainsi contaminer les œufs au moment de la ponte par contact avec le cloaque ou avec des surfaces souillées. Cette contamination est favorisée dans les élevages traditionnels où les poules sont souvent élevées en liberté dans des conditions sanitaires insuffisantes, avec accumulation des déjections, mauvaise désinfection des locaux et contact direct avec l'environnement externe (**Witaningrum et al., 2022**).

L'étude **d'Afroz et coll (2025)** a également mis en évidence que les œufs peuvent être contaminés par voie horizontale et verticale. La contamination horizontale se produit quand l'œuf passe dans le cloaque fortement contaminé au moment de la ponte, ce qui permet aux bactéries de coloniser l'œuf. La contamination verticale survient lorsque les organes reproducteurs de la poule sont infectés, ce qui entraîne une contamination interne de l'œuf avant même que la coquille ne soit entièrement formée (**De Reu et al., 2008**). Ces mécanismes rendent possible la présence de *C. freundii* dans l'intérieur des œufs analysés dans notre étude.

Nos résultats peuvent également être mis sur le compte du manque de contrôle sanitaire dans les élevages traditionnels. En effet, les élevages de type traditionnel utilisent souvent une nourriture et une eau non contrôlées microbiologiquement, ce qui accroît le risque d'introduction de bactéries pathogènes dans l'environnement des poules. En outre, le manque de nettoyage fréquent des pondoires et la manipulation des œufs sans respect des règles d'hygiène appropriées favorisent davantage la contamination bactérienne.

Une étude effectuée en Indonésie en 2022 a montré que les isolats de *C. freundii* provenant de poules pondeuses étaient multirésistants à plusieurs antibiotiques, dont l'érythromycine, la tétracycline et le triméthoprim-sulfaméthoxazole (**Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2017**).

De la même manière, l'enquête conduite au Bangladesh a mis en évidence une importante résistance de cette bactérie à divers antibiotiques fréquemment utilisés en aviculture (**Afroz et al., 2023**).

Ces résultats constituent un risque majeur pour la santé publique, car les œufs contaminés peuvent devenir une voie de transmission des bactéries résistantes vers l'homme.

Résultats et discussion

La capacité de *Citrobacter freundii* à persister dans les œufs pourrait être liée à sa capacité à s'adapter aux défenses antimicrobiennes naturelles du blanc d'oeuf. Comme toutes les bactéries à Gram négatif, *C. freundii* possède une membrane externe très riche en lipopolysaccharides, qui bloque l'action du lysozyme sur le peptidoglycane bactérien. Cette bactérie peut également développer des mécanismes d'acquisition du fer, notamment la production de sidérophores, ce qui atténue l'effet inhibiteur de l'ovotransferrine. Ces mécanismes permettent aux bactéries de survivre dans l'environnement de l'œuf malgré la présence de protéines antimicrobiennes naturelles (**Ibrahim *et al.*, 2012 ; Legros *et al.*, 2021**).

L'étude récente de **Khodabandeh *et coll*** a montré que *C. freundii* forme des biofilms qui lui permettent de subsister longtemps sur les surfaces d'élevage, les équipements et les coquilles d'œufs malgré des conditions environnementales défavorables. Cette capacité accroît la probabilité que la bactérie se maintienne et se propage dans les élevages traditionnels (**Khodabandeh *et al.*, 2025**).

Les résultats obtenus dans notre étude confirment la présence de contamination bactérienne par *C. freundii* dans les œufs. Il faut noter qu'il est important de maintenir une bonne propreté dans le processus d'élevage et même pendant la collecte, le transport et la conservation des œufs pour éviter toute contamination pathogène qui peut constituer un risque d'infection pour le consommateur.

Conclusion

CONCLUSION

L'objectif de notre recherche est de faire une étude microbiologique et de chercher à identifier les bactéries en cause de la contamination dans le contenu des œufs issus des élevages traditionnels. Elle nous a permis de juger de la sécurité microbiologique de ces œufs. Notre étude démontre que les œufs peuvent certainement favoriser la croissance bactérienne en fonction des conditions d'élevage, de manipulation et de stockage.

La présence de *Citrobacter freundii* dans le contenu des œufs témoigne une contamination fécale due à des défaillances lors de l'élevage et de la manipulation des œufs, ainsi qu'à l'absence de bonnes pratiques sanitaires au sein de ce type d'élevage.

La détection de *Citrobacter freundii* peut encore refléter une inquiétude sanitaire plus importante du fait que cette bactérie peut croître et survivre longtemps dans l'environnement. Cela provoque une plus grande préoccupation sanitaire car ces bactéries peuvent être présentes dans les œufs qui peuvent être le vecteur de ces bactéries dont la maladie ou l'infection peut survenir.

L'étude met également en évidence la grande nécessité de respecter les mesures d'hygiène dans les élevages traditionnels afin de minimiser la contamination bactérienne des œufs.

Les résultats de notre étude nous orientent vers la réalisation d'une étude approfondie des conditions d'élevage à partir desquelles les œufs ont été prélevés, afin d'identifier de façon précise l'origine des bactéries isolées, de pouvoir la contrôler et ainsi de limiter la contamination des œufs issus d'élevages traditionnels.

Référence bibliographique

Référence bibliographique

- Adesiyun, A., Offiah, N., Seepersadsingh, N., Rodrigo, S., Lashley, V., & Musai, L. (2005). Frequency and antimicrobial resistance of enteric bacteria with spoilage potential isolated from table eggs. *Food Research International*, 39(2), 212–219.
- Afroz, J., Al Masud, M., Jahan, E., Chowdhury, A., Fakruddin, M., & Shishir, M. A. (2023). Multi-antibiotic resistant *Citrobacter freundii* in eggs: A silent public health threat. *Microbial Bioactives*.
- Akbar, A., & Anal, A. K. (2011). Food safety concerns and food-borne pathogens, *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Campylobacter*. *FUUAST Journal of Biology*, 1(1), 5–17.
- Alloui, N. (2005). Cours de zootechnie aviaire. Université El Hadj Lakhdar Batna.
- APS. (2018). Algérie presse service. Filière avicole : la production nationale en viande blanche.
- Baron, F., & Jan, S. (2010). Microbiologie de l'œuf et des ovoproduits. *Productions Animales*, 23(2), 193–204.
- Board, R. G. (2000). The microbiology of shell eggs. New York, NY: Springer.
- Bonhomme, B. R. (2003). Étude de la contamination des milieux internes de l'œuf par *Salmonella enteritidis*. Thèse de doctorat, Université Paris XII-Val-de-Marne, Créteil, France.
- Bourgeois, C. M., Mescle, J. F., & Zucca, J. (1990). Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments (Vol. 1). Paris : Lavoisier.
- CDC. (2024). Foodborne germs and illnesses. Centers for Disease Control and Prevention.
- CDC. (2024). Salmonella: General information. Centers for Disease Control and Prevention.
- CLSI. (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (M100, 27th ed.). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- COIMBRA, J. S. R., Gabas, A. L., Minim, L. A., & Telis, V. R. N. (2005). Density, heat capacity and thermal conductivity of liquid egg products. *Journal of Food Engineering*, 66(1), 59–67.

Référence bibliographique

- Davis, G. T., & Beeckler, A. F. (1962). Plastic packaging of eggs: Methods of packaging. *Poultry Science*, 41(2), 391–397.
- rodon, A., King, V. M., Bentley, G. E., & Ball, G. F. (2001). Photoperiodic control of seasonality in birds. *Journal of Biological Rhythms*, 16(4), 365–380.
- Dayon, J. F., & Arbelot, B. (1997). Guide de l'élevage des volailles au Sénégal. Dakar : ISRA.
- Decline, V., Effendi, M. H., Rahmaniar, R. P., Yanestria, S. M., & Harijani, N. (2020). Profile of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* from dogs. *International Journal of One Health*, 6(1), 90–94.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 112(3), 253–260.
- De Reu, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Rodenburg, T. B., Uyttendaele, M., & Herman, L. (2008). Bacterial contamination of table eggs and housing systems. *World's Poultry Science Journal*, 64(1), 5–19.
- El Ftouhy, M., El-Shafey, A., & Abd El-Rahman, S. (2024). Evaluation of biosecurity and microbiological quality of table eggs. *Veterinaria Italiana*.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Istituto Superiore di Sanità (ISS), Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe), & European Union Reference Laboratory for Salmonella. (2025). *The European Union One Health 2024 Zoonoses Report*. EFSA Journal, 23(12), e9759.
- FAO. (2010). Poultry housing and management in developing countries. Rome: Food and Agriculture Organization.
- Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R. K., Humphrey, T. J., & Van Immerseel, F. (2009). Egg contamination by *Salmonella Enteritidis*: Review of possible routes of contamination of hen eggs. *Poultry Science*, 88(10), 2069–2074.
- Gast, R. K. (2003). Paratyphoid infections. In Y. M. Saif (Ed.), *Diseases of Poultry* (11th ed., pp. 583–613). Ames, IA: Iowa State Press.

Référence bibliographique

- Geng, A. L., Zhang, Y., Zhang, J., Wang, H. H., Chu, Q., & Liu, H. G. (2018). Effects of lighting pattern on egg production. *Poultry Science*, 97(7), 2378–2384.
- Gomes, B., Silva, C., & Ribeiro, A. (2022). Microbial contamination of bedding material. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(24), 16663.
- Harage, H. A. A., & Al-Aqaby, A. R. A. (2024). Bacterial contamination of chicken eggs: A review. *South Asian Journal of Agricultural Sciences*, 4(2), 147–154.
- Harry, E. G. (1963). Some observations on bacterial content of ovary and oviduct of the fowl. *British Poultry Science*, 4(1), 63–70.
- Hemeda, S., Abdallh, M., Ibrahim, B., & Ali, E. (2025). Assessment of bacterial contamination, physical quality, and internal pH (albumen and yolk) of table eggs in Khartoum North. *Scientific Reports*, 15, Article 39663.
- Hinson, C., Tonouhewa, A., Azokpota, P., Daube, G., Korsak, N., & Sessou, P. (2025). Antibiotic resistance in table eggs: A meta-analysis. *Veterinary World*, 18(4), 939–954.
- <https://share.google/HUcUWnNGyeCa5tWBR>
- Ibrahim, H. R., Sugimoto, Y., & Aoki, T. (2012). Ovotransferrin: Structure and bioactivities. *Food Research International*, 46(2), 480–487.
- Jiang, S., Cui, L., Shi, C., Ke, X., Luo, J., & Hou, J. (2013). Dietary effects on egg quality. *The Veterinary Journal*, 198(1), 252–258.
- Jin, J., Zhou, Q., Lan, F., Li, J., Yang, N., & Sun, C. (2022). Microbial composition of egg components. *Frontiers in Microbiology*, 13, 943097.
- Jones, D. R. (2007). Egg functionality during storage. *International Journal of Poultry Science*, 6(3), 157–162.
- Kilroy, S., Raspoet, R., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2016). Prevention of Salmonella egg contamination. *Veterinary Research*, 47, 82.
- Khodabandeh, H., Tajbakhsh, E., Khamesipour, F., Momtaz, H., & Shahraki, M. M. (2025). *Unraveling genetic diversity and antibiotic resistance mechanisms in Citrobacter freundii isolates from meat products: Implications for food safety and public health*. **Veterinary Medicine and Science**, 11, e70493
- Kilonzo-Nthenge, A., Nahashon, S. N., Godwin, S., Liu, S., & Long, D. (2016). Antimicrobial resistance in shell eggs. *Journal of Food Protection*, 79(12), 2031–2037.

Référence bibliographique

- Kim, D. H., Kim, J. H., Kim, K. H., Hur, T. Y., Jung, Y. H., Kang, H. G., & Lee, S. D. (2021). Environmental effects on laying hens. *Animals*, 11(11), 3214.
- Lamichhane, B., Paudyal, N., Adhikari, B., Kandel, S., Dhungana, S., Sharma, M., Shrestha, A., Shrestha, S., Gautam, A., Acharya, K. P., & Adhikari, N. (2024). *Salmonellosis: An Overview of Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, Antibiotic Resistance, and Public Health Strategies*. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(2), 57.
- Legros, J., Jan, S., Bonnassie, S., Gautier, M., Croguennec, T., Pezenec, S., Cochet, M. F., Nau, F., Andrews, S. C., & Baron, F. (2021). Ovotransferrin antimicrobial activity. *Foods*, 10(4), 823.
- LE GRAND, D. (1988). Situation actuelle de l'aviculture sénégalaise. Thèse vétérinaire, École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV), Dakar, Sénégal.
- Lewis, P. D., & Morris, T. R. (2006). *Poultry Lighting: The Theory and Practice*. Nottingham: Northcot.
- Maillard, J.-Y. (2005). Antimicrobial biocides in healthcare. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 1(4), 307–320.
- Maillard, J.-Y., & Pascoe, M. (2024). Disinfectants and resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 22(1), 4–17.
- Marchello, C. S., Fiorino, F., Pettini, E., Crump, J. A., & Vacc-iNTS Consortium Collaborators. (2022). *Complications and mortality of non-typhoidal salmonella invasive disease: A global systematic review and meta-analysis*. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(5), 692–705.
- Mashaly, M. M., Hendricks, G. L., Kalama, M. A., Gehad, A. E., Abbas, A. O., & Patterson, P. H. (2004). Heat stress in laying hens. *Poultry Science*, 83(6), 889–894.
- Mayes, F. J., & Takeballi, M. A. (1983). Microbial Contamination of the Hen's Egg: A Review. *Journal of Food Protection*, 46(12), 1092–1098.
- Miles, D. M. (1984). Ammonia in poultry houses. *World's Poultry Science Journal*, 40(1), 13–19.
- NutriNews. (2020, 22 juin). Estrategias para dominar el estrés térmico en la producción de aves de corral. *Revista NutriNews*.

Référence bibliographique

- Olanrewaju, H. A., Thaxton, J. P., Dozier, W. A., & Purswell, J. L. (2006). Lighting programs in poultry. *International Journal of Poultry Science*, 5(4), 301–308.
- Oluwabiyi, C. T., Zhao, J., Jiao, H., Wang, X., Li, H., Zhou, Y., & Lin, H. (2022). Dietary protein effects in hens. *Journal of Poultry Science*, 59(4), 328–337.
- Pasanen, A. L., Kasanen, J. P., Rautiala, S., Ikaheimo, M., Rantamäki, J., Kaariainen, H., & Kalliokoski, P. (1997). *Fungal growth and survival in building materials under fluctuating moisture and temperature conditions*. *Atmospheric Environment*, 31(22), 3675–3683.
- Protais, J., Queguiner, S., Boscher, E., & Proux, K. (1989). Salmonella penetration in eggs. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 20(3), 339–347.
- Puybasset, A. (2023, 22 novembre). « Mes poulets sont plus calmes avec la lumière bleu verte ». Réussir Volailles.
- Rodriguez-Mozaz, S., Chamorro, S., Marti, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., Borrego, C. M., Barceló, D., & Balcázar, J. L. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Research*, 69, 234–242.
- Saeed, M., Abbas, G., Alagawany, M., Kamboh, A. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Chao, S., & Ahmad, E. A. M. (2021). *Heat stress management in poultry: A comprehensive review*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 105(6), 1136–1145.
- Santos, P. H. G., Silva, R. M., & Oliveira, L. F. (2025). Formaldehyde in poultry production. *Toxics*, 13(11).
- Sauveur, B. (1987). Reproduction des volailles et production d'œufs. Paris : INRA.
- Sokołowicz, Z., Krawczyk, J., & Herbut, E. (2023). Egg storage packaging effects. *Animals*, 13(12), 1899.
- Sow, F. (2008). Qualité microbiologique des œufs commercialisés au Sénégal. Thèse vétérinaire, EISMV, Dakar, Sénégal.
- Tainika, B., Padhi, M. K., & Chatterjee, R. (2023). Egg storage conditions. *World's Poultry Science Journal*.
- Thapon, J. L., & Bourgeois, C. M. (1994). L'œuf et les ovoproduits. Paris : Lavoisier Tec & Doc.

Référence bibliographique

- Thieulin, G., Basile, D., & Hautefort, M. (1976). L'œuf et les produits. Paris : Vigot Frères.
- Tinôco, I. F. F. (2001). Avicultura industrial. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 3(1), 1–13.
- USDA. (2015). Poultry Industry Manual. Washington, DC: United States Department of Agriculture.
- Wei, F. X., Hu, X. F., Xu, B., Zhang, M. H., Li, S. Y., Sun, Q. Y., & Lin, P. (2015). Ammonia effects in poultry houses. Genetics and Molecular Research, 14(4), 12315–12328.
- World Health Organization. (2022). Food safety. Geneva: World Health Organization.
- Zhang, X., Wang, Y., Liu, J., Chen, L., & Zhao, R. (2024). Microbial diversity on eggshells. Poultry Science.
- Zhao, H., Li, S., Zhang, T., Wang, X., Liu, H., & Zhang, G. (2023). *Effects and control mechanisms of ammonia, particulate matters and aerosol bacterial compositions in poultry houses by spray technology*. Journal of Cleaner Production, 418, 138218.

Annexe

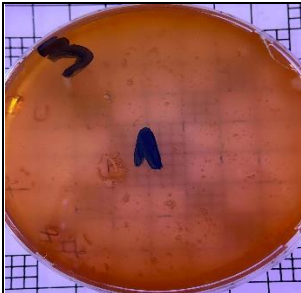
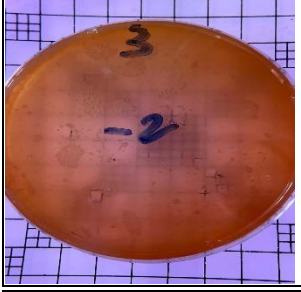
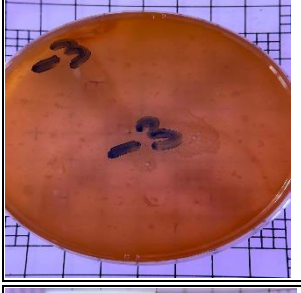
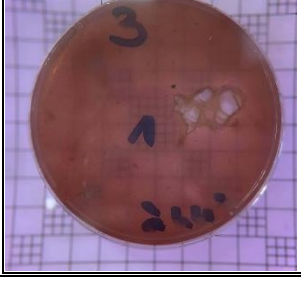
Annexe01 :

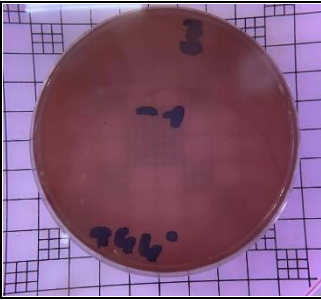
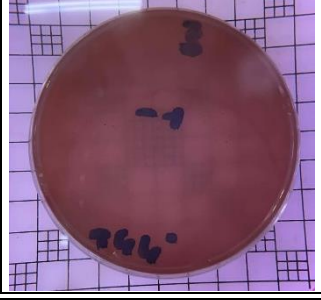
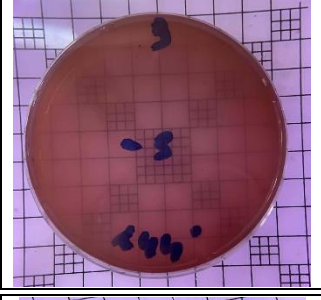
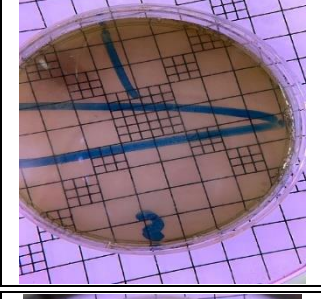
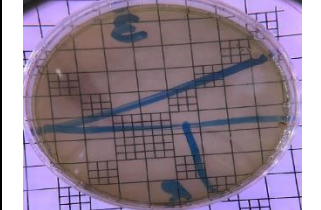
SOMMAIRE

Intitulé	Codification	Version	Date
Prise d'essai , Suspension mère et dilutions décimales	MO.PE.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement des Microorganismes. Méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C, dans les denrées alimentaires	MO.MT.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement des Coliformes par comptage des colonies, dans les denrées alimentaires.	MO.CT.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement des Coliformes Thermo Tolerants et <i>Escherichia coli</i> par comptage des colonies, dans les denrées alimentaires.	MO.CTT.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche de Salmonella dans les denrées alimentaires.	MO.SL.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les denrées alimentaires	MO.SA.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement des Anaérobies Sulfite-Réducteurs par comptage des colonies à 46°C dans les denrées alimentaires.	MO.ASR.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement de <i>Clostridium perfringens</i> par comptage des colonies à 37°C dans les denrées alimentaires.	MO.CP.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> , dans les denrées alimentaires.	MO.LM.DA	00	18 / 1 / 05
Recherche et Dénombrement des Levures et Moisissures dans les denrées alimentaires.	MO.RLM.DA	00	18 / 1 / 05

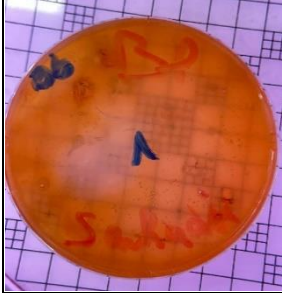
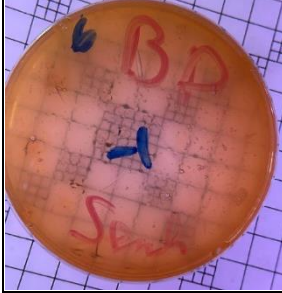
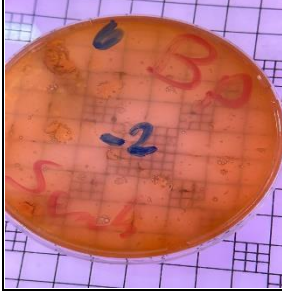
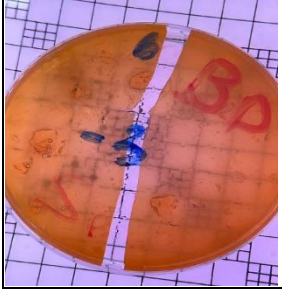
Annex02 :

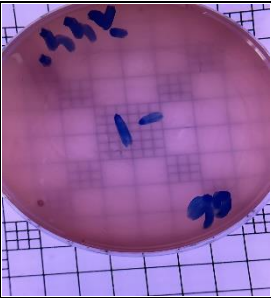
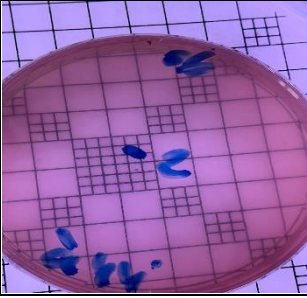
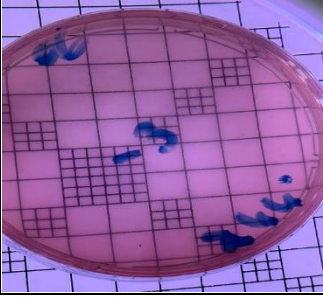
Résultats du prélèvement n°1

Analyse microbiologique	Résultat
<i>Staphylocoques (solution mère)</i>	
<i>Staphylocoques (10⁻¹)</i>	
<i>Staphylocoques (10⁻²)</i>	
<i>Staphylocoques (10⁻³)</i>	
<i>Coliformes fécaux (solution mère)</i>	

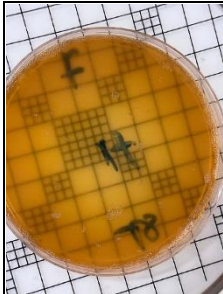
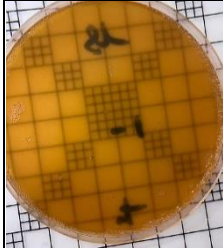
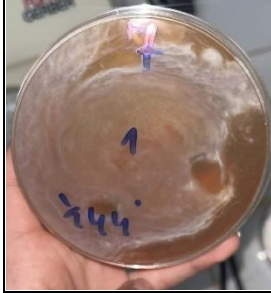
Analyse microbiologique	Résultat
<i>Coliformes fécaux</i> (10^{-1})	
<i>Coliformes fécaux</i> (10^{-2})	
<i>Coliformes fécaux</i> (10^{-3})	
<i>Salmonella</i> spp. (SFB)	
<i>Salmonella</i> spp. (Rappaport-Vassiliadis)	

Résultats du prélèvement n°2

Analyse microbiologique	Résultat
<i>Staphylocoques (solution mère)</i>	
<i>Staphylocoques (10⁻¹)</i>	
<i>Staphylocoques (10⁻²)</i>	
<i>Staphylocoques (10⁻³)</i>	
<i>Coliformes fécaux (solution mère)</i>	

Analyse microbiologique	Résultat
Coliformes fécaux (10^{-1})	
Coliformes fécaux (10^{-2})	
Coliformes fécaux (10^{-3})	
Salmonella spp. (SFB)	
Salmonella spp. (Rappaport-Vassiliadis)	

Résultats du prélèvement n°3

Analyse microbiologique	Résultat
Staphylocoques (solution mère)	
Staphylocoques (10^{-1})	
Staphylocoques (10^{-2})	
Staphylocoques (10^{-3})	
Coliformes fécaux (solution mère)	
Coliformes fécaux (10^{-1})	

Analyse microbiologique	Résultat
Coliformes fécaux (10^{-2})	
Coliformes fécaux (10^{-3})	
Salmonella spp. (SFB)	
Salmonella spp. (Rappaport-Vassiliadis)	

Annexe 03 :

Composition de l'Eau Peptonée Tamponnée (EPT/BPW)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	10,0
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0
Phosphate disodique (Na_2HPO_4)	3,5

Composants	Quantité (g/L)
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1,5
pH final	7,2 ± 0,2

Composition du milieu Baird-Parker Agar

Composants	Quantité (g/L)
Tryptone	10,0
Extrait de viande	5,0
Extrait de levure	1,0
Pyruvate de sodium	10,0
Glycine	12,0
Chlorure de lithium	5,0
Agar	20,0
Suppléments	Jaune d'œuf + Tellurite de potassium
pH final	6,8 ± 0,2

Composition du milieu VRBL Agar

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	7,0
Extrait de levure	3,0
Lactose	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,002
Agar	15,0
pH final	7,4 ± 0,2

Composition du milieu Hektoen Enteric Agar

Composants	Quantité (g/L)
Peptone protéosée	12,0
Extrait de levure	3,0
Lactose	12,0
Saccharose	12,0
Salicine	2,0
Sels biliaires	9,0
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0
Citrate ferrique ammoniacal	1,5
Bleu de bromothymol	0,065
Fuchsine acide	0,1
Agar	13,5
pH final	7,5 ± 0,2

Composition du milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	20,0
Extrait de viande	3,0
Extrait de levure	3,0
Lactose	10,0
Saccharose	10,0
Glucose	1,0
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0
Citrate ferrique ammoniacal	0,3
Thiosulfate de sodium	0,3
Rouge de phénol	0,024
Agar	12,0
pH final	7,4 ± 0,2