

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université SAAD DAHLAB de BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de **Biologie**



Mémoire

De fin d'Etudes En Vue de l'Obtention de Master en **Biologie**

Option : **Microbiologie et Toxicologie Alimentaire**

Thème

Etude de la qualité hygiénique et marchande de
l'œuf entier cru

Présenté par :

Soutenue publiquement le : 12/12/2013

M^{elle} BOUDJAKDJI Lamia

M^{elle} REMLI Souhila

Devant le jury composé de :

M ^r BENYAHIA N.....	MAA.....	Président.....	USDB
M ^{me} ROUAKI F.....	MAA.....	Examinatrice.....	USDB
M ^{me} KHETTAR S.....	MAA.....	Examinatrice.....	USDB
M ^r BENDJOUDI D.....	MCB.....	Promoteur.....	USDB

Promotion 2012-2013



DEDICACES

Je dédie ce mémoire le fruit de mes études

*A mes très chers **parents** qui sont toujours dans mon cœur, qui ont consacré leur vie pour mon éducation et ma réussite, qui m'ont encouragé dans les moments les plus difficiles, ils sont toujours battus pour la réussite de leurs enfants.*

Ce jour est celui du couronnement de leurs sacrifices.

*A la mémoire de mes **grands parents***

*A mes sœurs et mes frères: **Thafath, Nassima, Mohand, et Massine**, unis, nous gagnerons ce combat qui est la vie.*

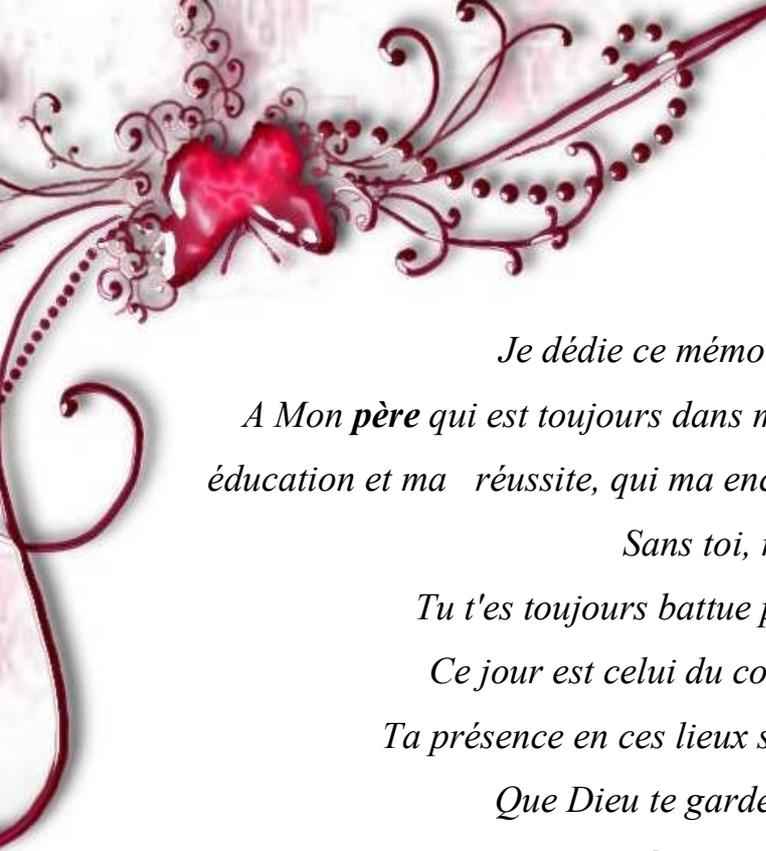
*A mon futur mari **Siduliw***

*A **Nanna Fadila** et ses filles : **Fetta, Ryma et Farah***

*A tous les **loyaux** et les **pieux**, ceux qui m'aiment et que j'aime.*

*Enfin à mon très cher pays ***l'Algérie***, j'espère pouvoir être à la hauteur pour lui rendre tous ce qu'il m'a donné et plus. **Inchallah***

Souhila



DEDICACES

Je dédie ce mémoire le fruit de mes études

*A Mon **père** qui est toujours dans mon cœur, qui a consacré sa vie pour mon éducation et ma réussite, qui ma encouragé dans les moments les plus difficiles.*

Sans toi, rien n'aurait été.

Tu t'es toujours battue pour la réussite de tes enfants.

Ce jour est celui du couronnement de tes sacrifices.

Ta présence en ces lieux suffit amplement à mon bonheur.

Que Dieu te garde et te protège pour nous.

*Ma **mère**, et ma **belle mère** Farida*

Vous vous êtes dépensés pour moi sans compter.

En reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et

Chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie.

Avec toute ma tendresse

*Mon très cher frère **Aness***

*Mes sœurs **Samira, Amira, Meriem, et Sarah** à qui je souhaite beaucoup de succès et de réussite dans leurs études.*

*A mes chers **grands parents***

*A mes **oncles, tantes, cousins et cousines***

Vous avez de près ou de loin contribué à ma formation.

Affectueuse reconnaissance.

*A ma binôme et ma chère amie : **Souhila***

*A mes meilleurs amis : **Ihcene, Sihem, Rym, Nafissa.***

*Tous les **étudiants et étudiantes** de l'option microbiologie et toxicologie alimentaire 2013*

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Lamia

REMERCIEMENTS

En guise de reconnaissance, nous voulons remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.

*Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à Monsieur **BENDJOUDI D.** Maître de Conférences au département de Biologie qui nous a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils nous ont permis de réaliser ce travail.*

Nous tenons à remercier les membres du jury :

*Monsieur **BENYAHIA N.** Maître assistant au département de Biologie qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Mesdames **ROUAKI F.** Maître assistante et **KHETTAR S.** Maître assistante au département de Biologie qui ont accepté d'examiner ce travail.*

*Un immense merci à Monsieur **AMRAOUI S.** responsable de service Stérilité au sein du Laboratoire Microbiologie de groupe Saidal Antibiotical de Médéa, pour nous avoir fait profiter de ses connaissances en matière d'analyses microbiologiques.*

Nous exprimons également nos vifs remerciements à tous les membres du laboratoire de microbiologie de Saidal Antibiotical de Médéa

*Mes remerciements vont également à Monsieur **BOUDJAKDJI N.** pour son aide et son soutien dans le domaine avicole.*

*Nous adressons l'expression de nos vives et respectueuses gratitudees à Madame **HEZIL N.** et **BAAZIZ D.**, qui nous a fait bénéficier de leurs aides et de leurs conseils très fructueux, comme nous remercions tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie en générale et le département de Biologie en particulier.*

Nous tenons à remercier le personnel de la bibliothèque de Saidal de Médéa, la bibliothèque de la faculté S.N.V. de l'USDB et toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

L'étude de la flore bactériologique dans la matrice œuf entier liquide et cru a été menée à partir de 75 échantillons (225 œufs), ramenés de cinq points de vente. L'identification des bactéries d'altération et de quelques espèces pathogènes, à savoir les Salmonelles et les staphylocoques, ont été effectués au laboratoire de microbiologie de Sidal (Médéa).

Ce travail montre que le taux de contamination est de 53,33 % sur les 75 échantillons analysés, et que l'étude bactériologique a révélé la présence de Salmonelles dans deux échantillons, soit un taux de 2,66 %, l'un provient de grossistrie et l'autre du marché. La présence des Staphylocoques dans un seul échantillon (1,33 %) provient du marchand ambulant, et d'autres bactéries qui ne sont pas de moindre importance tant sur le plan de la santé animale que publique.

Notre recherche a montré que les œufs des boucheries présentent une qualité microbiologique meilleure pour la consommation.

La présence des résidus d'antibiotiques a été signalée dans 54,66 % d'échantillons, dont les œufs des marchands ambulants dominent avec un taux de 31,33%.

Ces résultats sont inquiétants et doivent rendre les éleveurs et les commerçants très attentifs au respect des règles d'hygiène au niveau des bâtiments de production, les lieux de stockage ainsi que pendant le transport des œufs.

Mots clés : Flore microbiologique, œuf, qualité, hygiène, antibiotique

Summary:

The study of the microbiological flora in the matrix liquid and whole raw egg was conducted from 75 samples (225 eggs), brought from five points of sale.

The identification of spoilage alteration bacteria and several pathogenic species, namely *Salmonella* and staphylococci, were performed in the laboratory of microbiology Saïdal (Medea).

This work shows that the infection rate is 53.33% of the 75 samples analysed, and a bacteriological study revealed the presence of *Salmonella* in two samples, a rate of 2.66%, one comes from wholesaler and the other in the market. The presence of staphylococci in a single sample (1.33%) comes from the peddler, and other bacteria that are not less important both in terms of animal health service.

Our research has shown that eggs butchers have a cleaner for consumption microbiological quality.

The presence of antibiotic residues was reported in 54.66% of samples, including eggs hawkers dominate with a rate of 31.33%.

These results are worrying and should make farmers and traders very attentive to compliance with hygiene rules in production buildings, storage areas and during transport of eggs.

Keywords: Flora microbiological, egg quality, hygiene, antibiotic

المخلص

الهدف من عملنا هو دراسة الفلورة الميكروبيولوجية للبيض في حالته الطازجة و السائلة ابتداء من 75 عينة تم شراؤها من نقاط بيع مختلفة، و قد تم التعرف على البكتيريا الملوثة و بعض البكتيريا المسببة للأمراض مثل بكتيريا السلمونيل و ستافيلوكوك على مستوى مخبر الميكروبيولوجيا بمركب صيدال في المدينة .

إن هذا الإنجاز كشف لنا عن نسبة العينات المعدية التي تقدر ب: 53,33% من مجموع العينات المعالجة ، و الدراسة البكتيريولوجية كشفت عن وجود السالمونيل على مستوى عينتين وذلك بنسبة تقدر ب: 2,66% علما أن الأولى من نقطة البيع بالجملة و الثانية من السوق العام و كذا وجود الستافيلوكوك في عينة واحدة واردة من طرف البائع المتجول، وحتى باقي البكتيريا التي لا تقل ضرارا بالمساس بصحة الحيوان أكثر من الصحة العامة.

و قد بين بحثنا هذا أن البيض الوارد من القصابة يمثل النوعية الميكروبيولوجية الأكثر نقاء للاستهلاك. أما عن وجود بقايا المضادات الحيوية فقد أشير إليها في 54,66% من العينات، حيث أن البيض الوارد من الباعة المتجولين احتل الصدارة بنسبة 13,33%.

إن هذه النتائج توحى بالقلق وتستوجب على مربى الدجاج و تجار البيض أن يكونوا أكثر حرصا، وذلك باحترام قواعد النظافة الصحية في أماكن الإنتاج و التخزين و كذلك عند نقل البيض.

الكلمات الجوهرية : الفلورة الميكروبيولوجية ، نوعية ، البيض ، النظافة الصحية، المضادات الحيوية.

Liste des figures

Figure 1 : Schéma descriptif de différentes étapes de formation de l'œuf.	4
Figure 2 : Schéma représentatif de la structure de l'œuf de poule.	6
Figure 3 : Composition de l'œuf (en g/100g d'œuf frais entier).	7
Figure 4 : Schéma descriptif de circuit de commercialisation des œufs de consommation.	17
Figure 5 : Illustration de la mise en récipient de l'échantillon.	18
Figure 6 : L'homogénéisation de la coule fraîche.	18
Figure 7 : Présentation d'un prélèvement des 25 ml.	18
Figure 8 : Schéma descriptif de la préparation des dilutions de la coule fraîche d'œuf.	19
Figure 9 : Les milieux de pré-enrichissement.	20
Figure 10 : Présentation d'un tube enrichi et incubé.	20
Figure 11 : L'ensemencement sur gélose XLD.	21
Figure 12 : Représentation des étapes d'identification biochimique de <i>Salmonella</i> .	22
Figure 13 : Schéma descriptif des étapes d'une méthode microbiologique pour la recherche des résidus d'antibiotique dans l'œuf.	26
Figure 14: Apparition macroscopique et microscopique des Salmonelles (Photos originales).	33
Figure 15: Apparition macroscopique et microscopique des Staphylocoques (Photos originales).	33
Figure 16: Apparition macroscopique et microscopique des <i>Escherichia coli</i> (Photos originales).	33
Figure 17: Apparition macroscopique et microscopique des <i>Pseudomonas</i> (Photos originales).	34
Figure 18 : Apparition des zones d'inhibition de quelques boîtes (photos originales).	35
Figure 19 : Répartition des zones d'inhibitions au pH 8, des Macrolides.	36
Figure 20 : Répartition des zones d'inhibitions au pH 7,25 des Polypeptides.	36
Figure 21 : Répartition des zones d'inhibitions au pH 5,9 des Tétracyclines.	37
Figure 22 : Répartition des critères microbiologiques des œufs des différents points de ventes.	38
Figure 23 : Nombre total d'échantillons suivant les critères microbiologiques.	38

Liste des tableaux

Tableau 1 : Comparaison de la valeur biologique de quelques aliments avec celle de l'œuf.	8
Tableau 2 : Nombre d'échantillons et quantité d'œufs achetés dans différents points de vente.	16
Tableau 3 : Germes recherchés dans la matrice d'œuf entier cru.	19
Tableau 4 : Les micro-organismes utilisés en fonction de l'antibiotique utilisé.	25
Tableau 5 : Caractéristiques des risques associés à chaque germe.	28
Tableau 6 : Critères microbiologiques appliqués pour l'interprétation des résultats.	29
Tableau 7 : Nombre d'échantillons contaminés par différents germes.	31
Tableau 8 : Nombre total d'échantillons contaminés suivant le germe	32
Tableau 9 : Résultats de l'identification biochimique.	34
Tableau 10 : Interprétation des résultats bactériologique par l'application des critères microbiologiques.	37

Liste des abréviations

ADH : Arginine di-hydrolase.

AMY : Amygdaline.

ARA : Arabinose.

ATCC : American Tupe Cultur Correction.

BPF : Bonne Pratique de Fabrication.

CAB : Cetrimide-Agar Base.

CEE : Communauté Européenne.

CHAPMAN : Agar au mannitol , au chlorure de sodium et au rouge de phénol.

CHP : Critères d'Hygiènes des Procèdes.

CIT : Citrate de sodium.

EPT : Eau Péptonée Tomponée.

FAMT : Flore Anaérobie Mésophile Totales.

IND : Tryptophane d'indole.

INO : Inositol.

INRA : Institut Nationale de la Recherche Agronomique.

GEL : Gélatine de kohn.

GLU: Glucose.

LDC : Lysine Décarboxylase.

LEA A:Laboratoire d'Expertise et d'Analyse Alimentaire.

MAN : Mannitol.

MCA: Mac Conkey Agar.

MEL : Melibiose.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG : Ortho-nitro-phényle-galactoside.

PCA : Plate Conte Agar.

RHA : Rhamnose.

SAC : Saccharose.

SOR : Sorbitol.

TDA : Tryptophane Désaminase.

TIAC : Toxi-infection alimentaire collectif.

UFC : Unité Forment Colonie.

URE : Urée.

VRBG : gélose Glucosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre.

VP : Pyruvate de Sodium.

XLD : Xylose Lysine Désoxychoate de sodium.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1.- Généralités sur l'œuf.....	4
1.1.1.- Définition de l'œuf.....	4
1.1.2.- Formation de l'œuf.....	4
1.1.3.- Structure interne de l'œuf.....	5
1.1.4.- Composition de l'œuf.....	6
1.2.- Importance nutritionnelle et économique de l'œuf.....	7
1.3.- Importance hygiénique et médicale.....	8
1.4.- La qualité de l'œuf de consommation.....	9
1.5.- Conservation de l'œuf de consommation.....	9
1.6.- La contamination de l'œuf.....	9
1.7.- Aspects microbiologiques des œufs de consommation.....	10
1.7.1.- La contamination par les bactéries.....	10
1.7.2.- Contamination par les Salmonelles.....	11
1.8.- Les résidus de l'œuf.....	12
1.8.1.- Les résidus d'antibiotiques.....	12
1.9.- Les toxi-infections alimentaires de l'œuf.....	12
1.9.1.- Epidémiologie.....	12
1.9.2.- Pouvoir pathogène.....	13
1.9.3.- Recommandations pour la prévention de la salmonellose à <i>Salmonella</i> associée à la consommation d'œufs	13
1.10.- Réglementation internationale sur les œufs.....	13
1.10.1.- Réglementation européenne sur les œufs.....	13
1.10.2.- Réglementation française sur les œufs de consommation....	14
1.10.3.- Réglementations sur les résidus d'antibiotiques.....	14

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

2.1.- Objectif de l'étude.....	16
2.2.- Matériel.....	16
2.2.1.- Matériel biologique	16
2.2.2.- Matériel non biologique	16
2.3.- Méthodes.....	16
2.3.1.- Echantillonnage.....	16
2.3.2.- Préparation des milieux.....	18
2.3.3.- Préparation de l'échantillon.....	18
2.3.4.- Préparation des dilutions de la coule fraiche d'œuf.....	19
2.3.5.- L'étude bactériologique.....	19
2.3.6.- Confirmation des résultats par la recherche des résidus d'antibiotiques	25
2.3.7.- Formulation d'interprétation des résultats d'analyses bactériologiques	26

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1.- Résultats.....	31
3.1.1.- Charge bactérienne des échantillons d'œuf.....	31
3.1.2.- La coloration de Gram et l'identification biochimique.....	32
3.1.3.- Confirmation de présence des résidus d'antibiotiques.....	35
3.1.4.- Interprétation des résultats bactériologiques.....	37
3.2.- Discussion.....	39
Conclusion générale	44
Références bibliographiques	

Annexes

Introduction

Nos aliments proviennent de notre environnement immédiat, mais aussi, de plus en plus, de pays divers. Cependant, il arrive que ces aliments soient contaminés en cours de production, de transformation, de transport, et de manipulation par des substances potentiellement dangereuse pour la santé. Notre environnement est contaminé par des agents chimiques, physiques, et biologiques qui risquent de porter atteinte à notre santé. Les aliments constituent probablement la partie de l'environnement humain la plus complexe au point de vue chimique et la plus susceptible d'être contaminés par des substances d'origine naturelle ou par des produits organique ou inorganique d'origine tant environnementale qu'industrielle (**Panisset et al., 2003**). Divers contaminants peuvent donc être capté par la chaîne alimentaire et ainsi être transférés à l'être humain par voie digestive. De ce fait, plusieurs modalités expliquent la transmission des maladies par l'aliment par voie bactérienne, virale, parasitaire et fongique (**Mannon et Johnson, 1985 ; Moll et Moll, 1995**).

L'œuf est connu depuis toujours comme un aliment d'une grande valeur nutritive, facile à digérer, et très utilisé en diététique humaine ; il convient donc d'exposer les connaissances acquises sur l'œuf tant sur le plan de la reproduction que sur le plan de la consommation (**Sow, 2008**). En effet, de part sa composition riche et variée, ce produit a pris un tel essor qu'il devient impératif de fournir des œufs de bonne qualité exempts de toute bactérie pathogène pouvant conduire à des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) souvent graves (**Beaudoin et al, 1997**).

Les œufs, comme les autres denrées alimentaires d'origine animale ne sont pas sans danger pour la santé humaine. Des toxi-infections salmonelliques ou des trouble d'évolution aiguë, mais le plus souvent chroniques provoqués par la consommation de denrée alimentaire contenant des résidus de métabolites médicamenteux (antibiotiques) ou de pesticides (**Sow, 2008**).

Il a été clairement démontré que la bactérie *Salmonella* peut infecter non seulement la coquille de l'œuf, mais aussi l'intérieur par transmission verticale au niveau des ovaires et de l'oviducte de la poule (**Beaudoin et al, 1997**). Dans les œufs d'incubation, ce germe "Salmonella" prolifère à l'intérieur et peut avoir des conséquences de contamination sur le produit final (**Cox et al., 2000**). On estime qu'actuellement jusqu'à 1 œuf sur 10 000 serait contaminé à l'intérieur de la coquille et qu'un mélange de 500 œufs représenterait un risque de 1 sur 20, puisqu'un seul œuf peut contaminer tout le mélange (**Beaudoin et al, 1997**). Il faut noter que dans l'œuf et la viande de la volaille, *Salmonella* constitue un danger pour le

consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace (**Van Immerseel et al., 2005**). C'est dans ce sens que nous nous sommes intéressés à étudier la qualité hygiénique et marchande de l'œuf entier cru, et la nature des bactéries qui peuvent contaminer cet aliment.

Notre recherche concernera les germes témoins de défaut d'hygiène : flore totale, les germes entérobactéries, *Escherichia coli* et *Pseudomonas*, ainsi que les germes pathogènes : Salmonelles et Staphylocoques.

Dans ce présent manuscrit trois parties seront présentés. D'abord en premier lieu une compilation de données bibliographiques sur les œufs, et certains aspects en particulier son importance nutritionnel économique et hygiènes, ainsi sur ses aspects microbiologiques. La seconde partie décrit le matériel et les méthodes déployés pour la concrétisation de cette étude. Les résultats et les discussions sur la charge bactérienne dans les différents échantillons d'œufs, l'identification biochimiques, la confirmation de résidus d'antibiotiques et l'interprétation bactériologiques sont développés dans la dernière partie. Et enfin nous clôturons le travail par une conclusion générale, des recommandations avec des perspectives.

Ce chapitre aborde des généralités sur l'œuf, sa qualité et mode de conservation, et la survenue dans les œufs de consommation de contaminations septiques susceptibles de nuire à la santé du consommateur. Egalement le problème de toxi-infection alimentaire de l'œuf puis quelques préventions et réglementations seront présentés dans cette partie.

1.1.- Généralités sur l'œuf

1.1.1.- Définition de l'œuf

L'œuf est un corps organique plus au moins gros, dur et arrondi. Il est protégé par une mince coquille calcaire et dans laquelle peut éventuellement se développer et se nourrir un embryon jusqu'à l'éclosion (Mzoyer *et al.*, 2002). Il faut qu'un œuf frais pèse entre 53g (petit œuf) et 73g (grand œuf) (Nathier-Dufour, 2005).

1.1.2.- Formation de l'œuf

Dès l'âge adulte, la poule pond pratiquement un œuf chaque jour. La poule libère un ovocyte (jaune d'œuf) dans l'oviducte, l'œuf va acquérir successivement ses autres compartiments, s'entourant d'abord d'un blanc d'œuf très gélifié et des membranes coquillères pendant près de 4 heures (fig. 1). Puis, il s'hydrate et prend sa forme ovoïde qui sera fixée par calcification de la coquille dans l'utérus (Inzerillo, 2013).

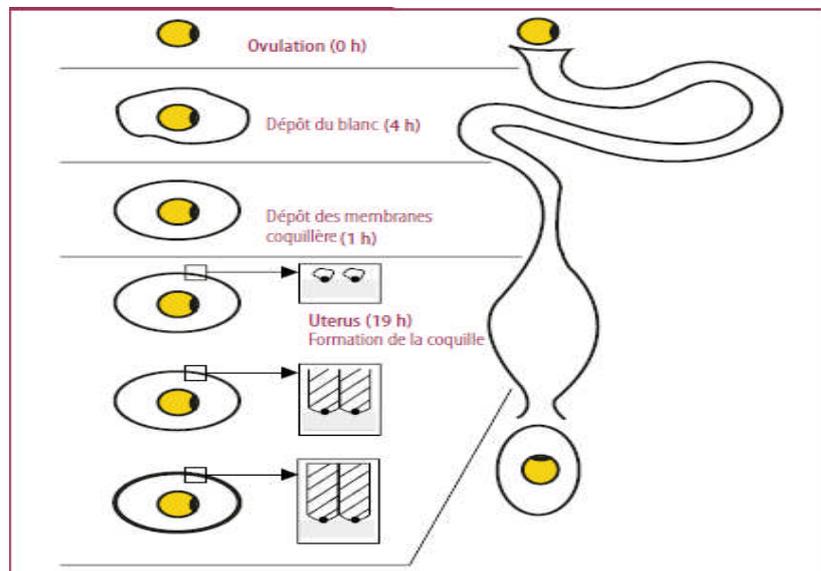


Figure 1 : Schéma descriptif de différentes étapes de formation de l'œuf (Inzerillo, 2013)

1.1.3.- Structure interne de l'œuf

a.- Le vitellus : Le vitellus ou jaune d'œuf représente 31 % de volume totale de l'œuf. Ce dernier se trouve à l'intérieur d'une très fine membrane acellulaire transparente appelée membrane vitellines. La couleur du vitellus dépend exclusivement de l'alimentation de la poule (**Saveur et Reviere, 1988**) la teneur en pigments du régime alimentaire contrôle directement la coloration du vitellus, et en fonction de la préférence des consommateurs le degré de pigmentation peut être choisi en fonction de la quantité mais aussi de la nature des caroténoïdes choisis (**Protais, 1988**). Cet élément est bien protégé par la coquille et l'albumen, par sa composition chimique (présence de lécithine) et son pH (5,8 à 6,0). Il est à noter que le vitellus constitue un milieu d'accumulation de métabolites liposolubles et considéré comme excellent substrat nutritif favorable à la prolifération rapide des micro-organismes (**Dayon et Arbelot, 1997**).

b.- L'albumen : L'albumen ou le blanc d'œuf (59 % du volume total) est composé en quasi-totalité d'eau et de protéines, avec quelques minéraux, ce qui représente une grande originalité pour produit d'origine animale. Il renferme aussi du glucose libre qui constitue la première source d'énergie utilisable par l'embryon. Les protéines sont toutes des glycoprotéines riches en acide aminé soufrés (**Nathier-Dufour, 2005**).

Le blanc d'œuf contient du gaz carbonique qui joue un rôle fondamental en contrôle de pH. Comme le CO₂ diffuse rapidement à travers la coquille, aussitôt après la ponte, le gaz carbonique dissous s'échappe par les pores de la coquille, et au bout de quelques jours, le pH se stabilise autour de 9 (**Nathier-Dufour, 2005**). En effet l'albumen contient quatre zones (fig.2), qui sont présentés comme suite :

- L'albumen liquide externe : se trouve au contact de la membrane coquillière interne, c'est la portion qui s'étale rapidement lorsque l'œuf est cassé.
- L'albumen épais ou dense : attaché aux deux extrémités de l'œuf et se présente sous la forme d'un gel.
- L'albumen liquide interne : il est enfermé entre le blanc épais et le vitellus.
- Les chalazes : du filament spiral rattachement le vitellus aux deux extrémités de l'œuf. Ils assurent la suspension du vitellus au centre au centre de la coquille.

c.- Les membranes coquillières : D'une épaisseur totale de 70 µm (fig.2), sont fortement adhérente l'une à l'autre sauf au niveau de la chambre d'air (**Saveur et Reviere, 1988**).

d.- La coquille : A une épaisseur comprise entre 300 et 400 μm , la coquille se présente en deux couches, mamillaire et spongieuse (**Larbier et Leclercq, 1992**). Cette dernière est considérée comme zone poreuse d'une cuticule protéique (**Nathier-Dufour, 2005**), doublé d'une membrane, laisse un espace appelés "chambre d'air" celle-ci augmente de volume au fur et à mesure de vieillissement de l'œuf (**Bonnes et al., 2005**).

e.- Cuticule : La cuticule organique de l'œuf sécrété par l'utérus possède une épaisseur de moins de 10 μm qui limite les pertes de l'eau de l'œuf (fig.2). Le lavage entraîne une 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.

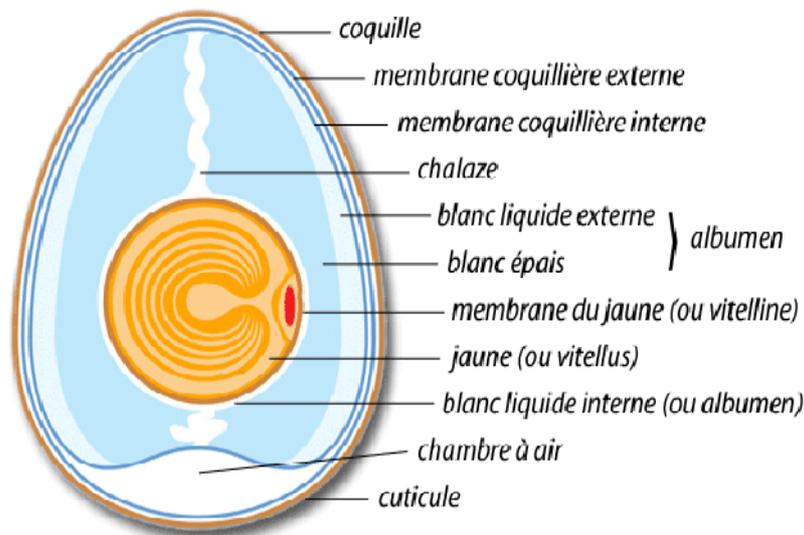


Figure 2 : Schéma représentatif de la structure de l'œuf de poule (**Bibbal, 2012**)

1.1.4.- Composition de l'œuf

La composition d'œuf qui pèse 60 gramme est réparti comme suite (fig. 3) :

- Le jaune prend environ 30% du poids de l'œuf, le blanc de 60% et la coquille 10% du volume de cet œuf.
- Le jaune se compose dans la matière sèche d'environ **30%** des protéines (les 2/3 sous forme de lipoprotéines), **69%** des lipides dont 46% des triglycérides, 20% de phospholipides (lécithine, et cephaline) et 3% des stérols, comme se compose aussi d'environ 1% des minéraux (surtout du phosphore et du fer), des vitamines (surtout A, D, E, certaines B, mais aussi K, PP), et des pigments (carotènes et xanthophylles).

- Le blanc est constitué très majoritairement d'eau (90% environ), mais aussi de glycoprotéines (ovalbumine essentiellement), de sucres (glucose) et de sels minéraux. Les lipides y sont uniquement à l'état de traces, de même que les vitamines.

- La coquille contient 99% de matière sèche dont 95% de sels minéraux et 4% de protéines (Bibbal, 2012).

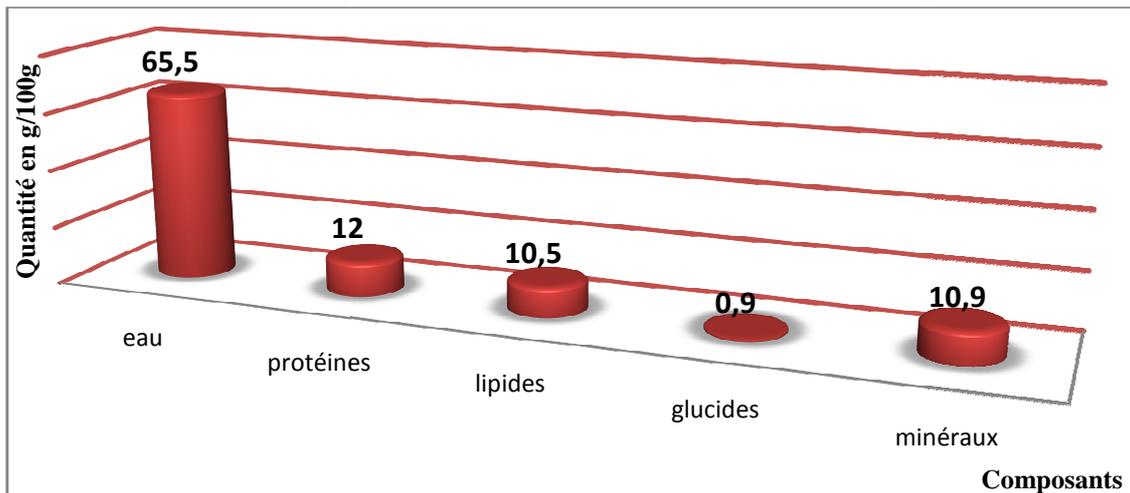


Figure 3 : Composition de l'œuf (en g/100g d'œuf frais entier) (Saveur et Reviers, 1988)

En effet, la coquille renferme 95,1 % de minéraux composés de 93,6 % de carbonate de calcium et 6,4 % de manganèse.

1.2.- Importance nutritionnelle et économique de l'œuf

Un œuf est riche en protéines (7 g.) et en lipides (7 g.) équivalent à 77 k. calories. Cet aliment constitue une source nutritionnelle importante et économique (Bibbal, 2012)

.. Source de protéines très équilibrée, contient tous les acides aminés essentiels (Valeur Biologique proche de 100)

.. Source de vitamine (A, B et D) surtout dans le jaune d'œuf.

.. Source de magnésium et de fer et de phosphore (phosphoprotéines)

.. Teneur en cholestérol considérée à tort comme gênante: la cholestérolémie n'est pas liée au cholestérol ingéré, mais à l'ingestion de graisses saturées, et à la synthèse hépatique (hypercholestérolémies familiales).

Dans le tableau I, sont présentées les valeurs biologiques de quelques aliments en comparaison avec celui de l'œuf.

Tableau I: Comparaison de la valeur biologique de quelques aliments avec l'œuf

Aliments	Acides aminés (AA) Limitant	Valeur biologique en (CUD)
Poisson	aa soufrés	23
Viande de bœuf	Méthionine	76
Riz	Lysine	75
Blé	Lysine	67
Œuf entier	Néant	96
Lait de vache	aa soufrés	90

(Blum et Sauveur, 1996)

Cette importance nutritionnelle de l'œuf justifie entre autres considérations son intérêt économique.

Les pertes de production d'œufs de consommation proviennent des conditions d'élevage, mais aussi du déclassement des œufs en raison des altérations qu'ils ont subi au cours de stockage. Les altérations portent soit sur l'ensemble de l'œuf, soit sur la face interne de la membrane coquillière ou alors sur l'albumen (Jirvu *et al.*, 2005).

1.3. Importance hygiénique et médicale

Les œufs de consommation ont une importance hygiénique et médicale en raison des conséquences pathologiques qu'ils entraînent chez le consommateur. C'est l'aspect déterminant qui pose le problème de santé publique. Les toxi-infections d'origine alimentaire sont secondaires à l'ingestion d'aliments contaminés, essentiellement par des micro-organismes pathogènes ou leurs toxines (Tremolieres, 1988).

La prolifération bactérienne dans l'œuf résulte de contamination après rupture du système protecteur de l'œuf (coquille, cuticule) dont le vitellus constitue un excellent milieu de culture pour les germes. Signalons enfin que l'œuf peut être également responsable d'après Sow (2008) :

- D'intolérances postprandiales (nausées, vomissements) par effets d'anesthésie sur les voies biliaires sécrétrices avec spasmes douloureux ;
- D'allergies (céphalées) due à l'ovalbumine. L'œuf vieux peut provoquer aussi des intolérances (troubles digestifs, cutanés, nerveux, respiratoires) dues à des amines de décarboxylation telles que l'histamine ;
- D'insuffisances hépatiques : cirrhose, infarctus.

1.4.- La qualité de l'œuf de consommation :

L'œuf, comme tout autre aliment qu'il soit d'origine animale ou végétale, doit être exempt d'agents microbiens nuisibles ou de métabolites toxiques (antibiotiques) capables d'engendrer des maladies chez le consommateur. Il faut rappeler que les œufs sont de bonne qualité microbiologique tant que la coquille est préservée (**Gueye, 1999**).

1.5.- Conservation de l'œuf de consommation

Quelles que soient les procédés mis en œuvre pour la conservation de l'œuf, ceux-ci ne doivent être appliqués qu'à des œufs très frais et de bonne qualité.

Les œufs laissés à la température de la pièce perdent en une journée autant de fraîcheur qu'en une semaine dans des conditions adéquates d'entreposage, alors que le froid constitue le meilleur des moyens de conservation des œufs. Ces derniers se conservent plus d'un mois au réfrigérateur et la chaîne frigorifique mérite d'être respectée (**Dupin et al 1992**).

1.6.- La contamination de l'œuf

La contamination de l'œuf se fait soit au cours de la formation et à la ponte de l'œuf "c'est la contamination endogène ou primaire", soit après la ponte au moment du vieillissement de l'œuf "c'est la contamination exogène" (**Sow, 2008**).

➤ **Contamination endogène :** Elle concerne diverses substances éliminées dans l'œuf par le métabolisme de l'organisme, ou divers agents bactériens excrétés par la poule pondeuse infectée.

- La contamination par les métabolites toxiques survient au stade de la formation du vitellus, dans lequel ils s'accumulent. Leur consommation par l'homme provoque des maladies aiguës ou chroniques, voire des antibiorésistances.

- Les agents bactériens colonisent les œufs soit à partir de l'ovaire infecté, soit au cours de leur migration dans l'oviducte, notamment dans le vagin ou le cloaque. Les germes contaminants proviennent des maladies affectant les poules pondeuses telles que la salmonellose, la tuberculose et autres affections d'origine infectieuse.

➤ **Contamination exogène :** L'évolution ou le vieillissement de l'œuf dans les jours qui suivent la ponte, peut affecter certaines de ses propriétés physico-chimiques de manière aseptique ou septique. Le vieillissement aseptique de l'œuf n'est pas dangereux pour la santé de l'homme, à l'exception des œufs contenant des métabolites toxiques provenant de l'alimentation (dioxine, antibiotiques...).

1.7.- Aspects microbiologiques des œufs de consommation

Les bactéries contaminant les œufs peuvent être classées en deux groupes selon leur conséquence pour l'œuf ou pour le consommateur :

- Une flore saprophyte responsable d'altération des œufs ;
- Une flore pathogène pour le consommateur.

Selon Guiraud et Galzy (1980), le pouvoir pathogène de ces bactéries peut dépendre de plusieurs facteurs aidant ainsi à distinguer plusieurs espèces :

- **Espèces à pouvoir infectieux** : elles agissent par envahissement de l'hôte. Elles provoquent alors ce qu'on appelle une infection. C'est le cas par exemple des streptocoques et des salmonelles.
- **Espèces à pouvoir toxigène** : ces espèces libèrent des toxines dans l'aliment et provoquent une intoxication chez le consommateur. Les staphylocoques appartiennent à ce groupe.
- **Espèces à caractère mixte** : elles ont à la fois un pouvoir infectieux et un pouvoir toxigène. Elles provoquent des toxi-infections, comme le cas des salmonelles.

1.7.1.- La contamination par les bactéries

La contamination bactérienne induit des pourritures dont l'aspect et l'odeur sont assez caractéristiques du germe en cause ; ainsi *Pseudomonas* et *Proteus* sont responsables d'une pourriture noire avec production de gaz sulfurés. Ces pourritures se caractérisent par une liquéfaction du blanc, souvent un durcissement déformé du jaune. Il est à souligner que les œufs pourris sont répulsifs par leur aspect, odeur et couleur. Ils sont assez toxiques par les produits de décomposition, en particulier les amines de décarboxylation des acides aminés. Au bout de quelques jours de stockage, le jaune d'œuf a tendance à se déplacer vers la périphérie ; sa contamination est ainsi facilitée.

La position horizontale met le jaune en contact avec la coquille. La position verticale, petit bout en bas, élimine ce risque, le jaune d'œuf étant bloqué par la chambre à air. Enfin, la conservation de l'œuf peut être alors prolongée (Vierling, 2008).

➤ **Germes saprophytes d'altération** : Ce sont des germes généralement dépourvus de tout pouvoir pathogène vis-à-vis des consommateurs. Ils appartiennent surtout au groupe des Gram négatifs avec deux grandes familles à savoir les Enterobacteriaceae et les Pseudomonaceae (Sow, 2008).

- Les Entérobactéries en cause regroupent les genres *Proteus*, *Serratia* ainsi que les coliformes (*Escherichia*, *Citobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*).

- Les bactéries saprophytes de la famille des Pseudomonaceae que l'on retrouve dans les œufs sont représentées essentiellement par le genre *Pseudomonas*. Les bactéries contaminent et altèrent de façon significative la qualité organoleptique des œufs. Seuls les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires chez le consommateur, lorsque leur nombre est fortement élevé dans la denrée.

➤ **Germes pathogènes :** Ces germes qui sont responsables de troubles plus ou moins graves chez le consommateur, appartiennent aux genres *Salmonella*, *Staphylococcus* et *Clostridium*. Ils ont donc une portée sanitaire et hygiénique pour les consommateurs (**Sow, 2008**)

1.7.2- Contamination par les Salmonelles

Depuis 1988, des élevages industriels ou fermiers de poules pondeuses sont infectés par les salmonelles ; ceci a eu pour conséquence de nombreuses et graves toxi-infections alimentaires. Les analyses ont montré que c'est généralement le blanc et la membrane vitelline qui sont contaminés. Le nombre de Salmonelles initialement présentes reste faible, moins de 10 par gramme d'œuf. Des études scientifiques indiquent qu'une prolifération des salmonelles dans les œufs contaminés qu'après une période de stockage de 21 jours à 18° C. Les contrôles plus spécifiques des élevages, un temps de stockage limité avec application adéquate de réfrigération, l'utilisation correcte des œufs lors des préparations de plat à base d'œufs ont permis la diminution de la fréquence de cette toxi-infection qui se manifeste après l'ingestion d'un nombre seuil suffisant de bactéries (**Vierling, 2008**)

Deux règlements de la communauté européenne (CE) en 2006 ont pour objectif la réduction et la maîtrise de la prévalence des salmonelles chez les poules pondeuses par la mise en œuvre de programmes nationaux. La vaccination des poules obligatoire à partir de 2008 dans les états membres caractérisés par une prévalence égale ou supérieure à 10% et les impositions de restriction d'ordre commercial si nécessaire (**Vierling, 2008**)

1.8.- Les résidus de l'œuf

Les résidus sont des substances pouvant apparaître dans les denrées alimentaires par suite de l'utilisation de médicaments vétérinaires ou de produits phytosanitaires. Il s'agit de traces indésirables de médicaments ou de produits phytopharmaceutiques ou de dérivés de ceux-ci dans le produit final (**Chataigner et Stevens, 2003**).

1.8.1.- Les résidus d'antibiotiques

Ce sont les résidus d'antibiotiques qui vont poser problème, il faut distinguer :

- Les antibiotiques qui sont utilisés en additif alimentaire comme facteurs d'efficacité, ceux-ci traversent peu ou pas la barrière intestinale donc on ne peut les trouver dans les œufs.
- Les antibiotiques qui sont utilisés dans un but curatif, leur passage dans l'œuf peut être non négligeable mais en raison de leur demi-vie courte (1 jour à 1 jour et demi) ils devraient cesser d'apparaître rapidement après la fin du traitement.
- Le problème de résidus est également lié à la présence de pesticides ou insecticides qui peuvent dégrader la qualité de la coquille, des études ont démontré un taux de contamination qui avoisinerait les 90%, heureusement les doses rencontrées n'ont jamais dépassé les taux fixés par l'organisation mondiale de la santé (**Protais, 1988**).
- Les résidus de coccidiostatiques vont également poser problème, en effet une contamination croisée accidentelle lors de la préparation de la nourriture, peut être à l'origine de résidus dans les œufs (**Huyghebaert et al, 2005**)

1.9.- Les toxi-infections alimentaires de l'œuf

Un foyer de toxi-infections alimentaires collectives est défini par l'apparition d'au moins 02 cas groupés d'une symptomatologie similaire en général digestive (gastro-intestinale) dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

1.9.1- Epidémiologie

Les TIAC sont secondaires à l'ingestion d'aliments contaminés. Le plus souvent, il s'agit de volailles ou d'aliments à base d'œufs préparés ou conservés dans de mauvaises conditions. De nombreux micro-organismes peuvent être incriminés dont les trois principaux sont *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Clostridium perfringens* (**Mouas et Bouchaud, 2000**). Il faut ajouter que la fréquence de ces TIAC est élevée y compris dans les pays industrialisés. En 1997 en France, plus de 7000 cas ont été rapportés parmi lesquels 10% ont été hospitalisés et 5/10 000 sont morts.

1.9.2.- Pouvoir pathogène

Chez l'homme, les salmonelles sont responsables d'après **Pilet et al., (1983)** :

- de la fièvre typhoïde due à *Salmonella typhi*, ou de fièvre paratyphoïdes généralement provoquées par *Salmonella para typhi* A, B, et rarement C.
- de gastro-entérites à *Salmonella* dues à des sérotypes autres que ceux cités précédemment, dont il s'agit le plus souvent de *Salmonella typhimurium* et *S. enteritidis* qui occupent la première place dans l'étiologie des toxi-infections alimentaires collectives.

1.9.3.-Recommandations pour la prévention de la salmonellose à *Salmonella* associée à la consommation d'œufs

Pour la prévention, voici les recommandations donnés par (**Beaudoin et al., 1997**).

- La consommation d'œufs crus ou insuffisamment cuits devrait être évitée, particulièrement pour les personnes immuno-compromises (allergiques);
- Dans les centres hospitaliers, et les établissements de restauration, les œufs pasteurisés devraient remplacer les œufs en coquille dans les plats à base d'œufs crus ou insuffisamment cuits ;
- Les œufs devraient être cuits à 63° C. et plus, pendant plus de 15 secondes (jusqu'à ce que le blanc soit complètement cuit et que le jaune commence à épaissir) et devraient être mangés immédiatement après la cuisson ;
- Les mains, les ustensiles et les surfaces de travail devraient être lavés avec de l'eau et du savon après un contact avec des œufs crus ;
- Les œufs devraient être réfrigérés à 5° C. et moins, en tout temps

1.10.- Réglementation internationale sur les œufs

Les politiques de qualité dans la filière œuf sont basées sur une réglementation assez rigoureuse, comme c'est le cas de la CEE (communauté économique européenne) en général et de la France en particulier.

1.10.1.- Réglementation européenne sur les œufs

Le règlement CEE concernant certaines normes de commercialisation applicables aux œufs a été adopté par le conseil des communautés européennes le 26 Juin 1990 à Luxembourg. Ce règlement qui comporte 24 articles classe d'abord les œufs en fonction de leurs poids (catégories de poids de 5 en 5 g). Il cherche ensuite à prendre en compte l'âge de l'œuf par appréciation de la hauteur de la chambre à air (catégorie qualitative). Par ailleurs un

autre Arrêté promulgué en 1986 donne des indications autorisées sur le mode d'élevage des poules (**Rosset, 1978**).

Concernant la composition microbiologique, il n'existe pas de normes bactériologiques spécifiques aux œufs en coquille. La réglementation dit tout simplement qu'il ne doit pas y avoir de germes pathogènes (**Dayon et Arbelot, 1997**).

1.10.2.- Réglementation française sur les œufs de consommation

Cette réglementation porte essentiellement sur la qualité bactériologique des œufs. Ainsi, le Décret du 15 Juin 1939 réglemente les motifs de saisie des œufs. L'Arrêté du 21 Décembre 1979 (**Dayon et Arbelot, 1997**) établit les critères microbiologiques pour les ovoproduits, pâtisseries et crèmes pâtisseries.

En effet, six Arrêtés interministériels sont mis en place par le Ministère français de l'Agriculture et de la pêche pour lutter contre les salmonelles en amont de la chaîne alimentaire (**Habamenshi, 1994**). Parmi ces arrêtés, deux concernent spécifiquement la filière «ponte d'œufs de consommation».

-. Le premier est relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella enteritidis* ou *Salmonella typhimurium* dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* en filière ponte d'œufs de consommation ;

-. Le deuxième concerne les modalités de la participation financière de l'Etat à la lutte contre les infections à *Salmonella enteritidis* ou *Salmonella typhimurium* dans les mêmes troupeaux. Outre leur action de sensibilisation des consommateurs aux bonnes pratiques d'hygiène, leur permettant d'être des acteurs de la qualité de leurs aliments, des Arrêtés visent à réduire drastiquement les principales sources de contamination de la chaîne alimentaire par cette bactérie qualifiée « d'ennemi n°1 des hygiénistes ».

1.10.3.- Réglementations sur les résidus d'antibiotiques

Les risques que présentent les résidus en matière de la santé publique font que l'on ne peut pas se passer de réglementer l'usage des antibiotiques, et de contrôler les résidus qu'ils sont susceptibles de former dans les produits d'origine animale. En Europe par exemple, la réglementation en matière de résidus est organisée par le règlement (CEE N°2377/90 du Conseil du 26 Juin 1990) (**Niyibizi, 2012**) qui fixe les LMR (limite maximale en résidus) appliquées dans les pays de la CEE.

2.1.- Objectif de l'étude

Le présent travail porte sur l'étude de la qualité hygiénique et marchande de l'œuf entier cru, réalisé au laboratoire de microbiologie de Saidal de Médéa dont la durée d'expérimentation s'est étalé sur 3 mois d'avril au juin 2013.

Le but de l'étude est la recherche des germes pathogènes ; en particulier les salmonelles, et les germes non pathogènes dans l'œuf entier cru, afin de mieux connaître la réalité de notre terrain quand à l'existence d'œufs éventuellement contaminés.

2.2.- Matériel

2.2.1.- Matériel biologique

Le matériel biologique est composé d'œufs ramenés de différents points de vente dont le nombre totale égale à 225 œufs qui sont répartis comme suite (tab. II).

Tableau II : Nombre d'échantillons et quantité d'œufs achetés dans différents points de vente.

Points vente	Paramètres	Nombre de lots	Nombre d'échantillon	Quantité d'œufs
Marchés		5	15	45
Epicerie		5	15	45
Boucheries		5	15	45
Grossistes		5	15	45
Marchands ambulants		5	15	45
Total		25	75	225

NB : Il faut rappeler que chaque échantillon est composé de 3 œufs, et qu'on a prélevé de chaque lot (plateau de 30 œufs) 3 échantillons.

L'intérêt de cet échantillonnage est de comparer les œufs ramenés de différents points de vente sur le plan de leur caractéristique bactériologique et hygiénique et sur le plan qualitatif.

2.2.2.- Matériel non biologique

L'ensemble d'outils employés dans les laboratoires de microbiologie médicale et alimentaire du groupe Saidal (Médéa) est placé en annexe 1.

2.3.- Méthodes

2.3.1.- Echantillonnage

a.- Circuit de commercialisation des œufs de consommation

Le consommateur s'approvisionne normalement en œufs chez le détaillant, mais lui aussi peut se procurer des œufs directement chez le grossiste ou au niveau des élevages de volailles "poule pondeuse" (fig. 4).

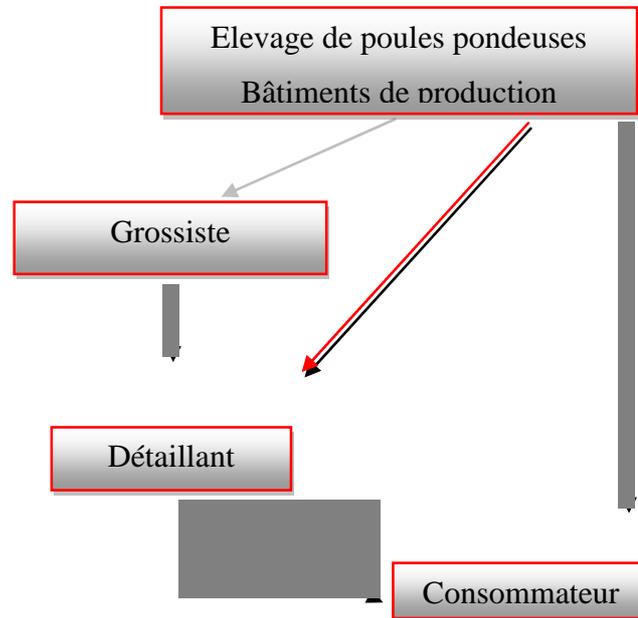


Figure 4: Schéma descriptif de circuit de commercialisation des œufs de consommation.

b.- L'échantillon

Les œufs sont achetés du même point de vente et durant la même journée dont le nombre d'œuf par échantillon à été fixé à 03. Le protocole expérimental visant à rechercher particulièrement toute trace de *Salmonella* ou autres germes susceptibles d'être à l'origine de troubles liés à la santé du consommateur.

Le choix des œufs a été effectué de manière quelque fois volontaire afin de prouver le risque de leur utilisation dont les critères de l'état de l'œuf pris en considération sont les suivants :

- Craquelure de la coquille
- Coquille présentant des souillures (fèces, taches de sang ou poussières)
- Taches claires sur la coquille

Les œufs ramenés du commerce (tab. II) destinés à cette présente étude doivent suivre certaines conditions de conservations :

- Placer les œufs dans une glacière (4° C.) et les transporter immédiatement au laboratoire afin d'arrêter toute prolifération bactérienne.
- Chaque échantillon doit être étiqueté et numéroté.

Il faut rappeler que pour chaque point de vente visité, une fiche de renseignement à été établie, (annexe 2).

2.3.2.- Préparation des milieux de cultures

Au laboratoire, le milieu est pesé en poudre suivi par une simple dissolution des constituants dans l'eau distillé stérile en chauffant éventuellement le mélange, que l'en ramène par dilution au volume final 1000 ml (**Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012**). Les étapes de la préparation de ces milieux sont développées en annexe 3.

2.3.3.- Préparation de l'échantillon

Au laboratoire, l'œuf en entier utilisé pour l'analyse microbiologique est ouvert aseptiquement : après lavage rapide à l'eau. Ce dernier est immergé dans l'alcool (70 %) et le retirer immédiatement, lorsque l'alcool est évaporé. La coquille est ouverte à la pince stérile et directement versé dans un récipient stérile (fig. 5).

Bien mélanger la coule fraiche d'œuf (fig. 6) avec l'homogénéisateur pendant environ 15 secondes (**LEAA, 2013**). Puis on prélève de chaque échantillon 25 ml (fig. 7).



Figure 5 : Illustration de la mise en récipient de l'échantillon.

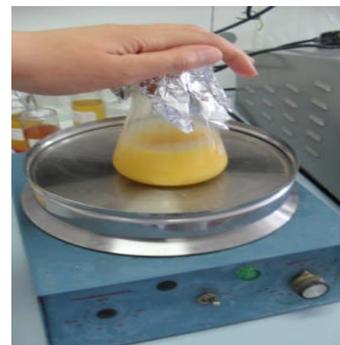


Figure 6: L'homogénéisation de la coule fraiche.



Figure 7 : Présentation de prélèvement des 25 ml.

2.3.4.- Préparation des dilutions de la coule fraîche

Toutes les manipulations doivent être réalisées stérilement sous des conditions strictes d'asepsie (Joffin et Joffin, 2010).

Préparation de trois dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) pour chaque échantillon avec de l'eau peptonée tamponnée (EPT) afin d'effectuer l'ensemencement (fig. 8).

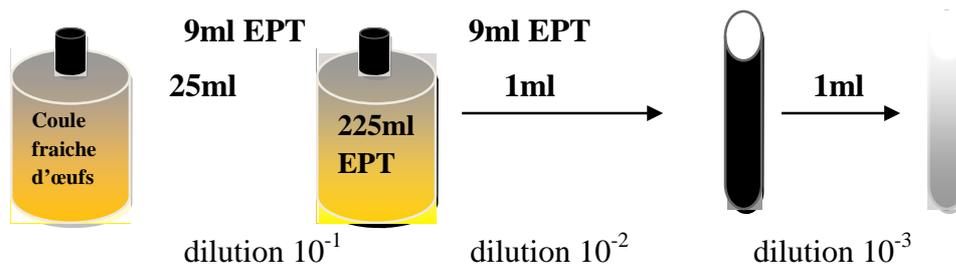


Figure 8 : Schéma descriptif de la préparation des dilutions de la coule fraîche d'œuf.

2.3.5.- L'étude bactériologique

Cette étude consiste à la recherche de certains germes pathogènes et non pathogènes indiqués dans le tableau III.

Les normes utilisées sont celles fixées par la directive CEE n° 89/437 de 20 juin 1989.

Tableau III : Germes recherchés dans la matrice d'œuf entier cru

	Milieu utilisé	Les dilutions	Tolérance analytique
Salmonelles	XLD	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	Absence dans 25ml
Flore aérobie mésophile totale	PCA	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	10^4 à 10^5 UFC/ml
Entérobactéries	VRBG	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	100 UFC/ml
Staphylocoques	CHAPMAN	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	Absence dans 1ml
<i>Escherichia coli</i>	MCA	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	10 UFC/ml
<i>Pseudomonas</i>	CAB	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	10 à 100 UFC/ml

XLD : xylose, lysine désoxycholate ; **PCA** : Plate Count Agar ; **VRBG** : gélose Glucosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre ; **MCA** : Mac Conkey Agar ; **CAB** : Cetrimide-Agar Base

a.- Protocole expérimental pour la recherche des Salmonelles

La recherche des Salmonelles nécessite quatre phases successives qui sont donnés comme suite :

- **Phase de pré-enrichissement (revivification)**

Cette phase permet de revivifier les salmonelles en état physiologique endommagé effectué en milieu liquide non sélectif ‘eau peptonée tamponnée’, dans un flacon stérile et bien fermé (fig. 9).

L’incubation est réalisée entre 16 et 24 heure et à 37°C.



Figure 9 : les milieux de pré-enrichissement.

- **Phase d’enrichissement**

Elle sert à multiplier sélectivement les salmonelles, en ajoutant 1 ml de milieu de pré enrichissement à 10 ml de bouillon au sélénite, puis incubé à 37° C. pendant 24 à 48 h.



Figure 10: Présentation d’ un tube enrichi et incubé.

- **Phase d'isolement**

Cette phase a été réalisée par le milieu xylose, lysine désoxycholate (XLD) de sodium adopté par le laboratoire d'analyse microbiologique de Saidal de Médéa (fig. 11).

Selon la **C.E (2011)**, le milieu XLD inhibe la croissance des germes Gram+ et partiellement celles des entérobactéries (*Klebsiella*, *Enterobacter*, et *Citrobacter*) dont l'incubation est réalisée à 37° C. pendant 24 h. Sur ce milieu, il est à signalé que *Salmonella* donne des colonies jaune-rouge (*Salmonella* H2S-) avec un centre noir (*Salmonella* H2S+).

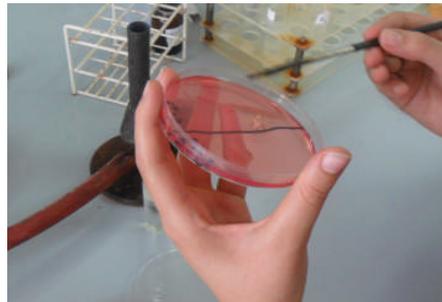


Figure 11 :L'ensemencement sur gélose XLD.

- **Phase d'identification**

Pour l'identification, on prélève au minimum deux colonies correctement isolées, considérées comme caractéristiques et/ou suspectes.

La reconnaissance des colonies de Salmonelles ne permet pas d'identifier *Salmonella* mais donne une bonne présomption.

- **Identification biochimique**

Généralement, la présomption de présence de *Salmonella* suffit pour satisfaire aux buts de l'analyse, et cette présomption est acquise dès la fin de l'isolement (colonies blanchâtres avec un centre noir).

On a adopté par un système de type API 20E.

Les étapes d'identification biochimique de *Salmonella* sont résumées comme suite (fig. 12).

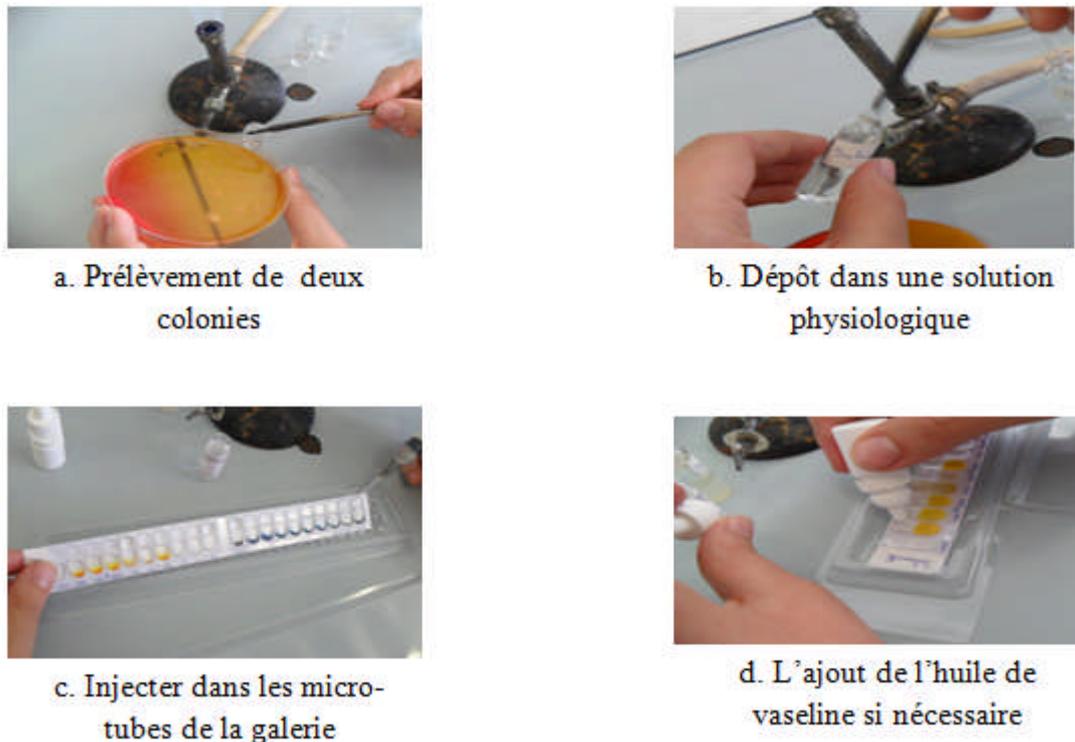


Figure 12 : Représentation des étapes d'identification biochimique de *Salmonella*.

- La galerie est incubée pendant 24 heures à 37° C.
- On ajoute les réactifs nécessaires.
- On fera la lecture et l'expression des résultats de la galerie Api à l'aide d'un catalogue analytique, et un tableau de lecture, (voir annexe 6).

b.- Recherche et dénombrement de la flore aérobique mésophile totale (FAMT)

Le dénombrement de FAMT est réalisé sur gélose PCA (Plate Count Agar).

- 1 ml de chaque dilution est prélevé puis introduit aseptiquement dans une boîte de Pétrie vide et stérile ;
- Compléter avec environ 15 ml de gélose PCA, par ensemencement en masse ;
- Faire des mouvements en 8 et de va et vient pour bien homogénéiser ;
- Laisser solidifier, puis incuber à 30° C. pendant 72 h. (les boîtes de Pétrie étant retournées).

➤ Lecture et expression des résultats

Lors du dénombrement on comptabilise le nombre des colonies blanchâtres en masse de tailles différentes, compris entre 30 et 300 colonies calculant le nombre d'unité formant des colonies par millilitre (UFC/ml) de produit en multipliant par l'inverse de la dilution.

c.- Recherche et dénombrement des entérobactéries

On effectue le dénombrement sur gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre, (VRBG).

-. A partir de la suspension mère et les dilutions décimales on met 1 ml dans des boîtes de Pétrie stériles vides préparées à cet usage et numérotées.

-. On coule 12 à 15 ml de la gélose VRBG fondue puis on refroidit à 45° C.

-. Par la suite on mélange l'inoculum en milieu, on laisse solidifier sur la paillasse et on coule en surface environ 5 ml de gélose blanche.

-. A la fin on laisse solidifier puis on place les boîtes retournées dans une étuve à 37° C. pendant 24 h.

➤ Lecture et expression des résultats

On dénombre les colonies rouges ou roses violacées et on ne sélectionne que les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies. Puis on multiplie toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ensuite on calcule la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions et le résultat s'exprime en UFC/ml.

d.- Recherche des Staphylocoques

Pour la recherche des Staphylocoques, 0,1 ml (2 gouttes) de la dilution est déposée dans une boîte de Pétrie contenant une gélose au mannitol, au chlorure de sodium et au rouge de phénol (CHAPMAN) solidifiée au préalable.

-. On étale ensuite l'inoculum en strie à l'aide d'un écouvillon stérile, ce milieu est sélectif de bactéries à Gram positives, son pouvoir inhibiteur est obtenu par de fortes concentrations de chlorure de sodium (75 g/l) qui sélectionnent les micro-organismes halophiles parmi lesquels figurent les *Staphylococcus* sp., elle est aussi un milieu différentiel ; parmi les espèces de *staphylococcus* celle d'*aureus* forme des colonies entourées d'un halo jaune dû à la fermentation du mannitol qui est une source de carbone.

-. L'incubation est faite à 37° C. pendant 48 h.

➤ Lecture et expression des résultats

On dénombre toutes les colonies lisses, jaunes dorées luisantes et on multiplie toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution. Ensuite on calcule la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions, et le résultat s'exprime en UFC/ml.

➤ Confirmation

On fera une identification morphologique (coloration de Gram) et biochimique (Galerie Api) pour les colonies caractéristiques.

e.- Recherche d'*Escherichia Coli*

L'inoculum déjà enrichi dans le bouillon sélénite peut être utilisé pour la recherche d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas*.

-. La gélose Mac Conkey Agar est utilisée pour l'ensemencement et l'isolement d'*E.coli*. Les sels biliaires ou les colorants comme le cristal violet et le rouge neutre favorisent la croissance des bactéries Gram négatif, car ils inhibent celle des bactéries Gram-positives sans affecter les premières.

-. Porter aseptiquement 0,1 ml du tube enrichi, sur la boîte contenant la gélose Mac Conkey Agar, et ensemer en strie puis incubé à 44° C. pendant 24 h.

➤ Lecture et expression des résultats

Sur ce milieu les colonies d'*E. Coli* apparaissent rondes de couleur rose-rouge.

-. On compte toutes les colonies ayant poussées sur la boîte, puis on multiplie les nombres trouvés par l'inverse de la dilution correspondante.

-. Le résultat s'exprime toujours en UFC/ml.

➤ Confirmation

On fera une identification morphologique (coloration de Gram) et biochimique (Galerie Api) pour les colonies caractéristiques.

En plus, le virage de la couleur du milieu XLD d'une même dilution issue d'un même échantillon vers le jaune, indique la présence d'*E. Coli*.

f.- Recherche des *Pseudomonas*

Cette recherche est réalisée sur la gélose CAB (Cetrimide-Agar Base), est un milieu sélectif des *Pseudomonas*.

-. 0,1 ml du milieu d'enrichissement sont prélevées et introduites aseptiquement sur la gélose CAB, afin de les ensemer en strie, puis incubé la boîte à 25° C. pendant 48 h.

➤ Lecture et expression des résultats

Les colonies des *Pseudomonas* sont faciles à identifier grâce à leurs caractères morphologiques qui sont granuleuses à bords réguliers ou un peu déchiquetés, de tailles

différentes, calculant le nombre d'unité formant des colonies par millilitre (UFC/ml) de produit en multipliant par l'inverse de la dilution correspondante.

➤ Confirmation

La confirmation se fera à l'aide de la coloration de Gram (annexe 5), et de la galerie Api.

2.3.6.- Confirmation des résultats par la recherche des résidus d'antibiotiques

Afin de confirmer les résultats obtenus, nous avons procédé à la recherche de résidus de 3 différentes familles d'antibiotiques fréquemment utilisés en élevage de poule pondeuse. Dans tous les échantillons (75 éch.) ayant subis une analyse bactériologique avec l'une des méthodes microbiologiques qui est la méthode de diffusion sur gélose.

a.- Le but

La méthode de diffusion sur gélose consiste à déterminer la présence des résidus d'antibiotiques à l'aide de micro-organismes sensibles (tab. IV) ; par l'apparition des zones d'inhibitions autour des puits. Ces derniers sont remplis par la coule fraîche d'œuf sur le milieu M11 (annexe 4), qui est utilisé spécialement pour le dosage des antibiotiques à différents pH.

b.- Les micro-organismes et les pH utilisés en fonction d'antibiotiques recherchés

Pour la réalisation de cette étape, on a utilisé 02 souches bactériennes actives à savoir *Bacillus subtilis*, (réf : ATCC 6633) et *Micrococcus luteus* (réf : ATCC 697/2). Ces souches sont conservées sous forme de suspension dans un milieu de conservation. Il faut rappeler que les souches bactériennes employées dans cette étude sont disponibles dans le laboratoire du groupe Sidal.

Tableau IV : Les micro-organismes utilisés en fonction de l'antibiotique utilisé

Famille d'antibiotique	Souche bactérienne	Milieu	pH milieu
Macrolides	<i>Micrococcus luteus</i> incubé à 37° C.	M 11	8
Polypeptides	<i>Micrococcus luteus</i> incubé à 37° C.	M 11	7,25
Tétracycline	<i>Bacillus subtilis</i> incubé à 30° C.	M 11	5,9

c.- Principe

On commence par l'ensemencement de la souche bactérienne dans le milieu M11 coulé en boîte de Pétrie, puis on creuse des puits de 5 mm de diamètre, et à l'aide d'un écouvillon on dépose environ 200 µl de la coule fraîche à l'intérieur (fig. 13).

On termine par l'incubation des boîtes.

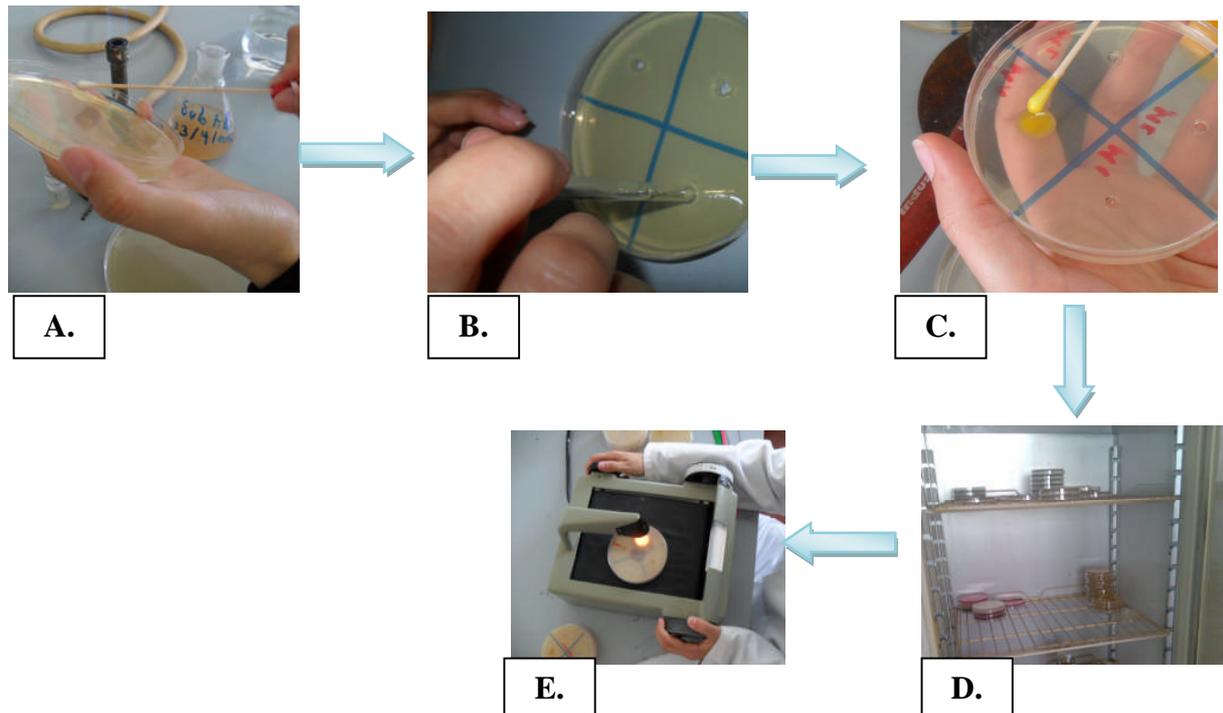


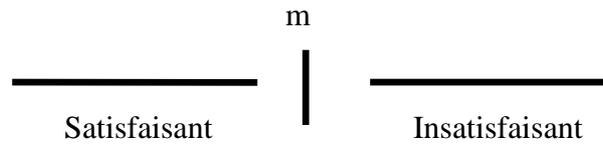
Figure 13 : Schéma descriptif des étapes d'une méthode microbiologique pour la recherche des résidus d'antibiotique dans l'œuf.

A.- Ensemencer la souche bactérienne
B.- Creuser des puits sur la gélose
C.- Remplir les puits par la coule fraîche

D.- Incuber les boîtes
E.- Observer la zone d'inhibition

2.3.7.- Formulation d'interprétation des résultats d'analyses bactériologiques

On a adopté la méthode d'échantillonnage microbiologique, qui est exprimé en fonction de plans à deux classes ou à trois classes, selon le niveau de risque. Les plans à deux classes sont utilisés quand on ne tolère pas, dans les aliments, la présence d'une contamination microbienne. Par ailleurs, l'échantillonnage à 3 classes est utilisé quand on tolère la présence d'un certain niveau de contamination.

Plan d'échantillonnage à deux classes**Plan d'échantillonnage à 3 classes**

Remarque : Les symboles utilisés dans les plans et leurs significations sont développés en annexe (n° 7).

a.- Qualité microbiologique conforme

Lorsque le résultat analytique est inférieur à « m ».

b.- Qualité microbiologique médiocre/acceptable

Le résultat analytique est supérieur à « m » sans dépasser « M ». Si $n > 1$, le nombre d'échantillon supérieur à « m » sans dépasser le « M » doit être inférieur ou égal à « c ». Le profil microbiologique se situe près des critères satisfaisants, mais laisse entrevoir des lacunes à corriger (application des bonnes pratiques de fabrication (BPF)).

c.- Qualité microbiologique insatisfaisante en regard des bonnes pratiques de fabrication

Principalement associés aux critères d'hygiène du procédé (CHP) ou d'altération dans les aliments prêts à consommer, cet énoncé s'applique lorsque le produit n'est pas encore altéré, mais que la valeur « c » ou « M » est dépassée. À ce moment, la signification se rattache aux mauvaises pratiques de fabrication et à une (des) situation(s) non contrôlée(s) de l'établissement.

Nb. Critères CHP: Germes aérobies mésophiles, entérobactéries.

d.- Qualité microbiologique non conforme

En présence des microorganismes indicateurs de santé 2, cette conclusion s'applique lorsque le résultat analytique est supérieur à « M » ou si le nombre d'échantillons de qualité médiocre est supérieur à « c ».

Nb. Critère de santé 2 : *E. Coli*, Staphylocoques.

e.- Qualité microbiologique inacceptable avec risque pour la santé humaine

La denrée alimentaire est considérée comme dangereuse :

Présence dans un aliment prêt à consommer, de microorganismes pathogènes comme les Salmonelles, de toxines microbiennes de santé 1 ou de microorganismes pathogènes de santé 2 à des concentrations correspondant aux doses infectantes ou toxigènes.

Dans le présent travail, on a observé que notre denrée (œuf) est contaminée par plusieurs micro-organismes.

Lors de l'interprétation, c'est le niveau « non conforme » qui est prioritaire sur le niveau « médiocre » même si le micro-organisme analysé médiocre est de santé 2 contre un micro-organisme de critère d'hygiène pour le non conforme.

Dans les tableaux qui suivent sont résumés la méthode d'interprétation des résultats bactériologiques.

Tableau V : Caractéristiques des risques associés à chaque germe

Germe	n	c	m	M	signification
<i>Salmonella</i>	5	0	Abs/25 ml		Critère de santé 1, Contamination de l'utérus de la poule
FAMT	5	2	10 ⁴ UFC/ml	10 ⁵ UFC/ml	CHP, indice de salubrité dans le contrôle industriel
Entérobactéries	5	2	10 UFC/ml	100UFC/ml	CHP, Absence d'hygiène lors de la ponte, conditionnement ou manipulation d'œuf
Staphylocoques	5	0	Abs/1ml		Critère de santé 2, Contamination fécale
<i>E. coli</i>	5	2	10 UFC/ml	/	Critère de santé 2, Contamination fécale
<i>Pseudomonas</i>	5	2	10 UFC/ml	100UFC/ml	Conservation non conforme

Abs : Absence

Tableau VI : Critères microbiologiques appliqués pour l'interprétation des résultats

	Résultats		
	< m	m<x<M ou >c	>M
<i>Salmonella</i> m=M	Conforme	/	Inacceptable risque pour la santé
FAMT	Conforme	Médiocre au regard de BPF	Insatisfaisant au regard de BPF
Entérobactéries	Conforme	Médiocre au regard de BPF	Insatisfaisant au regard de BPF
Staphylocoques	Conforme	/	Non conforme
<i>E. coli</i>	Conforme	Médiocre	Non conforme
<i>Pseudomonas</i>	Conforme	Médiocre	Non conforme

3.1.- Résultats

Dans ce chapitre seront présentés les résultats sur la qualité hygiénique et marchande de l'œuf entier cru. Cette étude a porté sur un total de 75 échantillons d'œufs issus des différents points de vente de la chaîne de commercialisation à savoir les marchés, les boucheries, les épiceries, les grossistes, et les marchands ambulants.

3.1.1.- Charge bactérienne des échantillons d'œuf

Nous nous sommes procuré le même nombre d'échantillons d'œufs (N = 15) afin d'effectuer une étude comparative et pouvoir situer le plus haut degré de contamination. Les résultats concernant la charge bactérienne trouvée dans les échantillons analysés, par rapport au type de points de vente sont rapportés en annexe 8, et sont résumés comme suite (tab.VII).

Tableau VII: Nombre d'échantillons contaminés par différents germes

Lieu d'achat \ Germes	Salm.	FAMT	Entérob.	Staph.	E.coli	Pseudo.
Marchés	1	7	5	0	3 et 3 Inc	1
Boucheries	0	3	8	0	4 Inc	0
Épiceries	0	6	9	0	4 Inc	1
Grossistes	1	8	7	0	1 et 3 Inc	3
Marchands ambulants	0	2	5 et 2 Inc	1	5 Inc	4

Inc : incomptables ; Salm. : Salmonelles ; Entérob. : Entérobactéries ; Staph. : Staphylocoques ; Pseudo. : *Pseudomonas*

La charge bactérienne s'étend sur 53,33% des coules fraîches d'œufs analysées. Cependant, le niveau de contamination varie selon la nature du germe et les lieux d'achat visités.

- La flore d'altération: flore mésophile totale, Entérobactéries et *Pseudomonas*
- La flore de contamination fécale : *Escherichia coli*
- La flore pathogène : Staphylocoques et Salmonelles

a.- Marchés : Nous avons observé la présence d'une seule colonie (10 UFC/ml) de Salmonelle, l'ennemie des œufs de consommation et de consommateur, et absence des staphylocoques. La flore de contamination fécale est présentée dans quelques échantillons dont la charge (18.10^3 UFC/ml) révéla la plus grande dans les 75 échantillons sans prendre en considération les charges incomptables. La flore d'altération a révéla la plus dominante avec de 13.10^4 UFC/ml de la flore mésophile totale (tab.a ; annexe 8).

b.- Boucheries : On a remarqué que les œufs des boucheries ont donné de meilleurs résultats, par l'absence de la flore pathogène et la flore de contamination fécale, sans mise en compte de la charge in comptable. Et une présence moyenne de la flore d'altération avec absence des *Pseudomonas* (tab.VII).

c.- Epicerie : Les œufs des épicerie ont révélé l'absence de la flore pathogène et la flore de contamination fécale sans considérer les charges in comptables d'*E. coli*, mais une présence importante de la flore d'altération dans plusieurs échantillons avec la présence des *Pseudomonas* (10^5 UFC/ml) dans un seul échantillon, 9 échantillons contaminés par les Entérobactéries et jusqu'à 23.10^4 UFC/ml de la FAMT (tab.c. annexe 8).

d.- Grossistes : On a obtenu de mauvais résultats avec $5,2.10^2$ UFC/ml de Salmonelles détectées dans l'échantillon 3 (tab.d ; annexe 8). La flore de contamination fécale est présente dans un seul échantillon. En plus la flore d'altération est signalée dans la majorité des échantillons avec la plus grande charge bactérienne ($2,9.10^5$ UFC/ml) de la FAMT.

e.- Marchands ambulants : C'est le seul lieu où on a trouvé la présence des Staphylocoques avec 40 UFC/ml (tab.e ; annexe 8). Il faut ajouter que 07 échantillons révèlent des charges in comptables, et 02 autres seulement sont contaminés par la FAMT (tab. VII). Ce résultat nous n'a pas permis de bien apprécier le niveau de contamination.

- Le tableau suivant récapitule les taux de contamination de chaque germe par l'ensemble des échantillons :

Tableau VIII : Nombre total d'échantillons contaminés suivant le germe

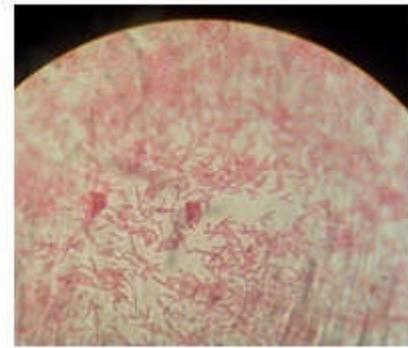
	Salm.	Staph.	E. coli	Pseudo.	FAMT	Entérobact.
Nombre d'éch. contaminés	2	1	23	9	26	34
Taux en %	2,66%	1,33%	30,66%	12%	34,66%	45,33%

3.1.2.- La coloration de Gram et l'identification biochimique

- Après vérification des boites de Pétri de chaque milieu, on a peut détecter les colonies caractéristiques de chaque germe et obtenir leurs apparitions macroscopique sous microscope optique (G x 100) avec l'ajout de l'huile à émersion (fig. 12, 13, 14 et 15).



Colonies blanchâtres avec centre noire

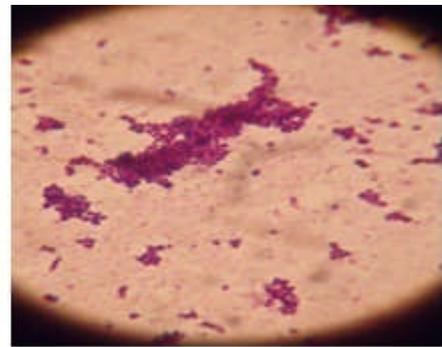


Bacilles Gram négatif

Figure 14: Apparition macroscopique et microscopique des Salmonelles (Photos originales)



Colonies jaunes, lisses brillantes des Staphylocoques

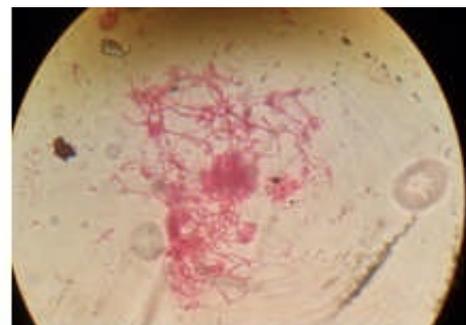


Coques en amas à Gram positif

Figure 15: Apparition macroscopique et microscopique des Staphylocoques (Photos originales)



Colonies rose-rouges et rondes des *Escherichia coli*

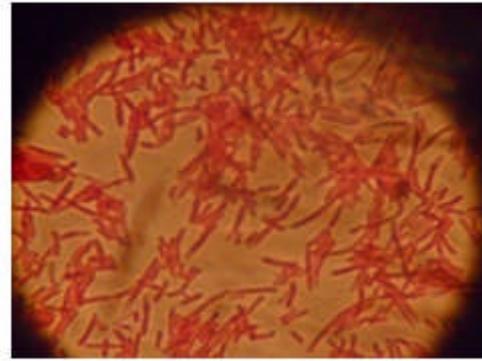


Longs bacilles à Gram négatif

Figure 16 : Apparition macroscopique et microscopique des *Escherichia coli* (Photos originales)



Colonies granuleuses et bords déchiquetés, des *Pseudomonas*



Bacilles, fins, droits et Gram négatifs

Figure 17 : Apparition macroscopique et microscopique des *Pseudomonas* (Photos originales)

- Les caractères biochimiques que nous avons pu identifier sur les boîtes suspectes sont figurés en annexe 9, et mentionnés dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats de l'identification biochimique

Germes Caractères	Salmonelles	Staphylocoques	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i>
ONPG	-	-	-	-
ADH	-	-	-	-
LDC	+	-	+	+
ODC	+	-	+	+
CIT	-	+	-	-
H ₂ S	-	-	-	-
URE	-	+	-	-
TDA	-	-	-	-
IND	-	-	+	-
VP	-	-	-	+
GEL	-	-	-	-
GLU	+	+	+	-
MAN	-	+	-	-
INO	-	+	+	+
SOR	-	+	-	-
RHA	+	+	-	-
SAC	-	+	+	+
MEL	+	+	-	-
AMY	-	+	+	+
ARA	+	+	-	-

(+) : test positif ; (-) : test négatif.

Les caractères figurant dans le tableau 9 correspondent à ceux de :

Salmonella pullorum, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli 2*, et *Pseudomonas cepacia*.

Cette identification biochimique nous a permis de confirmer nos résultats, particulièrement l'espèce *Salmonella pullorum* qui est responsable de la maladie Pullorose chez la poule.

3.1.3.- Confirmation de présence des résidus d'antibiotiques

➤ Vérification des boîtes

Après vérification des boîtes, on a observé :

- Une croissance bactérienne répartie sur toute la surface de la boîte de Pétri
- Une diffusion des échantillons d'œufs à travers les puits
- Apparition d'une zone claire circulaire autour de quelques puits d'échantillons d'œuf

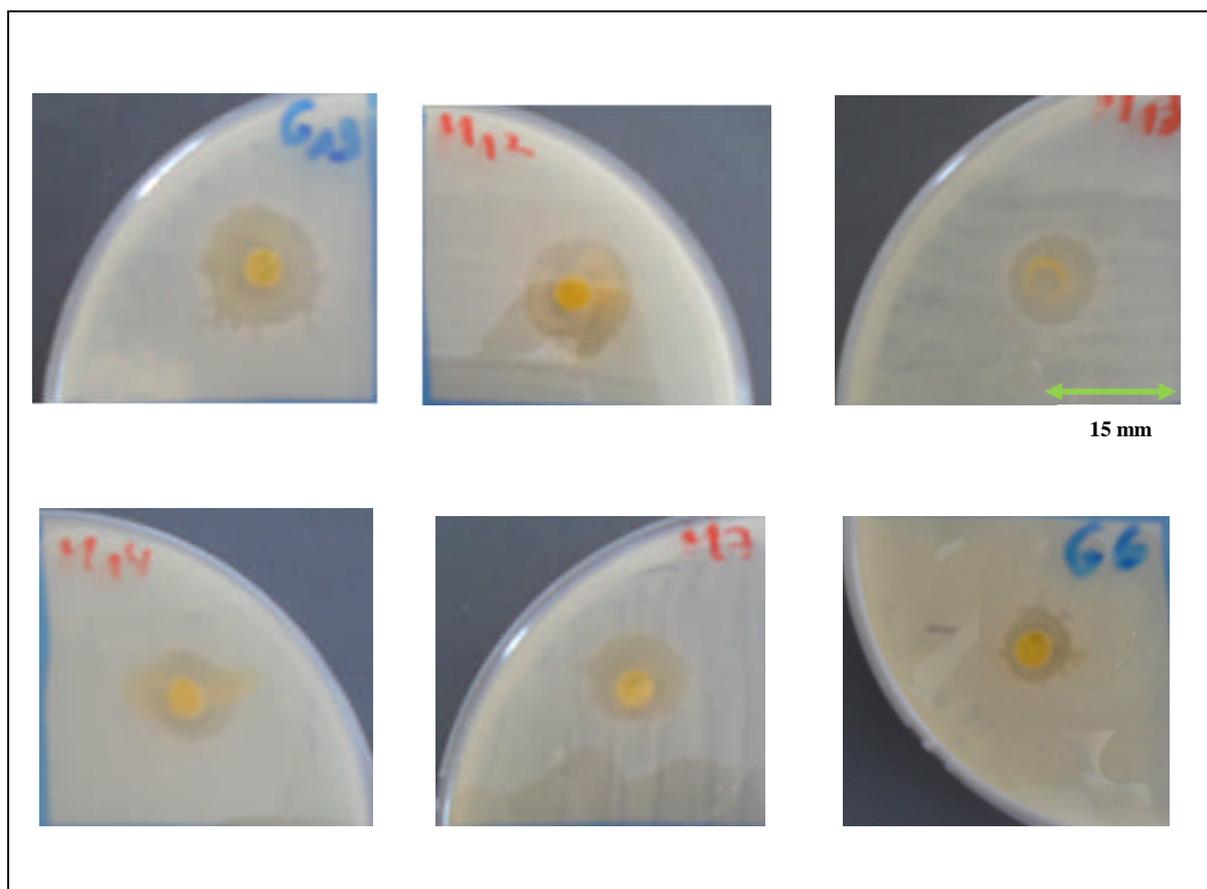


Figure 18 : Apparition zones d'inhibition de quelques boîtes (Photos originales).

Les résultats obtenus montrent la présence de 03 types de résidus d'antibiotiques à savoir les Macrolides, les Polypeptides et les Tétracyclines. Ces derniers sont signalés dans 54,66 % de l'ensemble d'échantillons d'œufs étudiés. Ils sont répartis sur 13,33% pour les Marchands ambulants, 12 % pour les Marchés, 11,55% pour les Epicerie, 11,11% pour les Boucheries et 6,66 % pour les Grossistries (a., b., c., d. ; annexe 10).

- Les échantillons des grossistries révèlent les plus propres en résidus des trois familles d'antibiotiques (absence dans les deux tiers = 66,67%)

- Les échantillons des marchands ambulants révèlent les plus contaminés par les résidus des trois familles d'antibiotiques (présence dans les deux tiers = 66,67%)

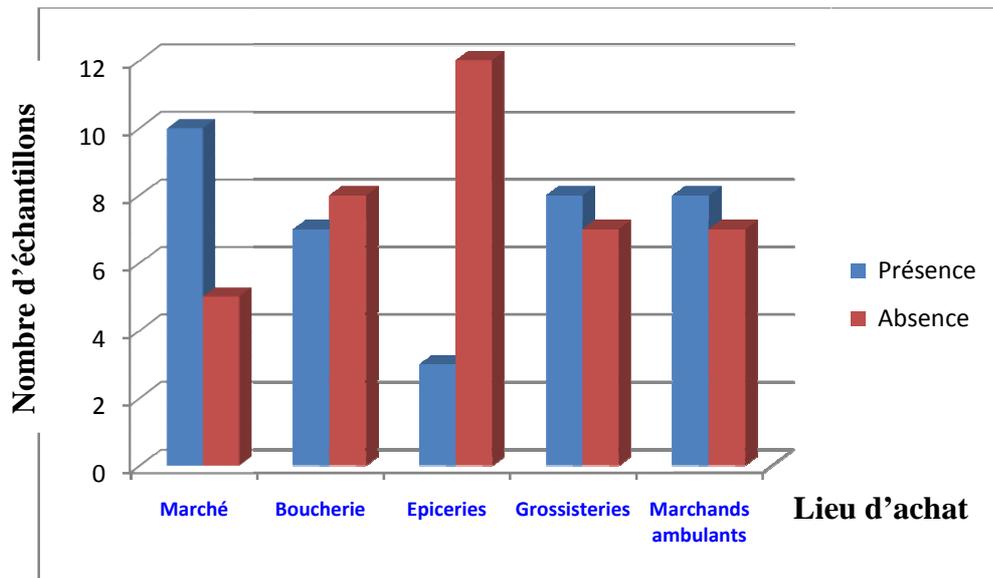


Figure 19 : Répartition des zones d'inhibitions au pH 8, des Macrolides

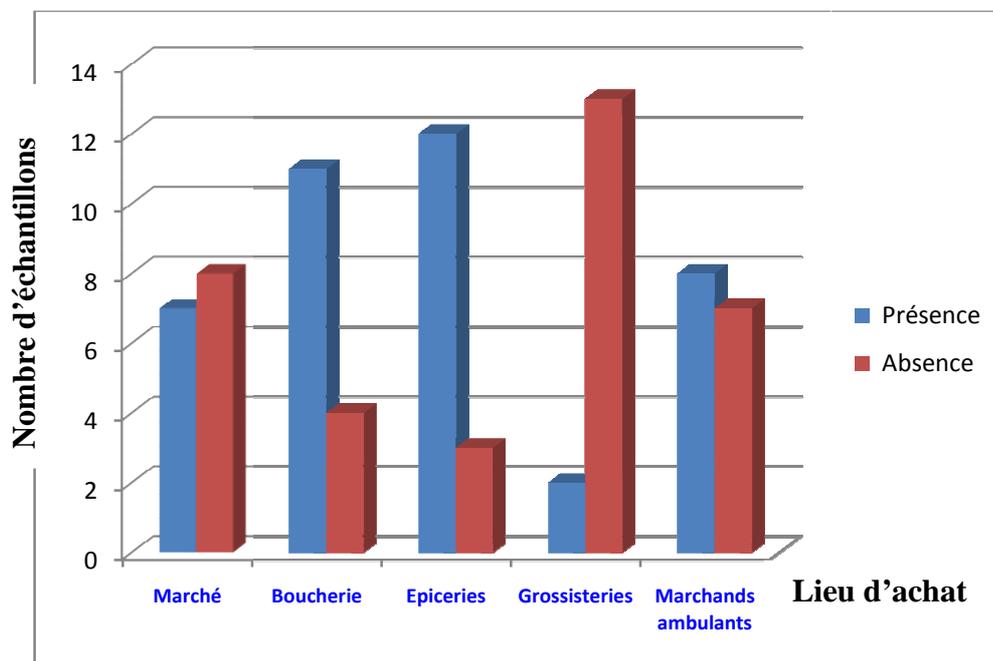


Figure 20 : Répartition des zones d'inhibitions au pH 7,25 des Polypeptides

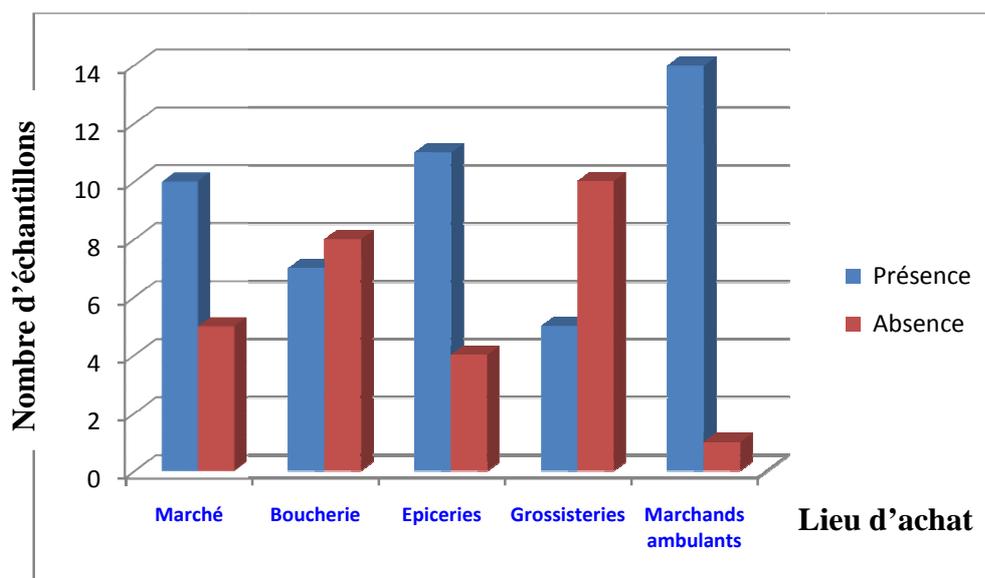


Figure 21 : Répartition des zones d'inhibitions au pH 5,9 des Tétracyclines

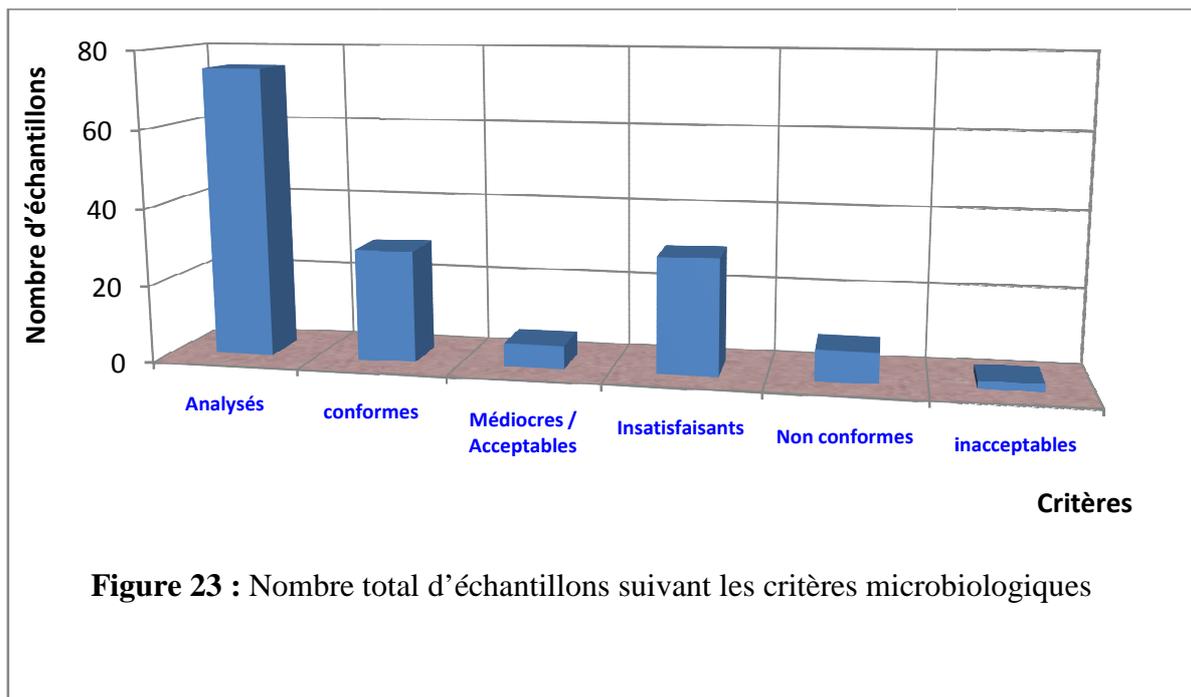
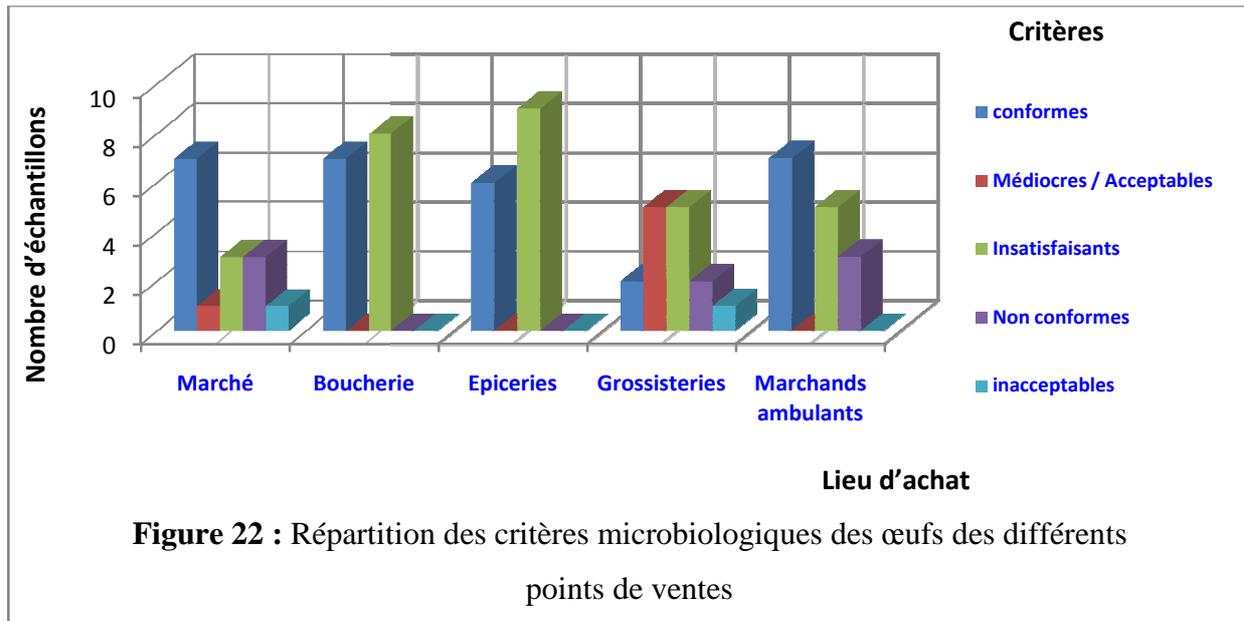
3.1.4.- Interprétation des résultats bactériologiques

Les résultats et les caractéristiques des risques associés à chaque germe sont résumés comme suite :

Tableau X : Interprétation des résultats bactériologique par l'application des critères microbiologiques

Echantillons	Analysés	Conformes	Médiocres / Acceptables	Insatisfaisants	Non conformes	inacceptables
Marchés	15	7	1	3	3	1
Boucheries	15	7	0	8	0	0
Epicerie	15	6	0	9	0	0
Grossisteries	15	2	5	5	2	1
Marchands ambulants	15	7	0	5	3	0
Total	75	29	6	30	8	2
%	100	38,66	08	40	10,66	02,66

Les résultats des critères microbiologiques montrent que les œufs ramenés des boucheries sont microbiologiquement les plus propres pour la consommation (tab. X, fig. 22 et 23).



Les résultats montrent que sur les 75 échantillons analysés, la majorité des œufs répartis entre la conformité (38,66%) et l'insatisfaisante (40%).

3.2.- Discussion

L'étude de la qualité bactériologique des œufs de consommation a été évaluée dans 75 échantillons d'œufs dont la contamination est de l'ordre 53,33% sur 5 niveaux de vente. Ce fort pourcentage est dû aux mauvaises conditions de transport et de stockage du produit. Cette étude a montré des contaminations variables selon les germes recherchés et leur degré de pathogénicité.

Les charges microbiennes obtenues sont le résultat d'existence de plusieurs sources de contamination. Plusieurs études rapportent l'identification des bactéries d'altération dans l'œuf entier cru (Gueye, 1999 ; Arzour, 2006 ; Protais *et al.*, 2006 ; Sow, 2008). L'analyse comparative de leurs résultats sur l'appréciation de la qualité microbiologique des œufs permet de considérer nos résultats comme très appréciables.

Les germes dénombrés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale de l'œuf et des pratiques d'hygiène. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les contaminations cumulées de la production jusqu'au stockage en plateaux d'œufs crus. Il faut rappeler que dans la majorité des cas, les œufs sont transportés dans des camionnettes non frigorifiques, puis stockés au niveau des commerces à température ambiante, sauf les œufs ramenés des boucheries où sont stockés à des températures basses, ce qui donne les meilleurs résultats par rapport aux autres points de ventes.

L'agent principal responsable des T.I.A.C (toxi-infections alimentaires collectives) est essentiellement *Salmonella* (107/119 cas), *Staphylococcus aureus* plus occasionnellement (5/119), les œufs et les préparations à base d'œufs crus ou peu cuits étant l'aliment le plus fréquemment mis en cause (Haeghebaert *et al.*, 2002). Les salmonelles ont été trouvées dans 2 échantillons, soit 2,66 % des œufs entiers crus (l'un de marché et l'autre de grossisterie). Elles sont appelées les ennemies n°1 des hygiénistes. Nos résultats sont proches à ceux de Perales et Audicana, (1989) qui ont trouvé seulement 1,1% de salmonelles dans les œufs analysés.

Bien que la fréquence de la contamination des aliments par les salmonelles soit faible en général, la recherche permet d'apprécier les risques de colonisation des lieux de production (Bâtiments d'élevage) et de contamination de l'œuf par le matériel, l'environnement et les diverses manipulations que peuvent subir les œufs. Donc, il y a la négligence et le non respect des pratiques élémentaires d'hygiène (par exemple se laver les mains) par les manipulateurs.

La poule contaminée par ce germe pond un œuf contaminé tous les 3 mois (Protais, 1996), ce qui représente une fréquence faible.

Ce sont des germes très dangereux pouvant être à l'origine de graves toxi-infections Alimentaires. Il est à noter que *Salmonella pullorum* est l'agent de la pullorose. C'est la première maladie infectieuse importante qui a causé de lourdes pertes au début de l'industrialisation de l'élevage de volailles. C'est également la première maladie qui a fait l'objet d'une lutte systématique à grande échelle. Cette dernière peut survenir chez les poules, dindes, pintades et canards. Les races plus lourdes sont plus sensibles que les races légères. Pour l'instant, cette maladie ne revêt une signification historique que dans le secteur avicole, Des cas peuvent également survenir dans le secteur de l'élevage amateur (**Pierré et Geerinckx, 2012**).

Les Staphylocoques sont des germes test de contamination humaine, et qui permettent de déterminer les produits qui présentent le plus de risques d'intoxication. Leur dénombrement traduit le non respect des règles d'hygiène dans la filière œufs depuis la zone de production jusqu'à l'assiette du consommateur. En outre, il a été établi que leur présence permet de déterminer les produits qui présentent le plus de risque d'intoxication (**Seydi, 1995**).

Les Staphylocoques sont absents dans 98,97 % de nos échantillons. Ces résultats sont meilleurs à ceux obtenus par **Gueye (1999)** qui a trouvé *Staphylococcus aureus* dans 43,26 % dans des échantillons d'œufs.

A noter la forte proportion de lots contaminés pour les Staphylocoques retrouvés dans les œufs achetés chez les marchands ambulants, bien que mis en vente dans des conditions déplorables puisqu'ils sont exposés au soleil toute la journée.

Lorsqu'on abandonne les œufs tels qu'ils ont été pondus, qu'on les laisse à l'air libre soumis à l'influence de la température, de la pression, et de l'état hygrométrique on ne tarde pas à constater qu'un certain nombre de ces œufs se sont altérés, sont devenus impropres à l'alimentation et ont éprouvé des modifications profondes qui ont transformé complètement leur contenu dans sa couleur, son odeur, sa saveur, et sa composition chimique (**Gayon, 2005**).

E. coli est un germe témoin d'une contamination fécale. Sa présence dans la denrée entraîne la suspicion de la présence de salmonelles. Nos résultats montrent que cette bactérie est présente dans 30,66% de nos échantillons analysés. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par **Gueye (1999)** et **Arzour (2006)** que ces derniers ont pu isoler ce germe (*E. coli*) dans respectivement 25,58% et 26,29 % de leurs échantillons étudiés.

Escherichia coli est toujours d'origine fécale. Le dénombrement permet de suivre l'hygiène des manipulations des œufs dans tout leur circuit économique, de la fourche à la fourchette, ainsi que l'efficacité des mesures mises en œuvre pour réduire la contamination initiale.

Autrement dit leur présence traduit un manque d'hygiène du personnel évoluant autour des œufs (**Seydi, 1995**), ce qui confirme leur présence beaucoup plus dans les échantillons des marchés. Selon les études effectuées par **Arzour (2006)**, la proportion d'œufs contaminés par *E. coli* s'est retrouvée au niveau des bâtiments de production privés, ce qui indique des conditions d'élevage parfois douteuses surtout en ce qui concerne la récolte des fientes qui se fait parfois tous les 03 jours.

Le pic de contamination s'est situé pendant le mois de juin, ceci est sûrement dû aux grandes chaleurs qu'a connu ce mois.

- La flore aérobie mésophile totale, sont des bactéries «Test d'hygiène» dont le dénombrement reste une bonne méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des œufs et de l'application des bonnes pratiques d'hygiène.

Une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération microbienne de l'œuf est engagé. Ces germes sont témoins d'une longue durée de conservation des œufs et de mauvaises conditions d'hygiène générale dans les élevages (**Gueye, 1999**).

Nos résultats ont donné 34,66 % d'échantillons contaminés par la flore aérobie mésophile totale, que ces valeurs sont supérieures à ceux obtenus par **Sow (2008)** avec un taux égale à 14,37 %. Par contre nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Gueye (1999)** que ce dernier note un taux de 48, 37 % dans les échantillons étudiés. Il faut ajouter que cette contamination peut survenir pendant la casse des œufs, lorsque le même matériel est utilisé pour tous les œufs sans nettoyage préalable (**Sow, 2008**).

- La contamination par *Pseudomonas* est faite par le milieu extérieur et l'eau qui peut véhiculer la bactérie, ainsi que l'homme qui peut transmettre ce germe à travers ses crachats, ses urines et ses selles.

Nos résultats ont donné 12 % d'échantillons d'œufs contaminés par *Pseudomonas*, qui sont inférieurs à ceux signalés par **Arzour (2006)** que cet auteur a isolé 15,92 % de ce germe dans ses échantillons.

Une forte proportion d'œufs contaminés par *Pseudomonas* a été retrouvée au niveau des marchands ambulants. Les conditions de transport non conformes ainsi que les conditions de stockage et la commercialisation non réglementaires en seraient sûrement la cause. Il est à mentionner que *Pseudomonas* qui constitue la flore d'altération, se développe à basse température, par conséquent au cours de la conservation (**Protais et al., 2006**).

- Sur les 75 échantillons d'œufs analysés, 54,66 % ont été détectés positifs à des résidus d'antibiotiques. Ces résultats sont supérieurs à ceux noté par **Niyibizi (2012)** qui a détecté 12% de positivité dans 175 œufs analysés.

Les résultats obtenus par le test de diffusion en gélose de **Nonga et al., (2008)** ont montré que 21,4 % des échantillons d'œufs contenaient des résidus antimicrobiens. Bien que les résultats de ces études soient quelque peu différents, ils montrent clairement que le problème de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires laisse un souci pour la santé du consommateur sur le continent.

- La qualité sanitaire de l'œuf dépend essentiellement de celle coquille mais aussi de celle de l'environnement dans lequel il a été produit (**Protais et al., 2006**). Le contenu de l'œuf pondu par une poule saine est rarement contaminé et peut le rester très longtemps si la coquille est d'excellente qualité sanitaire et physique, tant la cuticule que la coquille proprement dite (épaisseur, structure, rigidité) et les membranes coquillières (**Mayes et Takeballi, 1983 ; Protais et Colin, 1996 ; Jones et al., 2004**). Les genres ou familles bactériennes dominants dans l'entier cru sont les entérobactéries, les streptocoques, les entérocoques, *Escherichia coli* et *Pseudomonas*. Les levures et les moisissures, *Brochothrix thermosphacta* et *Bacillus sp* sont présents mais en plus faible quantité (**Protais et al., 2006**).

Conclusion générale

Ce travail a consisté l'étude de la qualité hygiénique et marchande de l'œuf entier cru dans différents points de vente dont le but est l'identification des germes d'altération et pathogènes qui seraient éventuellement incriminées dans l'émergence de toxi-infections alimentaires. Un protocole expérimental précis à été mise en évidence pour tous les échantillons d'œufs étudiés.

Les résultats ont confirmé la présence à l'intérieur des œufs des charges bactériennes importantes, avec la détection des colonies caractéristiques de chaque germe après des analyses biochimiques qui nous a permis de confirmer par exemple la présence de *Salmonella pullorum* qui est responsable de la maladie Pullorose chez la poule.

La recherche des résidus d'antibiotiques réalisés par la méthode de diffusion sur gélose dans différents pH révèle que les échantillons des grossistries sont les plus propres en résidus et que celles des marchands ambulants demeurent les plus contaminés.

L'interprétation des résultats bactériologiques par l'application des critères microbiologiques ont permis de sélectionner les œufs ramenés des boucheries comme meilleurs pour la consommation, car ces derniers sont exempts de germe de la classe inacceptable ni de la classe non conforme. Egalement nous avons dévoilé que sur les 75 échantillons analysés, la majorité des œufs répartis entre la conformité et l'insatisfaisante.

Afin de garantir des œufs de bonne qualité au consommateur, le travail ne se limite pas aux conditions de vente mais aussi aux normes d'élevages qui sont la première cause de prolifération des bactéries au niveau des œufs. Ainsi, fournir des œufs de bonne qualité est la priorité pour assurer la sécurité sanitaire. Il faut rappeler que les bactéries peuvent contaminer la coquille de l'œuf lorsque la poule pond par contact avec les selles de la poule. Elles peuvent aussi contaminer l'intérieur de l'œuf si la poule est porteuse de la bactérie dans ses voies reproductrices.

Pour éliminer les risques de contamination, il faut respecter les règles de base de l'hygiène des aliments et de la cuisine à savoir :

- La fraîcheur : surveiller la date et jeter les œufs fêlés depuis un temps indéterminé;
- La réfrigération : conserver les œufs de préférence au fond du réfrigérateur;
- La manipulation : se laver les mains et éviter les contaminations croisées;
- La cuisson : cuire les œufs jusqu'à ce qu'ils ne soient pas coulants est essentiel pour éliminer complètement les risques d'intoxication.

- Ne mangez pas d'aliments qui contiennent des œufs crus ou à peine cuits comme la pâte à biscuit crue, car ils peuvent contenir de la *Salmonella*. Pour préparer un plat qui contient des œufs crus, utiliser des substituts d'œufs pasteurisés au lieu d'œufs crus.

- Des œufs fraîchement cassés se conservent, dans un contenant fermé, au réfrigérateur, pendant 4 jours.

Des œufs cuits durs se conservent, dans un contenant fermé, au réfrigérateur, pendant une semaine.

- Jeter les œufs crus ou cuits non réfrigérés pendant plus de 2 heures.

- Les œufs cuits durs ont la coquille poreuse, cela facilite la contamination de l'intérieur de l'œuf autant par des bactéries que par des substances toxiques.

Nous pouvons également conclure que ce travail ne représente qu'une étude préliminaire sur la qualité microbiologique des œufs de consommation. Les résultats nous ont cependant, permis de dégager quelques pistes de recherche. En effet, il serait intéressant dans le but de limiter la contamination de cette denrée par les micro-organismes et déterminer les points critiques des risques sanitaires, et comme perspective :

- Des études sur les pratiques en matière d'hygiène concernant les œufs et les devraient être mises en œuvre, selon qu'il convient, dans le cadre des systèmes HACCP (Analyse des dangers - points critiques pour leur maîtrise).

- Des études sur l'hygiène environnementale des établissements de ponte qui devraient être adaptés à la production primaire d'œufs, autrement dit, les sources de substances potentiellement nocives devraient être réduites au minimum et ne devraient pas être présentes à des niveaux inacceptables dans ou sur les œufs.

- Enfin, il est fort intéressant d'une meilleure prise en compte de la situation générale de la prévalence des résidus d'antibiotiques dans les œufs commercialisés qui devra être étudiés à grande échelle.

Références bibliographiques

- Arzour-Lakehal N. 2006** - *Appréciation des risques bactériologiques dans les œufs et les ovo produits*. Mémoire Magister en Médecine Vétérinaire, Univ. Constantine, 141 p.
- Beaudoin A., Collard S., Rivet R. et Vallée C. 1997** - L'œuf pasteurisé est ce mieux ? Faculté de Médecine Vétérinaire de Sherbrooke, Site : <http://www.rrsss16.gouv>.
- Bibbal D. 2012** - Œuf et Ovoproduits, Travaux dirigés hygiène et industrie des aliments. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ENVT HIDAOA. <http://Corpet.net/Denis>, pp. 12-23.
- Blum J.C. et Sauveur B. 1996** - Caractéristiques et qualité de l'œuf de poule, p. 369.
- Bonnes G., Desclaude J. et Drogoul C. 2005** - *Reproduction des animaux d'élevage, l'anatomie et la physiologie de la reproduction, conduite et gestion de reproduction et reproduction des oiseaux*. Ed. Educagri, Dijon, pp. 335-337.
- CE 2011** - Mode d'emploi des milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, N° 254055.05, XLD agar (xylose-lysine-desoxycholate agar).
- CEE 1990** - Règlement (CEE) No 2377/90 DU CONSEIL du 26 juin 1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale.
- Chataigner B. et Stevens A. 2003** - Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar, Institut Pasteur de Dakar, 66 p.
- Cox, N.A., Berrang, M.E. and Cason J.A. 2000** - Salmonella Penetration of Egg Shells and Proliferation in Broiler Hatching Eggs - A Review. *Poultry Science*, 79 :1571–1574.
- Dayon J.F. et Arbelot B. 1997** - *Guide de l'élevage des volailles au Sénégal, Dakar*. Ed. DIREL, LNERV, 112 p.
- Dupin H., Cuq J.L., Malewiak M.L., Leynaud R.C. et Berthier A.M. 1992** - *Nutrition et alimentation humaine*. Ed. ESF, France, 834 p.
- Joffin C. et Joffin J.N. 2010** - *Microbiologie alimentaire, collection biologie technique*. Ed. CRDP d'Aquitaine.
- Gayon U. 2005** - Recherche sur les altérations spontanées des œufs, Analyse scientifique de l'école normale supérieure. Série 2, Tome 4, pp. 205-302.
- Gueye L. 1999** - Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des œufs de consommation de la région de Dakar. Ecole Inter-états des sciences et médecine vétérinaires, 119 p.

- Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B. et Athmani-Guemouri S. 2012** – Microbiologie. Ed. Off. Pub. Univ., Algérie, 64 p.
- Guiraud J. et Galzy P. 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires, Collection Génie alimentaire. Edition, usine nouvelle, Paris.
- Habamenshi P.E. 1994** - *Contribution à l'étude des circuits de commercialisation du poulet de chair au Sénégal, cas de la région de Dakar.* Thèse médecine vétérinaire, Dakar, n°12.
- Haeghebaert S., Le Querrec F., Bouvet P., Gallay A., Espié E. et Vaillant V. 2002** - Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. *Bull. Epidém. Hebd.*, 50 : 249-253.
- Huyghebaert G., Daeseleire E. et Delahaut P. 2005** - Contrôle de la présence des résidus de coccidiostatiques Site: [http:// www.belspo.be](http://www.belspo.be).
- Inzerillo P. 2013** - INRA Micom. *L'œuf aux trésors, Dossier de presse.* Ed. Science et impact, Paris, 16 p.
- Jirvu C., Hilary S.T. et William L.K. 2005** - Outgrowth of *Salmonella* and the physical property of Albumen and vitelline membrane as influenced by Egg Storage conditions, *Journal of Food*.
- Jones D.R., Musgrove M.T. et Northcutt J.K. 2004** - Variations in external and internal microbial populations in shell eggs during extended storage. *Food Protection*, 67 : 2657-2660.
- Larbier M. et Leclercq B. 1992** - *Nutrition et alimentation des volailles.* Ed. INRA, Paris, 355 p.
- LEAA. 2013** - *Préparation des échantillons pour l'analyse microbiologique, prélèvement et pesée.* Laboratoire d'expertises et d'analyses alimentaires, REF-MIC-550, 9 p.
- Mayes F.J. et Takeballi M.A. 1983** - Microbial contamination of hen's egg. *Food Protection*, 46 : 1092-1098.
- Mouas H., Bouchaud O. 2000** - Les Toxi-infections alimentaires collectives, pp. 107-109.
- Mzoyer M., Aubineau M., Bermond A., Bougler J., Ney B. et Estrade R. 2002** - Larousse Agricole, le monde agricole au XXI^e siècle.
- Nathier-Dufour N. 2005** - *Les œufs et les ovoproduits.* Ed. Educagri, Dijon, pp. 19-28.
- Niyibizi B. 2012** - *Etude préliminaire sur l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de poules pondeuses de la région de Dakar et la présence de résidus d'antibiotiques dans les œufs.* Mémoire Master en qualité des aliments de l'homme, Univ. Cheikh Anta Diop de Dakar 31 p.

- Nonga H.E., Simon C., Karimuribo E.D. et Mdegela R.H. 2008** - Assessment of Antimicrobial Usage and Residues in Commercial Chicken Eggs from Smallholder Poultry Keepers in Morogoro Municipality, Tanzania. *Zoonoses Public Health*, 57 : 339-344
- Panisset J-C, Dewailly E, Doucet-leduc H. (2003).** Contaminants alimentaire. Environnement et santé publique. 369-395.
- Perales G. et Audicana A. 1989** - The role of hen' s eggs in outbreaks of salmonellosis in North Spain. *Intern. of Food Microbiol* : 175-180.
- Pierré E. et Geerinckx M. 2012** - Lutte contre les Salmonelles zoonotiques chez les poulets de chair et les dindes d'engraissement, Plan d'Action Salmonelles.**Pilet C., Bourdon J.L., Protais J. 1988** - *La qualité de l'œuf de consommation, l'aviculture Française*. Ed. Rosset, France, pp. 761-772.
- Protais J. et Colin P. 1996** - Les Salmonelles dans la filière "ovoproduit", Industrie agro-alimentaire, pp. 435-440.
- Protais J., Gerault P., Queguiner S., Boscher E., Chidaine B., Ermel G., Rivoal K., Salvat G., Pages J., Thault D., Huchet V., Coignard M., Bourion F., Federighi M., Jugiau F., Thouvenot D., Efstathiou T. et Lorthioir P. 2006** - *Identification et comportement des bactéries d'altération dans la matrice œuf entier liquide*. Ed. Science et techniques avicoles STA.
- Rosset D. 1978** - *Les Toxi-infections alimentaires collectives en France de 1970 à 1977*. Thèse médecine vétérinaire, Toulouse, 68 p.
- Saveur B. et Reviers M. 1988** - *Reproduction des volailles et production d'œufs*, INRA, Station de recherche avicoles, centre de Tours-Nouzilly. Ed. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, pp. 347-431.
- Seydi Mg. 1995** - Le Contrôle de la commercialisation de l'œuf en coquille, Denréologie. Spéciale cours (4^e Année), édition Avril.
- Seydi Mg. 1982** - Stratégie de santé en situation de développement. Le point de vue du Vétérinaire, Contamination des DAOA, Incidence sanitaire et économique. *Médecine d'Afrique Noire*.
- Sow F., 2008** - *La qualité Microbiologique et chimique des œufs de poule produits dans la localité de Malika, Dakar-Sénégal*. Thèse Doctorat, Univ. Cheikh Anta Diop, Dakar, 105 p.
- Toma B., Marchal N. et Balastre C. 1983** - *Bactériologie médicale et vétérinaire*. 2^{ème} édition, 121-138.

- Tremolieres E. 1988** - Alimentation des poules pondeuses d'œuf de consommation. *Revue aviculture française*, Informations Techniques des Services Vétérinaires, pp. 425-434.
- Van Immerseel F., De Buck J., Boyen F., Pasmans F., Bertrand S., Collard J.M., Saegerman C., Hooyberghs J., Haesebrouck F., Ducatelle R. 2005** - *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Ann. Méd. Vét.*, 149 : 34 – 48.
- Vierling E. 2008** - *Aliments et boissons ; filière et produits, science des aliments, (VI) : Les Œufs et Les Ovoproduits, série dirigée par Guy Leyral*. Ed. CRDP, Aquitaine, P : 120-121.

Annexe 1 :**1. Appareils, produits et réactifs :**

1 - Appareils utilisés	2-Matériel, produits consommables et réactifs		
	a - Milieux	c - Matériels et produits consommables	c - Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Une glacière, - Une étuve, - Un autoclave (numérique et manuel), - Un bain marie à 45°C, - Une hôte, - Un microscope optique, - Incubateurs à 37°C et 42°C, - Un appareil de dénombrement, - Bec bunsen, - Une balance, - Un homogénéisateur, - Appareil à mesurer la zone d'inhibition, - Un four, - pH mètre. 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau peptonée tamponnée, - Bouillon sélénite, - Gélose XLD, - Gélose blanche, - Gélose VRBG, - Gélose PCA, - Gélose Mac Conkey, - Gélose CAB, - Gélose Chapman, - Galeries Api système, - Milieux M11. 	<ul style="list-style-type: none"> - Boîtes de Pétri, - Pipettes stériles de 01, 05 et 10ml, - Flacons en verre stériles de 250ml, - Panier, - Erlenmeyers, - Béchers en plastique 1000 ml, 2000 ml, - Béchers en inox 3000 ml, - Fiole Jaugées, - Ecouvillons, - Eprouvette, - Pissette, - Entonnoirs, - Anse de platine, - Pince stérile, - Poire, - Flacons d'alcool 70%, - Gants, - Lames porte-objets, - Tubes à essais aux bouchons stériles, - Seringues jetables, - Eau distillée stérile, - Eau de javel, - Marqueur, - Etiquettes, - Poubelles. 	<ul style="list-style-type: none"> - Violet de gentiane, - Liquide de lugol, - Alcool 96%, - Solution de fuchsine, - Tryptophane désaminase (TDA), - Huile de vaseline, - Réactif James, - Réactif VP, - NaOH, - HCl.

2. Appareils et milieux de cultures (voir les figures suivantes)

Figure 1. Glacière



Figure 2. Etuve



Figure 3. Autoclave numérique



Figure 4. Autoclave manuel

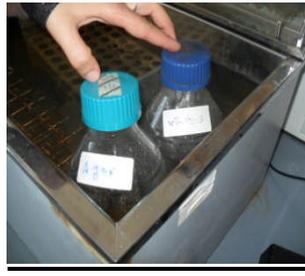


Figure 5. Bain Marie



Figure 6. Hôte



Figure 7. Microscope optique



Figure 8. Incubateur



Figure 9. Appareil de dénombrement



Figure 10. Bec bunsen



Figure 11. Balance



Figure 12. Homogénéisateur



Figure 13. pH mètre



Figure 14. Milieux et réactifs



Figure 15. Galeries Api

Annexe 2 :

Tableau a : Modèle d'une fiche de renseignement établie pour les différents points de vente des œufs.

Date de collecte	Quantité	Provenance	Conditions de transport	Durée et conditions de stockage

Annexe 3 :

Étapes de la préparation des milieux : (voir figure 11a, b, c, d, e, f)

- Peser le milieu en poudre,
- Dissolution des ingrédients dans 1L d'eau distillée,
- Mélanger et placer sur un four jusqu'à l'ébullition,
- Répartir dans des flacons en verre, fermer et capsuler hermétiquement puis stériliser par autoclavage à 121°C. pendant 15 à 30 minutes.
- Refroidir dans un bain marie à 45° C.
- Coulage dans des boîtes de Pétri ou des tubes sous la hôte.



a. milieu en flacon



b. la pesée



c. mesure du pH



d. répartition en flacons



e. stérilisation



f. coulage

Figure 11: Etapes de la préparation du milieu

Remarque

Certain milieux ne nécessitent pas d'autoclavage, comme le bouillon sélénite, le milieu XLD, la gélose blanche et le milieu VRBG.

Annexe 4 :**Composition des milieux de culture utilisés dans la recherche des germes :**

- Bouillon sélénite qui sert à l'enrichissement des salmonelles :

Formule en g/1 d'eau distillée	
Digestion pancréatique de caséine.....	5,0 g
Lactose.....	4,0 g
Sélénite de sodium.....	4,0 g
Phosphate de sodium.....	10,0 g
pH final : 7,0 ± 0,2	

- Milieu xylose lysine désoxycholate agar de sodium **XLD**, pour la différenciation et l'isolement des salmonelles :

Formule en g/1 d'eau distillée	
Extrait de levure.....	3,0 g
Hydrochloride L-Lysine.....	5,0 g
Xylose.....	3,5 g
Lactose.....	7,5 g
Chloride de sodium.....	5,0 g
Rouge de phénol.....	0,08 g
Thiosulfate de sodium.....	6,8 g
Désoxycholate de sodium.....	2,5 g
Citrate ferrique d'ammonium.....	0,8 g
Agar.....	15,0 g
pH final : 7,4 ± 0,2	

- Milieu gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre **VRBG**, sert à sélectionner les entérobactéries :

Formule en g/l d'eau distillée	
Extrait de levure.....	3,0 g
Peptone pepsique de viande.....	7,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Sels biliaires.....	1,5 g
Glucose.....	10,0 g
Rouge neutre.....	0,03 g
Cristal violet.....	0,002 g
Agar.....	15,0 g
pH final : 7,4 + 0,2	

- Milieu Plate Count Agar **PCA**, qui sert à dénombrer la flore aérobie mésophile totale :

Formule en g/l d'eau distillée	
Tryptone.....	5,0 g
Extrait autolytique de levure.....	2,5 g
Glucose.....	1,0 g
Agar agar bactériologique.....	12,0 g
pH final 7,0 ± 0,2.	

- Milieu Mac Conkey Agar **MCA**, pour l'isolement des *Escherichia coli* :

Formule en g/l d'eau distillée	
Peptone.....	20,0 g
Lactose.....	10,0 g
Sels biliaires.....	5,0 g
Chloride de sodium.....	5,0 g
Rouge neutre.....	0,075 g
Agar.....	12,0 g
pH final : 7,4± 0,2	

- Milieu agar au mannitol au chlorure de sodium et au rouge de phénol **CHAPMAN**, pour la culture sélective des staphylocoques.

Formule en g/l d'eau distillée	
Peptone de viande	10,0 g
Extrait de viande	1,0 g
Chlorure de sodium	75,0 g
D (-) mannitol	10,0 g
Rouge de Phénol	0,025 g
Agar agar	12,0 à 15,0 g
pH final 7,4 ± 0,2	

- Milieu **M11** pour la recherche des résidus d'antibiotiques.

Formule en g/l d'eau distillée	
Peptone de viande.....	06 g
Peptone de caséine.....	04 g
Extrait de levure.....	03 g
Extrait de viande.....	1,5 g
Glucose.....	01 g
Agar.....	18 g
pH 8,3 ± 0,1	

Annexe 5 :

Méthode de la coloration de Gram :

1. Technique

Préparer la lame et les échantillons bactériens à examiner

Étalement

L'étalement doit se faire en couche mince et régulière avec une pipette pasteur, sur une lame propre dégraissée.

Dessiccation

Laisser sécher à l'air libre, ou approcher la lame à 15-20cm au-dessus de la flamme du bec bunsen. Le frottis doit devenir terne mais ne doit ni brunir, ni brûler.

Fixation

L'étape de fixation qui suit, consiste à tuer les bactéries, à rendre les membranes plus perméables, à fixer les structures sans les altérer et à faire adhérer le frottis à la lame.

Passer trois fois rapidement dans la flamme la face de la lame opposée à l'étalement, sans trop insister sous peine de carboniser le frottis ; sinon tenir la lame avec une pince et écraser trois fois la flamme avec la lame, le frottis est prêt à subir une coloration.

Coloration primaire

Couvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir 2 minutes. Jeter l'excès de colorant.

Mordantage

Egoutter sans rincer et faire deux bains de lugol dont chacun dure 45 secondes.

Décoloration

Egoutter et plonger la lame dans l'alcool 96° durant 30 secondes exactement.

La décoloration trop faible étant des sources d'erreurs.

Arrêter la différenciation par un lavage doux et abondant à l'eau distillée.

Coloration secondaire

Recolorer les germes décolorés par le différenciateur, en faisant agir sur la préparation un colorant de contraste, la fuchsine ou la safranine filtrée pendant 2 minutes.

-Laver à l'eau distillée et sécher la lame au dessus de la flamme.

-Observer à l'objectif à immersion.

-Les bactéries qui ont garde leur première coloration sont violettes, et sont dites Gram-positives.

-Celles qui ont été décolorées par l'alcool se présentent roses, elles sont appelées Gram-négatives.

A. Les réactifs de la coloration de Gram

• Le violet phéniqué (coloration primaire)

Violet de gentiane (crystal violet).....	1g
Alcool absolu.....	10mL
Eau phéniquée à 1%.....	90mL

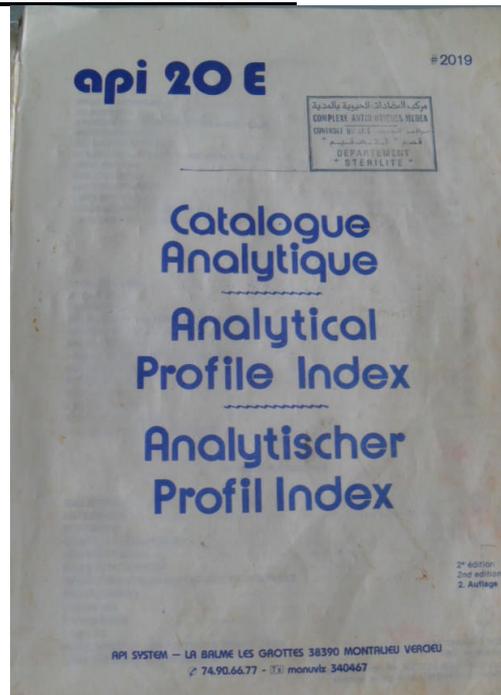
• Liquide de lugol (mordant)

Iode.....	1g
Iodure de potassium.....	2g
Eau distillée.....	300mL

• Alcool 96° (agent de décoloration)

• Solution de fuchsine ou de safranine (coloration de contraste)

Solution de fushine saturée à l'alcool.....	10mL
Eau distillée.....	90mL

Annexe 6 :**Le catalogue utilisé pour lecture de la Galerie :**

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	beta-galactosidase	incolore	jaune (1)
ADH	arginine	arginine dihydrolyase	jaune	rouge/ orangé (2)
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orangé
ODC	ornithine	ornithine décarboxylase	jaune	rouge/ orangé (2)
CIT	citrate de sodium	utilisation du citrate	vert pâle/ jaune	bleu-vert/ vert (3)
H ₂ S	thiosulfate de sodium	production d'H ₂ S	incolore/ grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	uréase	jaune	rouge/ orangé
TDA	tryptophane	tryptophane desaminase	TDA / immédiat	
			jaune	marron foncé
IND	tryptophane	production d'indole	JAMES/ immédiat ou IND/ 2 mn	
			JAMES Vert pâle-jaune	JAMES rose
			IND jaune	IND Anneau Rouge
[VP]	pyruvate de sodium	production d'acétone	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	rosé-rouge
[GEL]	gélatine de Kohn	gélatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	glucose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MAN	mannitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
INO	inositol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SAC	saccharose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MEL	melibiose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
AMY	amygdaline	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
ARA	arabinose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
OX	sur papier filtre	cytochrome-oxydase	OX / 5-10 mn	
			incolore	anneau violet
NO ₃ -NO ₂	tube GLU	production de NO ₂ réduction au stade N ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn	
			jaune	rouge
			Zn	
			rouge	jaune
MOB	(API M) (microscope)	mobilité	immobile	mobile
MAC	milieu de MacConkey	culture sur	absence	présence
OF	glucose (API OF)	fermentation : sous huile oxydation : à l'air	vert vert	jaune jaune
CAT		possession d'une catalase	H ₂ O ₂ / 1-2 mn	
			pas de bulles	bulles

Annexe 7 :**Les symboles utilisés dans les plans et leurs significations sont les suivants :**

n : représente le nombre d'unités de prélèvements qui sont prélevés au hasard dans un lot et examinés pour répondre aux exigences définies.

m : la valeur numérique de « m » représente des concentrations satisfaisantes de microorganismes.

Dans un plan à 2 classes, m sert à distinguer les unités de qualité satisfaisante de celles qui sont de qualité inacceptable. Dans un plan à 3 classes, m sert à distinguer les unités de qualité satisfaisante de celles qui sont de qualité marginale.

M (plan à 3 classes seulement) représente des concentrations inacceptables de microorganismes, présentant des conditions d'insalubrité ou d'avarie. M distingue les unités de qualité marginale de celles qui sont de qualité inacceptable. Si la valeur d'une unité d'échantillonnage est supérieure à M, le lot dont provient l'échantillon est insatisfaisant.

c : représente le nombre maximal permis d'unités prélevées de qualité marginale. Si le nombre d'unités de qualité marginale est supérieur à c, le lot dont provient l'échantillon est inacceptable/insatisfaisant.

Annexe 8 :**La charge bactérienne des échantillons ramenés de chaque point de vente :****Tableau a** : Charge bactérienne d'échantillons d'œufs ramenés des Marchés

Germes Echantillons	Enterobact. (UFC/ml)	<i>E. coli</i> (UFC/ml)	FAMT (UFC/ml)	Pseudo. (UFC/ml)	Staph. (UFC/ml)	Salm. (UFC/ml)
M1	-	5.10 ³	-	-	-	-
M2	-	18.10 ³	-	19.10 ³	-	-
M3	-	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-	-
M5	-	Inc	-	-	-	-
M6	11.10 ⁴	9.10 ³	-	-	-	-
M7	32.10 ³	-	-	-	-	-
M8	11.10 ³	-	-	-	-	-
M9	-	-	4.10 ³	-	-	-
M10	-	-	17.10 ³	-	-	-
M11	-	-	20.10 ³	-	-	-
M12	3.10 ²	-	26.10 ³	-	-	10
M13	6.10 ²	-	12.10 ⁴	-	-	-
M14	-	Inc	35.10 ³	-	-	-
M15	-	Inc	13.10 ⁴	-	-	-

- : Absence

Tableau b : Charge bactérienne d'échantillons d'œufs ramenés des Boucheries

Germes Echantillons	Enterobact. (UFC/ml)	<i>E. coli</i> (UFC/ml)	FAMT (UFC/ml)	Pseudo. (UFC/ml)	Staph. (UFC/ml)	Salm. (UFC/ml)
B1	17.10 ²	-	-	-	-	-
B2	11.10 ³	-	-	-	-	-
B3	38.10 ²	-	-	-	-	-
B4	47.10 ²	-	-	-	-	-
B5	-	-	-	-	-	-
B6	-	-	-	-	-	-
B7	-	Inc	-	-	-	-
B8	57.10 ²	-	-	-	-	-
B9	7.10 ²	-	5.10 ³	-	-	-
B10	8.10 ²	-	31.10 ²	-	-	-
B11	-	Inc	-	-	-	-
B12	-	-	-	-	-	-
B13	-	Inc	81.10 ²	-	-	-
B14	-	Inc	-	-	-	-
B15	3.10 ²	-	-	-	-	-

Tableau c : Charge bactérienne d'échantillons d'œufs ramenés des Epiceriees

Germes Echantillons	Enterobact. (UFC/ml)	<i>E. coli</i> (UFC/ml)	FAMT (UFC/ml)	Pseudo. (UFC/ml)	Staph. (UFC/ml)	Salm. (UFC/ml)
E1	4.10 ³	-	-	-	-	-
E2	9.10 ³	-	-	-	-	-
E3	38.10 ³	-	-	10 ⁵	-	-
E4	27.10 ³	-	-	-	-	-
E5	35.10 ³	-	-	-	-	-
E6	-	-	-	-	-	-
E7	-	-	-	-	-	-
E8	-	Inc	42.10 ²	-	-	-
E9	-	Inc	-	-	-	-
E10	19.10 ²	-	36.10 ²	-	-	-
E11	45.10 ²	Inc	99.10 ²	-	-	-
E12	5.10 ²	Inc	14.10 ³	-	-	-
E13	-	-	6.10 ³	-	-	-
E14	-	-	-	-	-	-
E15	5.10 ²	-	23.10 ⁴	-	-	-

Tableau d : Charge bactérienne d'échantillons d'œufs ramenés des Grossisteries

Germes Echantillons	Enterobact. (UFC/ml)	<i>E. coli</i> (UFC/ml)	FAMT (UFC/ml)	Pseudo. (UFC/ml)	Staph. (UFC/ml)	Salm. (UFC/ml)
G1	97.10 ²	-	-	-	-	-
G2	-	-	-	-	-	-
G3	22.10 ²	47.10 ²	-	12.10 ³	-	5,2.10 ²
G4	-	-	-	15.10 ³	-	-
G5	24.10 ³	-	-	-	-	-
G6	17.10 ³	-	-	4.10 ³	-	-
G7	-	-	-	-	-	-
G8	-	-	16.10 ⁴	-	-	-
G9	-	-	19.10 ⁴	-	-	-
G10	6.10 ²	-	29.10 ⁴	-	-	-
G11	4.10 ²	Inc	21.10 ⁴	-	-	-
G12	19.10 ²	-	8.10 ⁴	-	-	-
G13	-	Inc	13.10 ⁴	-	-	-
G14	-	-	26.10 ⁴	-	-	-
G15	-	Inc	19.10 ⁴	-	-	-

Tableau e : Charge bactérienne d'échantillons d'œufs ramenés de marchands ambulants

Germes Echantillons	Enterobact. (UFC/ml)	<i>E. coli</i> (UFC/ml)	FAMT (UFC/ml)	Pseudo. (UFC/ml)	Staph. (UFC/ml)	Salm. (UFC/ml)
Mb1	-	-	-	-	-	-
Mb2	-	-	-	-	-	-
Mb3	-	-	-	-	-	-
Mb4	-	-	-	-	-	-
Mb5	-	-	-	-	40	-
Mb6	-	Inc	-	-	-	-
Mb7	Inc	-	-	-	-	-
Mb8	-	Inc	-	5.10 ³	-	-
Mb9	47.10 ³	Inc	-	-	-	-
Mb10	-	Inc	-	-	-	-
Mb11	26.10 ³	-	-	9.10 ³	-	-
Mb12	Inc	-	-	19.10 ³	-	-
Mb13	14.10 ⁴	Inc	-	16.10 ³	-	-
Mb14	7.10 ²	-	5.10 ³	-	-	-
Mb15	11.10 ²	-	4.10 ³	-	-	-

Annexe 9:**Les résultats des galeries Api 20 E :**

CE 07223 C REF : 2013/05/19

Origine / Source / Herkunft / *Grossisterei*
 Origen / Origen / Προέλευση / *Gr*
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	LCIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVPJ	LGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-0	OF-F												
4			1			0			4			0			1			2																				

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
Salmonella Pullorum

Imprimé en France / Printed in France

CE 07223 C REF : 2013/05/13

Origine / Source / Herkunft / *Marchands ambulants*
 Origen / Origen / Προέλευση / *MbS*
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	LCIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVPJ	LGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-0	OF-F															
0			2			1			4			7			7			3																							

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
Staphylococcus (pas aureus)

Imprimé en France / Printed in France

api® 20 E

CE 07223 C REF : 2013/05/18

Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : *Marché Me*

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	LCIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVP	LGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-0	OF-F															
4			1			4			4			2			2			1																							

Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση : *Escherichia Coli 2*

Imprimé en France / Printed in France

api® 20 E

CE 07223 C REF : 2013/05/24

Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : *Marchand ambulent Mb12*

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	LCIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVP	LGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-0	OF-F															
4			1			0			1			2			2			1																							

Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση : *Pseudomonas Cepacia*

Imprimé en France / Printed in France

Annexe 10 :**Les résultats de la confirmation de présence ou d'absence des résidus d'antibiotiques :**

Tableau a : Apparition des zones d'inhibitions obtenues au différents pH (échantillons de grossisteries).

pH	5,9	7,25	8
G1	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G2	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G3	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G4	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G5	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
G6	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
G7	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
G8	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G9	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G10	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G11	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
G12	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G13	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
G14	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
G15	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>

pce : présence d'une zone d'inhibition ; **abs** : absence d'une zone d'inhibition

Tableau b : Apparition des zones d'inhibitions obtenues au différents pH (échantillons de marchés).

pH	5,9	7,25	8
M1	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
M2	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
M3	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
M4	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
M5	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
M6	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
M7	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
M8	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
M9	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
M10	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
M11	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
M12	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
M13	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
M14	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
M15	<i>pce</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>

Tableau c : Apparition des zones d'inhibitions obtenues au différents pH au différents pH (échantillons de épicereries).

pH	5,9	7,25	8
E1	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E2	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E3	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E4	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E5	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E6	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
E7	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
E8	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
E9	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E10	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E11	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E12	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E13	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
E14	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
E15	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>

Tableau d : Apparition des zones d'inhibitions obtenues au différents pH(échantillons de boucheries) .

pH	5,9	7,25	8
B1	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
B2	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
B3	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
B4	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
B5	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
B6	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
B7	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
B8	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
B9	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
B10	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
B11	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
B12	<i>abs</i>	<i>pce</i>	<i>abs</i>
B13	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
B14	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
B15	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>

Tableau e : Apparition des zones d'inhibitions obtenues au différent pH (échantillons des marchands ambulants)

pH	5,9	7,25	8
Mb1	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb2	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb3	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb4	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb5	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb6	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>abs</i>
Mb7	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb8	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
Mb9	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb10	<i>pce</i>	<i>pce</i>	<i>pce</i>
Mb11	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
Mb12	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
Mb13	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
Mb14	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>
Mb15	<i>abs</i>	<i>abs</i>	<i>pce</i>

Annexe 11 :**Collecte de l'information – Fiche de renseignement**

date	quantité	Lieu d'achat	provenance	Conditions de transport	Durée et conditions de stockage
12/05/2013	15	Boucherie Ouled yaich	Bousmail	Camionnette non conforme	2 jours à 12°C
13/05/2013	15	Marché ambulant Ouled yaich	Bâtiments d'élevage Blida	Chariot	Température ambiante
14/05/2013	15	Epicerie Ben Boulaïd	/	/	Température ambiante
16/05/2013	15	Marché de Bab Errahba	Bâtiment d'élevage Blida	/	Température ambiante
19/05/2013	21	Grossiste Oulad Yaich	Bâtiment d'élevage Blida	Camionnette non conforme	Température ambiante
	9	Marché Bab Errahba	Bâtiments d'élevage Blida	Véhicule personnelle	Température ambiante
20/05/2013	24	Marché ambulant Blida	/	Chariot	Température ambiante

21/05/2013	30	Boucherie Ben Boulaïd	Birtouta	/	Température ambiante
	30	Epicerie Ben Boulaïd	/	Camionnette non conforme	Température ambiante
	6	Marché ambulant Blida	Bâtiments d'élevage	Chariot	Température ambiante
26/05/2013	21	Marché Bab Errahba	/	/	Température ambiante
	24	Grossiste Oulad Yaich	/	/	Température ambiante

CHAPITRE I

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE II
MATERIEL
ET
METHODES

CHAPITRE III

RESULTATS

ET

DISCUSSION

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION