Afrique SCIENCE *15(1) (2019) 149 - 158*
ISSN 1813-548X, http://www.afriquescience.net

Effet du mode d'élevage sur les activités antibactériennes des substances de l'œuf de poule *(Gallus gallus domesticus)*

Irène Ahou KOUADIO[1*], Antoinette Régina Ohouo DON[1] et Nathalie KOUADIO GUESSENND[2]

[1] UFR Biosciences, Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LABSA), Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire
[2] Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Unité des Antibiotiques, des Substances Naturelles et de Surveillance de la Résistance Bactérienne aux Anti-Infectieux (ASSURMI), 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

* Correspondance, courriel : *irenekouadio@yahoo.fr*

Résumé

Cette étude porte sur l'évaluation de l'effet du mode d'élevage sur les propriétés antibactériennes du blanc et du jaune d'œuf de poule *(Gallus gallus domesticus)*. Cette évaluation a consisté à incorporer séparément ces substances au milieu gélosé Mueller–Hinton à des concentrations allant de 5 à 30 % et à évaluer leur effet sur le développement de trois souches bactériennes à savoir, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Escherichia coli* ATCC25922. Les résultats obtenus montrent une réduction de la croissance uniquement pour les souches de *E. coli* et de *S. aureus* avec l'augmentation du blanc d'œuf dans le milieu de culture. L'inhibition totale de la croissance de celles-ci est observée à partir de 25 % de blanc d'œuf dans le milieu de culture. Cependant, aucune différence significative n'est observée entre les activités antibactériennes du blanc d'œuf issu de l'élevage moderne et celles du blanc d'œuf issu de l'élevage traditionnel. Contrairement au blanc d'œuf, seul le jaune d'œuf issu de l'élevage traditionnel a également inhibé la croissance des souches de *E. coli* et de *S. aureus*. Ainsi, les activités antibactériennes du jaune d'œuf sont influencées significativement par le mode d'élevage des poules pondeuses. Ceci ouvre de nouvelles perspectives sur ces substances de l'œuf.

Mots-clés : *mode d'élevage, blanc d'œuf, jaune d'œuf, activités antibactériennes.*

Abstract

Effect of the mode of breeding on the antibacterial activities of hen *(Gallus gallus domesticus)* eggs' substances

This study focuses on the evaluation of the effect of the mode of breeding on the antibacterial activities of egg white and egg yolk of hen *(Gallus gallus domesticus)*. This evaluation consisted in incorporating these substances separately in Mueller-Hinton agar medium at concentrations ranging from 5 to 30 % and evaluating their effect on the development of three bacterial strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 and *Escherichia coli* ATCC25922. The results obtained show a reduction of the development of only the strains of *E. coli* and *S. aureus* with the increasing of egg white in the culture medium. The total inhibition of the development of these two bacterial strains was observed from 25 % of egg white in the culture medium. However, no significant difference was observed between the antibacterial

activities of egg white from modern breeding and those of egg white from traditional breeding. Unlike the egg white, only the egg yolk from traditional breeding has inhibited also the growth of *E. coli* and *S. aureus* strains. Thus, the antibacterial activities of egg yolk are significantly influenced by the type of breeding of laying hens. This opens up new perspectives on these substances of hen eggs.

Keywords : *mode of breeding, egg white, egg yolk, antibacterial activities.*

1. Introduction

L'élevage de volailles qui peut être soit traditionnelle (élevage de volailles en divagation et en plein air, sans soins particuliers) soit moderne ('utilisation des techniques élaborées et des investissements importants avec un fort recourt aux intrants sanitaires et alimentaires, souches de volailles sélectionnées) fournit de la viande et des œufs de consommation [1, 2]. Ces derniers (les œufs) ne constituent pas seulement un aliment de grande qualité nutritionnelle. En effet, l'œuf est avant tout une enceinte close naturelle autosuffisante et stérile, qui renferme l'intégralité des éléments nécessaires au développement et à la protection d'un embryon. Le développement de cet embryon se produit dans le milieu extérieur potentiellement hostile [3]. L'œuf contient des systèmes de protection efficaces, physiques et biochimiques pour permettre le développement harmonieux du poussin. La défense physique de l'embryon est assurée d'une part par la coquille, qui constitue une enveloppe protectrice et empêche ainsi la pénétration d'agents microbiens si elle reste intacte, et d'autre part, par les propriétés physico-chimiques du blanc d'œuf (viscosité) qui ralentit la progression des microorganismes lorsqu'ils ont réussi à passer à travers la coquille [3]. La défense chimique regroupe les molécules antimicrobiennes présentes dans les différents compartiments de l'œuf (jaune, blanc, membranes coquillières et coquille). Ces molécules sont nombreuses et possèdent un large spectre d'activités antibactériennes, antifongiques, antivirales [4, 5]. Ainsi, l'œuf est une matrice alimentaire particulière et extrêmement intéressante du point de vue microbiologique. En effet, il représente un milieu qui, selon les conditions environnementales et les compartiments étudiés, peut permettre une croissance active ou une destruction importante des microorganismes [6]. L'œuf apparaît par conséquent, comme un aliment modèle pour étudier le comportement des bactéries lorsqu'elles rencontrent des conditions optimales.

Il représente ainsi le seul aliment d'origine animale possédant de nombreux atouts tels que les protéines qui constituent des composés antimicrobiens (protéines/peptides) citées comme référence par l'organisation mondiale de la santé [7] et pouvant être conservé à l'état cru pendant une période notable à température ambiante [8]. Le niveau de contamination du contenu interne de l'œuf dépend de celui du milieu de l'élevage des poules [9]. Ainsi, ces dernières années, il a été observé une émergence de bactéries résistantes chez les volailles dans l'élevage moderne. Cette émergence de bactéries multi-résistantes semble être liée aux administrations continues d'antibiotiques à des doses sub-thérapeutiques, de l'ordre de 5 à 50 ppm chez les volailles [10, 11]. De plus, ces antibiotiques facteurs de croissance pourraient avoir d'autres conséquences négatives pour la santé animale et humaine. En effet, certains d'entre eux pourraient favoriser le développement de bactéries pathogènes du fait de la réduction du microbiote (microflore) commensal [12]. Ainsi, la modulation du microbiote intestinal de la poule pondeuse due à l'administration des antibiotiques dans l'élevage moderne pourrait influencer l'aspect des œufs pondus et des substances contenues dans ceux-ci du fait de l'implication de ce microbiote intestinal dans différents processus métaboliques chez l'animal [13]. De plus, l'œuf développe une activité bactéricide à très large spectre que les données bibliographiques ne permettent pas d'expliquer. Il faut cependant noter que dans tous ces travaux antérieurs qui pour la plupart ont été réalisés il y a plus de 10 ans, il n'a jamais été précisé le mode d'élevage des poules pondeuses. Ainsi, afin d'apporter notre contribution à l'identification des facteurs pouvant influencer les activités biologiques des substances de l'œuf, cette présente étude s'est proposée d'évaluer l'effet du mode d'élevage en Côte d'Ivoire de la poule pondeuse *(Gallus gallus domesticus)* sur les activités antibactériennes du blanc et du jaune d'œuf.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

2-1-1. Matériel biologique

Le matériel biologique ***(Figure 1)*** était constitué d'œufs de poule *(Gallus gallus domesticus)* issus de l'élevage traditionnel (élevage de volailles en divagation et en plein air, sans soins particuliers) et de l'élevage moderne ('utilisation des techniques élaborées et des investissements importants avec un fort recourt aux intrants sanitaires et alimentaires). Des souches bactériennes issues de la bio-banque de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire qui avaient été testées résistantes aux antibiotiques à savoir, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC25922 ont été également utilisées.

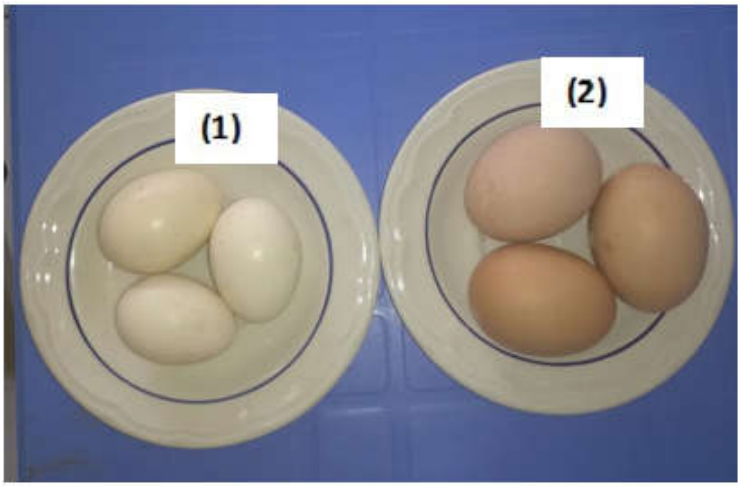

Figure 1 : *Œufs frais de poule (Gallus gallus domesticus) issus de l'élevage traditionnel (1) et moderne (2)*

2-2. Méthodes

2-2-1. Préparation de la suspension bactérienne

Les souches bactériennes à savoir, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922 ont été ensemencées séparément à la surface du milieu gélosé Mueller–Hinton. Les milieux ensemencés ont par la suite mis à incuber à 37°C pendant 48 heures. Chaque culture obtenue a été raclée et diluée dans 10 ml d'eau distillée stérile et chaque suspension a été filtrée sur un filtre stérile du type Miracloth. Chaque filtrat obtenu a été dilué afin d'obtenir une suspension dont la densité optique était de 0,6.

2-2-2. Prélèvement du blanc et du jaune d'œuf et incorporation dans les milieux de culture

Les œufs issus de l'élevage moderne et traditionnel, une fois dépoussiérés ont été trempés dans une solution de soude à 5 % pendant 20 minutes et rincés à l'eau distillée stérile. Une fois rincés, les œufs ont été trempés dans une solution d'alcool éthylique à 70° puis rincés à nouveau avec de l'eau distillée stérile. Les œufs ont été par la suite cassés et le blanc et le jaune d'œuf ont été ont prélevés aseptiquement et conservés séparément dans des bocaux stériles. Une fois le milieu gélosé Mueller-Hinton préparé et refroidi à 50° C dans un bain-Marie, le blanc et le jaune d'œuf ont été additionnés séparément à celui-ci à des proportions qui ont permis d'obtenir des milieux ayant des concentrations de 5, 10, 15, 20, 25 et 30 %. Des milieux de culture sans le blanc et le jaune d'œuf ont été également préparés pour servir de milieux témoin.

2-2-3. Suivi de la croissance

Le suivi de la croissance a consisté à ensemencer par étalement 0,1 mL de chaque suspension bactérienne à la surface des milieux contenant séparément le blanc et le jaune d'œuf à différentes concentrations. Des milieux de culture sans le blanc et le jaune d'œuf ont été également ensemencés. Ceux-ci ont par la suite été mis à incuber à 37° C pendant 48 heures. Les dénombrements ayant donné un nombre de colonies inférieur ou égal à 300 ont été considérés. Au-delà de 300, le nombre de colonies est incomptable.

2-2-4. Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée par une analyse de Variance (ANOVA) utilisant un seuil de signification de 5 %. Les tests ont été réalisés à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5.0. Le test de comparaison de Tukey a été utilisé afin d'identifier les différences.

3. Résultats

Les résultats obtenus ont montré une absence d'inhibition de la croissance des souches bactériennes testées pour les plus faibles teneurs en blanc et jaune d'œuf issus aussi bien de l'élevage moderne que de l'élevage traditionnel. En effet, sur les milieux de culture ne contenant ni blanc et ni jaune d'œuf ainsi que sur le milieu de culture à 5 % de ces différentes substances, il a été impossible de dénombrer les colonies ***(Tableaux 1a, 1b, 2a, 2b, 3a et 3b)*** et ce quel que soit le mode d'élevage et la souche bactérienne testée. Par ailleurs, les résultats obtenus avec le blanc d'œuf, révèle une réduction de la croissance à partir de 10% de cette substance dans le milieu de culture aussi bien pour le blanc d'œuf issu de l'élevage moderne que pour celui issu de l'élevage traditionnel et ce aussi bien pour *E. coli* que pour *S. aureus* ***(Tableaux 1a et 2a)***. En effet, à 10 % de blanc d'œuf issu aussi bien de l'élevage moderne que de l'élevage traditionnel dans le milieu de culture, le nombre de colonies a pu être dénombré (215 à 225 CFU pour *E. coli* et 200 à 210 CFU pour *S. aureus*). Il est observé ainsi une réduction significative ($P < 0,05$) du nombre de colonies avec l'augmentation dans le milieu de culture de la teneur en blanc d'œuf issu aussi bien de l'élevage moderne que de l'élevage traditionnel avec une absence de colonies observée à partir de 25 % de cette substance dans le milieu de culture et ce pour ces deux espèces bactériennes. Cette absence de colonies indique ainsi une inhibition totale de la croissance à partir de 25 % de blanc d'œuf issu aussi bien de l'élevage moderne que de l'élevage traditionnel dans le milieu de culture pour *E. coli* et *S. aureus*. Cependant, il n'a été observé aucune différence significative entre les activités antibactériennes du blanc d'œuf issu de l'élevage moderne et celles du blanc d'œuf issu de l'élevage traditionnel ($P > 0,05$). Par ailleurs, pour *P. aeruginosa*, le blanc d'œuf n'a eu aucun effet inhibiteur sur la croissance de cette espèce quel que soit le mode d'élevage et quelle que soit la teneur en cette substance dans le milieu de culture. En effet, il a été impossible de dénombrer les colonies quelle que soit la teneur en blanc d'œuf dans le milieu de culture ***(Tableau 3a)***. Les résultats obtenus avec le jaune d'œuf montrent que seul celui extrait des œufs issus de l'élevage traditionnel a eu un effet inhibiteur sur la croissance de *E. coli* et de *S. aureus* avec une inhibition totale observée à partir de 25 % de cette substance dans le milieu de culture ***(Tableaux 1b et 2b)***. Le mode d'élevage influence ainsi significativement les activités antibactériennes du jaune d'œuf ($P < 0,05$). Cette substance n'a cependant eu aucun effet inhibiteur sur la croissance de *P. aeruginosa* quel que soit le mode d'élevage et quelle que soit la teneur en celle-ci dans le milieu de culture ***(Tableau 3b)***.

Tableau 1 : *Effet du blanc d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel (a) et du jaune d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel (b) sur la croissance d'Escherichia coli*

(a)

Mode d'élevage	**Teneur en blanc d'œuf dans le milieu Muller-Hinton**						
	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Œufs issus de l'élevage moderne	Colonies incomptables	Colonies incomptables	225 ± 3 CFU	70 ± 2 CFU	33 ± 3 CFU	Absence de colonies	Absence de colonies
Œufs issus de l'élevage traditionnel	Colonies incomptables	Colonies incomptables	215 ± 5 CFU	60 ± 1 CFU	25 ± 3 CFU	Absence de colonies	Absence de colonies

(b)

Mode d'élevage	**Teneur en jaune d'œuf dans le milieu Muller-Hinton**						
	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Œufs issus de l'élevage moderne	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables
Œufs issus de l'élevage traditionnel	Colonies incomptables	Colonies incomptables	230 ± 2 CFU	65 ± 2 CFU	28 ± 1 CFU	Absence de colonies	Absence de colonies

Tableau 2 : *Effet du blanc d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel (a) et du jaune d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel (b) sur la croissance de Staphylococcus aureus*

(a)

Mode d'élevage	**Teneur en blanc d'œuf dans le milieu Muller-Hinton**						
	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Œufs issus de l'élevage moderne	Colonies incomptables	Colonies incomptables	210 ± 10 CFU	71 ± 1 CFU	32 ± 2 CFU	Absence de colonies	Absence de colonies
Œufs issus de l'élevage traditionnel	Colonies incomptables	Colonies incomptables	200 ± 5 CFU	60 ± 1 CFU	29 ± 1 CFU	Absence de colonies	Absence de colonies

(b)

Mode d'élevage	**Teneur en jaune d'œuf dans le milieu Muller-Hinton**						
	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Œufs issus de l'élevage moderne	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables
Œufs issus de l'élevage traditionnel	Colonies incomptables	Colonies incomptables	220 ± 5 CFU	80 ± 5 CFU	30 ± 1 CFU	Absence de colonies	Absence de colonies

Tableau 3 : *Effet du blanc d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel (a) et du jaune d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel (b) sur la croissance de Pseudomonas aeruginosa*

(a)

Mode d'élevage	**Teneur en blanc d'œuf dans le milieu Muller-Hinton**						
	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Œufs issus de l'élevage moderne	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables
Œufs issus de l'élevage traditionnel	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables

(b)

Mode d'élevage	**Teneur en jaune d'œuf dans le milieu Muller-Hinton**						
	0 %	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Œufs issus de l'élevage moderne	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables
Œufs issus de l'élevage traditionnel	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables	Colonies incomptables

4. Discussion

L'inhibition totale de la croissance de *S. aureus* et de *E. coli* observée sur le milieu de culture à partir de 25% de blanc d'œuf issu aussi bien de de l'élevage moderne que de traditionnel confirme bien l'existence des propriétés antibactériennes de cette substance de l'œuf. Cela pourrait s'expliquer comme l'ont montré des travaux précédents, en partie par la viscosité de l'albumen qui constitue un obstacle à la progression des bactéries. En effet, les travaux de [14] et ceux de [15, 16] ont montré que l'albumen est de nature très visqueuse, notamment du fait de la présence du lysozyme et de l'ovomucine qui par des liaisons non covalentes s'organisent en réseaux denses gélifiés. Ces résultats confirment également ceux de [17, 18] qui ont montré l'effet bactéricide de l'albumen (blanc d'œuf). Les propriétés antimicrobiennes du lysozyme résident principalement dans son aptitude à hydrolyser les peptidoglycanes bactériens des bactéries à Gram positif [14]. Les composés de l'œuf qui présentent des activités biologiques variées (antimicrobiennes, antiinflammatoires, anti-cancéreuses ou même anti-hypertensives) ouvrent des perspectives prometteuses en santé humaine et animale. Les protéines du blanc sont des actrices essentielles de la défense de l'œuf. Ainsi, le blanc d'œuf n'est pas un milieu propice au développement microbien. Son pH alcalin (entre 7,6 et 9,5), sa structure visqueuse et hétérogène en font un environnement très particulier qui peut limiter la croissance des microorganismes (effet bactériostatique), voire les tuer (effet bactéricide), selon le type de microorganisme et les conditions environnementales. Les molécules du blanc d'œuf les plus connues pour avoir une activité bactéricide ou bactériostatique sont le lysozyme et l'ovotransferrine.

Le lysozyme, protéine contenu dans le blanc d'œuf est connu pour son pouvoir bactéricide puisqu'il tue notamment les bactéries Gram positif. Outre son pouvoir inhibiteur contre bactéries de type Gram positif, le lysozyme peut, sous réserve de certaines modifications moléculaires, détruire également les bactéries Gram négatif [19]. D'où l'inhibition totale de la croissance de *S. aureus* (bactérie gram positif) et de *E. coli* (bactérie gram négatif) observée sur le milieu de culture à partir de 25 % de blanc d'œuf. Cependant, cette activité inhibitrice du blanc d'œuf n'est pas influencée par le mode d'élevage des poules pondeuses. Quant au jaune d'œuf, bien qu'habituellement cette substance soit une source favorable au développement des bactéries, cette étude a montré que celui extrait des œufs issus de l'élevage traditionnel a favorisé l'inhibition totale de la croissance de *E. coli* et de *S. aureus.* L'effet inhibiteur de cette substance est donc fonction de l'espèce bactérienne mais également de la méthode d'élevage des poules pondeuses. Ainsi cette inhibition notée pourrait s'expliquer par le fait que la méthode d'élevage peut avoir un impact sur la qualité des ovo-produits. Ces résultats confirment ceux obtenus par [20, 21] qui ont montré que la méthode d'élevage avait un impact sur la qualité des ovo-produits. Par ailleurs, parmi les espèces bactériennes testées, seule la souche de *P. aeruginosa* n'a eu aucune sensibilité vis-à-vis du blanc et du jaune d'œuf quel que soit le mode d'élevage. Ces résultats confirment ceux de [22] qui ont démontré que cette bactérie était résistante aux substances de l'œuf. D'où sa présence dans les produits avicoles marquée par la production dans ceux-ci de deux pigments que sont, la pyocyanine et la pyoverdine [23].

5. Conclusion

Cette étude vient étayer le fait que le blanc d'œuf contienne des substances ayant un pouvoir antibactérien qui font partie d'un système de défense destiné à protéger le poussin au stade embryonnaire. En effet, la croissance de deux des trois souches bactériennes testées *(S. aureus et E. coli)* a été totalement inhibée à partir de 25 % de blanc d'œuf issu aussi bien de l'élevage moderne que de l'élevage traditionnel dans le milieu de culture. Par ailleurs, le jaune d'œuf, bien qu'habituellement cette substance soit une source favorable au développement des bactéries, les résultats de cette étude montrent que celui extrait des œufs

issus de l'élevage traditionnel a favorisé l'inhibition totale de la croissance de *E. coli* et de *S. aureus.* Le potentiel inhibiteur de cette substance est donc fonction de l'espèce bactérienne mais également de la méthode d'élevage des poules pondeuses. Ainsi, seules les activités antibactériennes du jaune d'œuf sont influencées significativement par le mode d'élevage des poules pondeuses. En raison de leur pouvoir antibactérien, le blanc d'œuf issu de l'élevage moderne et traditionnel ainsi que le jaune d'œuf issu de l'élevage traditionnel pourraient être utilisés pour conserver des denrées alimentaires. Pour un approfondissement de cette étude, il serait intéressant de caractériser dans des travaux ultérieurs, les peptides antimicrobiens de ces substances principalement ceux du jaune d'œuf issu de l'élevage traditionnel. Ce qui pourrait permettre d'expliquer ces propriétés antimicrobiennes observées et ouvrir de nouvelles perspectives quant à l'utilisation de ces substances dans divers domaines (agro-alimentaire et pharmaceutique).

Remerciements

Les auteurs remercient Madame la Directrice de l'Institut Pasteur de Côte pour les souches bactériennes fournies lors de cette étude.

Références

[1] - J. C. FOTSA, X. ROGNON, M. TIXIERBOICHARD, J. D. NGOU NGOUPAYOU, D. PONE KAMDEM, Y. MANJELI, A. BORDAS, Exploitation de la poule locale *(Gallus gallus)* en zone de forêt humide du Cameroun. *Bull. Anim. Health Anim. Afr.*, 55 (2007) 59 - 73

[2] - H. HALIMA, F. W. C NESER, D. TADELLE, E. VAN MARLEKOSTER, A. DE KOCK, Village-based indigenous chicken production system in north-west Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.*, 39 (2007a) 189 - 197

[3] - M. BOURIN, Caractérisation fonctionnelle et biochimique des protéases et antiprotéases présentes dans le jaune d'œuf «*Gallus gallus*». Thèse de Doctorat de l'Université François – Rabelais, (2011) 190 p.

[4] - N. GUYOT, V. LABAS, G. HARICHAUX, M. CHESSE, J. C. POIRIER, Y. NYS, S. REHAULT-GODBERT, Proteomic analysis of egg white heparin-binding proteins : towards the identification of natural antibacterial molecules. *Sci Rep.* Jun 13, 6 (2016) 27974. doi:10.1038/srep27974

[5] - S. V. RÉHAULT-GODBERT, J. HERVÉ-GRÉPINET, C. GAUTRON CABAU and M. HINCKE, Molecules Involved in Chemical Defence of the Chicken Egg. In: Y. NYS, M. BAIN, and F. Van Himmerseel, editors. Improving the Safety and Quality of Egg and Egg Products. *Cambridge, UK. Wood Head Publishing*, (2011) 83 - 132

[6] - EQUIPE MICOV, microbiologie de l'œuf et du lait, (2010)

[7] - Y. NYS and B. SAUVEUR, The nutritional value of eggs. *Productions Animales.,* 17 (2004) 385 - 393

[8] - Organisation mondiale de la santé (OMS), (2008)

[9] - K. DE REU, T. B. RODENBURG, K. GRIJSPEERDT, W. MESSENS, M. HEYNDRICKX, F. A. M. TUYTTENS, B. SONCK, J. ZOONS and L. HERMAN, Bacteriological contamination, dirt, and cracks of eggshells in furnished cages and noncage systems for laying hens: An international on-farm comparison. *Poultry Sc.*, 88 (2009) 2442 - 2448

[10] - J. I. R CASTANON, History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. *Poultry Science,* 86 (2007) 2466 - 2471. doi:10.3382/ps.2007-00249

[11] - DANMAP, Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobials resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. *Danish Institute for Food and Veterinary Research*, (2011) 156 p.

[12] - H. ASAKURA, O. TAJIMA, M. WATARAI, T. SHIRAHATA, H. KURAZONO and S. MAKINO, Effects of rearing conditions on the colonization of *Salmonella enteritidis* in the cecum of chicks. *J. Vet. Med. Sci.*, 63 (2001) 1221 - 1224

[13] - G. T. MACFARLANE and G. R. GIBSON, Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *Journal of nutrition*, (1994) 1401 - 1412 p.

[14] - V. L. HUGHEY and E. A. JOHNSON, Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53 (1987) 2165 - 2170

[15] - G. LESNIEROWSKI, J. KIJOWSKI, Bioactive egg compounds (Eds Huopalahti, R. et al.) Ch., 6 (2007) 33 - 42 (Springer-Verlag)

[16] - K. DURING, P. PORSCH, A. MAHN, O. BRINKMANN and W. GIEFFERS, The non-enzymatic microbicidal activity of lysozymes. FEBS Lett., 449 (1999) 93 - 100

[17] - T. L. MILLER, M. J. WOLIN, C. E. DE MACARIO and J. L. ALBERTO, Isolation of *Methanobrevibacter smithii* from Human Feces. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 43, N° 1 (Jan. 1982) 227 - 232 p.

[18] - V. L. HUGHEY and E. A. JOHNSON, Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. *Appl Environ Microbiol.*, 53 (1987) 2165 - 2170

[19] - A. MOLLA, Y. MATSUMURA, T. YAMAMOTO, R. OKAURA, H. MALOLA, Pathogenic capacity of proteases from Serratia marcescens and Pseudomonas aeruginosa and their suppression by chicken egg white ovomacroglobulin. *Infect Immun.*, 55 (1987) 2509 - 2517

[20] - J. PROTAIS, La qualité de l'œuf de consommation dans l'aviculture Française. Information Techniques des services vétérinaires, (1988) 761 - 772 p.

[21] - J. D. SHUMAN, B. W. SHELDON, Thermal resistance of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in liquid egg yolk and egg white. *Journal of food protection,* 60 (1997) 634 - 638

[22] - H. D. EMBORG, J. S. ANDERSEN, A. M. SEYFARTH and H. C. WEGENER, Relations between the consumption of antimicrobial growth promoters and the occurrence of resistance among Enterococcus faecium isolated from broilers. *Epidemiol Infect.*, 132 (2004) 95 - 105

[23] - L. LE MINOR and M. VÉRON, Bactériologie médicale. *Sciences Flammarion*, ISBN 2257124189, 9782257124180, Edition 2, 1 janv. (1989) 1107 p.