

## Annexe II: hygiénogramme au couvoir

Cette annexe décrit la mise en œuvre de l'hygiénogramme, l'attribution des scores et son évaluation dans les couvoirs.

Une fois par trimestre, un contrôle d'hygiène est réalisé au couvoir. Ce contrôle se fait de manière non annoncée un jour où il n'y a pas d'éclosion mais alors que le couvoir est en activité. Les couvoirs saisonniers ne sont dès lors échantillonnés que durant une certaine période de l'année.

Lors de l'échantillonnage, on mesure aussi bien le nombre total de germes que le nombre total de moisissures. Les scores obtenus reflètent le statut d'hygiène quotidien du couvoir.

Les échantillonnages, de même que les analyses de l'enquête d'hygiène, sont réalisés par une association agréée.

### 1. Procédures d'échantillonnage des couvoirs

#### 1.1 Matériel

- Plaques Rodac pour détermination du développement des germes
- Plaques Rodac pour détermination du développement des moisissures
- Portes-plaques
- Sacs en plastique propres
- Set de vêtements de protection et masque de protection
- Etiquettes adhésives
- Frigo-box
- Documents

##### 1.1.1 Plaques Rodac

On utilise des plaques Rodac stériles d'environ 5,5 cm de diamètre qui sont remplis avec:

- une *plate count agar* pour le comptage des germes totaux;
- un milieu de culture spécifique pour moisissures (Sabouraud) pour le comptage des moisissures totales.

Les plaques Rodac pour la croissance des moisissures doivent être conservées à une température comprise entre 2°C et 25°C, les plaques pour la croissance des germes entre 12°C et 25°C. Il faut éviter les courants d'air et les fluctuations de température. Les plaques doivent toujours être placées avec l'agar vers le haut.

Les plaques Rodac ainsi préparées ne peuvent plus être utilisées si :

- Elles n'ont pas été conservées à une température correcte ;
- S'il s'est produit une condensation sur la face interne des plaques ;
- Si les plaques ont été ouvertes et ensuite refermées sans que des empreintes n'aient été faites directement ;
- Si une prolifération est observable sur l'agar ;
- Si les plaques ont été fabriquées il y a plus de 30 jours, à moins que la date de péremption mentionnée par le fabricant ne soit pas encore dépassée ;
- Si la plaque est éclatée ou cassée.

Le tableau ci-dessous reprend le nombre de plaques rodac lors de l'échantillonnage:

Capacité du couvoir (œufs à couvrir mis en incubation par semaine)	Nombre de plaques Germes totaux	Nombre de plaques Moisissures totales
≤500.000	52	52
500.000-1.000.000	62	62
>1.000.000	72	72
Couvoir saisonnier	40	40

### 1.1.2 *Vêtements hygiéniques et masque de protection*

En l'absence de vêtements de couvoir propres, un set de vêtements personnels jetables (combinaison jetable, chaussons) fermés dans un emballage est utilisé.

### 1.1.3 *Documents*

Pour l'échantillonnage du couvoir, une feuille de calcul 'Analyse d'hygiène de couvoir' est utilisée, correspondant à la catégorie de couvoir qui sera échantillonnée. Des étiquettes adhésives sont prévues afin de munir chaque plaque Rodac individuelle d'un numéro qui correspond au lieu d'échantillonnage comme indiqué dans le schéma d'échantillonnage.

## 1.2 **Méthode**

Avant de pénétrer dans les locaux d'exploitation, les mesures d'hygiène et de protection sont prises. Des vêtements et des chaussures appartenant à l'exploitation ou des vêtements jetables sont utilisés.

### 1.2.1 *L'évaluation visuelle*

Si au moment de l'échantillonnage une partie de l'échantillonnage ne peut pas être réalisée, cela est stipulé sur la feuille 'Enquête hygiène couvoir'.

L'hygiène du couvoir est visuellement évalué lors de l'échantillonnage. Le résultat de cette évaluation est noté dans le document de travail. Si certaines sous-parties sont évaluées comme 'mauvaises', il faut également indiquer de quels lieux d'échantillonnage il s'agit. Les aspects suivants sont évalués :

- Inventaire de la propreté ;
- Propreté des sols ;
- Propreté des murs/plafonds ;
- Lutte contre les nuisibles ;
- Traces de nuisibles.

La norme pour l'évaluation visuelle est la suivante :

<b>Bon</b>	Absence de non-conformités visibles
<b>Médiocre</b>	Léger état de saleté avec saleté volante
<b>Mauvais</b>	Présence généralisée de saleté volante / divers problèmes de lutte contre les nuisibles / dégâts par les nuisibles

### 1.2.2 Réalisation de l'échantillonnage

Des 'empreintes' sont prises pour la détermination du nombre de germes ainsi que pour la détermination du nombre de moisissures.

Les 'empreintes' sont réparties entre les locaux et les incubateurs suivant le schéma d'échantillonnage décrit ci-dessous:

Local/espace	Lieu d'échantillonnage	Capacité du couvoir exprimé en nombre d'œufs à couvrir (incubés par semaine)			Couvoir saisonnier (indépendamment de la capacité)
		500.000	>500.000-1.000.000	>1.000.000	
Approvisionnement/salle de tri des œufs	-le plancher -le chariot de transport -l'inventaire	3 1 2	3 1 2	3 1 2	3 1 2
Local de désinfection	-le plancher -les murs -l'inventaire	2 1 3	2 1 3	2 1 3	2 1 3
Local de mise en incubation	-le plancher -les murs -l'inventaire	1 local 2 1 3	2 locaux 2 1 3	2 locaux 2 1 3	1 local 2 1 3
Incubateur	-le plancher -le plafond -le tiroir -les œufs	1 armoire 1 1 1 1	2 armoires 1 1 1 1	2 armoires 1 1 1 1	1 armoire 1 1 1 1
Local d'éclosion	-le plancher -les murs -l'inventaire	1 local 2 1 3	1 local 2 1 3	2 locaux 2 1 3	1 local 2 1 3
Armoire d'éclosion	-le plancher -le plafond -le tiroir -les œufs	1 armoire 1 1 1 1	1 armoire 1 1 1 1	2 armoires 1 1 1 1	1 armoire 1 1 1 1
Local des poussins	-le plancher -les murs -l'inventaire	2 1 3	2 1 3	2 1 3	2 1 3
Espace de nettoyage	-le plancher -le plafond -l'évier -l'inventaire	2 1 1 2	2 1 1 2	2 1 1 2	0 0 0 0
Stockage	-le plancher -les murs -l'inventaire	2 1 3	2 1 3	2 1 3	0 0 0
Contrôle négatif		1	1	1	1
Contrôle positif		1	1	1	1
Total		52	62	72	40

- Ouvrez quelques paquets contenant les plaques Rodac après l'arrivée au couvoir ;
- Numérotez les plaques d'un numéro qui correspond au lieu d'échantillonnage ;
- Les endroits humides ne sont pas échantillonnés ;

- Ôtez le couvercle de la plaque et évaluez la superficie de l'agar. La plaque ne doit pas être utilisée dans le cas d'un des points mentionnés au point 1.1.1.
  - Appuyez sur la plaque d'agar sans mouvement rotatif une seule fois à chaque fois avec une pression identique pendant 15 secondes sur la surface à analyser ;
  - Ne touchez pas l'agar avec les mains ;
  - Remplacez le couvercle de la plaque et placez la plaque Rodac avec l'agar sur le dessus dans le porte-plaques ;
  - Prenez 2 échantillons de contrôle en plus (aussi bien pour le nombre de germes que pour le nombre de moisissures) :
    - une plaque n'est pas échantillonnée (échantillon négatif),
    - une plaque est échantillonnée dans l'enceinte de 'l'exploitation' mais en dehors du poulailler (échantillon positif).
- Le résultat de ces deux échantillons sera également mentionné sur le rapport du laboratoire.

A la fin de l'échantillonnage, le porte-plaques avec toutes les plaques Rodac est placé dans un sac plastique, ce sac plastique est fermé à son tour et placé dans une glacière.

Les plaques Rodac sont emballées et transportées dans les 12 heures au laboratoire pour ensuite être placées en incubation. Une température comprise entre 0°C et 20°C est appliquée au transport et au stockage éventuel. En cas de températures plus élevées, les plaques doivent être traitées dans les 4 heures.

Le formulaire "Hygiénogramme couvoir" entièrement complété doit être joint aux plaques Rodac envoyées au laboratoire.

## 2. Attribution des scores

### 2.1 Incubation

Le laps de temps entre l'échantillonnage et l'incubation peut être de maximum 12 heures. Les plaques Rodac sont incubées dans l'incubateur avec l'agar, face vers le haut, à une température de 37°C (± 1°C):

- les plaques Rodac pour la croissance des germes pendant 18-24 heures;
- les plaques Rodac pour la croissance des moisissures pendant 36-48 heures.

### 2.2 Lecture des plaques incubées

On procède directement à la lecture des plaques après l'incubation. Si cela n'est pas possible, elles peuvent être conservées pendant maximum 48 heures dans le réfrigérateur, à une température comprise entre 2°C et 8°C.

On compte le nombre de colonies par plaque Rodac (ufc = unité formant colonie). Lorsque la prolifération provient d'un même propagateur, c'est compté comme une seule colonie. Si une partie n'a pas pu être échantillonnée, cela doit être mentionné sur le rapport d'essai.

L'attribution des scores se fait en fonction du tableau 2.2 et 2.3.

Tableau 2.2. Attribution des scores 'germes totaux'

Colonies (ufc) par plaque	Score
0	0
1 à 15	1
16 à 50	2
51 à 160	3

Plus que 160	4
Incalculable	5

Tableau 2.3. Attribution des scores moisissures (*Aspergillus* spp.)

Colonies (ufc) par plaque	Score
0	0
1 ou 2	1
3 à 5	2
6 à 16	3
Plus que 16	4
Incalculable	5

Les scores individuels sont mentionnés sur le formulaire d'analyse. Une moyenne est calculée pour chaque local ou armoire d'éclosion. Toutes les parties indiquées comptent pour la 'moyenne du couvoir' qui est calculée en additionnant les moyennes de tous les locaux et armoires d'éclosion et en les divisant par la somme du nombre de locaux et du nombre d'armoires d'éclosion. Le résultat est arrondi à une décimale et est mentionné sur le formulaire.

### 2.3 Notification

Le résultat de l'analyse est communiqué sans délai au vétérinaire d'exploitation et au couvoir. Les données mentionnées sur le formulaire "Hygiénogramme couvoir" leur sont communiquées. Les scores des échantillons individuels ainsi que des échantillons de contrôle et la moyenne sont indiqués sur le rapport. Le rapport de laboratoire doit toujours être pourvu du nom et de l'adresse du laboratoire, ainsi que du nom et de la signature du collaborateur de laboratoire responsable.

## 3. L'évaluation des scores

L'évaluation est basée sur les deux aspects suivants:

a) la *moyenne du local* : la moyenne par local ou par armoire d'éclosion **ne peut être supérieure à 4**, sauf si l'échantillonneur indique que pendant l'échantillonnage ont été effectuées des opérations propres à influencer le résultat. Si une même moyenne de local ou d'armoire d'éclosion est supérieure à 4 lors de deux examens d'hygiène successifs, ce résultat est qualifié d'"insuffisant".

b) la *moyenne du couvoir* : aussi bien pour le nombre de germes que pour le nombre de moisissures, on applique la norme suivante :

0 - 1	: excellent
1,1 - 2	: bon
2,1 - 2,5	: suffisant
2,6 - 2,9	: médiocre
3 et plus	: insuffisant

En cas d'un 'insuffisant', le couvoir est réexaminé dans les 14 jours à ses frais, et ce jusqu'à ce que les résultats soient satisfaisants (non insuffisants).