

**PROCEDURE OPERATOIRE STANDARD :**

**Collecte des moustiques par pièges lumineux CDC (Spécifique à AvecNet)**

**Détails de la POS :**

<b>Version:</b> 1.0 Française La version française est définitive	<b>Date d'entrée en vigueur:</b>	<b>05/08/2013</b>
<b>Auteur(s):</b> Dr Guelbeogo Moussa, Mr Dimitri Wangrawa, Mr Alphonse Traoré.	<i>Signature</i>	<i>Date</i>
		10/02/2014
<b>Revue par :</b> Sagnon N'Falé ; Margaret Pinder. <b>Titre:</b> Dr	<i>Signature</i>	<i>Date</i>
		13/01/14
<b>Approuvé par :</b> Steve Lindsay <b>Titre:</b> Prof	<i>Signature</i>	<i>Date</i>
		30/01/14
<b>Prochaine date de revue :</b>	Janvier 2015	
<b>Changements de la présente revue:</b> Non applicable – nouvelle version		
<b>Lieu :</b>	Copie originale: Sagnon N'Falé / Study File Copies: Guelbeogo Moussa, Dimitri Wangrawa, Alphonse Traoré. Version électronique: Steve Lindsay / Margaret Pinder / Study File	
<b>Confidentiel, copie non autorisée prohibée</b>		

**Revue de l'historique:**

<b>Première date de vigueur :</b>				
<b>Revu le :</b>				
<b>Mise à jour oui/non:</b>				

## 1. DEFINITIONS ET ABBREVIATIONS

AvecNet	AvecNet est un consortium de chercheurs africains et européens engagés à s'assurer de la continuité de la lutte contre le vecteur du paludisme en Afrique et est un projet financé par l'UE dirigé par le Professeur Hilary Ranson, Liverpool School Tropical Medicine.
AvecNet	AvecNet est aussi utilisé comme titre abrégé de l'essai intitulé "Evaluation de l'impact de l'addition de la pyriproxifène, un mimétique d'une hormone de l'insecte jeune, aux Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides à Longue Durée d'Action: Quelle protection additionnelle à celle que confère les bonnes pratiques actuelles contre les épisodes cliniques de paludisme. Un essai clinique randomisé en grappe à schéma « cunéiforme » à deux bras au Burkina Faso.", financé par le projet AvecNet sous son WP6.
CDC	Centre for Disease Control, USA
CNRFP	Centre National de Recherche et Formation sur le Paludisme, Burkina Faso
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
MILD	Moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée
MILD-PPF	Moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée associées au pyriproxifène et au perméthrine
MR	Malaria Research
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase chaine reaction, la réaction en chaîne de la polymérase
POS	Procédure Opératoire Standard
WP	Work package

## 2. CONTEXTE

Le paludisme demeure un problème de santé publique en Afrique au sud du Sahara malgré les avancées récentes enregistrées dans le cadre de la lutte contre cette maladie. La résistance des moustiques aux insecticides pyréthrinoïdes met à rude épreuve les différents moyens de lutte (moustiquaires imprégnées et pulvérisations intra domiciliaires) actuellement utilisés contre les vecteurs. Ces insecticides sur les surfaces traitées entraînent un effet knock down rapide, une forte mortalité sur les moustiques sensibles. Malheureusement les souches résistantes ne cessent de se répandre dans cette zone de l'Afrique. La tolérance des moustiques résistants vis-à-vis de ces pyréthrinoïdes réduit considérablement la protection offerte par les matériaux de lutte imprégnés de pyréthrinoïdes. D'où la nécessité de trouver d'autres moyens qui pourraient accroître la protection offerte par les moustiquaires imprégnées ; principaux outils de lutte contre le paludisme. Le pyriproxifène est une substance analogue à l'hormone juvénile des insectes. Il peut empêcher l'émergence des nymphes. Il peut aussi stériliser les adultes, réduire leurs fécondité et leur longévité.

La présente POS permettra d'évaluer l'effet protecteur additionnel de moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes et de pyriproxifène dans 40 villages de la région de Banfora, une zone où il ya recrudescence de la résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthrinoïdes. Cette POS sera utilisé dans le cadre des collectes des moustiques à l'aide pièges lumineux CDC au compte du projet AvecNet WP6. Les pièges seront installés une fois le mois dans des maisons préalablement sélectionnées d'octobre à décembre 2013 et de mai en décembre 2014 et 2015

## 3. CHAMP D'APPLICATION

La présente procédure est applicable dans les activités du Laboratoire d'Entomologie du CNRFP, par l'ensemble du personnel y travaillant.

#### **4. RESPONSABILITES**

Le Dr Sagnon N'Falé est le responsable de l'étude. La sélection des concessions est gérée en collaboration avec Dr Margaret Pinder. L'assistant du Dr Sagnon N'Fale', Dr Guelbeogo Moussa est à la charge de la gestion quotidienne et est chargé de veiller à l'application stricte de la présente procédure. L'équipe de terrain sera formé à application de la procédure sous la supervision de Mr Dimitri Wangrawa. Mr Dimitri Wangrawa est chargé de coordonner les activités sur le terrain et veillera également à l'application de la procédure Le personnel du laboratoire sera également formé sur la procédure en sa section 6 et veillera à son application dans la mesure de sa qualification et de sa formation et sera sous la supervision de Mr Traore Alphonse. Le gestionnaire de données des projets sera responsable de la saisie des données.

#### **5. SANTE & SECURITE**

- 5.1 Au laboratoire porter une blouse et des gants
- 5.2 Sur le terrain porter de chaussures de sécurité
- 5.3 Charger les batteries dans une salle climatisée, vérifier régulièrement le régulateur de charge et débrancher le chargeur quand il n'est plus utilisé. Prévoir un extincteur dans la salle climatisée
- 5.4 Trousse de santé

#### **6. PROCEDURES**

##### **6.1 Matériels de terrain**

- Piège
- Véhicule de terrain
- Téléphones
- Aspirateur électrique
- Torche électrique
- Piles (grosses piles)
- Batteries (12 volts)
- Gobelet en carton
- Bracelet élastique
- Crayon et gomme
- Tubes Eppendorfs 1.5ml
- Tube de 14 ml
- Fiches de récolte
- Glacière pour collecte
- Marqueurs
- Impermeable
- Stylos
- Trousseau

##### **6.2 Materiel de laboratoire**

- Tubes Eppendorfs 1.5ml
- 2 Loupes dissection avec source lumineuse
- Lames et lamelles,
- Pincés
- Aiguille de dissection
- Marqueur

- l'eau distillée.
- Microscope
- Pipette pasteur
- Fichier à levier
- Perforateur de papier
- Agrafeuse

### 6.3 Mode opératoire

#### 6.3.1 **Choix et consentement des propriétaires des maisons**

1. Une liste de concessions choisies aléatoirement dans chaque cluster sera préparée par l'épidémiologiste en utilisant les données DSS en collaboration avec l'entomologiste. Cette liste sera composée de 6 concessions de premier choix et 3 concessions de second choix pour des remplacements
2. L'entomologiste de terrain visitera les concessions et identifiera les maisons avec un seul dormeur pour administrer les consentements pour la collecte des moustiques. Un consentement écrit sera donc réalisé.
3. La fiche d'information sur la maison sera remplie
4. Si il n'y a pas de maison adéquate pour la collecte des moustiques, cette information doit être notée sur la liste de randomisation par l'entomologiste de terrain et passer ensuite à la concession suivante sur la liste.

#### 6.3.2 **Installation du piège sur le terrain**

1. L'assistant de village sera avisé par téléphone à l'avance pour rappeler aux chefs de famille des maisons sélectionnées pour la capture que l'équipe d'étude se visitera leur maison le lendemain soir.
2. Avant la pose du piège, les caractéristiques de la maison et de la cour doivent être renseignées à l'aide de la fiche de collecte.
3. Si la porte est fermée ou le piégeage est impossible pour une autre raison, use choisir une maison de réserve randomisée
4. Le piège CDC doit être placé à un mètre au-dessus du sol à l'extrémité du pied du lit. Réglez la hauteur de sorte que la plaque d'aluminium est au niveau de votre tour de taille (ce qui est environ un mètre). Assurez-vous que tous les lits ou les positions de couchage ont une moustiquaire;
5. Etiqueter le piège avec le nom du village, le nombre de cluster, numéro de la maison et de la date, par écrit sur un bout de papier et le déposer à l'intérieur de la cage piège / filet et dans les poches latérales au cas échéant;
6. Fixer les bornes des fils de couleur du piège pour correspondre à ceux des bornes de la batterie et assurez-vous que le ventilateur souffle vers le bas dans le filet et pas vers le haut par sentir le courant des deux extrémités (haut et bas) de l'air;
7. Laisser une borne de la batterie débranchée, ce qui doit être connecté soit par l'assistant de village ou travailleur de terrain à 19.00 heures pour commencer à fonctionner le piège. Le piège doit fonctionner toute la nuit;
8. Dans la matinée, à 07,00 heures, avant de débrancher la batterie du piège, attacher le manchon du filet d'abord pour éviter les moustiques échappent. Tous les pièges doivent être enlevés avant 10:00;
9. Remplir la fiche de récolte CDC annexé au documente.
10. Mettez le filet étiqueté avec les moustiques dans une glacière pour le transport vers le laboratoire.
11. Transporter les collections faites avec les glacières et leurs formulaires correspondant au laboratoire dès que possible. Les remettre au technicien de laboratoire pour le traitement des échantillons. Signer la fiche de transfert des échantillons.
12. Deux batteries seront disponibles pour chaque piège chaque semaine. Charger les batteries à l'avance, vérifier l'état de chargement des batteries avant de les emporter sur le terrain. Après débranchement ramener les batteries au camp de base et les mettre en charge pour l'utilisation suivante.

### 6.3.3 Traitement des échantillons

#### Conditionnement et triage des moustiques

1. Placer les filets avec les moustiques directement à l'intérieur d'un congélateur à -20 ° C pendant environ 30min pour tuer tous les moustiques;
2. Vider le contenu du filet dans une boîte de Pétri et retirer l'étiquette du piège et le coller sur le couvercle de la boîte avant de couvrir et sceller avec certains du scotch;
3. Trier et identifier les moustiques de chaque collection morphologiquement en utilisant la clé d'identification de façon journalière.
4. Enregistrer le stade physiologique et de réplétion de tous les *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus*. En fonction de leur stade de digestion du sang et de l'apparence de l'abdomen, les anophèles peuvent être regroupés comme moustique à jeun, fraîchement engorgées, semi-gravides et gravides (figure 1).
  - a. A jeun: L'abdomen est aplati.
  - b. Fraîchement engorgées: L'abdomen semble clair ou rouge foncé du sang dans l'intestin moyen. Les ovaires occupent seulement une petite zone à l'extrémité de l'abdomen et cette partie n'est pas rouge, il ne comporte que deux segments sur la face ventrale et d'au plus cinq segments sur la face dorsale.
  - c. Semi-gravide: Le sang est de couleur sombre, presque noir et occupe trois à quatre segments sur la face ventrale et six à sept sur la face dorsale de l'abdomen. Les ovaires occupent la majeure partie de l'abdomen.
  - d. Gravide: Le sang est réduit à une petite tache noire sur la surface ventrale ou peut être complètement digéré. Les ovaires occupent tout le reste de l'abdomen.

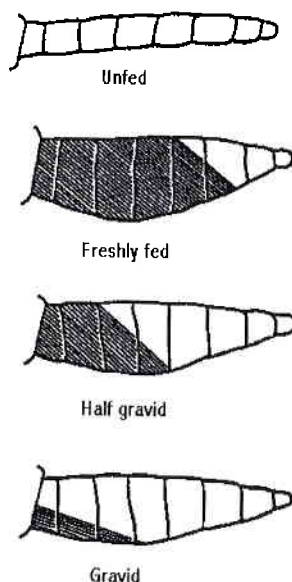
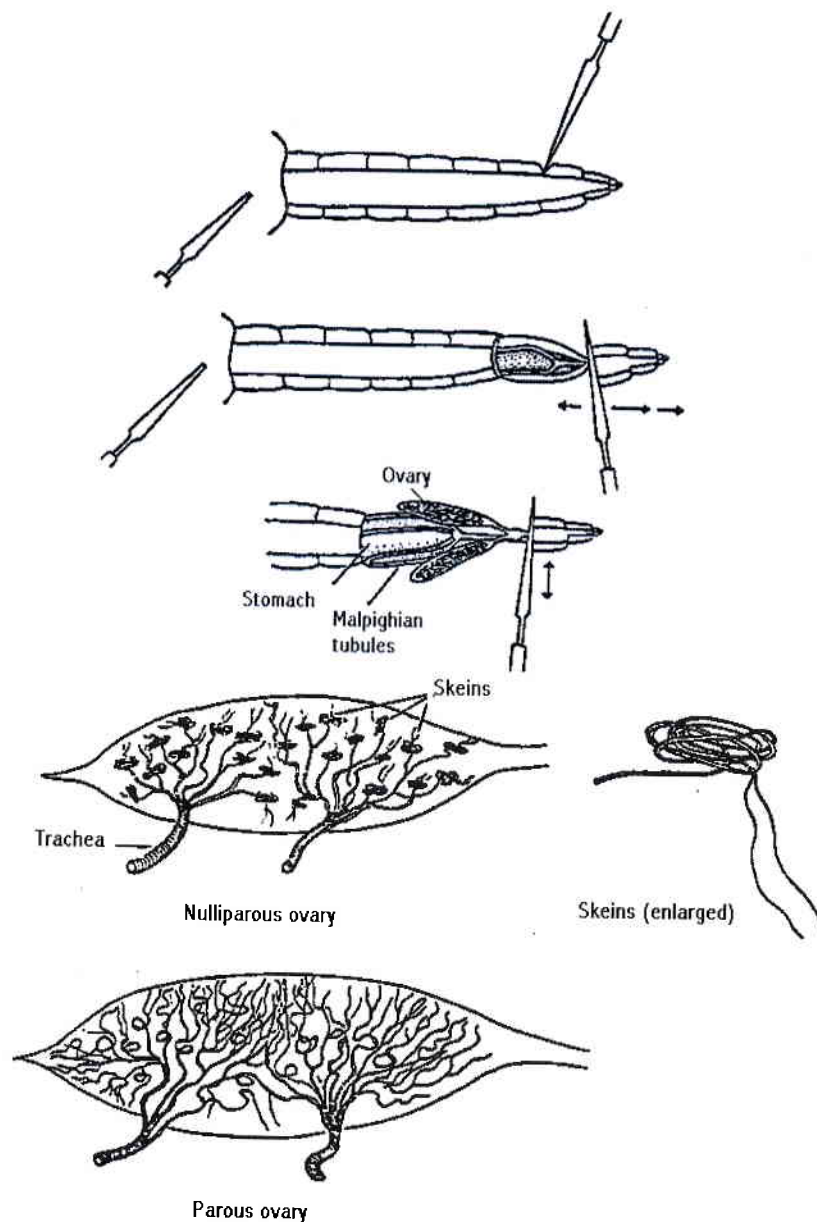


Figure 1

## Determination de la parité

1. Trier les moustiques à jeun ou fraîchement gorgés pour la dissection des ovaires
2. Suivre les étapes suivantes pour la dissection:
  - a) Tuer la femelle, enlever pattes et ailes.
  - b) Placer le moustique sur une lame et ajouter une goutte d'eau distillée.
  - c) Une aiguille tenant le thorax, avec l'autre aiguille, tirer de la main droite le bout de l'abdomen pour le séparer du reste du corps. Les ovaires sortent alors de l'abdomen.
  - d) Couper l'oviducte commun et séparer les ovaires du reste du moustique.
  - e) Transférer les ovaires dans une goutte d'eau distillée sur une autre lame et laisser sécher.
  - f) Reconnaître les moustiques nullipares ou pares : les nullipares présentent des écheveaux (trachéoles peloté ou en boule) tandis que les pares ont leurs trachéoles étirées ou des œufs dans les ovaires



## Références

1. Gillies MT, Coetzee M. (1987) A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afrotropical region). S Afr Inst Med Res 55:1-143
2. Gillies MT, de Meillon B (1968) The Anophelinae of Africa south of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region). S Afr Inst Med Res 54:1-343
3. OMS : *Technique entomologiques pratiques pour la lutte antipaludique*, 1994
4. Methods in Anopheles research MR4, edition 2010.

## Annexes

- Annexe 1. AvecNet : Liste des maisons sélectionnées dans les 40 clusters
- Annexe 2. AvecNet : Programme journalier des poses et retrait des pièges
- Annexe 3. AvecNet : Fiche d'identification des maisons
- Annexe 4. AvecNet : Fiche descriptive des maisons
- Annexe 5. AvecNet : Fiche de récolte des moustiques adultes par CDC

**Annexe 1 :**

**AvecNet : Liste des maisons sélectionnées dans les 40 clusters**

**- 6 concessions de premier choix (1-6) et 3 concessions de second choix pour des remplacements (10-12)**

	N°Cluster	Nom village	Code village	N° Concession	N° Maison Nom du propriétaire
1 1 <sup>eme</sup> choix	01				
2 1 <sup>eme</sup> choix	01				
3 1 <sup>eme</sup> choix	01				
4 1 <sup>eme</sup> choix	01				
5 1 <sup>eme</sup> choix	01				
6 1 <sup>eme</sup> choix	01				
10 2 <sup>eme</sup> choix	01				
11 2 <sup>eme</sup> choix	01				
12 2 <sup>eme</sup> choix	01				
1 1 <sup>eme</sup> choix	02				
2 1 <sup>eme</sup> choix	02				
3 1 <sup>eme</sup> choix	02				
4 1 <sup>eme</sup> choix	02				
5 1 <sup>eme</sup> choix	02				
6 1 <sup>eme</sup> choix	02				
10 2 <sup>eme</sup> choix	02				
11 2 <sup>eme</sup> choix	02				
12 2 <sup>eme</sup> choix	02				
1 1 <sup>eme</sup> choix	03				
2 1 <sup>eme</sup> choix	03				
3 1 <sup>eme</sup> choix	03				
4 1 <sup>eme</sup> choix	03				
5 1 <sup>eme</sup> choix	03				
6 1 <sup>eme</sup> choix	03				
10 2 <sup>eme</sup> choix	03				
11 2 <sup>eme</sup> choix	03				
12 2 <sup>eme</sup> choix	03				



## Annexe 2.

### AvecNet : Programme journalier des poses et retrait des pièges

Semaine	Jour	Date	Periode	N° Cluster	Activités
1	Dimanche		Soir	1 & 2	Installation pièges
1	Lundi		Matin	1 & 2	Retrait pièges
			Soir	3 & 4	Installation pièges
1	Mardi		Matin	3 & 4	Retrait pièges
			Soir	5 & 6	Installation pièges
1	Mercredi		Matin	5 & 6	Retrait pièges
			Soir	7 & 8	Installation pièges
1	Jeudi		Matin	7 & 8	Retrait pièges
			Soir	9 & 10	Installation pièges
1	Vendredi		Matin	9 & 10	Retrait pièges
			Soir		
1	Samedi		Matin		Repos
			Soir		Repos
2	Dimanche		Soir	11 & 12	Installation pièges
2	Lundi		Matin	11 & 12	Retrait pièges
			Soir	13 & 14	Installation pièges
2	Mardi		Matin	13 & 14	Retrait pièges
			Soir	15 & 16	Installation pièges
2	Mercredi		Matin	15 & 16	Retrait pièges
			Soir	17 & 18	Installation pièges
2	Jeudi		Matin	17 & 18	Retrait pièges
			Soir	19 & 20	Installation pièges
2	Vendredi		Matin	19 & 20	Retrait pièges
			Soir		
2	Samedi		Matin		Repos
			Soir		Repos
3	Dimanche		Soir	21 & 22	Installation pièges
3	Lundi		Matin	21 & 22	Retrait pièges
			Soir	23 & 24	Installation pièges
3	Mardi		Matin	23 & 24	Retrait pièges
			Soir	25 & 26	Installation pièges
3	Mercredi		Matin	25 & 26	Retrait pièges
			Soir	27 & 28	Installation pièges
3	Jeudi		Matin	27 & 28	Retrait pièges
			Soir	29 & 30	Installation pièges

3	Vendredi	Matin	29 & 30	Retrait pièges
		Soir		
3	Samedi	Matin		Repos
		Soir		Repos
4	Dimanche	Soir	31 & 32	Installation pièges
4	Lundi	Matin	31 & 32	Retrait pièges
		Soir	33 & 34	Installation pièges
4	Mardi	Matin	33 & 34	Retrait pièges
		Soir	35 & 36	Installation pièges
4	Mercredi	Matin	35 & 36	Retrait pièges
		Soir	37 & 38	Installation pièges
4	Jeudi	Matin	37 & 38	Retrait pièges
		Soir	39 & 40	Installation pièges
4	Vendredi	Matin	39 & 40	Retrait pièges
		Soir		
4	Samedi	Matin		Repos
		Soir		Repos

**Annexe 3.**

**AvecNet : Fiche d'identification des maisons**

ID Maison	1 <sup>eme</sup> ou 2 <sup>eme</sup> choix	N° Cluster	Nom village	N° Village	N° concession	Chef de concession	N° Ménage	Chef du Ménage	Nom du dormeur
	1								
	1								
	1								
	1								
	1								
	1								
	2								
	2								
	2								
	1								
	1								
	1								
	1								
	1								
	2								
	2								
	2								

**Annexe 4.**

**AvecNet : Fiche descriptive des maisons**

Date de collecte (jjmmAA) e.g. 010610....

Numero du cluster e.g. 01-40.....

Village:

Code Village: .....

Chef de la concession:

Chef de menage:

Numéro de la concession : .....

Nom de personne ayant dormi: .....

Age de la personne ayant dormi sous la moustiquaire (années)

Dimension de la maison

Longueur (m):.....

Largeur (m):.....

Diamètre..... ;

Type de toit

Metal  Banco  paille

Type de matériaux de construction

Ciment  Banco  Bois

Surface des murs

Banco crépis  Banco non crepis  Ciment crepis  Ciment non

Ouvertures Fermées  Ouvertes

Coordonnées GPS: Nord

Ouest

Initiales du technicien de terrain:.....



Section B, (à remplir au labo)

**Inventaires des espèces collectées**

Total engorgées *An.gambiae*:..... 

--	--	--

Total à jeun *An. gambiae*:..... 

--	--	--

Total gravides/semi-gravides *An. gambiae*:..... 

--	--	--

Total males *An. gambiae*:..... 

--	--	--

Total femelles parmi les autres anopheles:..... 

--	--	--

....

Total males parmi les autres anopheles:..... 

--	--	--

..

Total femelles culicinés:..... 

--	--	--

Total males culicinés:..... 

--	--	--

**Examen de la parité**

Total femelles disséqués:..... 

--	--	--

Total moustiques pares:..... 

--	--	--

Total moustiques nullipares:..... 

--	--	--

Initials and Signature du technician Lab..... 

--

Verifier par nom et prenoms..... 

--

**Annex 6.**

**AvecNet : Fiche de transfert des échantillons**

Date de livraison (jjmmaa) e.g. 010610....

Heure de livraison (24 h) 1200hrs

Echantillon du cluster numero e.g. 01-40.....

Village:

Village code: .....

Nom de l'agent de terrain: .....

Signature de l'agent de terrain: .....

Nom du chauffeur: .....

Signature du chauffeur: .....

Echantillon reçu par le Technicien de Labo(Nom) :.....

Date de réception (jjmmaa) e.g. 010610....

Heure de réception (24 h) e.g. 1300hrs

Lieu de conservation de l'échantillon.....

Signature: .....