

PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

REDACTEURS	VERIFICATEURS	APPROBATEUR	DESTINATAIRES
Dr Armel DJENONTIN	ADJA A Maurice BOYER Sébastien CHANDRE Fabrice DJENONTIN Armel FONTENILLE Didier KOFFI Alphonsine LABBO Rabiou MORLAIS Isabelle TOURE Mahama	Participants au projet PALEVALUT	Entomologistes
Date : 02-08-2013	Date : 06/09/2013	Date :	

Historique des modifications :

Date	Version	Nature de la modification
02/08/2013	0	Premier Draft
06/09/2013	1	Approuvé par WP1
04/11/2013	2	Mise en forme définitive

Sommaire :

1. Introduction.....	2
2. Objectifs.....	2
3. Responsabilités.....	2
4. Méthodes	3
4.1. Moustiquaires.....	3
4.1.1. L'échantillonnage.....	3
4.1.2. La vérification de l'intégrité des moustiquaires	3
4.1.3. Les bio essais sur MIILD	4
4.2 Maisons traités par aspersions intra-domiciliaires	6
4.2.1. L'échantillonnage.....	6
4.2.2. Les bio essais pour la PID	6
6. Références.....	8
ANNEXE 1. Fiche de résultats du test d'intégrité physique	9
ANNEXE 2. Fiche résultats des tests en cône	10



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

1. Introduction

Les principales méthodes de lutte entomologiques contre la transmission du paludisme par les anophèles vecteurs sont la distribution massive de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MIILD) et la pulvérisation intra domiciliaires d'insecticides rémanents (PID). La mise en place de ces outils repose sur l'hypothèse que la majeure partie des anophèles responsables de la transmission pique préférentiellement l'homme, la nuit à l'intérieur des habitations et restent s'y reposer après la prise du repas sanguin.

L'efficacité opérationnelle de la lutte anti vectorielle (LAV) déployée repose sur la qualité du support traité avec de l'insecticide (MIILD ou PID), la sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides utilisés et sur leur préférences comportementales. Toute modification de ces trois paramètres est susceptible de diminuer l'efficacité opérationnelle de la LAV. L'évaluation de ces paramètres après le déploiement des outils de LAV est donc indispensable.

Une telle évaluation pour être adéquate devra être composée du contrôle de la qualité des outils de lutte anti vectorielle mis en place (POS CQ MIILD-PID), de l'étude de la résistance des anophèles vecteurs aux insecticides utilisés (POS RES-VECT), de l'étude du comportement des anophèles vecteurs, ainsi que de l'évaluation du risque de transmission dans les zones couvertes (POS MoBe).

2. Objectifs

La présente procédure opérationnelle standard concerne le plan d'échantillonnage des maisons et des moustiquaires ainsi que le protocole des bio-essais réalisés pour le contrôle de qualité des PID et des MIILD. Pour les PID des bio-essais seront réalisés dans les maisons (in situ). Pour les MIILD, l'intégrité physique sera étudiée et des bio-essais pour le contrôle de l'efficacité insecticide des MIILD.

3. Responsabilités

Cette POS sera mise en œuvre par le personnel chargé de réaliser le contrôle de qualité des PID et des MIILD au sein des équipes de recherche en entomologie chargées d'évaluer l'efficacité opérationnelle de ces outils de lutte anti vectorielle. Les responsables des programmes de lutte et des équipes de recherche devront mettre à la disposition de leur personnel le matériel nécessaire pour cette mise en œuvre et veiller à son respect.

Les techniciens entomologistes seront chargés:

- de la collecte des moustiquaires sur le terrain selon le plan d'échantillonnage défini par les responsables. Cela peut impliquer, par exemple, que les enquêteurs responsables de l'enquête transversale (cf. POS EQtiMeLID) soient chargés de la collecte des moustiquaires dans les ménages.
- de la réalisation des tests sur ces moustiquaires



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

- de la réalisation des tests sur les murs des maisons traitées et sélectionnées.

4. Méthodes

4.1. Moustiquaires

4.1.1. L'échantillonnage

Les MIILD à examiner seront tirées au sort parmi les moustiquaires déployées dans les habitations. Pour des raisons éthiques toute moustiquaire tirée au sort sera remplacée par une neuve à la charge du programme. Dans chaque village de l'étude, 5 moustiquaires seront tirées au sort et testées. Le retrait et le remplacement des moustiquaires à étudier au laboratoire seront réalisés par l'équipe épidémiologique lors de son passage sur le terrain.

4.1.2. La vérification de l'intégrité des moustiquaires

Pour la mesure de l'intégrité physique des moustiquaires, chaque moustiquaire sera fixée sur un cadre comme illustré par la figure 1.



Figure 1. Moustiquaires usagées installées sur un cadre pour le comptage des trous de différentes tailles.

Les trous seront comptés sur les quatre côtés de la moustiquaire, sur le toit et au niveau des points de couture. Ces trous seront classés selon leur taille de la façon suivante (OMS, 2011):

- Trou de type 1 (T1) : Trou ne laissant pas passer le pouce (0,5-2 cm).
- Trou de type 2 (T2) : Trou laissant passer le pouce mais ne laissant pas passer le poing (2-10 cm).
- Trou de type 3 (T3) : Trou laissant passer le poing mais ne laissant pas passer la tête (10-25 cm).

PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

-Trou de type 4 (T4) : Trou laissant passer la tête (> 25 cm).

Les observations faites sur chaque moustiquaire seront enregistrées sur une fiche (voir annexe 1). A partir de ces observations, deux indicateurs seront calculés pour chaque type de moustiquaire. Il s'agit de:

- La proportion de moustiquaires trouées: $100 \times \frac{\text{Nombre de moustiquaires ayant au moins 1 trou}}{\text{Nombre total de moustiquaires inspectées}}$ [95%IC].
- L'indice de trous : $(a \times \text{nombre trous T1}) + (b \times \text{nombre trous T2}) + (c \times \text{nombre trous T3}) + (d \times \text{nombre trous T4})$ avec $a=1$; $b=23$; $c=196$; $d=578$. a, b, c et d étant des facteurs de pondération (WHO 2011). Les facteurs b, c et d ont été estimés à partir des surfaces moyennes respectives des différentes catégories de trous.

4.1.3. Les bio essais sur MIILD

Les tests en cône sur les MIILD seront réalisés selon le protocole standard OMS (WHO 2006).

Principe du test :

Le test en cône a pour but d'évaluer au laboratoire sur des moustiques adultes l'efficacité de la MIILD. Les résultats s'expriment en pourcentage de mortalité après 24 heures et d'effet Knock Down (effet KD). Cette évaluation simultanée du KD et de la mortalité permet ainsi d'apprécier la bio-disponibilité de l'insecticide sur la MIILD.

Les cônes standardisés par l'OMS sont en PVC, une matière sur laquelle les moustiques ont des difficultés à se poser, ce qui favorise le contact entre les moustiques et le substrat. Ce dispositif permet ainsi de s'assurer que les tarses du moustique sont bien en contact avec le support traité tout au long de l'exposition.

Matériel :

- Cônes en PVC de l'OMS ;
- Deux plaques de plexiglas transparent 24 x 27 cm percées de quatre trous de 95 mm de diamètre pour tester des moustiquaires ou des tissus ;
- Un aspirateur à bouche ;
- Fiche résultats de test en cône.

Préparation du test :

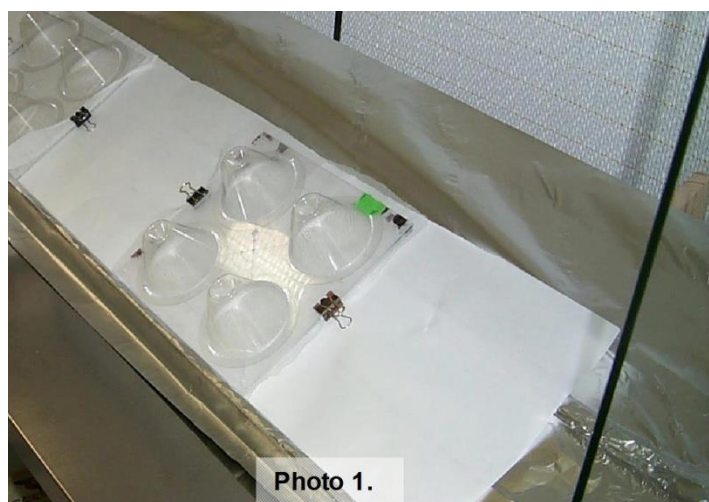
Test sur moustiquaires ou tissus imprégnés :

- Préparer en premier le support témoin, puis les supports recevant les échantillons traités.



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

- Placer la moustiquaire ou le tissu d'une surface de 0,0625 m² (soit 0,25m x 0,25m) entre les deux plaques de Plexiglas transparent comportant quatre trous à l'emplacement exact où doivent se trouver les cônes.
- Maintenir bloqué l'ensemble avec des pinces "double clips".
- Placer les supports en oblique à 40° sur un support grillagé métallique ou un support en bois recouvert de papier blanc.



- Fermer avec un bouchon en polyéthylène l'orifice supérieur des cônes (ouverture sur l'extérieur) **Photo 1.**

Préparer des gobelets en plastique de 200 ml fermés par un morceau de moustiquaire troué servant à recevoir les moustiques après le test pour observation pendant 24 heures.

Déroulement du test :

Tous les renseignements sont notés sur la fiche de test "Test en cône". Le temps d'exposition des moustiques (à jeun et âgés de 2 à 5 jours, généralement des femelles) est de 3 mn (moustiquaire) avec 5 individus par cône.

Pendant toute la durée de l'exposition, les cônes sont maintenus à 25°C ±2°C. À la fin du temps d'exposition, les moustiques sont transférés dans un gobelet pourvu de coton imbibé de jus sucré (glucose 10%).

Si besoin le taux de KD est noté à intervalles réguliers (par exemple toutes les 10 minutes) jusqu'à 60 minutes ou après 30 et 60 minutes.

Les moustiques sont ensuite placés en observation dans l'obscurité pendant 24 heures dans une pièce maintenue entre 26 et 28°C et 80% à 100% d'humidité.

Après ce délai le nombre d'individus morts est compté.

Les moustiques capables de voler sont considérés comme vivants. Il est cependant fréquemment observé avec les pyréthriinoïdes que les moustiques survivants sont capables de voler même avec plusieurs pattes manquantes, parfois jusqu'à 5. Ce phénomène d'auto-section des pattes survient autant au laboratoire que dans la nature. Les moustiques ayant trois ou moins de trois pattes ne survivent pas dans les conditions naturelles. Une "mortalité fonctionnelle" (morts + vivants avec 3 pattes ou moins) sera définie par opposition à une mortalité réelle.

PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

Critères d'acceptation

En plus du témoin négatif (support non imprégné) un témoin positif est utilisé pour les tests sur les souches sensibles sur moustiquaire. Celui-ci est composé d'un tulle imprégné de deltaméthrine à 25 mg/m² donnant 95 à 100% de mortalité.

Pour que le test soit validé il faut que la mortalité chez les témoins négatifs soit inférieure à 20 %. Lorsque celle-ci est comprise entre 5 et 20 % la mortalité des traités est corrigée selon la formule d'Abbott (% Mortalité corrigée = (%Mort. observée – %Mort. Témoin)/(100 - %Mort. Témoin) x 100). La mortalité dans les témoins positifs doit être comprise entre 95 et 100%.

4.2 Maisons traités par aspersions intra-domiciliaires

4.2.1. L'échantillonnage

Les maisons traitées par aspersion intra-domiciliaire seront tirées au sort. Dans chaque village, 15 maisons seront choisies et un bio-essai sera réalisé dans une pièce traitée de chacune de ces maisons.

4.2.2. Les bio essais pour la PID

Les tests en cône sur les murs seront également réalisés selon le protocole standard OMS (WHO 2006). Les cônes seront placés sur les 4 murs de la pièce traitée choisie.

Principe du test :

Le test en cône a pour but d'évaluer sur des moustiques sensibles adultes l'efficacité et la rémanence d'un insecticide sur un mur après la PID. Les résultats s'expriment en pourcentage de mortalité après 24 heures et, s'il s'agit d'un pyréthrianoïde, en terme de mortalité et d'effet Knock Down (effet KD lorsque l'insecticide utilisé est un pyréthrianoïde). Cette évaluation simultanée du KD et de la mortalité permet ainsi d'apprécier la biodisponibilité de l'insecticide sur le substrat.

Les cônes standardisés par l'OMS sont en PVC, une matière sur laquelle les moustiques ont des difficultés à se poser, ce qui favorise le contact entre les moustiques et le substrat. Ce dispositif permet ainsi de s'assurer que les tarses du moustique sont bien en contact avec le support traité tout au long de l'exposition.

Matériel :

- Cônes en PVC de l'OMS ;
- Scotch ;
- Un aspirateur à bouche ;



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

- Fiche de résultats de test en cône.

Préparation du test :

Test sur substrat mural :

- Le cône est fixé sur le mur à l'aide de scotch. **(Photo 2.)**

Préparer des gobelets en plastique de 200 ml fermés par un morceau de moustiquaire troué servant à recevoir les moustiques après le test pour observation pendant 24 heures.



Photo 2

Déroulement du test :

Tous les renseignements sont notés sur la fiche de test "Test en cône". Le temps d'exposition des moustiques (à jeun et âgés de 2 à 5 jours, généralement des femelles) sur les murs imprégnés d'insecticide est de 30 mn à raison de 15 individus par cône.

À la fin du temps d'exposition, les moustiques sont transférés dans un gobelet pourvu de coton imbibé de miel et placés en observation pendant 24 heures en veillant à ce que le taux d'humidité ne soit pas trop bas (en les plaçant dans des glacières recouvertes d'un tissu humidifié par exemple).

Si besoin le taux de KD est noté à intervalles réguliers (par exemple toutes les 10 minutes) jusqu'à 60 minutes ou après 30 et 60 minutes.

Les moustiques sont ensuite placés en observation dans l'obscurité pendant 24 heures dans une étuve maintenue entre 26 et 28°C et 80% à 100% d'humidité.

Après ce délai le nombre d'individus morts est compté.

Les moustiques capables de voler sont considérés comme vivants. Il est cependant fréquemment observé avec les pyréthrinoïdes que les moustiques survivants sont capables de voler même avec plusieurs pattes manquantes, parfois jusqu'à 5. Ce phénomène d'auto-section des pattes survient autant au laboratoire que dans la nature. Les moustiques ayant trois ou moins de trois pattes ne survivent pas dans les conditions naturelles. Une "mortalité fonctionnelle" (morts + vivants avec 3 pattes ou moins) sera définie par opposition à une mortalité réelle.

Critères d'acceptation



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

Pour que le test soit validé il faut que la mortalité chez les témoins négatifs soit inférieure à 20 %. Lorsque celle-ci est comprise entre 5 et 20 % la mortalité des traités est corrigée selon la formule d'Abbott ($\% \text{ Mortalité corrigée} = (\% \text{Mort. observée} - \% \text{Mort. Témoin}) / (100 - \% \text{Mort. Témoin}) \times 100$). La mortalité dans les témoins positifs doit être comprise entre 95 et 100%. De plus il faut obligatoirement obtenir quatre points exploitables pour l'analyse de la relation dose/effet (logiciel log/probit Analysis) pour que le test soit retenu.

Il n'est pas possible de trouver une surface non-imprégnée (ou non contaminée) ainsi qu'une surface fraîchement imprégnée dans chaque maison de l'étude. Les témoins négatif et positif (morceaux de ciments ou banco) seront donc transportés avec les moustiques d'insectarium le jour du test pour être testés dans les mêmes conditions que les murs de chaque maison.

6. Références

WHO. 2006. Guidelines for testing mosquito adulticides intended for Indoor Residual Spraying (IRS) and Insecticide Treated Nets (ITNs). WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDDP 3.

WHO. 2011. Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions. WHO/HTM/NTD/WHOPES/2011.5.



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

ANNEXE 1. Fiche de résultats du test d'intégrité physique

Nom de l'opérateur:

1. Date du test (jj/mm/aa): |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|
2. Code moustiquaire: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Type de trous	Description des trous	
Trous de type 1	Nombre de trous ne laissant pas passer le pouce (0,5-2 cm)	Toit _ _ _ _ Partie supérieure des faces _ _ _ _ Partie inférieure des faces _ _ _ _ Couture _ _ _ _
Trous de type 2	Nombre de trous laissant passer le pouce mais ne laissant pas passer le poing (2-10 cm).	Toit _ _ _ _ Partie supérieure des faces _ _ _ _ Partie inférieure des faces _ _ _ _ Couture _ _ _ _
Trous de type 3	Nombre de trous laissant passer le poing mais ne laissant pas passer la tête (10-25 cm)	Toit _ _ _ _ Partie supérieure des faces _ _ _ _ Partie inférieure des faces _ _ _ _ Couture _ _ _ _
Trous de type 4	Nombre de trous laissant passer la tête (> 25 cm)	Toit _ _ _ _ Partie supérieure des faces _ _ _ _ Partie inférieure des faces _ _ _ _ Couture _ _ _ _



PROCEDURE	Réf. CQ MIILD-PID
Contrôle qualité des MIILD et des PID (CQ/MIILD-PID)	Version : 2
	Date : 04/11/2013

ANNEXE 2. Fiche résultats des tests en cône

Nom de l'opérateur:

3. Date du test (jj/mm/aaaa): |_|_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|_|

4. Code de la moustiquaire: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

5. Temperature : |_|_|_|°C Humidité relative: |_|_|_|_| %

6. Moustiques testés:

7. Age des moustiques testés: |_|_| jours

8. Heure de début du test (h/min): Heure de fin du test (h/min):

Positions sur la moustiquaire	Répliques	Nombre de moustiques exposés	N moustiques knock-down après 1 h	N moustiques morts après 24 h	N moustiques vivants 24 h	% knock down	% mortalité
1 _c	1						
	2						
2	1						
	2						
3	1						
	2						
4	1						
	2						
5	1						
	2						
Témoin	1						
	2						

