**Titre: Bio-assays pour déterminer l’efficacité résiduelle du butoxyde de piperonyle (PBO) et des pyréthroïdess sur les moustiquaires synergiques du PBO**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Nom complet | Signature | Date (jj/mm/aaaa) |
| Auteur | Seth Irlandais |  |  |
| Examinateur d’assurance-qualité |  |  |  |
| Approuvé par |  |  |  |

**Historique des documents :**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Version remplacée / date d’émission**  | **Révisions et raisons de changement** | **Actuelle** **version & date de version** | **Nom de l’examinateur**  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

1. **But**

Ce SOP décrit les procédures de réalisation des essais biologiques afin d’évaluer l’efficacité du butoxyde de piperonyle (PBO) et des pyréthroïdes sur les moustiquaires synergiques du PBO. Le PBO est ajouté aux moustiquaires en raison de sa capacité à inhiber l’activité des enzymes oxydases qui décomposent les pyréthroïdes. Toutefois, on craint que le PBO ne reste pas sur la moustiquaire autant que le pyréthroïde. Pour évaluer la bio-efficacité résiduelle du PBO et du pyréthroïde, il est nécessaire d’avoir un protocole qui sépare les actions de ces deux composés.

**Équipement et matériaux**

* 1. Cônes de l’OMS
	2. Plaques en plastique 30cmx30cm, avec des trous pour permettre aux moustiques dans les cônes d’accéder aux moustiquaires.
	3. Aspirateurs avec filtre HEPA (aspirateurs séparés pour l’introduction et l’élimination des moustiques du cône, ainsi que desaspirateurs séparés pour chaque technicien))
	4. Tasses en plastique/papier
	5. Élastiques
	6. Moustiquaire non traitée
	7. Laine de coton
	8. Minuteries
	9. Plaques en plastique, 30cm x 30cm, solide
	10. Plaques en plastique, 30cm x 30cm, avec 4 trous xx cm de diamètre
	11. Binder clips
	12. Solution de sucre ou de miel (5-10%)
	13. Eau distillée
	14. Élévateurs
	15. Papier pour étiquettes
	16. Marqueur permanent
	17. Manteau de laboratoire
	18. Gants de laboratoire
	19. Enregistreur de température/humidité avec lecture numérique
	20. Fiches techniques
	21. Stylo
	22. Titulaire du conseil (suggérer 60 degrés)
	23. Tubes de l’OMS
	24. Documents du PBO (4 %)
	25. Cage à moustiques 30x30x30
	26. Moustiquaire de moustique non traité

**MOUSTIQUES NÉCESSAIRES**

|  |  |
| --- | --- |
| **Souche** | **Caractéristiques** |
| Sensibles | Mortalité supérieure à 98 % lorsqu’elle est testée dans des tests de tube standard de l’OMS avec des papiers traités avec la pyréthroïde d’intérêt à la dose diagnostique |
| Résistant | Soit une souche de l’insectarium résistante aux pyréthroïdes, soit des moustiques sauvages prélevés sur le terrain qui ont moins de 70% de mortalité lorsqu’ils sont testés dans un test de tube de l’OMS. En outre, la pré-exposition au PBO devrait entraîner une augmentation de la mortalité d’au moins 20 % (c’est-à-dire 30 % à 50 %). Idéalement, une espèce vecteur du paludisme devrait être utilisée, mais une espèce bien caractérisée *d’Aedes* ou *de Culex* pourrait également être utilisée. |

1. **Sécurité**

|  |
| --- |
| **Risques** |
| Répertorier les éléments qui présentent des risques, Ex., manipulation manuelle, tranchants, produits chimiques, biologiques, rayonnements1. *Danger –* Insecticide et réactifs dangereux (moustiquaires traitées par insecticide)
2. *Danger -*
 |

|  |
| --- |
| **CONTRÔLE DES RISQUES** |
| Énumérez les contrôles mis en place pour minimiser ou réduire le niveau de risque, Ex., EPI, limiter l’utilisation de l’article/produit chimique aux personnes formées, les processus spécifiques de formation et d’induction, les lignes directrices désignées sur l’élimination des déchets, etc.1. *Contrôle des risques –* Portez des manteaux et des gants de laboratoire en tout temps lors de la remise d’insecticides et d’autres réactifs.
2. *Contrôle des risques -*
 |

* 1. Glossaire

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ***Vivant*** | ***Knockdown (enregistré 60 minutes après l’exposition)*** | ***Mort (enregistré 24 heures après l’exposition)*** |
| -Peut à la fois se tenir debout et voler d’une manière coordonnée | -Tout moustique qui ne peut pas se tenir debout (par exemple, a 1 ou 2 pattes) -Tout moustique qui ne peut pas voler de manière coordonnée -Un moustique qui se trouve sur le dos, les jambes et les ailes en mouvement, mais incapable de décoller  -Un moustique qui peut se tenir debout et décoller brièvement, mais tombe immédiatement  | -Aucun signe de vie : immobile; ne peut pas supporter -Un moustique qui se trouve sur le dos, les jambes et les ailes en mouvement, mais incapable de décoller  |

**Tableau 1. Classification des moustiques adultes comme vivants, abattus ou morts dans les bio-assays de phase I OMS**

1. **Procédures**

**Préparation pour les bio-essais de cône**

* 1. Préparer les tasses en les couvrant de morceaux de moustiquaire non traité et fixer la moustiquaire à l’aide d’un élastique. Couper une petite fente dans la moustiquaire au centre de la tasse pour permettre à l’extrémité de l’aspirateur de passer à travers la moustiquaire, et boucher ce trou avec une petite liasse de coton.
	2. Préparer la solution sucre/miel en ajoutant 20 g de sucre ou 20 ml de miel à 180 ml d’eau distillée ou potable. Bien mélanger.
	3. Couper les morceaux de moustiquaire à partir des moustiquaires d’intérêt. Assurez-vous de porter des gants tout en manipulant les moustiquaires et couper 30x30cm morceaux de la moustiquaire. Cinq pièces au total seront coupées si la moustiquaire a du PBO sur toutes les surfaces (Figure1). Si la moustiquaire a seulement PBO sur le toit (c’est à dire. PermaNet 3.0, Tsara Plus), 6 morceaux moustiquaires doivent être coupés (Figure2). Étiqueter immédiatement la moustiquaire à l’aide d’étiquettes de papier agrafées sur le coin d’une moustiquaire. Conserver dans du papier d’aluminium dans un réfrigérateur (4°C (±3°C)) lorsqu’il n’est pas utilisé.

**Figure 1 : Positions recommandées à partir desquelles les pièces de moustiquaire doivent être prises si le PBO se trouve sur toutes les surfaces de la moustiquaire.**



**Figure 2 : Positions de recommandé à partir desquelles les pièces de moustiquaire devraient être prises si le PBO n’est que sur le toit de la moustiquaire**



* 1. Utilisez les plaques en plastique pour fixer les cônes sur la moustiquaire à tester en place. Placez la plaque en plastique solide sur le dessus du banc, puis placez la moustiquaire sur le dessus de la plaque. Placez les 4 cônes sur la moustiquaire et fixez-les en plaçant la plaque en plastique avec 4 trous sur les cônes. Utilisez des pinces de reliure pour fixer les plaques les unes aux autres. Les plaques doivent ensuite être placés à un angle de 60° qui permettent l’accès des moustiques à la moustiquaire, et serrer les plaques en place.
	2. Un résumé des pièces de moustiquaires à utiliser dans les trois protocoles décrits ci-dessous est fourni ci-dessous

**Figure 2.1 Pièces moustiquaires utilisées dans les trois protocoles décrits ici.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **PBO sur toutes les surfaces** | Évaluation du pyréthroïde | Évaluation du PBO+pyréthroïde | Évaluation facultative du PBO |
| Pièce 2 | X | X | X |
| Pièce 3 | X | X | X |
| Pièce 4 | X | X | X |
| Pièce 5 | X | X | X |
| **PBO sur le toit seulement** | Évaluation du pyréthroïde | Évaluation du PBO+pyréthroïde | Évaluation facultative du PBO |
| Pièce 2 | X |   |   |
| Pièce 3 | X |   |   |
| Pièce 4 | X |   |   |
| Pièce 5.1 | X | X | X |
| Pièce 5.2 |   | X | X |
| Pièce 5.3 |   | X | X |

**Tester l’efficacité résiduelle des pyréthroïdes :**

* 1. Notez que même si certains moustiquaires PBO ne contiennent que certains panneaux contenant du PBO, la méthode d’évaluation de l’efficacité du pyréthroïde est la même que le panneau contienne ou non du PBO. Comme ces panneaux peuvent contenir différents niveaux de pyréthroïde (par exemple, les murs PermaNet ont 2,8 g/kg de deltaméthrine sur les murs (75 deniers) comparativement à 4 g/kg sur le toit; Tsara Plus a 2,5g/kg de deltaméthrine sur les murs, contre 3g/kg sur le toit), les différences doivent être prises en compte lors de l’interprétation des données.
	2. La température et l’humidité doivent être surveillées à l’aide d’un enregistreur de données pendant les périodes d’essai et de détention.
	3. Pour chaque cône, 5 moustiques sensibles doivent être introduits dans le cône et le cône bloqué avec un morceau de coton. La minuterie peut être démarrée dès que tous les moustiques sont dans le cône. Idéalement, une minuterie séparée devrait être utilisée pour chaque cône.
	4. Une fois que la minuterie atteint 3 minutes, les moustiques doivent être aspirés doucement du cône et dans la tasse en plastique à travers la fente coupée dans la moustiquaire. Les gants doivent être portés. Couvrir la fente de coton après que les moustiques soient dans la tasse. Fournir aux moustiques une solution miel/sucre en humidifiant un morceau de coton, en le pressant pour enlever l’excès de solution et en le plaçant sur le dessus de la tasse.
	5. Il faut lire le nombre de moustiques incapables de se tenir debout ou de voler à 60 minutes après la fin du bio-essai du cône. La mortalité doit être lue selon les mêmes critères à 24 heures après le bio-essai du cône. (Voir la section 2.1)
	6. Pour chacun des quatre morceaux de moustiquaires testés, 10 moustiques (2 cônes) doivent être complétés sur les morceaux 2-5, donnant lieu à 40 moustiques utilisés pour tester les quatre morceaux de moustiquaires (plus 50 témoins (moustiques sensibles sur les moustiquaires non traitées) pour s’assurer que la mortalité est due à l’insecticide). Les résultats des moustiquaires de contrôle peuvent être partagés par tous les bio-essais effectués le même jour. Voir la figure 2. Si la mortalité témoin est de plus de 20%, le test doit être répété. Notez que pour les moustiquaires avec PBO sur le toit qui ont trois morceaux coupés du toit, un (5.1) sera utilisé pour évaluer le pyréthroïde.

Figure 3: Matrice d’enregistrement des résultats des essais biologiques, chaque cellule vide doit être remplie des résultats (nombre de réponses/nombres testés).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Knockdown** | Cône 1 | Cône 2 | Cône 3 | Cône 4 | Cône 5 |
| Pièce 2 (mur) |   |   |   |   |   |
| Pièce 3 (mur) |   |   |   |   |   |
| Pièce 4 (toit) |   |   |   |   |   |
| Pièce 5 (toit) |   |   |   |   |   |
| Contrôle 1 |   |   |   |   |   |
| Contrôle 2 |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |
| **Mortalité** | Cône 1 | Cône 2 | Cône 3 | Cône 4 | Cône 5 |
| Pièce 2 (mur) |  |  |  |  |  |
| Pièce 3(mur) |    |    |    |    |    |
| Pièce 4 (mur) |    |    |    |    |    |
| Pièce 5 (toit) |    |    |    |    |    |
| Contrôle 1 |    |    |    |    |    |
| Contrôle 2 |   |   |   |   |   |

1. **Tester l’efficacité globale de la moustiquaire PBO contre les moustiques résistants**
	1. Les essais de bio-efficacité de PBO sont plus difficiles et nécessitent soit une souche résistante à l’état sauvage, soit une souche résistante à l’élevage en laboratoire (dans les deux cas, au moins une partie de la résistance devrait être due à des oxydases p450 élevés).
	2. L’utilisation d’une souche résistante introduit une variabilité considérable dans le bio-essai, car même les souches résistantes au laboratoire peuvent varier dans leur degré de résistance. Pour cette raison, avant chaque bio-essai, la susceptibilité de la souche à utiliser doit être évaluée dans les tests de tubes de l’OMS à l’aide du pyréthroïde qui est sur la moustiquaire à tester, avec et sans pré-exposition au PBO. Les résultats du bio-essai initial peuvent être enregistrés dans une feuille de calcul comme indiqué à la figure 3.

**Figure 3. Résultats des tests tubulaires de l’OMS pour évaluer la susceptibilité de la souche résistante contre le pyréthroïde d’intérêt**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Knockdown | Tube 1 | Tube 2 | Tube 3 | Tube 4 |
| Souche résistante/wild |  |  |  |  |
| Souche résistante/wild + PBO |  |  |  |  |
| Contrôle |  |  |  |  |
|   |  |  |  |  |
| Mortalité | Tube 1 | Tube 2 | Tube 3 | Tube 4 |
| Souche résistante/wild |   |   |   |   |
| Souche résistante/wild + PBO |   |   |   |   |
| Contrôle |   |   |   |   |

* 1. Si la souche résistante montre une augmentation de la mortalité d’au moins 20 % (Ex., 30 % à 50 %), il peut être utilisé pour les essais pour évaluer la moustiquaire du PBO. Si ce seuil n’est pas atteint, soit une autre souche de champ doit être utilisée (après avoir évalué la susceptibilité avec/sans pré-exposition au PBO), soit les morceaux de moustiquaires doivent être testés dans un laboratoire qui maintient une souche appropriée de moustiques résistants. Notez qu’il n’est pas nécessaire que la souche vectorielle soit utilisée, car les tests visent à évaluer la quantité d’insecticide sur la moustiquaire, et non la susceptibilité des moustiques. De nombreux sites de terrain peuvent avoir un accès plus facile à *Culex quinquefasciatus* ou *Aedes aegypti* qui répondent à ces critères et l’utilisation de ces souches sont encouragées.
	2. Pour évaluer l’impact global des moustiquaires PBO sur les moustiques résistants, une souche résistante sera utilisée dans les cônes de bio-essais (en utilisant uniquement des morceaux de moustiquaires avec PBO dessus). Si la moustiquaire PBO a du PBO sur toutes les surfaces, les quatre pièces (2-5) seront sélectionnées à l’aide du schéma de la figure 1. Si le PBO n’est que sur le toit de la moustiquaire, 3 pièces seront coupées du toit de la moustiquaire (5,1-5,3).
	3. Deux MII seront utilisées pour la comparaison, une nouvelle moustiquaire PBO du même type en cours d’évaluation et une nouvelle MII standard avec le même pyréthroïde que la moustiquaire PBO en cours d’évaluation. Par exemple, si une PermaNet 3.0 venant du terrain était testé, la moustiquaire du terrain serait comparé à un nouveau PermaNet 3.0 et à un nouveau PermaNet 2.0.
	4. Pour chaque cône, 5 moustiques doivent être introduits dans le cône et le cône bloqué avec un morceau de coton. La minuterie peut être démarrée dès que tous les moustiques sont dans le cône. Idéalement, une minuterie séparée devrait être utilisée pour chaque cône.
	5. Une fois que la minuterie atteint 3 minutes, les moustiques doivent être aspirés doucement du cône et dans la tasse en plastique à travers la fente coupée dans la moustiquaire. Couvrir la fente de coton après que les moustiques soient dans la tasse. Fournir aux moustiques une solution miel/sucre en humidifiant un morceau de coton, en le pressant pour enlever l’excès de solution et en le plaçant sur le dessus de la tasse.
	6. Il faut lire le nombre de moustiques incapables de se tenir debout ou de voler à 60 minutes après la fin du bio-essai du cône. La mortalité doit être lue selon les mêmes critères à 24 heures après le bio-essai du cône.
	7. Si la moustiquaire a du PBO sur toutes les surfaces, quatre pièces de moustiquaires seront utilisées (positions 2-5). Pour chacun des quatre morceaux de moustiquaires testés, 10 moustiques (2 cônes) doivent être complétés, ce qui donne lieu à 40 moustiques utilisés pour tester les quatre morceaux moustiquaires (plus 50 contrôles pour s’assurer que la mortalité est due à l’insecticide). En outre, une nouvelle moustiquaire de PBO du même type et une nouvelle moustiquaire pyréthroïde standard (avec le même insecticide) seront utilisés, testant les mêmes 4 positions qui sont testées sur la moustiquaire d’intérêt. Les résultats des moustiquaires de contrôle, de la nouvelle moustiquaire PBO et de la nouvelle moustiquaire standard peuvent être effectués une fois et partagés par tous les bio-essais effectués le même jour. Voir la figure 4.

**Figure 4. Résultats des bio-tests de cône pour évaluer la susceptibilité de la souche résistante contre le pyréthroïde d’intérêt si la moustiquaire a le PBO sur toutes les surfaces de la moustiquaire.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Moustiquaire | Morceau | Cône 1 | Cône 2 |
| Moustiquaire de PBO du champ en cours d’essai | Pièce moustiquaire 2 |   |   |
| Pièce moustiquaire 3 |   |   |
| Pièce moustiquaire 4 |   |   |
| Pièce moustiquaire 5 |   |   |
| Nouvelle moustiquaire PBO (même marque)(1 par jour) | Pièce moustiquaire 2 |   |   |
| Pièce moustiquaire 3 |   |   |
| Pièce moustiquaire 4 |   |   |
| Pièce moustiquaire 5 |   |   |
| Nouveau pyréthroïde standard (avec le même insecticide)(1 par jour) | Pièce moustiquaire 2 |   |   |
| Pièce moustiquaire 3 |   |   |
| Pièce moustiquaire 4 |   |   |
| Pièce moustiquaire 5 |   |   |
| Control non traité(1 par jour) | Pièce moustiquaire 1 |   |   |
| Pièce moustiquaire 2 |   |   |
| Pièce moustiquaire 3 |   |   |
| Pièce moustiquaire 4 |   |   |
| Pièce moustiquaire 5 |   |   |

* 1. Si la moustiquaire n’a que le PBO sur le toit, trois pièces fr moustiquaires seront utilisées (positions 5.1-5.3 comme indiqué à la figure 2).). Pour chacun des trois morceaux de moustiquaires testés, 15 moustiques (3 cônes) devraient être complétés, ce qui donne lieu à 45 moustiques utilisés pour tester les trois morceaux de moustiquaires (plus 50 contrôles pour s’assurer que la mortalité est due à l’insecticide). En outre, une nouvelle moustiquaire PBO (même marque que la moustiquaire en cours d’évaluation) et une nouvelle moustiquaire standard utilisant le même pyréthroïde seront utilisés, testant les mêmes 3 positions qui sont testées sur la moustiquaire d’intérêt. Les résultats des moustiquaires de contrôle, la nouvelle moustiquaire PBO (de la même marque que la moustiquaire en cours d’évaluation), et la moustiquaire standard peut être fait une fois et partagé par tous les bio-tests effectués le même jour. Voir la figure 5.

**Figure 5. Résultats des**  **bio-tests de cône pour** évaluer la susceptibilité de la souche **résistante** contre **le pyréthroïde d’intérêt si la moustiquaire a le PBO sur le toit seulement.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Moustiquaire | Morceau | Cône 1 | Cône 2 | Cône 3 |
| Moustiquaire de PBO du champ en cours d’essai | Pièce moustiquaire 5.1 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5.2 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5.3 |   |   |   |
| Nouveà la moustiquaire PBO (même marque)(1 par jour) | Pièce moustiquaire 5.1 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5.2 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5.3 |   |   |   |
| Nouveau pyréthroïde standard (avec le même insecticide)(1 par jour) | Pièce moustiquaire 5.1 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5.2 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5.3 |   |   |   |
| Ontrol c non traité(1 par jour) | Pièce moustiquaire 1 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 2 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 3 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 4 |   |   |   |
| Pièce moustiquaire 5 |   |   |   |

**Méthode facultative pour l’efficacité résiduelle du butoxyde de piperonyle :**

* 1. Les méthodes précédentes évaluent l’impact des pyréthroïdes seuls, et des pyréthroïdes en combinaison avec le PBO. Si l’efficacité de la moustiquaire a diminué, il peut être utile de déterminer si la perte d’efficacité est due à la perte ou à l’indisponibilité du PBO. Une méthode d’évaluation de l’efficacité résiduelle du PBO est énumérée ici.
	2. L’essai de la bio-efficacité de PBO est plus difficile et nécessite soit une souche résistante à l’état sauvage ou une souche résistante élevé au laboratoire (dans les deux cas, au moins une partie de la résistance devrait être due à des oxydases p450 élevés, voir les étapes4.1-4.3). Deux groupes de moustiques seront utilisés sur les moustiquaires pour évaluer l’efficacité du PBO sur la moustiquaire.
* Une souche résistante testée sur une surface avec PBO
* Une souche résistante testée sur une surface avec PBO, après pré-exposition au PBO

La pré-exposition du PBO se fera à l’aide d’essais utilisant les tubes de l’OMS et des papiers du PBO (4 %) (alternativement des bouteille bio-essais de CDC pourrait être utilisé). Un contrôle non traité sera également testé.

* 1. Avant les essais de cône, au moins 50 moustiques résistants devraient être exposés aux papiers traités par le PBO (4 %) dans un test de tube de l’OMS ou une bouteille de CDC (traitée à 400μg/bouteille) pendant 60 minutes. Après 60 minutes, les moustiques doivent être relâchés dans une cage avec une solution de sucre et laisser récupérer pendant au moins 30 minutes avant d’être utilisés dans le cône bio-essai.
	2. Les bio-essais à cônes doivent être effectués (voir étape 3.4). Si la moustiquaire a PBO sur tous les côtés, 2 cônes utilisant 5 moustiques peuvent être effectués sur chacun des quatre morceaux en utilisant les moustiques PBO-pré-exposés, et 2 cônes utilisant 5 moustiques peuvent être effectués sur chacun des quatre morceaux en utilisant des moustiques non exposés. Les résultats du bio-essai initial peuvent être enregistrés dans une feuille de calcul comme indiqué à la figure 6.

**Figure 6 : Résultats des bio-essais de cônes pour évaluer la bioefficace du PBO sur les moustiquaires PBO qui ont le PBO sur toutes les surfaces**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Souche | Pré-exposition | Pièce moustiquaire | Cône 1 | Cône 2 |
| Résistant | n/a | Pièce 2 |   |   |
| Pièce 3 |   |   |
| Pièce 4 |   |   |
| Pièce 5 |   |   |
| Résistant | Pbo | Pièce 2 |   |   |
| Pièce 3 |   |   |
| Pièce 4 |   |   |
| Pièce 5 |   |   |
| Résistant | n/a | Contrôle 1 |   |   |
| Contrôle 2 |   |   |
| Contrôle 3 |   |   |
| Contrôle 4 |   |   |
| Contrôle 5 |   |   |

* 1. Si la moustiquaire a PBO sur le toit seulement, 3 cônes utilisant 5 moustiques peuvent être effectués sur chacun des trois morceaux utilisant les moustiques pré-exposés du PBO, et 3 cônes utilisant 5 moustiques peuvent être effectués sur chacun des trois morceaux utilisant des moustiques non exposés. Le contrôle se fera avec 5 pièces et deux cônes réalisés sur chaque pièce. Les résultats du bio-essai initial peuvent être enregistrés dans une feuille de calcul comme indiqué à la figure 7.

**Figure 7 : Résultats des bio-essais de cônes pour évaluer la bioefficacie du PBO sur les moustiquaires PBO** **qui ont le PBO sur** le toit **seulement**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Souche | Pré-exposition | Pièce moustiquaire | Cône 1 | Cône 2 | Cône 3 |
| Résistant | n/a | Pièce 5.1 |   |   |  |
| Pièce 5.2 |   |   |  |
| Pièce 5.3 |   |   |  |
| Résistant | Pbo | Pièce 5.1 |   |   |  |
| Pièce 5.2 |   |   |  |
| Pièce 5.3 |   |   |  |
| Résistant | n/a | Contrôle 1 |   |   |  |
| Contrôle 2 |   |   |  |
| Contrôle 3 |   |   |  |
| Contrôle 4 |   |   |  |
| Contrôle 5 |   |   |  |

* 1. Les données peuvent être interprétées en divisant le pourcentage de mortalité chez les moustiques résistants testés sans préexposition par le pourcentage de mortalité chez les moustiques résistants qui ont été préexposés au PBO.
1. **CONTRÔLE DE LA QUALITÉ**
	1.
	2. Comme décrit ci-dessus, les souches sensibles doivent être caractérisées dans les 2 mois suivant les essais. La caractérisation de la souche résistante devrait se produire en même temps que les tests pour s’assurer que l’état actuel de la souche de moustique est capturé.
	3. Pour les papiers de l’OMS et les bouteilles de CDC pour le bio-essai, une souche sensible des moustiques doit être testée pour s’assurer que les traitements des papiers/bouteilles sont efficaces. Des traitements efficaces contre le pyréthroïde devraient entraîner la mort à 100 % des moustiques sensibles dans les 24 heures.
2. **Journal de contrôle de copie SOP**

**Objet:** Le journal enregistre le nombre de copies certifiées de ce SOP imprimée et l’endroit où elles ont été distribuées.

**Quand :** Chaque fois que le SOP est examiné : annuellement ou plus souvent si nécessaire.

**Par qui:** Par qa personnel / designee

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de distribution: 3 Février 2018** | **Nombre total de copies certifiées** (y compris Master Copy) **: NA** |
| **SOP Distribution (emplacement et nombre d’exemplaires certifiés)** |
|  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

1. **Annexes**

**Annexe I : Journal de formation SOP pour les dossiers de formation du personnel**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Date: | Numéro et titre SOP | Signature des employés | Initiales de superviseur |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |