

# Fever project

## Déterminer les causes des maladies fébriles en Guinée

### GUIDE PRATIQUE SUR L'ÉCHANTILLONNAGE DES ANIMAUX VIVANTS (DOMESTIQUES, PERIDOMESTIQUES ET SAUVAGES) POUR LA SURVEILLANCE DES MALADIES INFECTIEUSES

Version 1 mise en ligne sur [protocols.io](https://protocols.io) en janvier 2024

Stefano Catalano<sup>a</sup>, Marc T. Valitutto<sup>b</sup>, Emilie Ryan-Castillo<sup>c</sup>, Mariama D. Diallo<sup>d</sup>, Boubacar Kann<sup>d</sup>, Charlotte C. Hammer<sup>e</sup>, Yacouba Konate<sup>f</sup>, Mohamed M. Camara<sup>d,f</sup>, Aboubacar Camara<sup>d,f</sup>, Mamadou O. Diallo<sup>d,f</sup>, Mohamed Magassouba<sup>d,f</sup>, Amadou Sow<sup>d,f</sup>, Abou Sylla<sup>d,f</sup>, Simone Dramou<sup>d</sup>, Sine Keita<sup>d</sup>, Marcel S. Kondiano<sup>d</sup>, Abdoulaye O. Kouyaté<sup>d</sup>, Rita Ribeiro<sup>a</sup>, Christina L. Faust<sup>a</sup>, Ellen P. Carlin<sup>c</sup>, Maryam Sarr<sup>d</sup>, Alpha M. Barry<sup>d</sup>, Claire J. Standley<sup>c</sup>

<sup>a</sup> School of Biodiversity, One Health and Veterinary Medicine, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK.

<sup>b</sup> EcoHealth Alliance, New York, USA.

<sup>c</sup> Center for Global Health Science and Security, Georgetown University Medical Center, Washington, DC, USA.

<sup>d</sup> Santé Plus Organisation, Conakry, Guinea.

<sup>e</sup> Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge, Cambridge, UK.

<sup>f</sup> Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire, Dalaba, Guinea.

## TABLE DES MATIÈRES

1. **Préface.**
2. **Équipement de biosécurité et EPI appliqué.**
  - 2.1. Niveaux de biosécurité sur le terrain et EPI.
  - 2.2. Préparation des stations de prélèvement et d'enfilage/retrait.
3. **Méthodes d'échantillonnage des chauves-souris.**
  - 3.1. Protocole de mise en place des filets japonais.
  - 3.2. Protocole d'inspection des filets japonais.
  - 3.3. Protocole de manipulation, d'échantillonnage et de collecte des données.
  - 3.4. Clés d'identification des chauves-souris.
4. **Méthodes d'échantillonnage des petits mammifères.**
  - 4.1. Protocole de mise en place des pièges à petits mammifères.
  - 4.2. Protocole d'inspection des pièges à petits mammifères.
  - 4.3. Anesthésie des petits mammifères.
  - 4.4. Protocole de manipulation, d'échantillonnage et de collecte des données.
  - 4.5. Clés d'identification des petits mammifères.
5. **Méthodes d'échantillonnage aviaire.**
  - 5.1. Protocole de manipulation, d'échantillonnage et de collecte des données.
6. **Méthodes d'échantillonnage des ruminants domestiques.**
  - 6.1. Protocole de manipulation, d'échantillonnage et de collecte des données.
7. **Méthodes d'échantillonnage des chiens domestiques.**
  - 7.1. Protocole de manipulation, d'échantillonnage et de collecte des données.
8. **Décontamination et dépollution.**
  - 8.1. Décontamination des équipements.
  - 8.2. Séquence de retrait.
9. **Procédures de premiers soins pour le personnel et les animaux.**
  - 9.1. Bien-être animal.
  - 9.2. Euthanasie des animaux.

9.3. Santé et sécurité du personnel.

**10. Stockage des échantillons.**

10.1. Mise en place d'une chaîne du froid.

10.2. Stockage de spécimens d'animaux dans le cadre du Fever Project.

**11. Liste des références.**

**Annexe A. Liste des équipements.**

**Annexe B. Formulaire de consentement pour les propriétaires d'animaux.**

**Annexe C. Étiquetage des échantillons d'animaux et des fiches de collecte des données.**

## 1. PRÉFACE.

Les cas de maladies causées par des agents pathogènes particulièrement dangereux ou mal diagnostiquées présentent des risques pour la santé publique et la prolifération. De nombreuses études ont démontré que dans les milieux à faibles ressources, et en particulier là où le paludisme est endémique, les patients qui se présentent dans les établissements de santé avec une maladie fébrile peuvent ne pas recevoir un diagnostic précis du fait, entre autres, de lacunes dans les protocoles différentiels et/ou d'une indisponibilité de tests diagnostiques (Maze et al., 2018 ; Halliday et al., 2020). En Guinée, lorsque les patients se présentent au niveau communautaire ou préfectoral avec une maladie fébrile, les faiblesses des protocoles cliniques différentiels se traduisent généralement par le diagnostic d'une infection courante, notamment le paludisme et parfois la typhoïde, sans qu'aucun autre test ne soit effectué. À ce titre, la maladie fébrile aiguë représente une charge non quantifiée et indifférenciée pour le système de santé guinéen. Les agents pathogènes à l'origine d'épisodes fébriles dans la population, et les voies de transmission zoonotique qui peuvent les conduire, ne sont pas identifiés de manière systématique ni exhaustive. Cette situation constitue un défi spécifique pour les autorités de santé publique (Kourouma et al., 2022).

Fever Project est un projet de recherche d'une durée de trois ans (de septembre 2021 à 2024, avec la possibilité de deux années d'option supplémentaires jusqu'en septembre 2026) financé par DTRA du Département de la Défense des États-Unis (subvention no. HDTRA12110028). Ces travaux ont été examinés et approuvés par le CNERS en Guinée (064/CNERS/23) et IRB de l'Université de Georgetown aux États-Unis (STUDY00002481). Il implique des scientifiques de Guinée, des États-Unis et du Royaume-Uni, dans le but de renforcer les capacités pour la réduction de la menace en Guinée et d'améliorer la sécurité sanitaire grâce à une approche intégrée de la santé humaine et animale en identifiant des étiologies à conséquences élevées des maladies fébriles aiguës chez l'homme. Les objectifs du projet sont les suivants :

1. Identifier les agents responsables de la maladie fébrile aiguë chez l'homme en Guinée.
2. Découvrir des preuves de la transmission d'agents pathogènes zoonotiques à conséquences élevées associés à une maladie fébrile aiguë.
3. Étudier les facteurs de risque liés aux maladies fébriles aiguës chez l'homme, y compris l'exposition aux animaux domestiques et péri-domestiques.
4. Améliorer les capacités de détection des agents pathogènes à conséquences élevées associés aux maladies fébriles aiguës.

En Guinée, et dans l'ensemble de l'Afrique de l'Ouest, les interventions anthropiques majeures, telles que la conversion de la savane en pâturages et en terres cultivables et le détournement ou la construction de barrages sur les cours d'eau, entraînent rapidement une déforestation à grande échelle. Il a été démontré que ces changements sont associés à une altération des interactions entre l'environnement, les humains et les animaux au sein de ces communautés, ainsi qu'à des risques accrus d'émergence ou de transmission d'agents pathogènes zoonotiques (Allen et al., 2017 ; Plowright et al., 2021). L'objectif principal du Fever Project est de découvrir des preuves d'agents pathogènes zoonotiques circulants, directement responsables de maladies fébriles aiguës chez l'homme. Par conséquent, nous recueillons et analysons des échantillons provenant de communautés humaines, de leurs animaux domestiques (c.-à-d. les ruminants, la volaille et les chiens) et de la faune sauvage à proximité de ces communautés (spécifiquement les chauves-souris et les petits mammifères terrestres). Quelques sites dans les préfectures de Dalaba et de Guéckédou en Guinée ont été sélectionnés : ces localités présentent des niveaux de déforestation et de pression humaine, allant de zones fortement boisées à faible densité humaine à des prairies peu boisées à plus haute altitude et plus densément peuplées. Les sites des deux préfectures ont fait l'objet d'un échantillonnage à deux reprises, à la fois pendant la saison sèche (de novembre à mai) et pendant la saison des pluies (de juin à octobre).

L'approche multi-espèces animale et les procédures détaillées dans ce manuel doivent être évaluées dans le contexte du Fever Project et de ses localités d'échantillonnage à travers la Guinée. Nous nous sommes efforcés de fournir des flux de travail précis et pratiques qui pourraient être appliqués à toute future étude sur le terrain axée sur la transmission d'agents pathogènes multi-hôtes. Les animaux domestiques et sauvages représentés par les photographies prises lors d'activités de terrain dans le cadre du Fever Project sont utilisés dans le seul but d'illustrer les procédures d'échantillonnage. Nous remercions Dr Marc Valitutto, Dr Claire Standley, Dr Ellen Carlin et Brian Samuelson pour ces photos instructives.

En tant qu'équipe, nous avons appris chaque jour des communautés et des institutions locales qui soutiennent le Fever Project et rendent sa réalisation possible. Notre liste d'auteurs est longue, mais chaque membre a joué un rôle central dans l'élaboration de ce manuel. Nous apprécions également l'expertise, les conseils et le soutien fournis par divers experts scientifiques et vétérinaires, notamment le professeur Alpha Camara, le Dr Jean DeMarco, le Dr Jim Desmond et le Dr Jonathan Epstein. Nous sommes extrêmement reconnaissants à la DPS et à la DPE de Dalaba et Guéckédou, ainsi qu'aux communautés des préfectures de Ditinn, Koundou, Mitty et Termessadou-Djibo pour leur accueil chaleureux et leur engagement. De plus, nous remercions nos partenaires de projet et nos collaborateurs du

CNFRSR, EcoHealth Alliance, INSP, ISSMV, et LFHVG. Nous reconnaissons l'aide de l'ANSS pour soutenir les efforts de surveillance épidémique en Guinée et du CNERS pour l'approbation éthique du Fever Project. En plus de ces entités spécifiques, nous remercions les ministères MAGEL, MSHP, MEDD, et MESRSI pour leur soutien global à la recherche One Health et au renforcement des capacités en Guinée, y compris l'orientation, les conseils et la contribution que leurs responsables ont spécifiquement fournis au Fever Project tout au long de sa conception et de sa mise en œuvre. Enfin, nous remercions les membres du personnel de Santé Plus Organisation pour leurs efforts exceptionnels sur tous les aspects du Fever Project.

#### Liste des abréviations

- **ANSS** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire.
- **CAT** : Catégorie.
- **CNERS** : Comité National d'Éthique pour la Recherche en Santé.
- **CNFRSR** : Centre National de Formation et de Recherche en Santé Rurale.
- **DPE** : Direction Préfectorale de l'Élevage.
- **DPS** : Direction Préfectorale de la Santé.
- **DTRA** : Defense Threat Reduction Agency, United States Department of Defense.
- **EPI** : Équipement de Protection Individuelle.
- **FBSL** : Field Biosafety Level (c.-à-d. niveau de biosécurité sur le terrain).
- **INSP** : Institut National de Santé Publique.
- **IRB** : Institutional Review Board.
- **ISSMV** : Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire.
- **LFHVG** : Laboratoire des Fièvres Hémorragiques Virales de Guinée.
- **MAGEL** : Ministère de l'Agriculture et de l'Élevage.
- **MEDD** : Ministère de l'Environnement et du Développement Durable.
- **MESRSI** : Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de l'Innovation.
- **MSHP** : Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique.

## 2. ÉQUIPEMENT DE BIOSÉCURITÉ ET EPI APPLIQUÉ.

La nature des activités menées dans le cadre du Fever Project, en particulier l'interaction directe avec des animaux susceptibles d'être porteurs d'agents infectieux à haut risque, s'est traduite par la mise en œuvre de règles de biosécurité dont l'objectif principal est de garantir que les procédures d'échantillonnage sont effectuées de manière sûre et éthique, tant pour le personnel que pour les animaux concernés. Par conséquent, le personnel de terrain du Fever Project a reçu une formation spécifique sur la protection des sujets humains, le bien-être animal et la biosécurité. Ces connaissances essentielles ont été appliquées à l'élaboration d'évaluations des risques et, en réponse, à l'élaboration de mesures de biosécurité ad hoc pour les conditions auxquelles l'équipe de travail sur le terrain serait exposée dans le cadre du Fever Project. L'information fournie dans cette section est un bref aperçu des FBSL différents, de l'échantillonnage d'animaux associé et des CAT et EPI requis. Les indications fournies dans le présent document sont extraites du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)), que nous encourageons fortement à consulter lors de la conception d'activités d'échantillonnage d'animaux dans le cadre d'une étude de recherche.

### 2.1. NIVEAUX DE BIOSÉCURITÉ SUR LE TERRAIN ET EPI.

Toutes les activités de travail sur le terrain impliquant l'échantillonnage d'animaux dans le cadre du Fever Project respectent les directives de la FBSL en ce qui concerne l'EPI applicable et la mise en place de la station de prélèvement. Le choix de la FBSL appropriée pour les différentes procédures a été partiellement basé sur le système de classification des risques pour les maladies infectieuses détaillé par l'Organisation Mondiale de la Santé et les National Institutes of Health. Cette classification combine divers facteurs tels que la virulence de l'agent pathogène, le mode de transmission, la santé au travail, les mesures d'hygiène et la disponibilité de soins préventifs et de traitements efficaces (**Figure 2.1**). Ce système de classification des risques a été intégré dans le *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation) sur les risques inhérents à la circulation d'agents pathogènes dans des populations animales et des environnements spécifiques.

L'évaluation minutieuse des risques substantiels et potentiels dans le cadre du Fever Project a déterminé la mise en œuvre de la FBSL 2 avec les EPI CAT 0 à CAT III pour toutes les activités impliquant des animaux domestiques (c.-à-d. les ruminants, la volaille et les chiens). Cependant, la FBSL 2 peut être portée à la FBSL 3, ou même à la FBSL 4, si les procédures d'échantillonnage sur les animaux domestiques font partie des enquêtes locales sur les épidémies de zoonoses. En revanche, il a été jugé nécessaire d'appliquer strictement la FBSL 3 avec l'EPI CAT I à CAT IV pour toutes les activités impliquant des animaux sauvages (c.-à-

d. les chauves-souris, les rongeurs et les musaraignes). Comme indiqué ci-dessus, le niveau de protection recommandé dépend du rôle spécifique de l'équipe et de la présence ou non d'activités sur le terrain dans des environnements contrôlés (**Tableau 2.1**).

**ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ ET NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH : CLASSIFICATION DES RISQUES POUR LES MALADIES INFECTIEUSES**

Quelle est la gravité de l'agent pathogène pour la santé humaine et communautaire ? →

NIVEAU D'EXPOSITION EN FONCTION DE L'ACTIVITÉ Quelle est la probabilité d'être exposé à un agent pathogène ? ↑	EXPOSITION	FBSL 1	FBSL 2	FBSL 3	FBSL 4
	QUASI CERTAINE ET INCONTRÔLABLE	MOYENNE EPI CAT II	ÉLEVÉ EPI CAT III	GRAVE EPI CAT IV	EXTRÊME EPI CAT V
PROBABLE ET CONTRÔLÉE	MOYENNE EPI CAT II	MOYENNE EPI CAT II	ÉLEVÉ EPI CAT III	GRAVE EPI CAT IV	
MODÉRÉE	FAIBLE EPI CAT I	MOYENNE EPI CAT II	MOYENNE EPI CAT II	ÉLEVÉ EPI CAT III	
PEU PROBABLE	NÉGLIGEABLE EPI CAT 0	FAIBLE EPI CAT I	MOYENNE EPI CAT II	MOYENNE EPI CAT II	
RARE	NÉGLIGEABLE EPI CAT 0	NÉGLIGEABLE EPI CAT 0	FAIBLE EPI CAT I	MOYENNE EPI CAT II	

**Figure 2.1.** Comment déterminer quelle CAT de FBSL, et donc d'EPI, est applicable en fonction du risque d'exposition lors de la réalisation d'activités (axe des ordonnées) et des implications potentielles du risque d'exposition à la santé humaine et communautaire (axe des abscisses) (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

Après avoir déterminé la FBSL applicable aux différentes activités de travail sur le terrain dans le cadre du Fever Project, nous avons évalué les risques objectifs et perçus d'exposition à des agents pathogènes zoonotiques afin de sélectionner l'EPI CAT approprié (**Figure 2.2**) :

- **Exposition rare : EPI CAT 0 pour les conditions FBSL 2 ou EPI CAT I pour FBSL 3.** Le personnel et les membres du public qui participent le moins possible aux activités sur le terrain (p. ex., les chauffeurs, les porteurs de fournitures propres et les observateurs qui se tiennent à une distance de  $\geq 2\text{m}$ ).
- **Exposition peu probable : EPI CAT I pour les conditions FBSL 2 ou EPI CAT II pour FBSL 3.** Personnel partiellement impliqué dans les activités de travail sur le terrain et susceptible d'interagir avec les membres de l'équipe pratiquant l'EPI CAT plus élevé (p. ex., les assistants de terrain debout à une distance de  $\geq 2\text{m}$ ).
- **Exposition modérée : EPI CAT II pour les conditions FBSL 2 ou FBSL 3.** Personnel modérément impliqué près de la station de prélèvement et manipulant des animaux dans des environnements contrôlés (p. ex., transport de petits mammifères sauvages contenus dans des sacs en tissu ou des pièges, assistants sur le terrain, collecteurs de données et observateurs se tenant à une distance de  $< 2\text{m}$ ).
- **Exposition probable et contrôlée : EPI CAT II pour les conditions FBSL 2 ou EPI CAT III pour FBSL 3.** Personnel directement impliqué dans la contention, la manipulation et/ou la collecte d'échantillons biologiques d'animaux (p. ex., manipulation/manipulation

contrôlée, anesthésie et examen post-mortem de petits animaux domestiques et sauvages).

- **Exposition quasi certaine et incontrôlable : EPI CAT III pour les conditions FBSL 2 ou EPI CAT IV pour FBSL 3.** Personnel directement impliqué dans des activités qui rendent le contact avec des animaux, et/ou leurs fluides biologiques, soupçonnés d'abriter des agents pathogènes à haut risque certains et inévitables (p. ex., travail sous un site de repos ou d'alimentation au milieu d'une grande colonie de chauves-souris, travail à l'intérieur au milieu d'une grande colonie de rongeurs, manipulation incontrôlée d'animaux de grande taille ou turbulents, et examen post-mortem de grands animaux domestiques et sauvages).

**Tableau 2.1.** CAT de FBSL et d'EPI appliquées au personnel lors des activités d'échantillonnage des animaux dans le cadre du Fever Project.

FBSL	Scénarii	EPI	Exemples
2	Échantillonnage biologique des animaux d'élevage à risque moyen	0	Personnel et observateurs à une distance de $\geq 2m$
		I	Personnel partiellement impliqué dans les activités de travail sur le terrain à une distance de $\geq 2m$
		II	Personnel manipulant/échantillonnant des animaux ou à une distance de $< 2m$
		III	Personnel procédant à l'autopsie
3	Échantillonnage biologique d'espèces sauvages à haut risque	I	Personnel et observateurs à une distance de $\geq 2m$
		II	Personnel partiellement impliqué dans des activités de travail sur le terrain à une distance de $\geq 2m$ ou transportant de petits mammifères à l'intérieur de sacs en tissu ou de pièges
		III	Personnel manipulant ou échantillonnant des animaux, procédant à l'autopsie ou à une distance de $< 2m$
		IV	Personnel effectuant des activités sur le terrain sous le site de repos ou d'alimentation des chauves-souris
4*	Échantillonnage biologique lors de décès causées par des agents pathogènes à risque élevé ou non identifiés	II	Personnel et observateurs à une distance de $\geq 2m$
		III	Personnel partiellement impliqué dans des activités de travail sur le terrain à une distance de $\geq 2m$ ou transportant de petits mammifères à l'intérieur de sacs en tissu ou de pièges
		IV	Personnel manipulant ou échantillonnant des animaux, procédant à l'autopsie de petits animaux ou à une distance de $< 2m$
		V	Personnel effectuant des activités de travail sur le terrain sous le site de repos ou d'alimentation des chauves-souris ou effectuant des examens post-mortem de gros animaux.

\* La FBSL 4 ne s'applique que dans le cadre d'enquêtes sur des épidémies dont on sait ou soupçonne qu'elles sont causées par un agent pathogène zoonotique à haut risque. À ce jour, le personnel de Fever Project n'a jamais entrepris d'activités d'échantillonnage d'animaux en réponse à une épidémie.

CAT	EPI OBLIGATOIRE ET FACULTATIF					
EPI CAT 0						
	Vêtements et chaussures personnels (manches courtes et pantalons courts autorisés).					
EPI CAT I		 +/-				
	Obligatoire : manches longues et pantalons longs (tenue vestimentaire dédiée conseillée). Facultatif : bottes ou couvre-chaussures imperméables.					
EPI CAT II		 +/-	 +/-	 +/-	 +/-	
	Obligatoire : vêtements dédiés (c.-à-d. manches longues, pantalons longs et chaussures) et une couche de gants en nitrile. Facultatif : bottes ou couvre-chaussures imperméables, deux couches de gants en nitrile, respirateur et lunettes de sécurité.					
EPI CAT III						
	Obligatoire : vêtements dédiés (c.-à-d. manches longues et pantalons longs), bottes ou couvre-chaussures imperméables, tablier, manches, deux couches de gants en nitrile, respirateur N95 ou équivalent et lunettes de sécurité.					
EPI CAT IV						
	Obligatoire : vêtements dédiés (c.-à-d. manches longues et pantalons longs), combinaison à capuchon, bottes imperméables, deux couches de gants en nitrile, respirateur N95 ou équivalent et lunettes de protection ventilées ou sans ventilation indirecte.					
EPI CAT V						
	Obligatoire : vêtements dédiés (c.-à-d. manches longues et pantalons longs, combinaison à capuche, bottes imperméables, deux couches de gants en nitrile et respirateur à épuration d'air motorisée).					

**Figure 2.2.** EPI CAT applicables aux différents niveaux de biosécurité sur le terrain pendant les activités d'échantillonnage d'animaux (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

## 2.2. PRÉPARATION DES STATIONS DE PRELEVEMENT ET D'ENFILAGE/RETRAIT.

- Grand bassin avec eau et savon
- Bâche
- Grand bassin avec eau et eau de Javel
- Flacon pulvérisateur avec eau de Javel

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Flacon pulvérisateur à 70% d'éthanol                             | <input type="checkbox"/> Brosses pour bottes imperméables |
| <input type="checkbox"/> Chaises pliantes   | <input type="checkbox"/> Table pliante                    |
| <input type="checkbox"/> Seau pour sac des déchets biologiques                            |   |
| <input type="checkbox"/> Sac des déchets biologiques (jaune) pour vêtements dédiés        |   |
| <input type="checkbox"/> Petit bassin pour lunettes de sécurité ou lunettes de protection |   |
| <input type="checkbox"/> Sacs des déchets biologiques (rouges)                            |   |
| <input type="checkbox"/> Seau avec eau pour la station de lavage des mains                |   |

La station de prélèvement se compose simplement d'une table et de chaises pliantes qui, après la fin des activités d'échantillonnage des animaux, sont faciles à décontaminer, comme il est indiqué à la **Section 8.1**. Lorsque la FBSL 3 est appliquée (c.-à-d. l'échantillonnage de la faune dans le cadre du Fever Project), la table est recouverte d'une couche de plastique (c.-à-d. des sacs jaunes des déchets biologiques) fixée par du ruban adhésif. La station d'enfilage et retrait doit être située à proximité de la station de prélèvement pour faciliter l'accès (**Figure 2.3**).

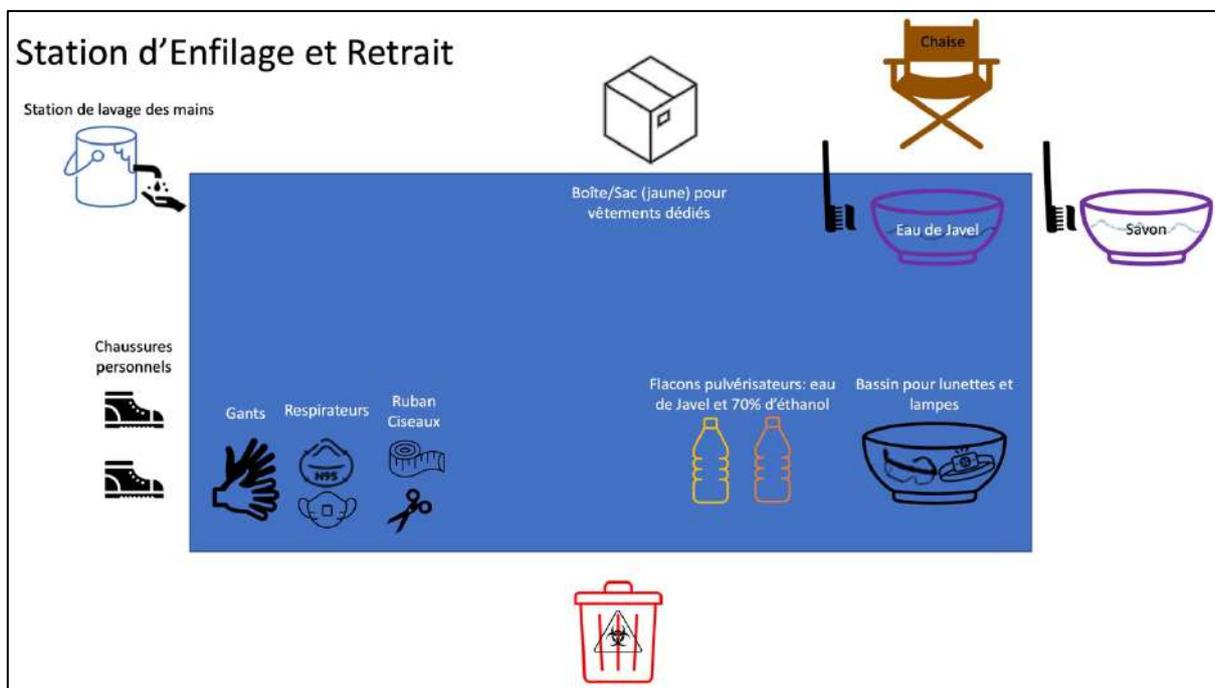


**Figure 2.3.** Station de prélèvement (A) et station d'enfilage et retrait (B) selon FBSL 3.

Les listes de procédures et de fournitures incluses dans le présent document sont des éléments de base pour la mise en place de la station d'enfilage et de retrait avant le début des activités d'échantillonnage des animaux dans le cadre du Fever Project. Les éléments et leur emplacement peuvent être adaptés en fonction du flux de travail du personnel, des caractéristiques du paysage, des conditions météorologiques et de la FBSL appliquée. Les étapes de mise en place de la station d'enfilage et de retrait sont les suivantes (**Figure 2.4**) :

1. Disposez la bâche sur une surface plane à proximité de la station de prélèvement (la bâche est censée rester exempte de débris afin que les pieds sans chaussures puissent être protégés du sol).

2. Placez la station de lavage des mains (c.-à-d. un seau avec un robinet rempli d'eau et un pain de savon) près de la bâche.
3. Placez deux grands bassins avec de l'eau côte à côte et à côté de la bâche :
  - i. Ajoutez du savon dans une bassine pour éliminer les débris des bottes imperméables.
  - ii. Ajouter de l'hypochlorite de sodium à une concentration de 3% (c.-à-d. de l'eau de Javel) dans l'autre bassin pour la décontamination des bottes imperméables et de tout sac à cordon en tissu utilisé pendant les activités d'échantillonnage (placer ce bassin le plus près de la bâche pour marcher dessus immédiatement après avoir enlevé les bottes imperméables).
4. Placez des brosses à récurer à long manche dans chacun des deux grands bassins.
5. Placez une chaise pliante à côté du grand bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel pour aider à enlever les bottes imperméables.
6. Placez deux vaporisateurs, l'un avec de l'eau de Javel et l'autre avec de l'éthanol à 70%, à côté de la bâche pour leur utilisation lors de la décontamination et du retrait des EPI.
7. Placez un bac, avec un sac des déchets biologiques (rouge), à côté de la bâche pour l'élimination de l'EPI contaminé et des déchets biologiques dangereux.
8. Placez une petite bassine sur la bâche pour la décontamination des lunettes de sécurité ou des lunettes de protection et des lampes frontales.



**Figure 2.4.** Représentation schématique d'une station d'enfilage et retrait (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation))

9. Placez un bac, avec un sac de déchets biologiques (jaune), à côté de la bâche pour la collecte des vêtements contaminés après leur retrait.

10. Disposez les tabliers, les manches et tous les EPI en fonction du CAT et du FBSL appliqués (y compris les gants, les ciseaux et le ruban de marquage) l'un à côté de l'autre sur la bâche.
11. Portez l'EPI dans l'ordre exact illustré à la **Figure 2.5**, à la **Figure 2.6** et à la **Figure 2.7** pour chaque EPI CAT (lorsque vous portez deux couches de gants en nitrile, utilisez du ruban de marquage pour joindre les bords des manches et des gants internes).

## SÉQUENCE D'ENFILAGE EPI CAT II



- 1**  **BÂCHE**  
*Si nécessaire.* Couvrez le sol pour protéger les pieds exposés lors de la transition des chaussures personnelles aux bottes imperméables.
- 2**  **LAVAGE DES MAINS**  
Essentiel pour la prévention de la transmission de maladies aux animaux. Il facilite aussi l'enfilage des gants.
- 3**  **VÊTEMENTS DÉDIÉS**  
Doivent couvrir toute la longueur des bras et des jambes et complètement les vêtements personnels (s'ils sont portés en dessous).
- 4**  **BOTTES IMPERMÉABLES**  
Si le site d'étude présente un risque élevé de débris qui peuvent pénétrer dans l'ouverture du coffre, collez l'ouverture sur la jambe.
- 5**  **GANTS EN NITRILE, INTERNES**  
Poignets allongés, de préférence.
- 6**  **GANTS EN NITRILE, EXTERNES**  
*Si nécessaire.*
- 7**  **MASQUE OU RESPIRATEUR**  
*Si nécessaire,* utilisez des respirateurs testés d'EPI CAT III. Sinon, N95 avec boucles d'oreilles ou respirateurs KN95.
- 8**  **PROTECTION DES YEUX**  
Écran facial ou lunettes de sécurité sans doublure en mousse.  
*Si nécessaire,* ajoutez une solution antibuée à la surface intérieure.

v2.0 mise à jour 11 sept. 2023

**Figure 2.5.** Guide étape par étape pour l'enfilage d'EPI CAT II (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

## SÉQUENCE D'ENFILAGE EPI CAT III



- 1**  **BÂCHE**  
Si nécessaire. Couvrez le sol pour protéger les pieds exposés lors de la transition des chaussures personnelles aux bottes imperméables.
- 2**  **LAVAGE DES MAINS**  
Essentiel pour la prévention de la transmission de maladies aux animaux. Il facilite aussi l'enfilage des gants.
- 3**  **VÊTEMENTS DÉDIÉS**  
Doivent couvrir toute la longueur des bras et des jambes et complètement les vêtements personnels (s'ils sont portés en dessous).
- 4**  **BOTTES IMPERMÉABLES**  
Si le site d'étude présente un risque élevé de débris qui peuvent pénétrer dans l'ouverture du coffre, collez l'ouverture sur la jambe.
- 5**  **GANTS EN NITRILE, INTERNES**  
Poignets allongés, de préférence.
- 6**  **TABLIER JETABLE**  
Utilisez un tablier imperméable. Jetable de préférence.
- 7**  **MANCHES JETABLES**  
Percez un trou avec le pouce pour fixer la manche à la main. Utilisez des manches imperméables qui s'étendent au-delà du coude.
- 8**  **GANTS EN NITRILE, EXTERNES**  
La longueur des poignets peut être normale.
- 9**  **RESPIRATEUR**  
N95 avec sangles au-dessus de la tête (pas de boucles d'oreilles) ou un respirateur à filtration de niveau équivalent ou supérieur.
- 10**  **PROTECTION DES YEUX**  
Lunettes de sécurité, avec un joint en mousse et une surface antibuée de préférence.

v2.0 mise à jour 11 sept. 2023

**Figure 2.6.** Guide étape par étape pour l'enfilage d'EPI CAT III (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

## SÉQUENCE D'ENFILAGE

### EPI CAT IV

Option 1: Combinaison avec couvre-chaussures et capuche



- 1**  **BÂCHE**  
Pour la protection des pieds lors de la transition des chaussures personnelles aux bottes imperméables. **NÉCESSAIRE POUR LA STATION D'ENFILAGE/RETRAIT.**
- 2**  **LAVAGE DES MAINS**  
Essentiel pour la prévention de la transmission de maladies aux animaux. Il facilite aussi l'enfilage des gants.
- 3**  **VÊTEMENTS DÉDIÉS**  
Doivent couvrir toute la longueur des bras et des jambes et complètement les vêtements personnels (s'ils sont portés en dessous).
- 4**  **GANTS EN NITRILE, INTERNES**  
Poignets allongés, de préférence.
- 5**  **COMBINAISONS**  
Avec couvre-chaussures et capuche attachés. Laissez la capuche abaissée.  
**Percez un trou avec le pouce pour fixer la manche à la main.**
- 6**  **BOTTES IMPERMÉABLES**  
Portez-les **AU-DESSUS** des couvre-chaussures de la combinaison.
- 7**  **GANTS EN NITRILE, EXTERNES**  
Poignets allongés, de préférence.
- 8**  **RESPIRATEUR**  
N95 avec sangles au-dessus de la tête (pas de boucles d'oreilles) ou un respirateur à filtration de niveau équivalent ou supérieur.
- 9**  **LUNETTES (après, relevez la capuche)**  
Ajoutez une solution antibuée à la surface intérieure si les lunettes ne sont pas naturellement un produit antibuée. Relevez la capuche.
- 10**  **ARTICLES SUPPLÉMENTAIRES**  
Des éléments comme la lampe frontale sur la capuche, **si nécessaire.**

v2.0 mise à jour 11 sept. 2023

**Figure 2.7.** Guide étape par étape pour l'enfilage d'EPI CAT IV (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

### 3. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE DES CHAUVES-SOURIS.

Avant d'installer des pièges autour d'un nouveau site, communiquez soigneusement les objectifs du Fever Project à la communauté locale, y compris la raison d'être de l'échantillonnage des chauves-souris. L'équipe ne peut commencer à explorer l'environnement et à localiser les endroits où capturer qu'après avoir reçu le consentement clair et la permission de la communauté de mener des activités de piégeage pendant plusieurs nuits consécutives (si nécessaire), l'acceptation de relâcher chaque chauve-souris capturée à son point de capture y compris l'assurance que le public ne se tiendra pas trop près du site de capture et de la station de prélèvement. En cas de réponse négative de la communauté, les activités de piégeage des chauves-souris ne pourront pas avoir lieu pour ce site spécifique.

#### 3.1. PROTOCOLE DE MISE EN PLACE DES FILETS JAPONAIS.

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3   | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier    |
| <input type="checkbox"/> GPS  | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données |
| <input type="checkbox"/> Deux filets japonais 9m                          | <input type="checkbox"/> Crayon                    |
| <input type="checkbox"/> Pioche   | <input type="checkbox"/> Téléphone portable        |
| <input type="checkbox"/> Système de poteaux à triple filet à brume élevée |  |

Le personnel exécutant directement le protocole appliquera l'EPI CAT II. La seule technique de piégeage appliquée dans le cadre du Fever Project utilise le système à triple filet à brume élevée avec deux filets japonais de 9m (**Figure 3.1**) placés de manière opportune à proximité de sites connus où les chauves-souris se nourrissent ou se perchent.

1. Réglez le système à brume et les filets japonais avant le crépuscule (placez un filet sur le premier poteau pour déterminer où creuser un trou dans le sol pour le deuxième poteau).
2. Après avoir terminé la configuration du système, vérifiez toujours sa stabilité et son bon fonctionnement.
3. Inscrivez la date et l'heure de la nuit de piégeage, l'emplacement administratif, la catégorie de paysage (p. ex., village, ferme, forêt) et les



**Figure 3.1.** Mise en place du système à triple filet à brume élevée.

coordonnées GPS génériques du site d'étude sur la fiche de collecte des données appropriée.

4. Répétez le piégeage au même endroit pour une deuxième nuit consécutive si la première nuit a donné lieu à un résultat <50 captures.

#### Encadré de conseils

- Vérifiez les prévisions météorologiques avant de travailler sur le terrain et évitez les activités de capture lorsque de fortes pluies et des rafales de vent sont prévues pendant la saison des pluies (de juin à octobre) ou des chaleurs extrêmes pendant la saison sèche (de novembre à mai). Des conditions météorologiques défavorables peuvent avoir une incidence sur la survie des animaux pendant le piégeage.
- Les nuits de pleine lune, les chauves-souris peuvent être moins actives, car leur activité de recherche de nourriture peut être négativement corrélée à l'intensité de la lumière de la lune (Saldaña-Vázquez et Munguía-Rosas, 2013). Par conséquent, évitez les activités de piégeage pendant les nuits de pleine lune.

### 3.2. PROTOCOLE D'INSPECTION DES FILETS JAPONAIS.

- |  |   |                                   |
|--|---|-----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3                    | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier   | <input type="checkbox"/> Marqueur |
| <input type="checkbox"/> Sacs à cordon en tissu    | <input type="checkbox"/> Lampe frontale           | <input type="checkbox"/> Crayon   |
| <input type="checkbox"/> Gants en cuir             | <input type="checkbox"/> Téléphone portable       | <input type="checkbox"/> Crochets |
| <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données | <input type="checkbox"/> Ruban de marquage coloré |                                   |

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT III. Les filets japonais sont vérifiés dès que possible après le crépuscule par le personnel équipé d'un nombre suffisant de sacs en tissu propres et secs, de gants en cuir et de ciseaux fins. Chaque membre du personnel s'efforce de relâcher délicatement chaque chauve-souris capturée dans un sac en tissu séparé. En cas de difficulté lors de la libération de l'animal, il faut rechercher le soutien d'un deuxième membre de l'équipe et l'utilisation d'un crochet pour desserrer le filet emmêlé.

1. Chaque membre du personnel s'efforce de relâcher délicatement chaque chauve-souris capturée dans un sac en tissu séparé, en tenant la tête et/ou le corps avec la main gantée tout en libérant délicatement les ailes avec l'autre.
2. Étiquetez immédiatement le sac en tissu contenant les chauve-souris capturées, en collant du ruban de marquage sur le sac et en notant le numéro d'identification de l'animal dessus, puis suspendez soigneusement tous les sacs en tissu contenant les chauve-souris capturées à partir d'une ligne dans un endroit isolé en les ordonnant en

fonction du moment de la capture (pour assurer un laps de temps <4h entre la capture et la remise en liberté).

3. Si un nombre suffisant de chauve-souris capturées est atteint (c.-à-d. entre 20 et 40 selon l'expérience de l'équipe de travail sur le terrain), abaissez les filets pour éviter un excès de captures, puis commencez les procédures d'échantillonnage comme indiqué à la **Section 3.3**. Si le nombre de captures est faible, gardez les filets actifs et vérifiez-les toutes les 15 minutes pendant un maximum de 4 heures tout en commençant les procédures d'échantillonnage.
4. Notez l'heure à laquelle l'activité de piégeage se termine sur la fiche de collecte des données.

#### Encadré de conseils

- Vérifiez soigneusement le sens d'entrée lorsque vous libérez chaque chauve-souris du filet japonais, car cela facilitera grandement la libération.
- Lorsque vous capturez des mères avec leurs petits, veillez à ne pas déplacer le petit pendant la manipulation et à ne pas l'échantillonner.
- L'application de l'EPI CAT IV, telle que détaillée à la **Section 2**, devient nécessaire lorsque l'exposition à un nombre élevé de chauves-souris dans certains environnements, tels que les dortoirs de chauves-souris dans une grotte ou une zone forestière, et, par conséquent, le contact avec leurs excréments est inévitable (**Figure 3.2**).



**Figure 3.2.** Application d'EPI CAT IV dans une grotte où se perchent les chauves-souris.

### 3.3. PROTOCOLE DE MANIPULATION, D'ÉCHANTILLONNAGE ET DE COLLECTE DES DONNÉES.

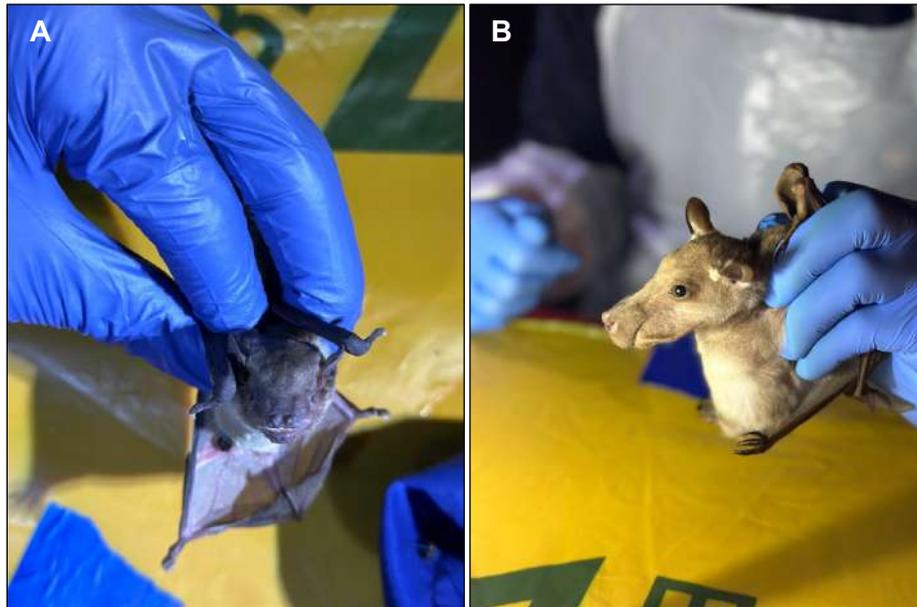
- |  |  |   |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3                        | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier              | <input type="checkbox"/> Écouvillons de grande taille |
| <input type="checkbox"/> Sacs à cordon en tissu        | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données           | <input type="checkbox"/> Écouvillons de petite taille |
| <input type="checkbox"/> Gants en cuir                 | <input type="checkbox"/> Stylo/Crayon                        | <input type="checkbox"/> Aiguilles 25-27g             |
| <input type="checkbox"/> Lampe frontale                | <input type="checkbox"/> Marqueur pour tubes                 | <input type="checkbox"/> Seringues 1mL                |
| <input type="checkbox"/> Pied à coulisse               | <input type="checkbox"/> Tubes 1.5mL                         | <input type="checkbox"/> Seringue 3mL                 |
| <input type="checkbox"/> Ciseaux                       | <input type="checkbox"/> Lingettes désinfectantes            | <input type="checkbox"/> Pipette 100-1,000µL          |
| <input type="checkbox"/> DNA/RNA Shield™               | <input type="checkbox"/> Solution saline stérile             | <input type="checkbox"/> Pipette 20-200µL             |
| <input type="checkbox"/> Whatman™ 903 papiers filtres  | <input type="checkbox"/> Pointes de pipette                  |   |
| <input type="checkbox"/> Jus de fruit                  | <input type="checkbox"/> Smartphone/appareil photo           |   |
| <input type="checkbox"/> Balanciers à ressort 100-500g | <input type="checkbox"/> Pinces pour l'enlèvement des tiques |   |
| <input type="checkbox"/> Vernis à ongles non-toxique   | <input type="checkbox"/> Autocollants tubes colorés          |   |

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT III. Les activités de maintien et d'échantillonnage sont effectuées sur une seule capture individuelle à la fois.

1. Placez les différents autocollants de tube (c.-à-d. bleu, brun, rouge et vert) sur les tubes de 1,5mL et pipetez 500µL de Zymo DNA/RNA Shield™ dans chacun d'eux (**Annexe C**).
2. Avant de récupérer chaque chauve-souris, vérifiez qu'elle est vivante en agitant doucement chaque sac pour obtenir une réponse d'activité. L'état de santé des chauves-souris peu actives doit être vérifié visuellement. Prioriser l'échantillonnage des chauves-souris les moins actives d'abord si elles sont jugées capables de résister à la manipulation.
3. Pesez soigneusement la chauve-souris dans son sac en tissu à l'aide de la balance à ressort appropriée de 100g ou 500g.
4. Pendant que l'animal est dans le sac, notez les informations suivantes sur la fiche de collecte des données : les initiales du transcripteur, la date, l'espèce (voir la **Section 3.4**), le numéro d'identification de l'animal et le poids, y compris le sac en tissu.



**Figure 3.3.** Manipulation d'une chauve-souris à l'intérieur du sac en tissu.



**Figure 3.4.** Une chauve-souris retenue par une prise d'aile à des fins d'échantillonnage.

5. La manipulation des chauves-souris peut être effectuée par l'une ou l'autre des méthodes suivantes :
  - a. Garder la chauve-souris à l'intérieur du sac et la retenir doucement tout en n'exposant chaque caractéristique anatomique qu'au besoin pour la collecte des données et des échantillons (**Figure 3. 3**).
  - b. Retirez délicatement la chauve-souris du sac et retenez ses ailes en tenant les deux dans une main, le plus près des épaules de l'animal. L'index sépare les ailes (**Figure 3.4**).

6. Tout en immobilisant l'animal, recueillez les données suivantes :

- a. Le sexe, l'état reproductif et l'âge en inspectant ses organes génitaux, son abdomen et ses ailes (voir le **Tableau 3.1** pour les définitions ; si vous n'êtes pas certain de l'âge ou du sexe, indiquez « ? » dans le dossier et essayez d'expliquer l'incertitude dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données).



**Figure 3.5.** Tique (surlignée par la flèche rouge) attachée à la tête d'une chauve-souris pendant les procédures d'échantillonnage.

- b. La présence et le nombre d'ectoparasites (c.-à-d. tiques, puces et/ou poux) en inspectant visuellement son corps (**Figure 3.5**). S'il y en a, retirez-en un numéro précis

à l'aide d'une pince et placez-les dans un tube de 1,5mL à couvercle vert. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.

- c. La longueur de l'avant-bras/du rayon à l'aide d'un pied à coulisse (**Figure 3.6**).

7. Tout en immobilisant l'animal, écouvillonnez-le pour prélever les échantillons suivants (**Figure 3.7**) :

- a. Un écouvillon buccal à l'aide d'un gros écouvillon stérile à pointe en polyester. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube bleu de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
- b. Un écouvillon rectal à l'aide d'un petit écouvillon stérile à pointe de polyester humidifié avec quelques gouttes de solution saline stérile. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube brun de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.



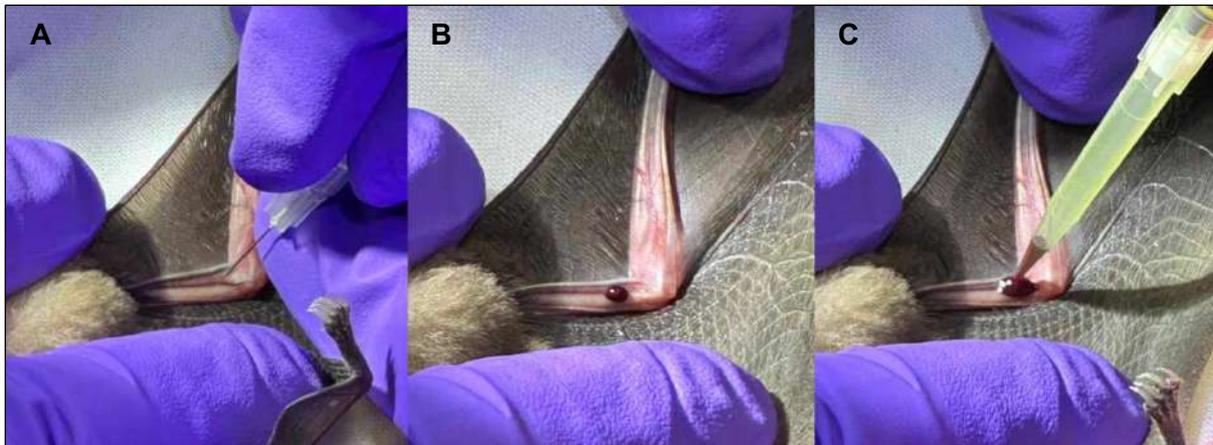
**Figure 3.6.** Mesure de la longueur de l'avant-bras/du rayon.



**Figure 3.7.** Écouvillonnage des cavités buccale (A) et rectale (B).

8. Relâchez l'animal dans son sac en tissu, puis attachez doucement son corps en n'exposant qu'une seule aile (**Figure 3.8**) pour prélever des échantillons de sang :

- a. Localisez la veine brachiale dorsalement par rapport à l'articulation du coude et nettoyez la surface avec une lingette désinfectante ; piquer rapidement la veine avec une aiguille stérile de 25g (utiliser une aiguille de 27g pour les animaux  $\leq 30g$ ) ; une goutte de sang se formera instantanément si la veine brachiale est pénétrée.
- b. Prélever immédiatement des gouttes de sang à l'aide de la pipette 20-200 $\mu$ L munie d'un embout stérile et réglée à 50 $\mu$ L. Remplissez d'abord un cercle du papier Whatman™ 903, puis expulsez  $\leq 100\mu$ L dans un tube de 1,5mL à bouchon rouge. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiquetez la tache de sang.
- c. Assurer l'hémostase en appliquant une pression sur le site pendant 30 secondes à 1 minute à l'aide d'une boule de coton (si l'artère est touchée à la place de la veine brachiale, le flux sanguin est rapide et, dans ce cas, l'hémostase peut prendre plus de temps ; dans ce cas, l'opérateur doit attendre patiemment >1 minute sans vérifier constamment l'arrêt du flux sanguin).



**Figure 3.8.** Prélèvement sanguin par ponction de la veine brachiale.



En cas d'échec ou si plus de sang est nécessaire, le prélèvement sanguin peut être tenté deux fois sur chaque aile, mais il s'arrêtera après le quatrième essai ou avant si l'animal semble fatigué.

9. Relâchez l'animal dans son sac en tissu, puis immobilisez doucement son corps en n'exposant que la tête et offrez-lui 20 $\mu$ L/1g de liquides (p. ex., 1mL de liquide pour un animal de 50g) à l'aide d'une seringue sans aiguille (**Figure 3.9**) :
  - a. Jus de fruits pour chauves-souris frugivores.
  - b. Solution saline pour chauves-souris insectivores.

10. Utilisez un vernis à ongles non toxique ou un marqueur permanent pour marquer l'aile de l'animal avec un tiret afin d'éviter les prélèvements effectués lors de la ou des nuits suivantes de travail sur le terrain.
11. Vérifiez auprès du transcripteur que la collecte des données est terminée.
12. Assurez-vous que l'animal semble actif et alerte dans son sac en tissu, puis transportez-le soigneusement au point de capture (ou à moins de 100 m de celui-ci), ouvrez le sac et laissez l'animal sortir et s'envoler.
  - a. Si ce n'est pas le cas, administrer une solution saline stérile par voie sous-cutanée comme décrit à la **Section 10.1**.
13. Pesez le sac en tissu vide à l'aide de la balance à ressort de 100g. Communiquez l'information au transcripteur et vérifiez avec lui que la collecte des données est terminée.
14. Entre un animal et l'autre, assurez-vous de :
  - a. Nettoyez la station de prélèvement en utilisant de l'éthanol à 70 % sur les zones qui ont été en contact avec le corps de l'animal et ses fluides.
  - b. Jetez le ruban de marquage, les débris et les excréments du sac en tissu sale dans le sac des déchets biologiques (rouge).
  - c. Placez le sac en tissu sale dans le bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel préparées pour la décontamination des bottes.
  - d. Utilisez de l'éthanol à 70% pour essuyer les ciseaux utilisés pour couper la tige des écouvillons.
15. À la fin du processus d'échantillonnage, assurez-vous de :
  - a. Décontaminer la station de prélèvement et éliminer l'EPI comme indiqué aux **Sections 8.1 et 8.2**.
  - b. Prendre une photo de la fiche de collecte des données remplie sous forme d'enregistrement numérique.
  - c. Transporter et entreposer les spécimens prélevés comme décrit à la **Section 9.2**.



**Figure 3.9.** Administrer une hydratation orale.

#### Encadré de conseils

- Si le personnel trouve que les chauves-souris frugivores de grande taille, comme *Hypsignatus monstrosus* (**Section 3.4**), sont intimidantes à manipuler directement, il est

recommandé d'anesthésier ces animaux comme indiqué à la **Section 4.3** pour les petits mammifères. La procédure d'anesthésie applique le même protocole de biosécurité et d'échantillonnage que celui décrit ci-dessus.

- Les conseils généraux pour les chauves-souris vieillissantes sont d'observer leur aile ouverte contre la lumière artificielle pour vérifier si le cartilage (chez les juvéniles) ou les os fusionnés (chez les adultes) forment la symphyse phalangienne.
- L'écouvillon buccal doit être inséré doucement sans forcer et en permettant à l'animal de le mâcher pendant 15 secondes.
- L'écouvillon rectal doit être inséré délicatement mais, s'il est difficile à insérer, il doit être évité en raison du risque de prolapsus rectal. Une fois à l'intérieur du rectum, appliquez un mouvement de rotation sur l'écouvillon pendant 15 secondes.
- La quantité totale de sang prélevé sur chaque animal ne doit pas dépasser 0,75% de son poids (p. ex.,  $\leq 200\mu\text{L}$  de sang pour 25g par animal ; une goutte de sang correspond à environ  $50\mu\text{L}$ ).
- De la poudre ou du gel styptique peut être appliqué pour assurer l'hémostase après le prélèvement sanguin, en particulier lorsqu'une ponction d'une artère peut s'être produite.
- Lors de l'administration de liquides, laissez la chauve-souris boire sans la forcer et arrêtez-vous lorsque la consommation est refusée.

**Tableau 3.1.** Codes relatifs à l'âge (J pour les juvéniles et A pour les adultes) et à l'état de reproduction des chauves-souris femelles (F) et mâles (M) échantillonnés.

Âge F	Statut reproducteur F	Âge M	Statut reproducteur M
J	N (pas reproductrice ; le vagin n'est pas perforé et la fusion de la symphyse phalangienne est incomplète)	J	AB (testicules abdominaux ; les testicules ne sont pas complètement descendus/visibles et la fusion de la symphyse phalangienne est incomplète)
A	N (pas reproductrice ; le vagin peut être perforé mais la fusion de la symphyse phalangienne est complète)	A	AB (les testicules ne sont ni abdominaux ni complètement descendus/visibles mais la fusion de la symphyse phalangienne est complète)
	E (enceinte ; l'abdomen est enflé et les mamelons sont proéminents)		SC (testicules scrotaux ; les testicules sont descendus et gros et la fusion de la symphyse phalangienne est complète)
	L (allaitement ; les mamelons sont proéminents et un petit peut s'accrocher à la mère)		

### 3.4. CLÉS D'IDENTIFICATION DES CHAUVES-SOURIS.

Les chiroptères énumérés ici (**Figure 3.10**) ont été sélectionnés sur la base de données pilotes recueillies dans le cadre du Fever Project, en plus des données d'occurrence obtenues à partir de la base de données du système mondial d'information sur la biodiversité ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Cette liste limitée est destinée à fournir des conseils au personnel de terrain pour une identification morphologique présumée des individus capturés plutôt que d'être un guide taxonomique complet des chauves-souris d'Afrique de l'Ouest (consulter *Flying Mammals : Quick ID Guide to the Bats of Africa* (Stuart et Stuart, 2021) pour plus d'informations).



**Figure 3.10.** Illustrations de *Myonycteris torquata* (A), *Hypsignathus monstrosus* (B), *Rousettus aegyptiacus* (C), *Epomophorus labiatus* (D), *Rhinolophus hildebrandti* (E), *Hipposideros cyclops* (F), et *Miniopterus schreibersi* (G) (modifié à partir de *The Kingdon Field Guide to African Mammals* (Kingdon, 2015)).

#### 3.4.1. Chauves-souris frugivores.

1. Genre *Myonycteris*. Poids : 35-80g. Longueur de l'avant-bras : 55-70mm. Chauves-souris brunes avec des oreilles pointues et, chez les mâles, de larges collerettes d'épaule ressemblant à un collier. Les chauves-souris *Myonycteris* se perchent seules ou en petits groupes dans une végétation dense et basse. *Myonycteris leptodon* et *Myonycteris torquata* sont considérés comme des espèces distinctes et peuvent tous deux être présents dans toute la Guinée.

2. *Rousettus aegyptiacus*. Poids : 83-170g. Longueur de l'avant-bras : 82-106mm. Grande chauve-souris frugivore aux ailes noires et à la fourrure brune à grise, *R. aegyptiacus* se perche dans des grottes et vole sur de longues distances pour se nourrir dans une gamme variée d'habitats. Cette espèce est répandue et commune dans toute l'Afrique subsaharienne.
3. *Epomophorus gambianus*. Poids : 40-120g. Longueur de l'avant-bras : 54-100mm. Chauve-souris frugivore à la fourrure brune et aux touffes blanches à la base des oreilles, *E. gambianus* se trouve couramment dans les savanes, les forêts et les mosaïques forestières d'Afrique subsaharienne.
4. *Hypsignatus monstrosus*. Poids : 220-450g. Longueur de l'avant-bras : 118-137mm. La plus grande chauve-souris frugivore d'Afrique continentale, *H. monstrosus* se caractérise par une fourrure brune, des touffes blanches à la base des oreilles et des narines tubulaires. Cette espèce se perche à basse altitude, généralement dans les zones forestières, et elle peut être commune à l'échelle locale.

#### **3.4.2. Chauves-souris insectivores.**

1. Genre *Rhinolophus*. Poids : 5-33g. Longueur de l'avant-bras : 35-69mm. Le nom de ce genre dérive d'une branche plate en forme de feuille qui entoure les narines. Les chauves-souris *Rhinolophus* préfèrent se percher dans des grottes, des creux d'arbres ou des bâtiments, et chasser dans des zones abritées.
2. Genre *Hipposideros*. Poids : 6-138g. Longueur de l'avant-bras : 34-124mm. Un genre très diversifié de chauves-souris insectivores avec des oreilles en forme de feuille et une série de lappets qui entourent les narines. Les *Hipposideros* spp. habitent les forêts et les savanes à basse et moyenne altitude et se perchent dans des creux d'arbres, des grottes ou des greniers de maisons.
3. Genre *Miniopterus*. Poids : 3-19g. Longueur de l'avant-bras : 37-52mm. La caractéristique anatomique la plus distinctive des chauves-souris *Miniopterus* est des doigts doublement pliés et exceptionnellement longues, en plus d'un grand crâne avec un petit museau pointu. Ces chauves-souris se perchent en grand nombre au fond des grottes et peuvent être trouvées dans une grande variété d'habitats.

#### 4. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE DES PETITS MAMMIFÈRES.

Avant d'installer des pièges autour d'un nouveau site, communiquez soigneusement les objectifs du Fever Project à la communauté locale, y compris la raison d'être de l'échantillonnage des petits mammifères terrestres. L'équipe peut commencer à explorer l'environnement et à planifier où et combien de pièges pourraient être installés seulement après avoir reçu le consentement clair de la communauté, la permission d'entrer dans les maisons et les chambres à coucher pour installer et vérifier les pièges (s'assurer que les portes seront déverrouillées), l'assurance que les pièges ne seront pas enlevés ou déplacés, y compris l'acceptation de relâcher chaque petit mammifère capturé à son point de capture (ou aussi près que possible afin d'éviter les conflits entre l'homme et la faune). Souvent, les habitants deviennent de fins informateurs de la présence de rongeurs, bien que leur attention se porte plus sur les gros rats plutôt que sur les souris de petite taille. En cas de réponse négative de la communauté, les activités de piégeage des petits mammifères ne pourront pas avoir lieu pour ce site spécifique.

##### 4.1. PROTOCOLE DE MISE EN PLACE DES PIÈGES À PETITS MAMMIFÈRES.

- |  |  |   |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3          | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier    | <input type="checkbox"/> Poisson desséché |
| <input type="checkbox"/> Pièges Sherman  | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données | <input type="checkbox"/> Cacahuètes       |
| <input type="checkbox"/> Pièges Tomahawk | <input type="checkbox"/> Crayon                    | <input type="checkbox"/> Fruits/Légumes   |
| <input type="checkbox"/> Marqueur        | <input type="checkbox"/> Téléphone portable        | <input type="checkbox"/> Lampe frontale   |
| <input type="checkbox"/> GPS             | <input type="checkbox"/> Ruban de marquage coloré  |   |



**Figure 4.1.** Activités de piégeage à l'aide de pièges Sherman (A) et Tomahawk

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT I. La seule technique de piégeage appliquée dans le cadre du Fever Project utilise des pièges Sherman pliables (9 x 3 x 3,5 pouces) et des pièges Tomahawk avec une trappe (19 x 6 x 6 pouces) placés de manière opportune à l'intérieur et le long de lignes à l'extérieur (**Figure 4.1**). Avant la mise en place, appâtez Sherman avec une quantité standard (c.-à-d. une cuillère à soupe) d'un mélange d'arachides, de poisson desséché et d'un fruit/légume disponible localement (p. ex., du maïs, des tomates ou des bananes). Appâtez Tomahawk avec du beurre d'arachide sur des couvercles de bouteilles en métal/plastique.



**Figure 4.2.** Ruban de marquage fixé à la végétation pour délimiter les lignes de piégeage.

1. Installez les pièges avant le crépuscule à l'intérieur (deux pièges Sherman par pièce) et à l'extérieur (plusieurs lignes de 10 pièges Sherman à une distance de 5 à 10m, et trois pièges Tomahawk placés de manière opportune autour de terriers de rats géants (*Cricetomys* spp.)). Au total, placez un minimum de 60 pièges Sherman et neuf pièges Tomahawk par site chaque soir.
2. Marquez chaque ménage sondé avec du ruban de marquage et le nombre de pièges qui ont été posés. Marquez chaque ligne de piégeage à son début, à mi-chemin et terminez-la avec du ruban de marquage attaché à la hauteur de la poitrine à la végétation à proximité (**Figure 4.2**). De plus, chaque piège peut être numéroté avant d'être placé dans l'ordre croissant (**Figure 4.3**).
3. Vérifiez toujours le bon fonctionnement de la gâchette de chaque piège in situ pour vous assurer que l'appât ne gêne pas le mécanisme.
4. Consigner la date et l'heure de la nuit de piégeage, l'emplacement administratif, le type de paysage (p. ex., intérieur, village, ferme, champ cultivé, forêt) et les coordonnées GPS génériques du site d'étude sur la fiche de collecte des données appropriée.
5. Répétez la stratégie de piégeage au même site pendant  $\leq 4$  nuits consécutives (une quatrième nuit consécutive peut être nécessaire



**Figure 4.3.** Pièges Sherman dans l'ordre croissant avant le début des activités de piégeage.

uniquement lorsque les taux de capture sont faibles (c.-à-d.  $\leq 10$  rongeurs par nuit), mais les recaptures restent peu fréquentes).

### Encadré de conseils

- Vérifiez les prévisions météorologiques avant de travailler sur le terrain et évitez les activités de capture lorsque de fortes pluies et des rafales de vent sont prévues pendant la saison des pluies (de juin à octobre) ou des chaleurs extrêmes pendant la saison sèche (de novembre à mai). Des conditions météorologiques défavorables peuvent avoir une incidence sur la survie des animaux pendant le piégeage.
- Les nuits de pleine lune, les rongeurs peuvent être moins actifs, car leur activité de recherche de nourriture peut être négativement corrélée à l'intensité de la lumière de la lune (Bovendorp et al., 2017). Par conséquent, évitez les activités de piégeage pendant les nuits de pleine lune.
- Pour un succès optimal du piégeage à l'intérieur, placez les pièges sous les lits, le long des murs, près des coins de la cuisine et le long des trous dans le mur ou le sol qui peuvent servir de terriers, toujours avec la porte du piège face aux pistes potentielles. Pour un succès optimal du piégeage à l'extérieur, placez les pièges sur les pistes potentielles (avec la porte du piège face à l'entrée), le long des bordures et des clôtures recouvertes de broussailles, et le long des rondins ou des points de repère qui peuvent servir de terriers.

#### 4.2. PROTOCOLE D'INSPECTION DES PIÈGES À PETITS MAMMIFÈRES.

- |   |  |   |
|---|--|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3                       | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier    | <input type="checkbox"/> Marqueur           |
| <input type="checkbox"/> Gants en nitrile ou en latex | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données | <input type="checkbox"/> Crayon             |
| <input type="checkbox"/> Respirateur N95              | <input type="checkbox"/> Ruban de marquage coloré  | <input type="checkbox"/> Téléphone portable |
| <input type="checkbox"/> Lampe frontale               | <input type="checkbox"/> Sacs de transport         |   |

Le personnel qui exécute directement le protocole applique l'EPI CAT II (un respirateur N95 doit être porté si des captures ont lieu dans des pièges Tomahawk). Les pièges sont vérifiés dès que possible après l'aube en inspectant systématiquement les lignes de piégeage (n'oubliez pas d'apporter de nouveaux pièges dans un sac de transport pour remplacer ceux qui ont eu des captures au cas où les pièges seraient gardés sur place au point de capture pendant la journée). Inscrivez le type et le nombre de pièges manquants et ratés (c.-à-d. tous les pièges qui ont été trouvés déclenchés ou qui ont fait l'objet de prises accessoires (c.-à-d. la capture d'animaux non ciblés comme les oiseaux et les amphibiens)) sur la fiche de collecte des données. Les prises accessoires sont immédiatement relâchées au point de capture.

1. Notez l'heure à laquelle l'activité de piégeage commence sur la fiche de collecte des données.
2. Si un piège Sherman est déclenché, ouvrez-le avec précaution pour vérifier s'il y a présence de captures ou s'il s'agit d'un raté.
3. Étiquetez immédiatement les captures de petits mammifères en collant du ruban de marquage sur le piège et en y inscrivant le numéro d'identification de l'animal et le type de paysage (**Figure 4.4**). Notez également le numéro d'identification de l'animal sur le ruban de marquage indiquant l'emplacement du piège (placez-le s'il n'est pas présent).
4. Placez soigneusement les pièges contenant les captures dans un sac de transport séparé et évitez de les empiler les uns sur les autres. Ceci est particulièrement important pour les rongeurs dans les pièges Tomahawk car cela réduit les stimuli visuels et le stress.
5. Les pièges contenant les captures sont retirés du sac de transport et placés dans une zone ombragée et isolée avec une couverture visuelle protectrice et espacés d'au moins 1m pour minimiser le stress avant les procédures d'échantillonnage.
6. S'il y a un risque d'altération ou de vol pendant la journée, retirez tous les pièges en ramassant également les pièges non déclenchés et les ratés dans un sac de transport séparé. Si le risque est négligeable, remplacez les pièges qui ont eu des captures, assurez-vous de désactiver tous les pièges pour éviter les captures indésirables pendant la journée et gardez les pièges sur place au point de capture.
7. Le dernier matin de l'inspection des pièges, assurez-vous que le ruban de marquage sur les maisons et la végétation est enlevé et jeté dans le sac des déchets biologiques.



**Figure 4.4.** Ruban de marquage attaché au piège pour l'identification de la capture.

#### Encadré de conseils

- N'attendez pas >15 heures entre le déploiement le soir et l'inspection le matin ; le risque de déshydratation ou de famine est plus élevé pour les animaux piégés s'ils sont confinés trop longtemps.
- Lorsque vous capturez des mères avec leurs petits, veillez à ne pas déplacer le petit pendant la manipulation.

- L'application de respirateurs N95 n'est nécessaire que lorsque le personnel est exposé à des captures dans des pièges Tomahawk et, par conséquent, un contact étroit avec l'animal est inévitable (**Figure 4.1**).

### 4.3. ANESTHÉSIE DES PETITS MAMMIFÈRES.

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3                                   | <input type="checkbox"/> Étui Pelican™     | <input type="checkbox"/> Balanciers à ressort 100g   |
| <input type="checkbox"/> Isoflurane                               | <input type="checkbox"/> Ruban de marquage | <input type="checkbox"/> Masque anesthésiant         |
| <input type="checkbox"/> Concentrateur d'oxygène                  |  | <input type="checkbox"/> Tubes de raccordement       |
| <input type="checkbox"/> Remplisseur d'entonnoir anti-déversement |  | <input type="checkbox"/> Vaporisateur                |
| <input type="checkbox"/> Chambre d'induction                      |  | <input type="checkbox"/> Lubrifiant ophtalmique      |
| <input type="checkbox"/> Sac des déchets biologiques, propre      |  | <input type="checkbox"/> Adaptateur de port d'entrée |

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT III. La manipulation directe de rats géants (*Cricetomys* spp.) et de musaraignes (*Crocidura* spp.) piégées dans le cadre de l'étude n'est effectuée que sur des animaux anesthésiés. Vous trouverez ci-dessous un guide étape par étape sur l'anesthésie et la collecte de sang chez les petits mammifères.



**Figure 4.5.** Remplisseur d'entonnoir anti-déversement monté sur la bouteille d'isoflurane pour le verser dans le réservoir.

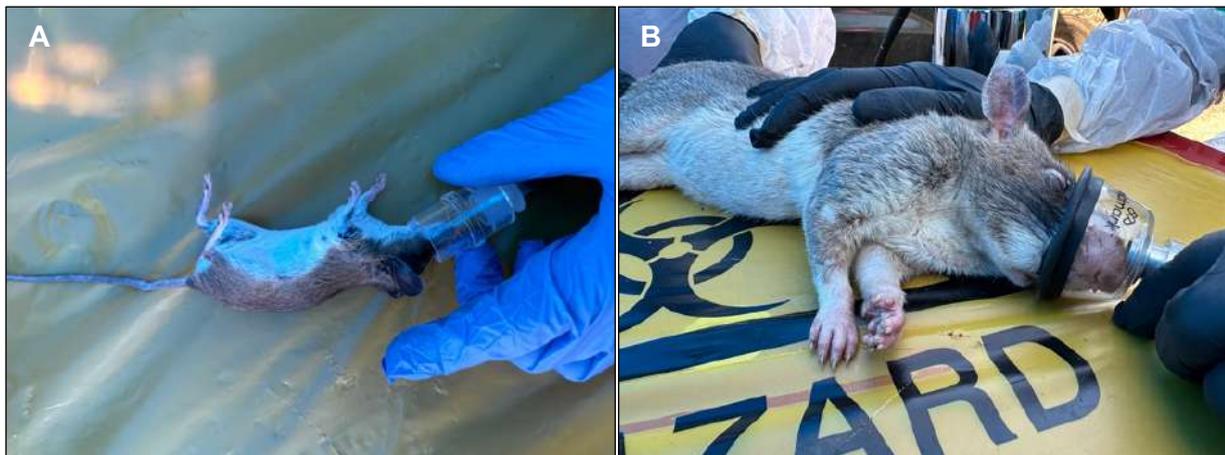
1. Préparez toutes les fournitures et l'équipement pour l'anesthésie :
  - a. Ouvrez l'étui Pelican™ et placez le vaporisateur d'isoflurane sur la table de traitement en assurant sa stabilité et sa position droite.
  - b. Placez le concentrateur d'oxygène dans un endroit sûr sur le sol près de la station de prélèvement.
  - c. Connectez les tubes au besoin en fonction de la taille de l'animal à anesthésier :
    - i. Connectez un premier tube du concentrateur d'oxygène à la vanne d'entrée du vaporisateur.
    - ii. Connectez un deuxième tube à la valve de sortie du vaporisateur tandis que l'autre extrémité reste débranchée.
2. Ouvrez le flacon d'isoflurane et insérez-le avec le remplisseur d'entonnoir anti-déversement. Dévissez le couvercle en haut du réservoir et versez l'isoflurane jusqu'à ce que le liquide remplisse le réservoir à peu près à moitié (**Figure 4.5**).

- a. Pour les rats *Cricetomys*, placez soigneusement le piège Tomahawk dans un sac des déchets biologiques non percé, insérez l'extrémité débranchée du deuxième tube dans la bouche du sac et fermez le sac avec vos mains.
- b. Pour les musaraignes *Crocidura*, placez soigneusement l'individu piégé dans un sac en tissu, puis pesez-le à l'aide de la balance à ressort de 100g et notez le poids (y compris avec le sac en tissu) sur la fiche de collecte des données.



**Figure 4.6.** Souris *Mastomys* après libération dans la chambre d'induction.

- i. Branchez l'adaptateur dans le port d'entrée de la chambre d'induction, puis insérez l'extrémité débranchée du deuxième tube dans le port d'entrée.
- ii. Couvrez l'orifice de sortie de la chambre d'induction avec du ruban de marquage pour éviter les fuites d'isoflurane.
- iii. Relâchez l'animal dans la chambre d'induction (utilisez son couvercle pour empêcher l'animal de s'échapper, puis maintenez le couvercle enfoncé car il ne se verrouille pas) (**Figure 4.6**).



**Figure 4.7.** Maintenir le niveau anesthésique chez la souris *Mastomys* (A) et le rat *Cricetomys* (B).

3. Allumez le concentrateur d'oxygène (maintenez le bouton marche/arrêt enfoncé pendant quelques secondes) et réglez-le sur 3L/min, réglez le vaporisateur sur 5%, puis attendez environ 5 minutes pour induire l'anesthésie chez l'animal (p. ex., inclinez le piège Tomahawk ou la chambre d'induction pour vérifier si l'animal tombe librement sans aucune réponse).

4. Mettez rapidement le vaporisateur à 0% et débranchez le tube du piège Tomahawk ou de la chambre d'induction (**Figure 4.7**).
  - a. Pour les rats *Cricetomys*, installez le tube avec le masque facial, puis retirez le rat du piège et placez le masque facial sur son museau.
  - b. Pour les musaraignes *Crocidura*, le masque facial n'est pas nécessaire ; retirez la musaraigne de la chambre d'induction et placez l'extrémité débranchée du tube sur son museau.
5. Mettez le vaporisateur à 2% et le concentrateur d'oxygène à 2L/min pour les rats *Cricetomys* (1L/min pour les musaraignes *Crocidura*) pour maintenir le niveau anesthésique (à ce stade, un membre du personnel devient l'anesthésiste, uniquement dédié à la surveillance du niveau d'anesthésie de l'animal (c.-à-d. la surveillance de la fréquence cardiaque en gardant l'index et le majeur sous le coude de l'animal, et la fréquence respiratoire en observant son schéma respiratoire)).
6. Appliquez du lubrifiant ophtalmique sur les deux yeux.
7. Après confirmation claire de l'anesthésiste, les activités d'échantillonnage et de collecte de données détaillées à la **Section 4.4** peuvent commencer pendant que l'animal reste anesthésié.
8. À la fin des activités d'échantillonnage, pesez le sac en tissu vide à l'aide de la balance à ressort de 100g (pour les musaraignes). Communiquez l'information au transcripteur et vérifiez avec lui que la collecte des données est terminée.
9. Éteignez rapidement le concentrateur d'oxygène et le vaporisateur à 0%, puis placez délicatement l'animal dans son piège.
10. Une fois le piège ramené dans un endroit ombragé et sécurisé, assurez-vous que l'animal se réveille en toute sécurité et, lorsqu'il semble actif et alerte, placez une tranche de fruit frais dans son piège.
11. Entre une anesthésie et l'autre, assurez-vous de :
  - a. Nettoyer la station de prélèvement en utilisant de l'éthanol à 70% sur les zones qui ont été en contact avec le corps de l'animal et ses fluides (y compris, le cas échéant, la chambre à induction, l'extrémité débranchée du tube ou le masque facial).
  - b. Utiliser de l'éthanol à 70% pour essuyer les ciseaux utilisés pour couper la tige des écouvillons.
12. À la fin du processus d'échantillonnage, assurez-vous de :
  - a. Relâcher les animaux à leur point précis de capture (ou le plus près possible afin d'éviter les conflits entre les humains et la faune).
  - b. Retirer et jeter le ruban de marquage utilisé dans le sac des déchets biologiques (rouge).

- c. Décontaminer toutes les fournitures et l'équipement d'anesthésie, la station de prélèvement et éliminer l'EPI comme indiqué aux **Sections 8.1 et 8.2**.
- d. Prendre une photo de la fiche de collecte des données remplie sous forme d'enregistrement numérique.
- e. Transporter et entreposer les spécimens prélevés comme décrit à la **Section 9.2**.

#### Encadré de conseils

- Rechargez complètement le concentrateur d'oxygène après chaque utilisation et avant son utilisation potentielle le lendemain.
- Mener des activités dans des endroits abrités et exempts de conditions météorologiques extrêmes (p. ex., lumière directe du soleil, pluie et/ou rafales de vent). Si aucune zone abritée n'est trouvée, créez-la à l'aide de bâches et de cordes.
- Pendant les procédures d'anesthésie, agissez rapidement après l'induction et appliquez les principes de contention car l'animal peut se réveiller soudainement (**Figure 4.8**).
- Lorsqu'il n'est pas directement inhalé par l'animal en raison des procédures d'échantillonnage, n'oubliez pas de changer le niveau d'isoflurane à 0% afin de ne pas le gaspiller.
- Guide de dépannage dans le cas où l'animal n'est pas induit ou est sous anesthésie : i) tubes correctement connectés et sans fuite ; ii) s'assurer que l'isoflurane s'écoule en sentant l'extrémité débranchée du deuxième tube ; iii) concentrateur d'oxygène avec batterie complètement chargée ; iv) réservoir rempli d'une quantité appropriée d'isoflurane ; v) pourcentage incorrect de vaporisateur.

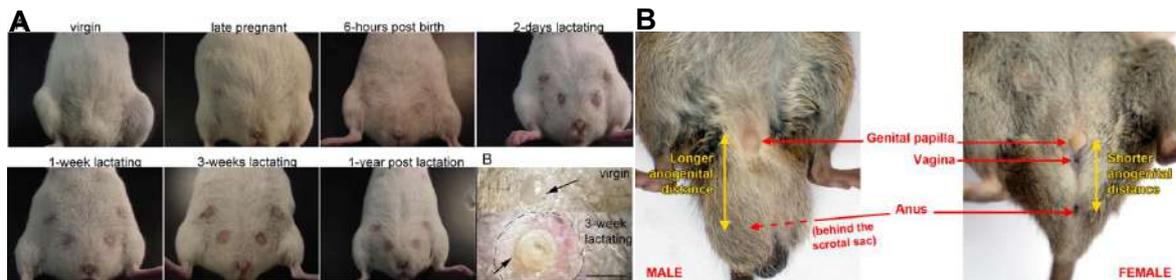


**Figure 4.8.** Contention du rat *Cricetomys* après induction.

#### 4.4. PROTOCOLE DE MANIPULATION, D'ÉCHANTILLONNAGE ET DE COLLECTE DES DONNÉES.

- |   |  |   |
|---|--|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 3                     | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier    | <input type="checkbox"/> Écouvillons de grande taille |
| <input type="checkbox"/> Sacs à cordon en tissu     | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données | <input type="checkbox"/> Écouvillons de petite taille |
| <input type="checkbox"/> Autocollants tubes colorés | <input type="checkbox"/> Stylo/Crayon              | <input type="checkbox"/> Aiguilles 25-27g             |
| <input type="checkbox"/> Tranches de fruits frais   | <input type="checkbox"/> Marqueur pour tubes       | <input type="checkbox"/> Seringues 1mL                |
| <input type="checkbox"/> Pied à coulisse            | <input type="checkbox"/> Tubes 1.5mL               | <input type="checkbox"/> Seringue 3mL                 |

- Ciseaux
- Lingettes désinfectantes
- Pipette 100-1,000µL
- DNA/RNA Shield™
- Solution saline stérile
- Pointes de pipette
- Whatman™ 903 papiers filtres
- Pinces pour l'enlèvement des tiques
- Smartphone/appareil photo
- Vernis à ongles non-toxique
- Balanciers à ressort 100-500g



**Figure 4.9.** Croissance du mamelon et de l'auréole pendant la grossesse et l'allaitement (A) (modifié à partir de Wu et al. (2015)). Comparaison externe des organes reproducteurs mâles et femelles (B) (modifié à partir de Herbreteau et al. (2011)).

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT III. Les pièges contenant les captures sont retirés du sac de transport et placés dans un endroit ombragé et isolé. Les activités de manipulation et d'échantillonnage sont effectuées sur une seule capture individuelle à la fois.

1. Placez les différents autocollants de tube (c.-à-d. bleu, brun, rouge et vert) sur les tubes de 1,5mL et pipetez 500µL de Zymo DNA/RNA Shield™ dans chacun d'eux (**Annexe C**).
2. Placez soigneusement le rongeur (voir la **Section 4.3** pour les rats et musaraignes) dans un sac en tissu.
3. Pesez le rongeur dans son sac en tissu à l'aide de la balance à ressort appropriée de 100g ou 500g.
4. Pendant que l'animal est dans le sac, notez les informations suivantes sur la fiche de collecte des données : les initiales du transcripteur, la date, l'espèce (voir la **Section 4.5**), le numéro d'identification de l'animal, le type de paysage et le poids, y compris le sac en tissu.
5. Retirez l'animal à l'intérieur du sac en tissu, puis collectez les données suivantes :
  - a. Le sexe, l'état reproductif et l'âge en inspectant ses organes génitaux et son abdomen (voir la **Figure 4.9** et le **Tableau 4.1** pour les définitions



**Figure 4.10.** *Hemimerus* infestant un rat *Cricetomys*.

; si vous n'êtes pas certain de l'âge ou du sexe, indiquez « ? » dans le dossier et essayez d'expliquer l'incertitude dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données).

- b. La présence et le nombre d'ectoparasites (c.-à-d. tiques, puces, poux et/ou perce-oreilles pour *Cricetomys* spp. (**Figure 4.10**)) en inspectant visuellement son corps. S'il y en a, retirez-en un numéro précis à l'aide d'une pince et placez-les dans un tube de 1,5mL à couvercle vert. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
  - c. La longueur du corps et de la queue à l'aide des pieds à coulisse, puis relâchez l'animal dans son sac en tissu pour lui permettre de faire une pause dans la manipulation.
6. Retirez l'animal de l'intérieur du sac en tissu une deuxième fois, puis prélevez les échantillons suivants :
- a. Un écouvillon buccal à l'aide d'un gros écouvillon stérile à pointe en polyester. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube bleu de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
  - b. Un écouvillon rectal à l'aide d'un petit écouvillon stérile à pointe de polyester humidifié avec quelques gouttes de solution saline stérile (utiliser de gros écouvillons pour rongeurs >150g (**Figure 4.11**)). Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube brun de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
7. Pendant que vous manipulez l'animal, prélevez des échantillons de sang (**Figure 4.12**) :
- a. Uniquement pour les souris (p. ex., *Mastomys* spp.), tout en maintenant l'animal fixe par sa queue entre l'annulaire et l'auriculaire de la même main (l'action de la contention crée un



**Figure 4.11.** Écouvillonnage de la cavité rectale du rat *Cricetomys*.



**Figure 4.12.** Ponction de la veine sous-maxillaire (faciale) chez la souris *Mastomys*.

garrot qui rend la veine sous-maxillaire (faciale) accessible). Repérez l'extrémité arrière de sa mandibule (**Figure 4.13**) et piquez rapidement sa joue avec une aiguille stérile de 27g ; Une goutte de sang se formera instantanément si la veine sous-maxillaire (faciale) est pénétrée.

- i. Approchez immédiatement du papier Whatman™ 903, puis un tube de 1,5mL à bouchon rouge, pour recueillir une ou deux gouttes de sang chacune. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiquetez la tache de sang.
- ii. Assurez l'hémostase en relâchant la souris dans son sac en tissu (le saignement s'arrêtera en raison de la compression appliquée par les muscles locaux).



**Figure 4.13.** Localisation de la veine sous-maxillaire (faciale) lors de la découpe d'une souris de laboratoire (modifié à partir de <https://medipoint.com/for-use-on-mice/>).

- b. Uniquement pour les musaraignes *Crocidura* anesthésiées ou les souris  $\leq 15g$ , appliquez une pression sur le vaisseau près de la hanche sur le fémur. Nettoyez le côté latéral du membre postérieur avec une lingette désinfectante. Localisez la veine saphène latérale et piquez-la rapidement avec une aiguille stérile de 27g. Une goutte de sang se formera instantanément si le vaisseau est pénétré.
  - i. Approchez immédiatement du papier Whatman™ 903, puis un tube de 1,5mL à bouchon rouge, pour recueillir une ou deux gouttes de sang chacune. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiquetez la tache de sang.
  - ii. Assurez l'hémostase en appliquant une pression sur le site pendant 30 secondes à 1 minute à l'aide d'une boule de coton.
- c. Seulement pour les rats (p. ex., *Cricetomys* et *Rattus* spp.), lors de l'écorchage d'un rat plus petit, ou sur un grand rat *Cricetomys* anesthésié, fixez également la base de sa queue entre le pouce et l'index de l'autre main (appuyez les deux doigts contre les deux côtés ; le garrot peut rendre la veine latérale de la queue plus visible puisqu'il s'agit d'une veine superficielle). Nettoyez la moitié proximale de la queue avec une

lingette désinfectante. Insérez une aiguille stérile de 25g dans une seringue de 1mL à un angle peu profond d'environ un tiers de la longueur de la queue et aspirez doucement (**Figure 4.14**).



**Figure 4.14.** Aspirer à partir de la veine caudale latérale chez le rat *Cricetomys*.

- i. Expulsez immédiatement les gouttes de sang pour remplir un cercle du papier Whatman™ 903, puis expulsez  $\leq 100\mu\text{L}$  dans un tube de 1,5mL à bouchon rouge. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiquetez la tache de sang.
1. Assurez l'hémostase en appliquant une pression sur le site pendant 30 secondes à 1 minute à l'aide d'une boule de coton.



En cas d'échec ou si plus de sang est nécessaire, le prélèvement sanguin peut être tenté deux fois de chaque côté, mais il s'arrêtera après le quatrième essai ou avant si l'animal semble fatigué.

**Tableau 4.1.** Codes relatifs à l'âge (J pour les juvéniles et A pour les adultes) et à l'état de reproduction des rongeurs et musaraignes femelles (F) et mâles (M) échantillonnés\*.

Âge F	Statut reproducteur F	Âge M	Statut reproducteur M
J	N (pas reproductrice ; le vagin n'est pas perforé et le poids est $\leq$ limite indiquée à la <b>Section 4.5</b> )	J	AB (testicules abdominaux ; les testicules ne sont pas complètement descendus/visibles et le poids est $\leq$ limite indiquée à la <b>Section 4.5</b> )
A	N (pas reproductrice ; le vagin peut être perforé mais le poids est $>$ limite indiquée à la <b>Section 4.5</b> )	A	AB (les testicules ne sont ni abdominaux ni complètement descendus/visibles mais le poids est $>$ limite indiquée à la <b>Section 4.5</b> )
	E (enceinte ; l'abdomen est enflé et les mamelons sont proéminents)		SC (testicules scrotaux ; les testicules sont descendus et gros et le poids est $>$ limite indiquée à la <b>Section 4.5</b> )
	L (allaitement ; les mamelons sont proéminents et entourés d'une auréole)		

\* Il est difficile de déterminer l'âge et le sexe des musaraignes *Crocidura* à l'aide de caractères externes. Les mâles adultes ne possèdent pas de scrotum et leurs testicules restent dans le corps pendant toute leur vie, tandis que les femelles adultes peuvent être identifiées par la présence de mamelons proéminents dans la région de l'aîne.

8. Utilisez un vernis à ongles non toxique ou un marqueur permanent pour marquer la queue de l'animal avec un tiret afin d'éviter de prélever de nouveaux échantillons au cours de la ou des matinées suivantes de travail sur le terrain.
9. Relâchez l'animal dans son sac en tissu, assurez-vous qu'il a l'air actif et alerte, puis placez une tranche de fruit frais dans son piège et laissez-le entrer avec précaution dans son piège.
  - a. Si ce n'est pas le cas, administrez une solution saline stérile par voie sous-cutanée comme décrit à la **Section 10.1**.
1. Pesez le sac en tissu vide à l'aide de la balance à ressort de 100g. Communiquez l'information au transcritteur et vérifiez avec lui que la collecte des données est terminée.
10. Entre un animal et l'autre, assurez-vous de :
  - a. Nettoyer la station de prélèvement en utilisant de l'éthanol à 70% sur les zones qui ont été en contact avec le corps de l'animal et ses fluides.
  - b. Jeter les débris et les matières fécales du sac en tissu sale dans le sac des déchets biologiques (rouge).
  - c. Placer le sac en tissu sale dans le bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel préparées pour la décontamination des bottes.
  - d. Utiliser de l'éthanol à 70 % pour essuyer les ciseaux utilisés pour couper la tige des écouvillons.
11. À la fin du processus d'échantillonnage, assurez-vous de :
  - a. Relâcher les animaux à leur point de capture (ou le plus près possible pour éviter les conflits entre les humains et la faune).
  - b. Retirer et jeter le ruban de marquage utilisé dans le sac des déchets biologiques (rouge).
  - c. Décontaminer la station de prélèvement et éliminer l'EPI comme indiqué aux **Sections 8.1 et 8.2**.
  - d. Prendre une photo de la fiche de collecte des données remplie sous forme d'enregistrement numérique.
  - e. Transporter et entreposer les spécimens prélevés comme décrit à la **Section 9.2**.

#### Encadré de conseils

- L'écorchage consiste à saisir le pli cutané où la colonne vertébrale de l'animal rencontre sa tête à l'aide du pouce et de l'index. Une autre technique qui réduit l'obstruction des voies respiratoires utilise le pouce et le majeur, puis remplace le majeur par l'index pour créer un pli transversal (voir aussi <https://norecopa.no/education-training/films-and->

[slide-shows/refined-technique-for-scruffing-animals](#)). Intentionnellement, nous avons divisé nos procédures de manipulation en deux sections afin de limiter la restriction des voies respiratoires supérieures et le stress dû à la manipulation.

- Les mâles juvéniles dont les testicules ne sont pas complètement descendus peuvent être confondus avec les femelles. Cependant, la différenciation peut être obtenue en observant la distance anogénitale (c.-à-d. la distance entre la papille génitale et l'anus) qui est toujours plus grande chez les hommes.
- L'écouvillon buccal doit être inséré doucement sans forcer et en permettant à l'animal de le mâcher pendant 15 secondes.
- L'écouvillon rectal doit être inséré délicatement mais, s'il est difficile à insérer, il doit être évité en raison du risque de prolapsus rectal. Une fois à l'intérieur du rectum, appliquez un mouvement de rotation sur l'écouvillon pendant 15 secondes.
- Le prélèvement sanguin sur des souris à l'aide de la veine sous-maxillaire (faciale) est expliqué plus en détail par la vidéo suivante <https://medipoint.com/for-use-on-mice/>.
- Le prélèvement sanguin chez le rat à l'aide de la veine caudale latérale et de la veine saphène latérale est expliqué plus en détail par les ressources suivantes <https://www.jove.com/pdf/52766/jove-protocol-52766-sampling-blood-from-the-lateral-tail-vein-of-the-rat> et [https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-rat#saphenous-vein-\(non-surgical\)](https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-rat#saphenous-vein-(non-surgical)).
- La quantité totale de sang prélevée sur chaque animal ne doit pas dépasser 0,75% de son poids (p. ex.,  $\leq 200\mu\text{L}$  de sang pour 25g par animal ; une goutte de sang correspond à environ  $50\mu\text{L}$ ).
- De la poudre ou du gel styptique peut être appliqué pour assurer l'hémostase après le prélèvement sanguin, en particulier lorsque la ponction d'une artère se produit.
- Lorsque vous collectez du sang de souris et de musaraignes, évitez d'appuyer la carte ou le tube contre la joue de l'animal afin de minimiser les risques de contamination.

#### 4.5. CLÉS D'IDENTIFICATION DES PETITS MAMMIFÈRES.

Les petits mammifères énumérés dans le présent document (**Figure 4.15**) ont été sélectionnés sur la base de données pilotes recueillies dans le cadre du Fever Project, en plus des données sur les occurrences obtenues à partir de la base de données du système mondial d'information sur la biodiversité ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)). Cette liste limitée est destinée à fournir des conseils au personnel de terrain pour une identification morphologique présumée des rongeurs et des musaraignes capturés plutôt que d'être un guide taxonomique complet des petits mammifères d'Afrique de l'Ouest (consulter *Les Rongeurs de l'Afrique Sahélo-Soudanienne* (Granjon et Duplantier, 2009) pour plus d'informations).

#### 4.5.1. Famille Muridae.

1. *Mus musculus*. Poids : 9-24g (la limite approximative entre les juvéniles et les adultes est de 8 à 10g). Longueur tête-corps : 70-105mm (approximativement égale à la longueur de la queue de 65 à 100mm). *Mus musculus* est le représentant le plus omniprésent d'un genre taxonomique très variable qui comprend également *Mus minutoides* (une différenciation morphologique indicative entre *M. musculus* et *M. minutoides* peut être possible en fonction de leur taille, environ deux fois plus petite pour ce dernier). *Mus musculus* a des oreilles relativement grandes et une fourrure brune à grise avec une délimitation peu claire entre le dessus et le dessous. *Mus musculus* est une espèce presque exclusivement commensale que l'on trouve à l'intérieur.
2. Genre *Mastomys*. Poids : 30-95g (la limite approximative entre les juvéniles et les adultes est de 30 à 32g). Longueur tête-corps : 90-170mm (plus haut que la longueur de la queue de 80 à 150mm). Rongeurs nocturnes à la fourrure courte et douce avec un dessus brun à gris et un dessous beige pâle ou gris, *Mastomys* spp. sont omniprésents dans les savanes, les forêts, les établissements humains et les champs cultivés d'Afrique subsaharienne. Une différenciation morphologique indicative entre *Mastomys natalensis* et *Mastomys erythroleucus* reste ambiguë et une identification génétique peut être nécessaire.
3. *Rattus rattus*. Poids : 55-185g (la limite approximative entre les juvéniles et les adultes est de 54g). Longueur tête-corps : 140-210mm (plus court que la longueur de la queue de 160 à 250mm). Habituellement des rongeurs nocturnes (cependant, ils peuvent devenir diurnes à des densités de population plus élevées) avec de grandes oreilles mobiles, une fourrure grossière et brune à noire avec une délimitation claire entre le dessus et le dessous. *Rattus rattus* est une espèce non indigène du continent africain, adaptée à la commensalité, mais que l'on trouve de plus en plus en dehors des établissements humains.

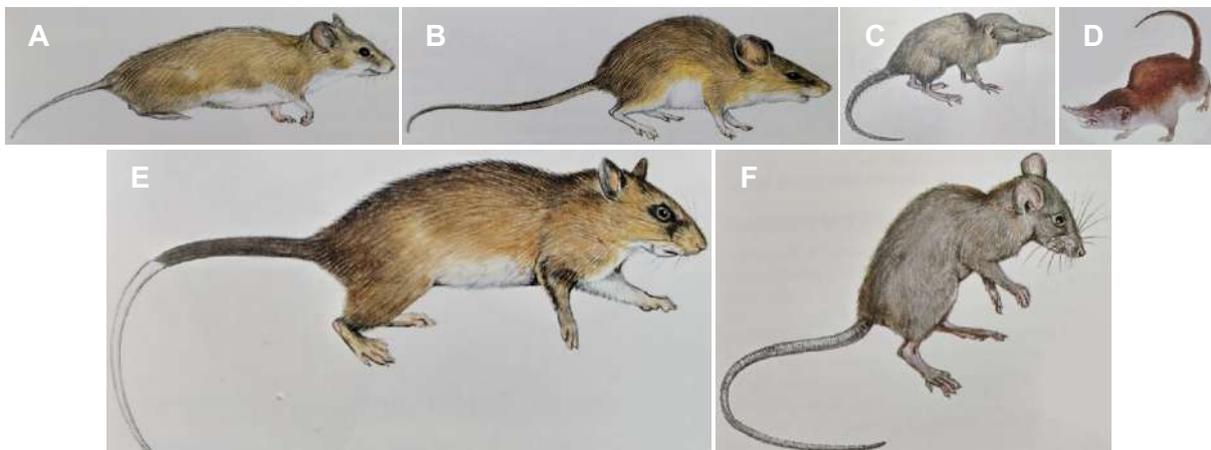
#### 4.5.2. Famille Nesomyidae.

*Cricetomys gambianus*. Poids : 500 à 1500g (la limite approximative entre les juvéniles et les adultes est de 520g). Longueur tête-corps : 280-400mm (approximativement égale à la longueur de la queue de 280 à 410mm). Gros rongeurs strictement nocturnes avec une fourrure blanche sur la moitié terminale de la queue, une fourrure grossière avec un dessus gris ou brun et un dessous blanc ou beige. Les *C. gambianus* sont souvent commensales, que l'on trouve dans les villages et près des maisons. Une différenciation morphologique indicative entre *C. gambianus* et *Cricetomys emini/Cricetomys kivuensis* peut être possible en fonction de leur lieu de piégeage (*C. emini/C. kivuensis* n'est peut-être distribué que dans la

région de Nzérékoré en Guinée) et de leur pelage (*C. emini*/*C. kivuensis* ont une fourrure brun foncé distincte avec un abdomen blanc à gris).

#### 4.5.3. Family Soricidae.

Genre *Crocidura*. Poids : 11-40g. Longueur tête-corps : 60-130mm (plus haut que la longueur de la queue de 50 à 90mm). Les musaraignes du genre *Crocidura* sont le groupe de musaraignes le plus commun et le plus diversifié du continent africain. Les *Crocidura* spp. se caractérisent par un long nez et de petits yeux, une fourrure de couleur variable avec des poils sur la queue. Ce sont des espèces nocturnes, plus actives à l'aube, et présentes dans un large éventail d'habitats.



**Figure 4.15.** Illustrations de *Mus minutoides* (A), *Mastomys natalensis* (B), *Crocidura flavescens* (C), *Crocidura somalica* (D), *Rattus rattus* (E), et *Cricetomys gambianus* (F) (modifié à partir de *The Kingdon Field Guide to African Mammals* (Kingdon, 2015)).

## 5. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE AVIAIRE.

Dans ce chapitre, nous décrivons les méthodologies appliquées dans le cadre du Fever Project pour manipuler et échantillonner les espèces aviaires domestiques (c.-à-d. les poulets et les canards). Nous n'avons délibérément pas inclus de procédures pour marquer les volailles échantillonnées, car chaque individu peut être rééchantillonné à la fois pendant la saison sèche et la saison des pluies. Avant de commencer les activités d'échantillonnage, il faut obtenir le consentement éclairé des propriétaires d'animaux (voir l'**Annexe B**). Il est important de préciser aux dirigeants communautaires que la lecture et la signature des formulaires de consentement du propriétaire de l'animal sont requises avant l'échantillonnage et que le propriétaire de l'animal doit être présent pour donner ce consentement. En cas de réponse négative de la part du propriétaire de l'animal, les activités d'échantillonnage sur la volaille ne pourront pas avoir lieu pour ce site spécifique. Les propriétaires d'animaux sont également invités à remplir un questionnaire sur les antécédents médicaux des animaux après avoir donné leur consentement éclairé à cet effet.

### 5.1. PROTOCOLE DE MANIPULATION, D'ÉCHANTILLONNAGE ET DE COLLECTE DES DONNÉES.

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 2                              | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier     | <input type="checkbox"/> Pointes de pipette           |
| <input type="checkbox"/> Ciseaux                             | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données  | <input type="checkbox"/> Pipette 100-1,000µL          |
| <input type="checkbox"/> DNA/RNA Shield™                     | <input type="checkbox"/> Crayon                     | <input type="checkbox"/> Lingettes désinfectantes     |
| <input type="checkbox"/> Aiguilles 25g                       | <input type="checkbox"/> Marqueur pour tubes        | <input type="checkbox"/> Écouvillons de grande taille |
| <input type="checkbox"/> Seringue 3mL                        | <input type="checkbox"/> Seringues 1mL              | <input type="checkbox"/> Tubes 1.5mL                  |
| <input type="checkbox"/> Pinces pour l'enlèvement des tiques | <input type="checkbox"/> Smartphone/appareil photo  |   |
| <input type="checkbox"/> Whatman™ 903 papiers filtres        | <input type="checkbox"/> Autocollants tubes colorés |   |
| <input type="checkbox"/> Solution saline stérile             |   |   |

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT II. Les activités de manipulation et d'échantillonnage sont effectuées sur un seul animal à la fois.

1. Placez les différents autocollants de tube (c.-à-d. bleu, brun, rouge et vert) sur les tubes de 1,5mL et pipetez 500µL de Zymo DNA/RNA Shield™ dans chacun d'eux (**Annexe C**).
2. Pour retenir l'oiseau lors du transport, tenez les deux ailes à l'extrémité proximale de l'humérus dans une main. L'index sépare chaque humérus pour prévenir les blessures squelettiques (**Figure 5.1**).

3. Pour retenir l'oiseau à des fins d'échantillonnage, le manipulateur peut appliquer :

a. Prise à deux mains avec les mains placées de chaque côté de l'oiseau pour maintenir ses ailes entre le corps de l'oiseau et les paumes du manieur. L'oiseau est ensuite couché sur le côté sur la table (c.-à-d. avec son côté gauche vers le bas et son côté droit vers le haut) avec les pouces du manieur sur la poitrine de l'animal près du sternum. Le manieur peut utiliser le bras gauche pour rentrer le corps de l'oiseau sous celui-ci tout en fixant les pattes avec l'autre main (**Figure 5.2**).

b. Contention libre dans les airs en tenant les deux ailes ensemble derrière le corps. Un doigt est fixé entre les ailes afin que les os ne reposent pas l'un sur l'autre. Le personnel expérimenté peut trouver que ce type de contention permet des procédures d'échantillonnage plus rapides (**Figure 5.3**).

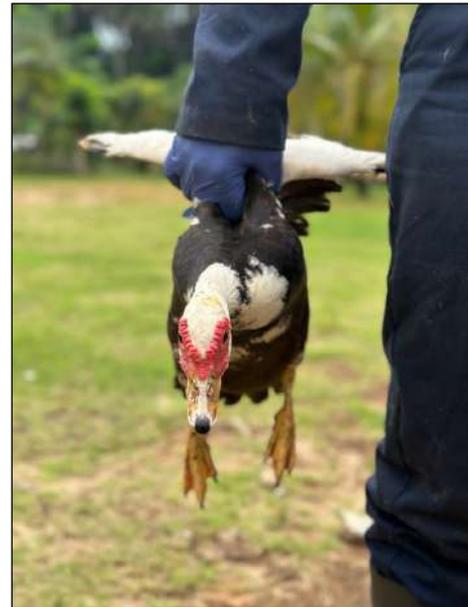
c. Une serviette propre et sèche pour envelopper le corps de l'oiseau est une forme alternative et efficace de contention. De plus, un tissu respirant peut être placé sur sa tête pour le garder calme. Cependant, ce type de contention limite l'accès à la veine jugulaire uniquement à des fins de prélèvement sanguin.

4. Pendant qu'un membre du personnel immobilise l'animal, notez les informations suivantes sur la fiche de collecte des données :

a. Initiales du transcripteur, date, espèce et numéro d'identification de l'animal.

b. Le sexe, l'état reproductif et l'âge (si vous n'êtes pas certain de l'âge ou du sexe, incluez « ? » dans le dossier et essayez d'expliquer l'incertitude dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données).

c. Inspection visuelle pour détecter les signes d'écoulement nasal, de diarrhée et la présence et le nombre d'ectoparasites (c.-à-d. tiques, acariens, puces et/ou poux). S'il



**Figure 5.1.** Un canard domestique retenu par une cale à ailes lors du transport jusqu'à la station de prélèvement.



**Figure 5.2.** Un canard domestique maintenu latéralement sur la table pour recueillir le sang de la veine jugulaire.

y en a, retirez-en un numéro précis à l'aide d'une pince et placez-les dans un tube de 1,5mL à couvercle vert. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.



**Figure 5.3.** Un canard domestique retenu librement dans les airs pour recueillir le sang des veines brachiales (A) et jugulaires (B).

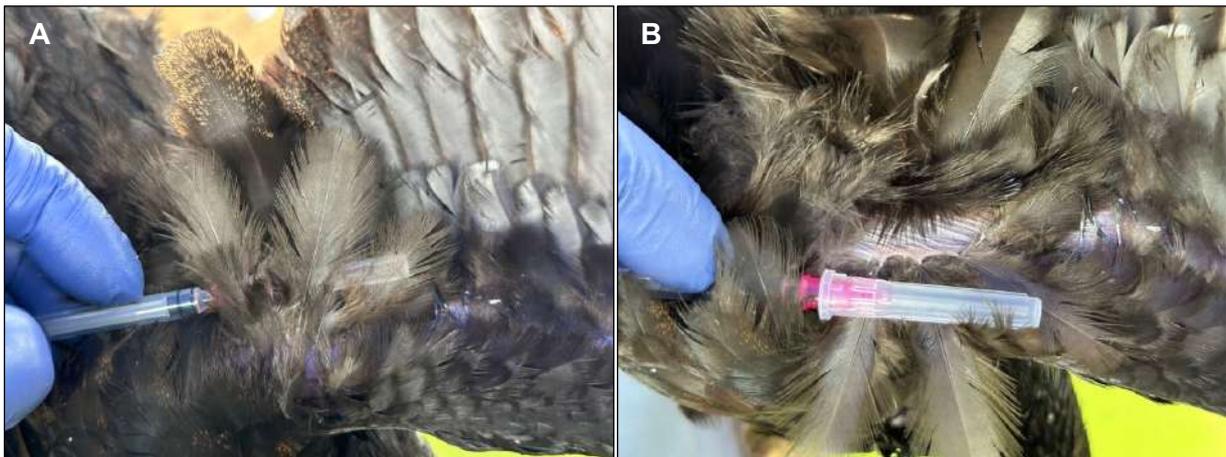
5. Tout en immobilisant l'animal, prélevez les échantillons suivants :

- a. Un écouvillon buccal en insérant un gros écouvillon stérile à pointe de polyester dans la choane (**Figure 5.4**). Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube bleu de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
- b. Un écouvillon cloacal en insérant un gros écouvillon stérile à pointe de polyester dans le cloaque (**Figure 5.4**). Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube brun de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.



**Figure 5.4.** Écouvillonnage de la choane (A) et du cloaque (B).

6. Ensuite, prélevez des échantillons de sang dans la veine brachiale ou jugulaire :
  - a. Exposez la surface ventrale de l'aile gauche ou droite en tirant doucement une aile sous la paume de la main du manieur et en l'étendant. Localisez la veine brachiale dorsalement par rapport à l'articulation du coude (elle est située sous trois petites plumes chez les poulets (**Figure 5.5**)). Appuyez sur la veine avec le pouce de façon proximal (c.-à-d. vers l'épaule) pour l'engorger et, par conséquent, la rendre plus visible. Nettoyez la surface en pulvérisant de l'éthanol à 70%. Insérez une aiguille stérile de 25g dans une seringue de 1mL à un angle peu profond et aspirez doucement (**Figure 5.6**).



**Figure 5.5.** Localiser les trois plumes sur le côté médial de l'aile d'un poulet pour exposer la veine brachiale.

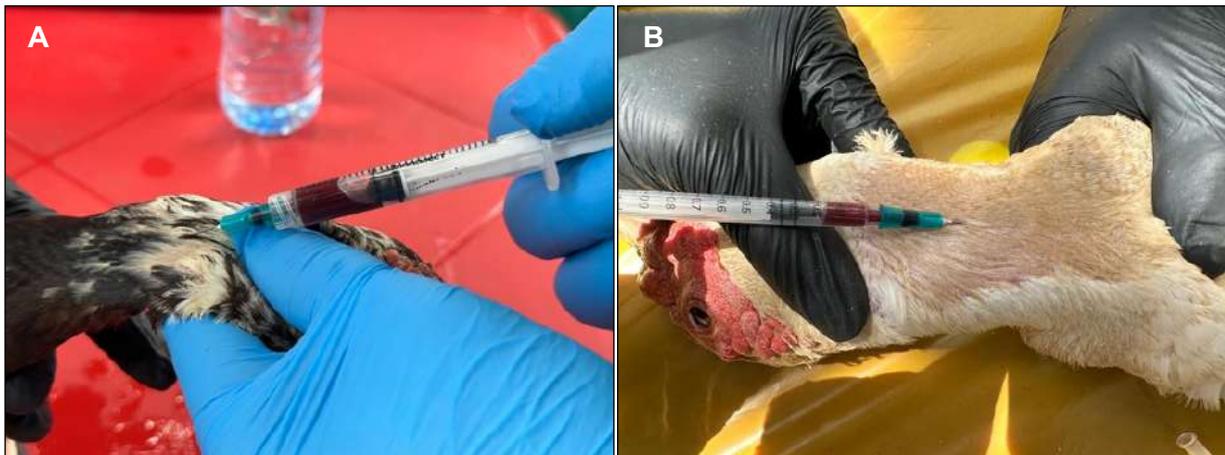


**Figure 5.6.** Prélèvement sanguin dans la veine brachiale d'une volaille sans plier l'aiguille (A) et en le faisant (B).

- b. Localisez la veine jugulaire qui se trouve longitudinalement sur le côté droit du cou, entre la trachée et les vertèbres cervicales (elle peut facilement être exposée car elle se trouve dans une zone sans plumes du cou du poulet). Appuyez sur la veine avec le pouce distalement (c.-à-d. à la base du cou) pour l'engorger et, par conséquent, la rendre plus visible. Tout en maintenant une pression sur la veine, surélevez légèrement

le cou pour stabiliser la veine jugulaire. Nettoyez la surface en pulvérisant de l'éthanol à 70%. Insérez une aiguille stérile de 25g dans une seringue de 1mL à un angle peu profond et aspirez doucement (**Figure 5.7**).

- i. Expulsez immédiatement les gouttes de sang pour remplir un cercle du papier Whatman™ 903, puis expulsez  $\leq 100\mu\text{L}$  dans un tube de 1,5mL à bouchon rouge. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiqueter la tache de sang.
- ii. Assurez l'hémostase en appliquant une pression sur le site pendant 30 secondes à 1 minute à l'aide d'une boule de coton.



**Figure 5.7.** Prélèvement sanguin dans la veine jugulaire des canards domestiques.



En cas d'échec, le prélèvement sanguin peut être réessayé (deux fois sur chaque aile), mais il s'arrêtera après le quatrième essai ou avant si l'animal semble fatigué.

7. Vérifiez auprès du transcripteur que la collecte de données est terminée, puis tenez soigneusement l'oiseau jusqu'à ce que ses pattes touchent le sol et relâchez-le en veillant à ce qu'il ait l'air actif et alerte.
  - a. Si c'est le cas, administrer 20 à 40mL de solution saline stérile par voie sous-cutanée comme décrit à la **Section 10.1**.
8. Entre deux animaux, assurez-vous de nettoyer la station de prélèvement en utilisant de l'éthanol à 70% sur les zones qui ont été en contact avec le corps de l'animal et ses fluides. Utilisez également de l'éthanol à 70% pour essuyer les ciseaux utilisés pour couper la tige des écouvillons.
9. À la fin du processus d'échantillonnage, assurez-vous de :
  - a. Décontaminer la station de prélèvement et éliminer l'EPI comme indiqué aux **Sections 8.1 et 8.2**.

- b. Prendre une photo de la fiche de collecte des données remplie sous forme d'enregistrement numérique.
- c. Transporter et entreposer les spécimens prélevés de la manière décrite à la **Section 9.2.**

### Encadré de conseils

- Six semaines après leur naissance, les volailles sont complètement adultes et les individus sont classés comme adultes. Demandez des éclaircissements au propriétaire de l'animal en cas de doute.
- Pour manipuler l'oiseau en toute sécurité, un membre du personnel se consacre au contrôle de la tête, des ailes et des pattes de l'oiseau. Chez les poulets, en particulier les coqs, utilisez la main droite pour retenir solidement leurs serres, car leurs éperons peuvent causer de graves blessures.
- Les écouvillons buccaux et cloacaux doivent être insérés doucement sans forcer car ils sont peu profonds. Une fois à l'intérieur de la choane ou du cloaque, appliquez un mouvement de rotation sur l'écouvillon pendant 15 secondes.
- Évitez d'appliquer l'écouvillon buccal sur la lumière de la glotte et de la trachée ; cette procédure peut faciliter par inadvertance la contamination des voies respiratoires par des agents pathogènes.
- Le prélèvement sanguin dans la veine brachiale peut être facilité en pliant légèrement l'aiguille de la seringue à l'aide de son capuchon (**Figure 5.8**). Des précautions doivent être prises lors de la collecte de sang de ce vaisseau car il a tendance à former des hématomes ; par conséquent, il est préférable d'appliquer une pression sur la zone avec l'aile près du corps de l'animal pour assurer l'hémostase.
- La veine jugulaire est plus superficielle et mobile chez les poulets que chez les canards. Par conséquent, il peut être plus difficile de faire l'hémostase lors de la collecte de sang.
- La quantité totale de sang prélevé sur chaque oiseau ne doit pas dépasser 0,5% de son poids (p. ex.,  $\leq 500\mu\text{L}$  de sang pour 100g par animal).



**Figure 5.8.** Détail du prélèvement sanguin de la veine brachiale d'un poulet à l'aide d'une aiguille tordue.

- D'autres méthodes de capture et de manipulation des oiseaux domestiques et sauvages sont détaillées par Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2007).

## 6. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE DES RUMINANTS DOMESTIQUES.

Dans ce chapitre, nous décrivons les méthodologies appliquées dans le cadre du Fever Project pour manipuler et échantillonner les ruminants domestiques (c.-à-d. les bovins, les chèvres et les moutons). Nous n'avons délibérément pas inclus de procédures pour marquer les ruminants échantillonnés, car chaque individu peut être rééchantillonné à la fois pendant la saison sèche et la saison des pluies. Avant de commencer les activités d'échantillonnage, il faut obtenir le consentement éclairé des propriétaires d'animaux (voir l'**Annexe B**). Il est important de préciser aux dirigeants communautaires que la lecture et la signature des formulaires de consentement du propriétaire de l'animal sont requises avant l'échantillonnage et que le propriétaire de l'animal doit être présent pour donner ce consentement. En cas de réponse négative de la part du propriétaire de l'animal, les activités d'échantillonnage sur les ruminants domestiques ne pourront pas avoir lieu pour ce site spécifique. Les propriétaires d'animaux sont également invités à remplir un questionnaire sur les antécédents médicaux des animaux après avoir donné leur consentement éclairé à cet effet.

### 6.1. PROTOCOLE DE MANIPULATION, D'ÉCHANTILLONNAGE ET DE COLLECTE DES DONNÉES.

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 2                              | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier     | <input type="checkbox"/> Pointes de pipette           |
| <input type="checkbox"/> Ciseaux                             | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données  | <input type="checkbox"/> Pipette 100-1,000µL          |
| <input type="checkbox"/> DNA/RNA Shield™                     | <input type="checkbox"/> Crayon                     | <input type="checkbox"/> Lingettes désinfectantes     |
| <input type="checkbox"/> Aiguilles 21g                       | <input type="checkbox"/> Marqueur pour tubes        | <input type="checkbox"/> Écouvillons de grande taille |
| <input type="checkbox"/> Seringues 1mL                       | <input type="checkbox"/> Tubes 1.5mL                | <input type="checkbox"/> Smartphone/appareil photo    |
| <input type="checkbox"/> Pinces pour l'enlèvement des tiques | <input type="checkbox"/> Autocollants tubes colorés |   |
| <input type="checkbox"/> Whatman™ 903 papiers filtres        |   |   |

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT II. Les activités de manipulation et d'échantillonnage sont effectuées sur un seul animal à la fois.

1. Placez les différents autocollants de tube (c.-à-d. bleu, brun, rouge et vert) sur les tubes de 1,5mL et pipetez 500µL de Zymo DNA/RNA Shield™ dans chacun d'eux (**Annexe C**).
2. Techniques de contention pour petits et grands ruminants :
  - a. Les petits ruminants peuvent être enjambés, fermement mais doucement, en plaçant les genoux du manieur immédiatement derrière les épaules de l'animal (**Figure 6.1**) :
    - i. Pendant que le corps est attaché, retenez également la tête en saisissant les cornes ou la mâchoire de l'animal.

- ii. Adossez le petit ruminant contre une clôture ou un mur ou dans un coin pour l'aider à contrôler son arrière-train.
- b. Les bovins peuvent être temporairement attachés à un point d'ancrage (p. ex., un tronc d'arbre) à l'aide d'un harnais de corde autour de leurs cornes (**Figure 6.2**) :
- i. Pendant que la tête est attachée et que l'animal est debout, deux membres du personnel se positionnent de part et d'autre de l'animal à la hauteur de la cuisse.
  - ii. Alternativement, pendant que la tête est retenue, retenez également l'arrière-train en l'entravant à la hauteur du métatarse/articulations phalangiennes, puis allongez l'animal au sol en décubitus latéral.



**Figure 6.1.** Contention des petits ruminants avant les procédures d'échantillonnage.



**Figure 6.2.** Immobilisation des bovins avant les procédures d'échantillonnage.

3. Notez les informations suivantes sur la fiche de collecte des données :
- a. Initiales du transcripteur, date, espèce et numéro d'identification de l'animal.
  - b. Le sexe, l'état reproductif et l'âge (voir les **Tableaux 6.1 et 6.2** ; en cas de doute quant à l'âge, demandez des éclaircissements au propriétaire de l'animal, sinon incluez « ? » dans le dossier et essayez d'expliquer l'incertitude dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données).

- c. Inspection visuelle pour détecter les signes d'écoulement nasal, de diarrhée et la présence et le nombre d'ectoparasites (c.-à-d. tiques, puces et/ou poux). S'il y en a (**Figure 6.3**), retirez-en un numéro précis à l'aide d'une pince et placez-les dans un tube vert de 1,5mL. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.

**Tableau 6.1.** Guide pour estimer l'âge des petits ruminants en fonction de leurs incisives à feuilles caduques ou permanentes.

Dents	Âge des dents de lait	Âge des dents permanentes
1ère paire d'incisives	≤1 semaine	~15 mois
2ème paire d'incisives	≤2 semaines	~22 mois
3ème paire d'incisives	≤1 mois	~32 mois
4ème paire d'incisives	≤2 mois	~40 mois

**Tableau 6.2.** Guide pour estimer l'âge des bovins en fonction de leurs incisives à feuilles caduques ou permanentes.

Dents	Âge des dents de lait	Âge des dents permanentes
1ère paire d'incisives	≤2 semaines	~21 mois
2ème paire d'incisives	≤2 semaines	~27 mois
3ème paire d'incisives	≤2 semaines	~36 mois
4ème paire d'incisives	≤2 semaines	~45 mois

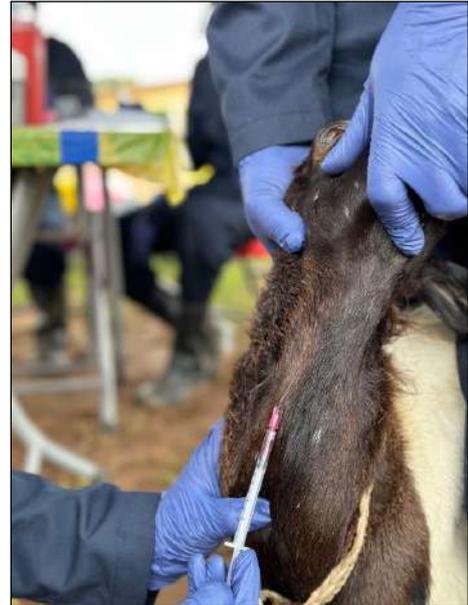
4. Tout en immobilisant l'animal, prélevez les échantillons suivants :

- a. Un écouvillon buccal à l'aide d'un gros écouvillon stérile à pointe en polyester. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube bleu de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
- b. Un écouvillon rectal à l'aide d'un deuxième grand écouvillon stérile à pointe en polyester. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube brun de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.



**Figure 6.3.** Les tiques (surlignées par des flèches rouges) ont tendance à se rassembler près de l'anus et des organes génitaux externes des ruminants.

5. Ensuite, prélevez des échantillons de sang :
- a. Pour les petits ruminants, tout en retenant le corps de l'animal, tenez sa mâchoire pour tourner légèrement sa tête d'un côté ou de l'autre à un angle de 30° pour accéder à la veine jugulaire du côté opposé de la torsion (c.-à-d. recueillir le sang de la veine jugulaire gauche lorsque la tête est tordue vers la droite et vice versa). Ensuite, localisez la veine jugulaire qui se trouve longitudinalement dans le sillon de chaque côté de la trachée. Appuyez distalement sur la veine avec le pouce pour l'engorger et, par conséquent, la rendre plus visible. Nettoyez la surface en pulvérisant de l'éthanol à 70%. Insérez une aiguille stérile de 21g dans une seringue de 1mL à un angle peu profond et aspirez doucement (**Figure 6.4**).



**Figure 6.4.** Prélèvement sanguin dans la veine jugulaire des petits ruminants.

- b. Pour les bovins, tout en se tenant derrière l'animal, utilisez la main non dominante pour tenir la queue à environ un tiers de sa longueur à partir de la base et soulevez-la pour exposer sa face ventrale. Ensuite, localisez la veine coccygienne (queue) qui se trouve longitudinalement dans le sillon de la ligne médiane sur la face ventrale de la queue (à environ 10cm de la base de la queue). Nettoyez la surface en pulvérisant de l'éthanol à 70%. Insérez une aiguille stérile de 21g dans une seringue de 1mL à mi-chemin le long du corps d'une vertèbre coccygienne et à un angle de 90° (c.-à-d. perpendiculairement) à une profondeur d'environ la moitié de la longueur de l'aiguille et aspirez doucement (**Figure 6.5**).



**Figure 6.5.** Prélèvement sanguin dans la veine coccygienne (queue) des bovins.

- i. Expulsez immédiatement les gouttes de sang pour remplir un cercle du papier Whatman™ 903, puis expulsez  $\leq 100\mu\text{L}$  dans un tube de 1,5mL à bouchon rouge. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiqueter la tache de sang.
- ii. Assurez l'hémostase en appliquant une pression sur le site pendant 30 secondes à 1 minute à l'aide d'une boule de coton.

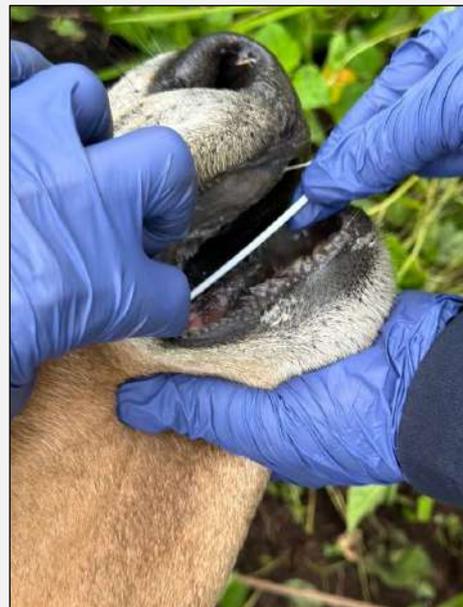


En cas d'échec, le prélèvement sanguin peut être réessayé, mais il s'arrêtera après le quatrième essai ou avant si l'animal semble fatigué.

6. Vérifiez auprès du transcripteur que la collecte de données est terminée, puis relâchez l'animal en veillant à ce qu'il paraisse actif et alerte.
7. D'un animal à l'autre, utilisez de l'éthanol à 70% pour essuyer les ciseaux utilisés pour couper la tige des écouvillons.
8. À la fin du processus d'échantillonnage, assurez-vous de :
  - a. Décontaminer la station de prélèvement et éliminer l'EPI comme indiqué aux **Sections 8.1 et 8.2**.
  - b. Prendre une photo de la fiche de collecte des données remplie sous forme d'enregistrement numérique.
  - c. Transporter et entreposer les spécimens prélevés comme décrite à la **Section 9.2**.

#### Encadré de conseils

- L'attache des bovins ne convient pas à un confinement à long terme et ne doit être effectuée que sur un terrain approprié (c.-à-d. un endroit plat et ombragé qui n'a pas d'obstacles). La corde doit être tenue, et non attachée, une fois qu'elle a été passée autour du point d'ancrage pour permettre le lâcher rapide de l'animal si nécessaire.
- Cisaillez le site où le sang sera prélevé avant la désinfection afin de minimiser le risque de contamination de l'aiguille lors du prélèvement.
- Pour ouvrir la bouche des ruminants domestiques afin d'écouvillonner leur cavité buccale, insérez le pouce et l'index des deux côtés de la bouche (c.-à-d. les commissures). Cette manœuvre peut être exécutée d'un seul côté de la bouche chez les bovins à l'aide de deux doigts (**Figure 6.6**).
- Les écouvillons buccaux et rectaux doivent être insérés doucement. Une fois à l'intérieur de la bouche ou du rectum, appliquez un mouvement de rotation sur l'écouvillon pendant 15 secondes.
- D'autres méthodologies sur la manipulation du bétail sont détaillées par le PREDICT Consortium (2019).



**Figure 6.6.** Ouverture de la cavité buccale des bovins pour l'écouvillonnage.

## 7. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE DES CHIENS DOMESTIQUES.

Dans le présent document, nous décrivons les méthodologies appliquées dans le cadre du Fever Project pour manipuler et échantillonner les chiens domestiques. Nous n'avons délibérément pas inclus de procédures pour marquer les chiens échantillonnés, car chaque individu peut être rééchantillonné à la fois pendant la saison sèche et pendant la saison des pluies par hasard (cependant, des individus spécifiques ne seront pas recherchés pour un rééchantillonnage). Après avoir obtenu le consentement du propriétaire ou du gardien du chien (voir l'**Annexe B**), seuls les chiens dociles en ayant un propriétaire seront échantillonnés par le personnel du Fever Project. Par conséquent, nous n'avons inclus aucune technique de contention physique ou d'immobilisation chimique des chiens en liberté et plus agressifs. En ce qui concerne l'échantillonnage d'autres animaux domestiques, préciser aux dirigeants communautaires que la lecture et la signature des formulaires de consentement du propriétaire de l'animal sont nécessaires avant l'échantillonnage et que le propriétaire de l'animal doit être présent pour donner ce consentement. En cas de réponse négative de la part du propriétaire de l'animal, les activités d'échantillonnage sur les chiens domestiques ne pourront pas avoir lieu pour ce site spécifique. Les propriétaires d'animaux sont également invités à remplir un questionnaire sur les antécédents médicaux des animaux après avoir donné leur consentement éclairé à cet effet.

### 7.1. PROTOCOLE DE MANIPULATION, D'ÉCHANTILLONNAGE ET DE COLLECTE DES DONNÉES.

- |  |  |   |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> FBSL 2                              | <input type="checkbox"/> Presse-papiers/Dossier    | <input type="checkbox"/> Pointes de pipette           |
| <input type="checkbox"/> Ciseaux                             | <input type="checkbox"/> Fiche de collecte données | <input type="checkbox"/> Pipette 100-1,000µL          |
| <input type="checkbox"/> DNA/RNA Shield™                     | <input type="checkbox"/> Crayon                    | <input type="checkbox"/> Lingettes désinfectantes     |
| <input type="checkbox"/> Aiguilles 25g                       | <input type="checkbox"/> Marqueur pour tubes       | <input type="checkbox"/> Écouvillons de grande taille |
| <input type="checkbox"/> Seringues 1mL                       | <input type="checkbox"/> Tubes 1.5mL               | <input type="checkbox"/> Smartphone/appareil photo    |
| <input type="checkbox"/> Pinces pour l'enlèvement des tiques |  | <input type="checkbox"/> Autocollants tubes colorés   |
| <input type="checkbox"/> Whatman™ 903 papiers filtres        |  | <input type="checkbox"/> Muselière                    |

Le personnel exécutant directement le protocole applique l'EPI CAT II. Les activités de manipulation et d'échantillonnage sont effectuées sur un seul animal à la fois.

1. Placez les différents autocollants de tube (c.-à-d. bleu, brun, rouge et vert) sur les tubes de 1,5mL et pipetez 500µL de Zymo DNA/RNA Shield™ dans chacun d'eux (**Annexe C**).

2. Mettez doucement une muselière sur le chien et retenez-le en l'allongeant sur un côté (**Figure 7.1**) :

- a. Deux membres du personnel se positionnent de part et d'autre du chien. Une personne sécurise le corps de l'animal en plaçant ses deux mains sur le thorax et le ventre.
- b. La deuxième personne tient les membres du chien (c.-à-d. ceux qui se trouvent directement devant l'autre membre du personnel), les deux mains à la hauteur des articulations carpe/métacarpe et tarse/métatarse, en les tirant vers elle.
- c. La première personne suit la manœuvre en couchant doucement le chien sur le côté, en utilisant les deux avant-bras pour maintenir l'animal au sol et les mains pour tenir ses membres (c.-à-d. ceux qui sont directement en contact avec le sol ou la table) afin d'empêcher le chien de se lever.



**Figure 7.1.** Immobilisation d'un chien domestique pour l'échantillonnage.

3. Pendant qu'un membre du personnel immobilise l'animal, notez les renseignements suivants sur la fiche de collecte des données :

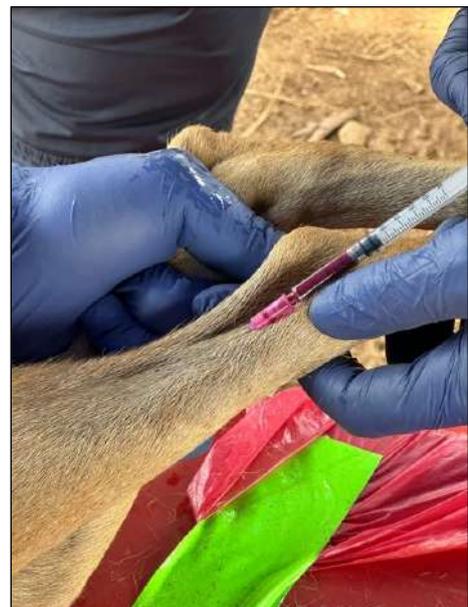
- a. Initiales du transcripteur, date, espèce et numéro d'identification de l'animal.
- b. Indiquez le sexe, l'état reproductif et l'âge (voir le **Tableau 7.1** ; si vous n'êtes pas certain de l'âge, demandez des éclaircissements au propriétaire de l'animal, sinon incluez « ? » dans le dossier et essayez d'expliquer l'incertitude dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données).
- c. Inspection visuelle pour détecter les signes d'écoulement nasal, de diarrhée et la présence et le nombre d'ectoparasites (c.-à-d. tiques, puces et/ou poux). S'il y en a, retirez-en un numéro précis à l'aide d'une pince et placez-les dans un tube de 1,5mL à couvercle vert. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.

**Tableau 7.1.** Guide pour estimer l'âge des chiens domestiques en fonction de leurs dents de lait/permanentes.

Dents	Âge des dents de lait	Âge des dents permanentes
Canines	≤4 semaines	~5.5 mois
Incisives	≤6 semaines	~3.5 mois
Prémolaires	≤6 semaines	~5 mois
Molaires	≤8 semaines	~6.5 mois

4. Tout en immobilisant l'animal, prélevez les échantillons suivants :

- a. Un écouvillon buccal à l'aide d'un gros écouvillon stérile à pointe en polyester. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube bleu de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
  - b. Un écouvillon rectal à l'aide d'un deuxième grand écouvillon stérile à pointe en polyester. Ensuite, placez l'embout de l'écouvillon dans un tube brun de 1,5mL et coupez la tige de l'écouvillon à l'aide de ciseaux essuyés avec de l'éthanol à 70%. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté.
5. Ensuite, prélevez des échantillons de sang :
- a. Localisez la veine saphène latérale qui traverse la surface latérale du membre postérieur inférieur (c.-à-d. de la face crânienne du tarse à la face caudale du grasset). Appuyez distalement sur la veine avec le pouce pour l'engorger et, par conséquent, la rendre plus visible. Nettoyez la surface en pulvérisant de l'éthanol à 70%. Insérez une aiguille stérile de 25g dans une seringue de 1mL à un angle peu profond et aspirez doucement (**Figure 7.2**).
  - b. Expulsez immédiatement les gouttes de sang pour remplir un cercle du papier Whatman™ 903, puis expulsez  $\leq 100\mu\text{L}$  dans un tube de 1,5mL à bouchon rouge. Étiquetez le tube à la fois sur le dessus et sur le côté. Étiqueter la tache de sang.
  - c. Assurez l'hémostase en appliquant une pression sur le site pendant 30 secondes à 1 minute à l'aide d'une boule de coton.



**Figure 7.2.** Détail du prélèvement sanguin de la veine saphène latérale d'un chien domestique.



En cas d'échec, le prélèvement sanguin peut être tenté deux fois de chaque côté, mais il s'arrêtera après le quatrième essai ou avant si l'animal semble fatigué.

6. Vérifiez auprès du transcritteur que la collecte de données est terminée, puis relâchez l'animal en veillant à ce qu'il paraisse actif et alerte.
7. D'un animal à l'autre, utilisez de l'éthanol à 70% pour essuyer les ciseaux utilisés pour couper la tige des écouvillons.
8. À la fin du processus d'échantillonnage, assurez-vous de :

- a. Décontaminer la station de prélèvement et éliminer l'EPI comme indiqué aux **Sections 8.1 et 8.2.**
- b. Prendre une photo de la fiche de collecte des données remplie sous forme d'enregistrement numérique.
- c. Transporter et entreposer les spécimens prélevés de la manière décrite à la **Section 9.2.**

#### **Encadré de conseils**

- Les écouvillons buccaux et rectaux doivent être insérés doucement. Une fois à l'intérieur de la bouche ou du rectum, appliquez un mouvement de rotation sur l'écouvillon pendant 15 secondes.
- La quantité totale de sang prélevé sur chaque chien domestique ne doit pas dépasser 0,6% de son poids (p. ex., ≤6mL de sang pour 1kg par animal).

## **8. DÉCONTAMINATION ET DÉPOLLUTION.**

Une fois que les activités quotidiennes d'échantillonnage des animaux sont terminées sur chaque site d'étude, il est essentiel de décontaminer correctement les fournitures et d'enlever tout l'équipement de protection individuelle afin de prévenir la propagation potentielle de tout agent infectieux et de préserver l'intégrité des fournitures de travail sur le terrain. Avant que l'échantillonnage des animaux ne puisse commencer, les membres du personnel de travail sur le terrain installent la station d'enfilage et retrait comme indiqué à la **Section 2.2**, ce qui permet une décontamination et un retrait rapides et faciles. À des fins de décontamination, les activités d'échantillonnage des animaux dans le cadre du Fever Project ont appliqué de l'hypochlorite de sodium à une concentration de 3% (c.-à-d. de l'eau de Javel). Virkon® à 1% de solution (2% pour la décontamination des pièges Sherman et Tomahawk) est une alternative efficace, sûre et largement utilisée à l'eau de Javel. Les solutions Virkon® présentent les avantages évidents de rester stables jusqu'à sept jours, d'être compatibles avec les métaux et autres matériaux sans être corrosives, et de rester actives lorsqu'elles sont contaminées par du sol et d'autres matières organiques. Néanmoins, la raison derrière notre choix d'utiliser de l'eau de Javel était l'impossibilité de s'approvisionner en Virkon® en Guinée ou dans les pays voisins.

### **8.1. DÉCONTAMINATION DES ÉQUIPEMENTS.**

L'aménagement de la station d'enfilage et retrait, y compris les étapes de retrait dans le cadre des activités de travail sur le terrain du Fever Project, a été conçu en utilisant les connaissances acquises lors des voyages d'échantillonnage précédents : l'état de contamination de chaque article a été pris en compte lors de la planification du flux de dépouillement. Les étapes à suivre pour décontaminer l'équipement et le matériel après la fin des activités de travail sur le terrain dans une certaine localité sont détaillées ci-dessous.

#### **8.1.1. Station de prélèvement et équipement d'anesthésie.**

1. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
2. Assurez-vous que l'équipement d'anesthésie est éteint.
3. Vaporisez de l'éthanol à 70% sur l'équipement d'anesthésie, les tuyaux et les adaptateurs.
4. Vaporisez de l'eau de Javel sur la table, les chaises et l'équipement non métallique (utilisez de l'éthanol à 70% au lieu de l'eau de Javel sur l'équipement métallique (p. ex., le vaporisateur d'isoflurane), car l'eau de Javel érode le matériau avec le temps).
5. Vaporisez à nouveau les articles toutes les 2 à 3 minutes pour maintenir un temps de contact continu de 10 minutes à des fins de décontamination.

6. Retirez l'EPI contaminé comme indiqué dans les étapes de retrait ci-dessous (**Section 8.2**). Ne touchez pas à l'équipement de décontamination lorsque vous portez de l'EPI contaminé.
7. Essuyez les articles décontaminés avec du papier absorbant s'ils sont vaporisés avec de l'eau de Javel ou laissez-les sécher à l'air libre s'ils sont pulvérisés avec de l'éthanol à 70%.
8. Démontez la tubulure d'anesthésie et les adaptateurs, puis versez l'isoflurane restant dans le vaporisateur dans son flacon.
9. Rangez les articles dans les contenants prévus à cet effet.

### **8.1.2. Pièges Sherman et Tomahawk non contaminés par rongeurs.**

1. Suivez ces étapes après la fin de la dernière matinée d'activités de piégeage à un endroit donné et portez EPI CAT II (voir la **Section 2.1**) pendant la décontamination des pièges.
2. Jetez les appâts et les débris dans le sac des déchets biologiques (rouge).
3. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
4. Frottez et lavez chaque piège dans une bassine avec de l'eau et du savon (les pièges Sherman doivent d'abord être démontés).
5. Laissez les pièges sécher à l'air libre.
6. Retirez l'EPI comme indiqué dans les étapes de retrait ci-dessous (**Section 8.2**). Ne touchez pas à l'équipement de décontamination lorsque vous portez EPI contaminé.
7. Remontez chaque piège Sherman avant de l'entreposer dans les contenants prévus à cet effet.

### **8.1.3. Pièges Sherman et Tomahawk contaminés par rongeurs.**

1. Suivez ces étapes après la fin de chaque matinée d'activités de piégeage et portez EPI CAT III (voir la **Section 2.1**) pendant la décontamination des pièges.
2. Jetez les appâts et les débris dans le sac des déchets biologiques (rouge).
3. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
4. Frottez et lavez chaque piège dans une bassine avec de l'eau et du savon (les pièges Sherman doivent d'abord être démontés).
5. Vaporisez les pièges avec de l'éthanol à 70%, puis pulvérisez-les à nouveau toutes les 2 à 3 minutes pour maintenir un temps de contact continu de 10 minutes à des fins de décontamination.
6. Laissez les pièges sécher à l'air libre.
7. Retirez l'EPI comme indiqué dans les étapes de retrait ci-dessous (**Section 8.2**). Ne touchez pas à l'équipement de décontamination lorsque vous portez EPI contaminé.

8. Remontez chaque piège Sherman avant de l'entreposer dans les contenants prévus à cet effet.

#### **8.1.4. Sacs à cordon en tissu utilisés pour manipuler les chauves-souris, les rongeurs et les musaraignes.**

1. Suivez ces étapes après la fin de chaque séance d'activités de piégeage (c.-à-d. la nuit pour les chauves-souris et le matin pour les rongeurs/musaraignes) et portez l'EPI CAT III (voir la **Section 2.1**) pendant la décontamination des sacs en tissu.
2. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
3. Rincez à l'eau tous les sacs en tissu sales contenus dans le bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel pour éliminer tout résidu d'eau de Javel, puis rangez temporairement les sacs humides dans un récipient désigné.
4. Retirez l'EPI comme indiqué dans les étapes de retrait ci-dessous (**Section 8.2**). Ne touchez pas à l'équipement de décontamination lorsque vous portez EPI contaminé.
5. Le lendemain matin, suspendez les sacs humides à l'extérieur pour les faire sécher.

#### **8.1.5. Système de poteaux à triple filet à brume haute et filets japonais pour chauves-souris.**

1. Suivez ces étapes après la fin de chaque nuit d'activités de piégeage et portez EPI CAT III (voir la **Section 2.1**) pendant la décontamination du système de poteaux et des filets de brume.
2. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
3. Retirez les filets japonais du système de poteaux et, pendant qu'ils sont pliés pour être rangés dans leurs sacs désignés, vaporisez-les généreusement avec de l'éthanol à 70% (sinon, immergez-les dans de l'éthanol à 70% si disponible).
4. Attendez 10 minutes avant de verser les 70% d'éthanol restants de chaque sac de rangement.
5. Démontez le système de poteau à triple filet à brume élevée, puis vaporisez-le avec de l'éthanol à 70%.
6. Attendez 10 minutes, mais vaporisez à nouveau le système de poteaux à mi-chemin, puis essuyez-le ou laissez-le sécher à l'air libre.
6. Retirez l'EPI comme indiqué dans les étapes de retrait ci-dessous (**Section 8.2**), mais gardez des gants internes, un respirateur N95 et des vêtements de travail sur le terrain. Ne touchez pas à l'équipement de décontamination lorsque vous portez EPI contaminé.
7. Rangez le système de poteaux dans son sac prévu à cet effet.

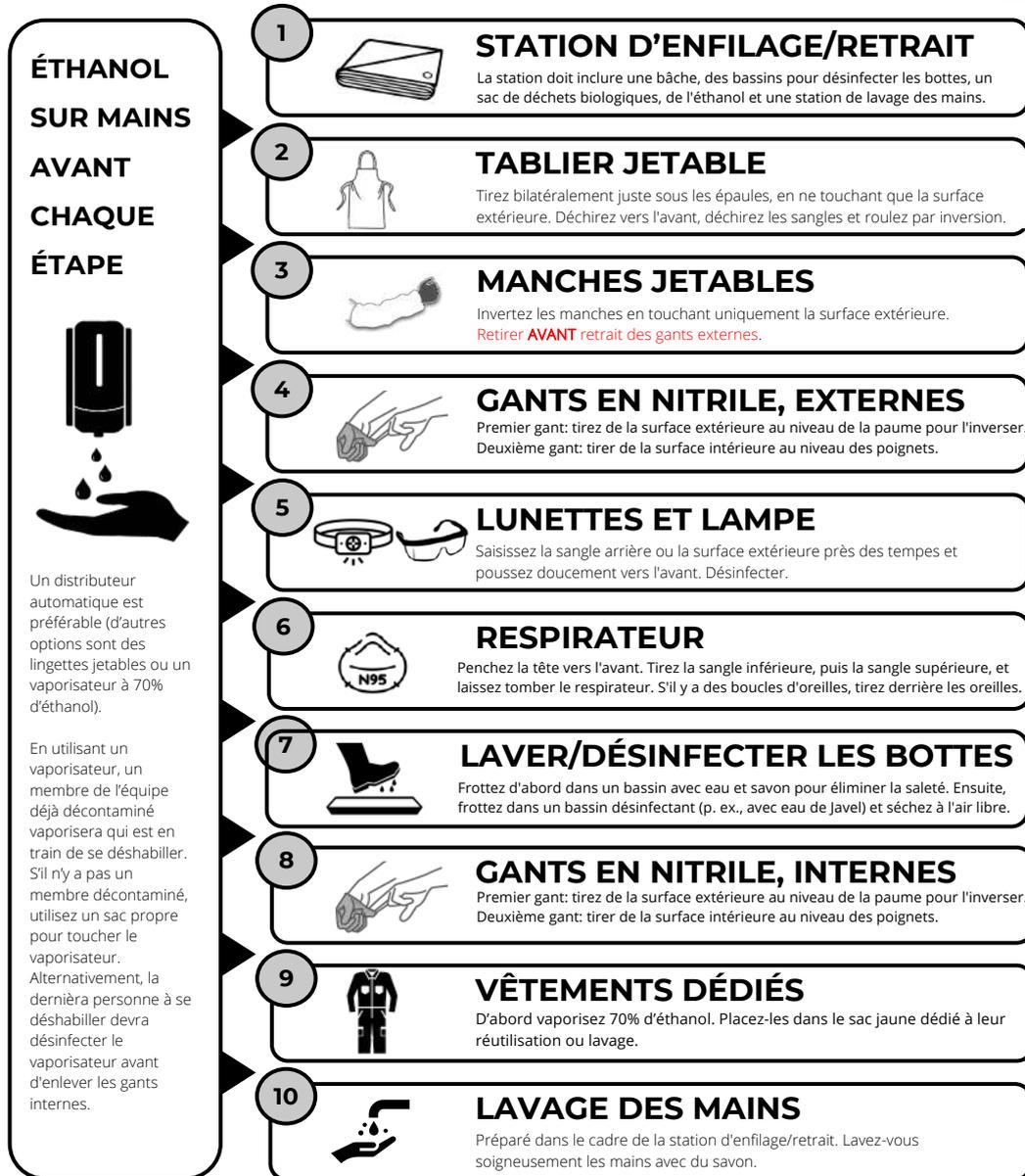
## SÉQUENCE DE RETRAIT EPI CAT II



v2.0 mise à jour 11 sept. 2023

**Figure 8.1.** Guide étape par étape pour le retrait d'EPI CAT II (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

## SÉQUENCE DE RETRAIT EPI CAT III (FBSL 2 et 3)



v2.0 mise à jour 11 sept. 2023

**Figure 8.2.** Guide étape par étape pour le retrait d'EPI CAT III (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

## SÉQUENCE DE RETRAIT

EPI CAT IV (FBSL 3)

Option 1: Combinaison avec couvre-chaussures et capuche



v2.0 mise à jour 11 sept. 2023

**Figure 8.3.** Guide étape par étape pour le retrait d'EPI CAT IV (modifié à partir du *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation)).

## 8.2. SÉQUENCE DE RETRAIT.

Les étapes à suivre pour retirer l'EPI après la fin des activités de travail sur le terrain dans une certaine localité sont détaillées ci-dessous. La séquence de retrait varie en fonction de l'EPI appliquée et un résumé schématique de chaque EPI CAT est illustré à la **Figures 8.1, 8.2 et 8.3**. Après l'enlèvement, chaque article doit être jeté dans le sac des déchets biologiques (rouge), sauf indication contraire.

Lors du retrait des EPI CAT III et CAT IV, un membre de l'équipe de travail sur le terrain doit garder l'EPI : ce dernier membre attachera le sac des déchets biologiques (rouge) une fois que le reste de l'équipe aura terminé la séquence de retrait (il peut également aider le reste de l'équipe à retirer le ruban de marquage qui maintient les gants et les manches ensemble). Ces déchets sont placés dans un deuxième sac des déchets biologiques (rouge) qui sert également à éliminer les EPI portés par le dernier membre mentionné ci-dessus. Pour obtenir de plus amples renseignements sur les procédures d'enlèvement, veuillez consulter le *Field Biosafety Manual* (Valitutto, en préparation).

### 8.2.1. Retrait de l'EPI CAT II.

1. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70% avant de les retirer, puis vaporisez les gants internes avec de l'éthanol à 70% (ne retirez pas les gants si vous ne portez qu'une seule paire).
2. Si vous portez des lunettes de sécurité, retirez-les en touchant uniquement la surface extérieure de leurs côtés près des tempes et en poussant doucement vers l'avant (**Figure 8.4**). Placez les verres dans une petite bassine dédiée pour leur décontamination en les aspergeant d'eau de Javel.
3. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
4. Si vous portez un respirateur, retirez-le en penchant la tête vers l'avant, en tirant d'abord la sangle inférieure sur la tête, puis la sangle supérieure, et enfin en laissant tomber le respirateur vers l'avant (ne touchez pas la peau pour éviter tout contact avec un matériau contaminé) (**Figure 8.5**).
5. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
6. Ouvrez les bras et les jambes pour vaporiser 70% d'éthanol sur les vêtements de travail sur le terrain.



**Figure 8.4.** Retrait des lunettes de sécurité.

7. Frottez les bottes imperméables dans le bassin avec de l'eau et du savon, puis déplacez-vous vers le bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel pour frotter les bottes une deuxième fois.
8. Retirez les bottes imperméables pendant qu'elles sont immergées dans le bassin et marchez sur la bâche.
9. Posez les bottes imperméables de la bâche pour les faire sécher à l'air libre, puis vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70% avant de les retirer.
10. Vaporisez vos mains nues avec de l'éthanol à 70%.
11. Enlevez les vêtements de travail sur le terrain et placez-les dans le sac des déchets biologiques (jaune) pour les vêtements dédiés.
12. Portez vos chaussures personnelles.
13. À la station de lavage des mains, lavez-vous soigneusement les mains avec de l'eau et du savon.



**Figure 8.5.** Retrait du respirateur.

### 8.2.2. Retrait de l'EPI CAT III.

1. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
2. Retirez le tablier jetable en tirant bilatéralement sous les épaules, en ne touchant que la surface extérieure du tablier ; les liens derrière le cou et le dos se briseront (ne tirez pas le tablier sur la tête car ce geste augmente les risques d'inhalation et de contact cutané avec du matériel contaminé).
3. Vaporisez à nouveau les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
4. Retirez le ruban de marquage qui maintient les gants et les manches ensemble, puis retirez les manches jetables en les inversant de leur partie proximale tout en ne touchant que leur surface extérieure.
5. Vaporisez à nouveau les gants externes avec de l'éthanol à 70% avant de les retirer, puis vaporisez les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
6. Retirez les lunettes de sécurité (et la lampe frontale si vous en portez une) en touchant uniquement leur surface extérieure et en poussant doucement vers l'avant (**Figure 8.4**). Placez les verres dans une petite bassine dédiée pour leur décontamination par pulvérisation d'eau de Javel (pulvérisation d'éthanol à 70% pour les lampes frontales).
7. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
8. Retirez le respirateur N95 en penchant la tête vers l'avant, en tirant d'abord la sangle inférieure sur la tête, puis la sangle supérieure, et enfin en laissant tomber le respirateur

vers l'avant (ne touchez pas la peau pour éviter tout contact avec un matériau contaminé) (**Figure 8.5**).

9. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
10. Ouvrez les bras et les jambes pour vaporiser 70% d'éthanol sur les vêtements de travail sur le terrain.
11. Frottez les bottes imperméables dans le bassin avec de l'eau et du savon, puis déplacez-vous vers le bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel pour frotter les bottes une deuxième fois.
12. Retirez les bottes imperméables pendant qu'elles sont immergées dans le bassin et marchez sur la bâche.
13. Posez les bottes imperméables de la bâche pour les faire sécher à l'air libre, puis vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70% avant de les retirer.
14. Vaporisez vos mains nues avec de l'éthanol à 70%.
15. Enlevez les vêtements de travail sur le terrain et placez-les dans le sac des déchets biologiques (jaune) pour les vêtements dédiés.
16. Portez vos chaussures personnelles.
17. À la station de lavage des mains, lavez-vous soigneusement les mains avec de l'eau et du savon.

### **8.2.3. Retrait de l'EPI CAT IV.**

1. Vaporisez les gants externes avec de l'éthanol à 70% (s'ils sont fortement contaminés, un assistant de terrain propre peut vous proposer de les retirer et de les remplacer par une nouvelle paire de gants).
2. Frottez les bottes imperméables dans le bassin avec de l'eau et du savon, puis déplacez-vous vers le bassin avec de l'eau et de l'eau de Javel pour frotter les bottes une deuxième fois.
3. Retirez les bottes imperméables pendant qu'elles sont immergées dans le bassin, mais descendez de la bâche.
4. Posez les bottes imperméables de la bâche pour les faire sécher à l'air libre.
5. Vaporisez à nouveau les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
6. Si vous portez une lampe frontale sur le capot, placez-la dans une petite bassine dédiée à sa décontamination et vaporisez-la avec de l'éthanol à 70%.
7. Vaporisez à nouveau les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
8. Dézippez la combinaison jusqu'à la taille, puis retirez sa capuche (retirez délicatement la capuche en la saisissant par l'arrière de la tête et en la tirant vers le bas).
9. Vaporisez à nouveau les gants externes avec de l'éthanol à 70%.
10. Retirez le ruban de marquage qui maintient les gants et les manches ensemble.

11. Vaporisez à nouveau les gants externes avec de l'éthanol à 70% avant de les retirer, puis vaporisez les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
12. Enlevez la combinaison en la retournant et en la roulant le long de sa partie supérieure et de ses manches jusqu'à la taille, puis complètement par inversion.
13. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
14. Retirez les lunettes en saisissant les sangles derrière la tête tout en vous penchant en avant. Placez les lunettes dans une petite bassine dédiée pour leur décontamination par pulvérisation d'eau de Javel.
15. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
16. Retirez le respirateur N95 en penchant la tête vers l'avant, en tirant d'abord la sangle inférieure sur la tête, puis la sangle supérieure, et enfin en laissant tomber le respirateur vers l'avant (ne touchez pas la peau pour éviter tout contact avec un matériau contaminé).
17. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%.
18. Ouvrez les bras et les jambes pour vaporiser 70% d'éthanol sur les vêtements de travail sur le terrain.
19. Vaporisez à nouveau les gants internes avec de l'éthanol à 70%, puis retirez-les.
20. Vaporisez vos mains nues avec de l'éthanol à 70%.
21. Enlevez les vêtements non contaminés de travail sur le terrain, puis placez-les dans leur contenant désigné.
22. Portez vos chaussures personnelles.
23. À la station de lavage des mains, lavez-vous soigneusement les mains avec de l'eau et du savon.

## **9. PROCÉDURES DE PREMIERS SOINS POUR LE PERSONNEL ET LES ANIMAUX.**

Avant les activités sur le terrain, tout le personnel directement impliqué dans la manipulation et l'échantillonnage a reçu une vaccination préexposition contre le virus de la rage et a effectué un test d'ajustement pour identifier un respirateur N95 adéquat ou équivalent. Le personnel directement impliqué dans les procédures d'échantillonnage a acquis des qualifications vétérinaires et, aux fins du Fever Project, a suivi une formation spécifique et a été jugé pleinement compétent en matière de biosécurité, de manipulation des animaux et de méthodes d'échantillonnage. De plus, il a été convenu que deux membres du personnel qualifiés travailleront toujours ensemble pour effectuer en toute sécurité les procédures de manipulation et d'échantillonnage de chaque animal. Le personnel a également examiné la fiche de données de sécurité de chaque produit potentiellement dangereux utilisé dans le cadre du Fever Project et des copies imprimées ont été mises à la disposition de tout le personnel sur le terrain.

### **9.1. BIEN-ÊTRE ANIMAL.**

Avant de manipuler des animaux, en particulier des animaux sauvages, chaque sujet doit être évalué pour détecter des signes de mauvaise santé et de mauvais état de reproduction. L'objectif est d'identifier rapidement tout animal qui pourrait avoir besoin d'être libéré immédiatement ou qui pourrait nécessiter une réponse thérapeutique appropriée avant la mise en liberté. Par conséquent, les animaux jugés incapables de résister à la manipulation ne feront pas partie de l'étude. En d'autres termes, ils seront relâchés sans échantillonnage. Les femelles gestantes et allaitantes doivent être manipulées avec un soin particulier pour éviter de perturber le développement du fœtus ou de déplacer le(s) nouveau(x)-né(s), respectivement. Ces femelles (mais pas leurs petits) peuvent être échantillonnées, seront hydratés (par voie orale ou sous-cutanée) à la fin de la manipulation.

L'hypothermie peut être observée chez les chauves-souris, les rongeurs et les musaraignes capturés, bien qu'il s'agisse d'un événement peu probable lors des activités du Fever Project ; cependant, elle peut être plus probable pendant la saison des pluies (de juin à octobre). La léthargie et/ou la déshydratation peuvent être des événements plus fréquents pendant les activités du Fever Project, en particulier après un prélèvement sanguin. Si un animal semble en hypothermie et/ou léthargique avant, pendant ou après les procédures d'échantillonnage, placez-le immédiatement dans un sac en tissu et sous une couverture chaude pour réduire le stress dû à la manipulation (nous conseillons également l'utilisation d'une compresse chauffante instantanée pour les premiers soins). Ensuite, vérifiez après 5 minutes s'il y a des signes de récupération. Si l'animal montre des signes de rétablissement, découvrez

doucement son corps en n'exposant que la tête et offrez-lui 20 $\mu$ L/1g de liquides (c.-à-d. jus de fruits pour les chauves-souris et les rongeurs frugivores, solution saline pour les chauves-souris insectivores et les musaraignes) à l'aide d'une seringue sans aiguille. Relâcher l'animal au point de capture seulement si l'animal semble clairement actif et consigner l'événement dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données, en précisant si l'échantillonnage était incomplet ou non. Si l'animal ne montre aucun signe de rétablissement ou semble déshydraté (la peau en tente, les muqueuses collantes et les yeux enfoncés sont des signes attribuables à la déshydratation), effectuez l'administration sous-cutanée de solution saline stérile :

1. Contenez comme décrit précédemment, puis choisissez une région du corps avec une peau lâche pour l'injection sous-cutanée (c.-à-d. le flanc pour les petites chauves-souris, les rongeurs et les musaraignes ; le cou pour les chauves-souris, les rongeurs et les chiens plus gros ; la région inguinale pour les espèces aviaires).
2. Calculez une dose de 0,02mL/g de solution saline stérile (p. ex., 1mL de solution par voie sous-cutanée pour les animaux de 50g ou 20mL pour les animaux de 1kg).
3. Aspirez une solution saline chaude et stérile (idéalement à une température comprise entre 27 et 37°C) à l'aide d'une aiguille stérile de 25g ou 27g fixée à une seringue de taille appropriée.
4. Nettoyez la surface corporelle de l'animal avec une lingette désinfectante, pincez la peau pour la surélever des tissus sous-jacents, puis insérez l'aiguille à un angle peu profond. Massez le site d'injection tout en délivrant les liquides si la peau semble tendue et l'absorption lente.
  - a. Notez que l'absence de résistance lors de l'injection indique que l'aiguille est sous-cutanée.
  - b. Assurez-vous qu'il n'y a pas de fuite de liquide aseptique du site d'injection.
  - c. Insérez l'aiguille sur  $\leq 1$ cm lors de la réhydratation d'un poulet ou d'un canard pour éviter le risque d'atteindre les sacs aériens.
5. Répétez l'étape précédente plusieurs fois pour administrer le volume adéquat de liquides.
6. Lorsque vous traitez des chauves-souris, des rongeurs ou des musaraignes, placez le petit mammifère sauvage réhydraté dans un sac en tissu et sous une couverture chaude pour réduire le stress dû à la manipulation, en vérifiant après 5 minutes les signes de récupération. Lorsque vous traitez des animaux domestiques, gardez-les en observation dans un endroit ombragé et à l'écart des autres animaux.
7. Relâchez immédiatement (au point de capture pour les petits mammifères sauvages) seulement si l'animal semble clairement actif et alerte.

8. L'administration sous-cutanée d'une solution saline stérile doit être notée dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données, en précisant si l'échantillonnage était incomplet ou non.

## **9.2. EUTHANASIE DES ANIMAUX.**

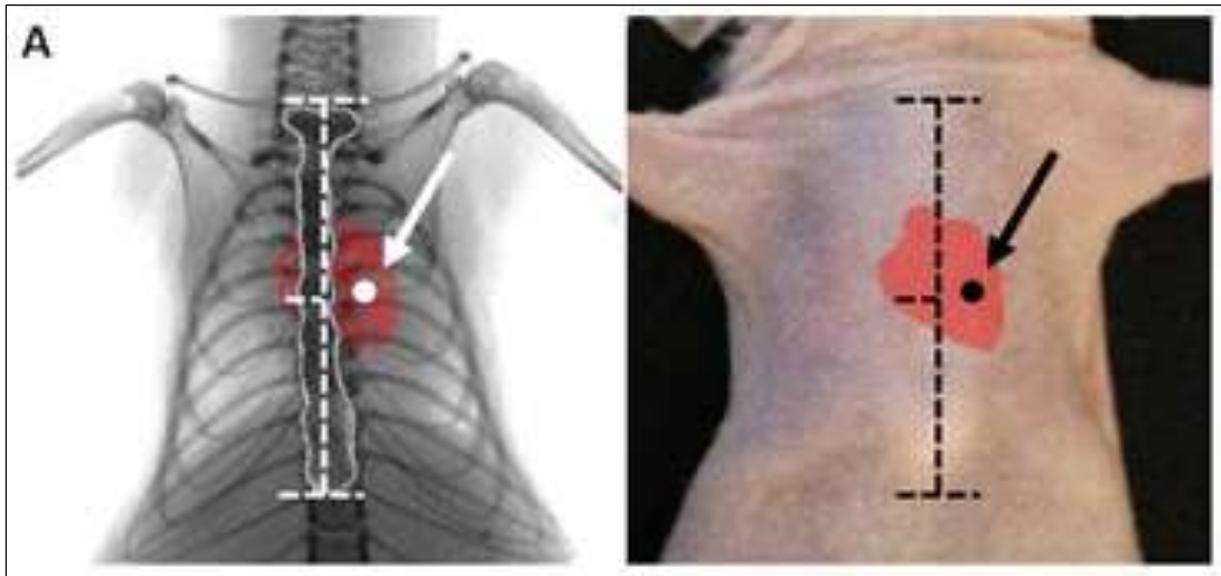
En cas de rétablissement improbable, l'individu doit être euthanasié. Tout événement indésirable (c.-à-d. décès accidentel avant/pendant le prélèvement et l'anesthésie) doit être consigné dans la **Section "Remarques"** de la fiche de collecte des données. Les procédures suivantes respectent les lignes directrices sur les normes d'euthanasie établies par l'American Veterinary Medical Association pour les animaux domestiques et la faune sauvage (Underwood et Anthony, 2020) et les protocoles approuvés à la fois par le CNERS en Guinée (064/CNERS/23) et l'IRB de l'Université de Georgetown aux États-Unis (STUDY00002481).

### **9.2.1. Euthanasie de la faune sauvage.**

L'euthanasie à la suite de blessures irrécupérables d'animaux sauvages est un événement rare lors des activités d'échantillonnage d'animaux dans le cadre du Fever Project. Toutefois, le protocole suivant doit être appliqué lorsque l'euthanasie des chauves-souris et des petits mammifères terrestres devient nécessaire :

1. Utilisez un sac en plastique refermable propre (p. ex., Ziploc®) de 1L pour les petites chauves-souris, les souris et les musaraignes, ou de 4L pour les chauves-souris et les rats plus gros (la seule exception étant les rats géants (*Cricetomys* spp.) qui subiront une deuxième série d'anesthésie comme indiqué à la **Section 4.3**).
2. Ajoutez l'isoflurane à une boule de coton et placez-la dans le sac refermable (c.-à-d. 0,4mL pour un sac de 1L et 1,6mL pour un sac de 4L).
3. Placez l'animal dans le sac refermable, fermez-le, puis attendez environ 5 minutes pour induire l'anesthésie chez l'animal.
4. Calculez une dose de 1 à 2mEq/kg de chlorure de potassium, également exprimée en 75 à 150mg/kg, à une concentration de 20mEq/10mL (p. ex., 50µL de solution pour des animaux de 50g ou 1mL pour des animaux de 1kg).
5. Aspirez le chlorure de potassium à l'aide d'une aiguille stérile de 25g ou 27g fixée à une seringue de 1mL.
6. Rapidement, retirez le mammifère du sac et effectuez une injection intracardiaque de la dose de chlorure de potassium :
  - a. Localisez le cœur par palpation au niveau du sternum.
  - b. Insérez l'aiguille immédiatement à gauche du sternum et exactement à mi-chemin de sa longueur (c.-à-d. entre l'encoche sternale et le haut de l'apophyse xiphoïde), perpendiculairement au corps de l'animal (**Figure 9.1**).

- c. Avant l'injection létale, aspirez du sang dans la seringue pour fournir une preuve de l'insertion correcte de l'aiguille dans le cœur (si le sang n'est pas aspiré, rétractez légèrement l'aiguille et repositionnez-la).
  - d. Vérifiez le rythme cardiaque à la palpation pour confirmer l'arrêt de la fonction cardiaque et la mort.
7. Placez la carcasse dans le sac refermable, fermez-la, puis jetez-la dans le sac des déchets biologiques (rouge).



**Figure 9.1.** Vue radiographique ventrale du thorax d'une souris de laboratoire montrant l'emplacement correct pour l'injection intracardiaque. Les points de repère anatomiques (c.-à-d. l'encoche sternale, le quatrième espace intercostal et l'apophyse xiphoïde) sont mis en évidence par des tirets horizontaux (modifié à partir de Campbell et al. (2012)).

### 9.2.2. Euthanasie des animaux domestiques.

Il n'y a jamais eu d'euthanasie à la suite de blessures irrécupérables d'animaux domestiques lors d'activités d'échantillonnage d'animaux dans le cadre du Fever Project. Néanmoins, des lignes directrices ont été établies dans le cas peu probable où les bovins, les petits ruminants, les volailles ou les chiens échantillonnés pourraient nécessiter une euthanasie :

1. Cherchez à obtenir un accord clair du propriétaire sur la question de savoir s'il décide d'abattre l'animal selon les pratiques habituelles ou s'il accepte d'euthanasier l'animal en suivant la procédure détaillée ci-dessous.
  - a. Si le propriétaire choisit d'abattre l'animal, cela doit se faire immédiatement et sous la supervision de l'équipe vétérinaire afin de minimiser les souffrances.
  - b. Si le propriétaire convient que l'équipe vétérinaire procède à l'euthanasie chimique de l'animal, il reconnaîtra par consentement écrit que l'animal ne sera pas utilisé pour la consommation humaine après l'euthanasie.

2. Administrez DEXDOMITOR® (c.-à-d. dexmédétomidine chlorhydrate) par injection intraveineuse ou intramusculaire à l'aide d'une aiguille stérile de 21g ou 25g ajustée à une seringue de 3mL :
  - a. À 50mcg/kg dans la veine jugulaire ou les muscles de la cuisse des bovins, des petits ruminants et des volailles.
  - b. À 5-15mcg/kg soit dans la veine jugulaire, la veine saphène latérale ou les muscles de la cuisse des chiens.
3. Laissez l'animal se reposer tranquillement pendant 15 minutes après l'injection de DEXDOMITOR®.
4. Calculez une dose de 1 à 2mEq/kg de chlorure de potassium, également exprimée en 75 à 150mg/kg, à une concentration de 20mEq/10mL (p. ex., 10mL de solution pour des animaux de 10kg).
5. Aspirez le chlorure de potassium à l'aide d'une aiguille stérile de 21g ou 25g fixée à une seringue de 3mL.
6. Effectuez une injection intraveineuse de la dose de chlorure de potassium en utilisant la même veine que celle indiquée ci-dessus.
7. Vérifiez le rythme cardiaque par auscultation et palpation pour confirmer l'arrêt de la fonction cardiaque et la mort.
8. Assurez-vous de l'élimination de la carcasse conformément aux protocoles de biosécurité et de la législation locale.

### **9.3. SANTÉ ET SÉCURITÉ DU PERSONNEL.**

Si un membre du personnel se blesse pendant le travail sur le terrain, il doit cesser ses activités pour qu'on lui prodigue immédiatement les premiers soins. Les contusions, les égratignures et les morsures sont les blessures les plus courantes qui peuvent survenir. Le personnel ne doit pas s'exposer au risque de morsure si un animal tente de s'échapper ; dans ces circonstances, minimisez les risques de blessures à la fois pour l'animal et pour le personnel en permettant à l'animal de s'échapper. Néanmoins, en cas de morsures, lavez et protégez immédiatement la plaie, puis consultez un médecin.

1. Lavez immédiatement la plaie pendant 15 minutes avec de l'eau et du savon d'abord, puis avec de la bétadine (une solution aqueuse topique de povidone iodée à 10%) ou du chlorure de benzalkonium. Séchez avec une serviette propre, puis appliquez une pommade antibiotique (p. ex., Neosporin® ou Polymycin™) et couvrez la plaie avec un pansement. Le membre du personnel prodiguant les premiers soins doit porter des gants jetables propres et stériles pour se protéger.
2. Après les premiers soins, consultez un médecin pour toutes les piqûres. Les infections des plaies à la suite de morsures d'animaux domestiques et sauvages comprennent la

rage, le tétanos, la pasteurellose et divers agents viraux, bactériens et fongiques (Abrahamian et Goldstein, 2011). Étant donné que le travail dans le cadre du Fever Project implique l'échantillonnage de chauves-souris et de chiens domestiques, la stratégie de traitement post-exposition contre la rage doit être convenue avec le centre de santé le plus proche avant les activités de travail sur le terrain. L'Organisation Mondiale de la Santé recommande un traitement vaccinal contre la rage et/ou des immunoglobulines comme prophylaxie post-exposition (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies>).

### **9.3.1. Assemblage de la trousse de premiers soins.**

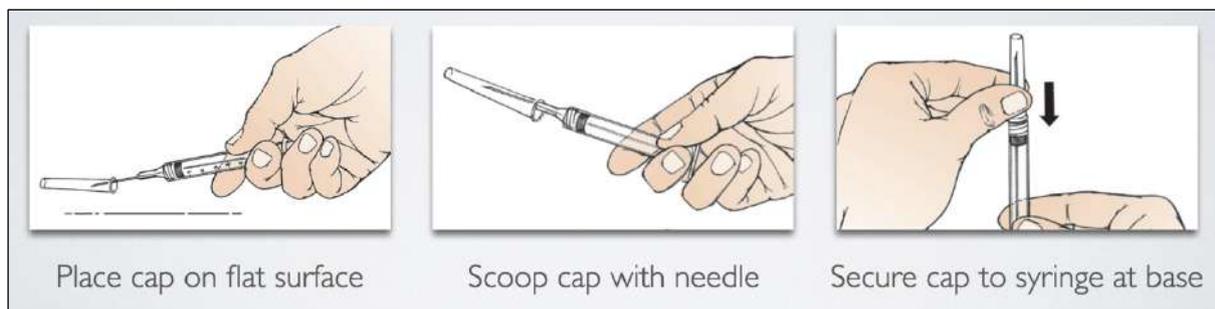
Aux fins des soins immédiats à la suite d'une blessure pendant le travail sur le terrain, une trousse de premiers soins est toujours stockée et facilement disponible à l'intérieur du véhicule utilisé par le personnel. Les trousse de premiers soins de Fever Project comprennent :

- Vaccins contre la rage pour la prophylaxie post-exposition (conservés à +4°C).
- Chlorure de benzalkonium.
- Solution de bétadine® à 10%.
- Solution de peroxyde d'hydrogène à 3%.
- Triple pommade antibiotique (c.-à-d. la bacitracine, la néomycine et la polymyxine B).
- Gel froid pour le soulagement des entorses.
- Station de douche oculaire.
- Solution de lavage oculaire.
- Pansements, bandages et pansements stériles.
- Ruban adhésif.
- Gants stériles en nitrile.
- Essuie-tout.

### **9.3.2. Prévention des blessures par piqûre d'aiguille.**

Le personnel directement impliqué dans les procédures d'échantillonnage a également suivi une formation sur la prévention des blessures par piqûre d'aiguille. En bref, les blessures par piqûre d'aiguille et par des objets tranchants sont particulièrement préoccupantes parce qu'elles peuvent entraîner l'inoculation d'agents pathogènes et de matériel infecté. La prévention des blessures par piqûre d'aiguille vise à s'attaquer aux actions potentiellement dangereuses (p. ex., la manipulation, le rebouchage et l'élimination des aiguilles de seringue) en mettant en œuvre des procédures spécifiques pour manipuler les seringues et les aiguilles en toute sécurité. Néanmoins, en cas de piqûre d'aiguille ou de blessure par des objets tranchants, lavez immédiatement la plaie, puis consultez un médecin comme indiqué pour les morsures d'animaux à la **Section 9.3**.

1. Décapsulez l'aiguille : tirez sur le capuchon pour exposer l'aiguille d'un mouvement ferme et ne laissez jamais une seringue sans bouchon traîner autour de la station de prélèvement.
2. Ne pas rebouchez l'aiguille : il n'est pas conseillé de rebouchez l'aiguille avant de la jeter. Cependant, dans le cas où une aiguille a besoin de son bouchon, appliquez la technique de la pelle à une main (**Figure 9.2**) :
  - a. Laissez le capuchon sur la table et guidez-y la pointe de l'aiguille usagée d'une seule main.
  - b. Soulevez la seringue et l'aiguille verticalement et, une fois l'embout recouvert, utilisez l'autre extrémité pour verrouiller le capuchon en place (vous pouvez également appliquer une poussée verticale contre une surface stable pour verrouiller le capuchon et décontaminer la surface avec 70% d'éthanol).
3. Ne retirez pas l'aiguille : les aiguilles non bouchées ne doivent jamais être débranchées de la seringue à la main. Cependant, dans le cas où cela est nécessaire pour transférer l'échantillon pour le stockage, ou pour utiliser à nouveau la même seringue, rebouchez l'aiguille comme décrit ci-dessus, puis tournez la base de l'aiguille dans son capuchon pour la débrancher de la seringue.
4. Jetez la seringue et son aiguille : immédiatement après utilisation, placez une seringue usagée avec l'aiguille attachée dans un récipient adapté à l'élimination des objets tranchants.
5. Vaporisez les gants avec 70% d'éthanol.



**Figure 9.2.** Technique de récapitulatif de l'aiguille à une main.

## **10. STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS.**

Cette section détaille notre plan d'entreposage des échantillons afin de garantir que les échantillons sont exposés à des conditions identiques et adéquates jusqu'à leur arrivée dans les laboratoires de référence pour un stockage à long terme avant le traitement des échantillons et les tests diagnostiques.

### **10.1. MISE EN PLACE D'UNE CHAÎNE DU FROID.**

Une chaîne du froid est un ensemble de procédures qui assurent un stockage à température contrôlée des échantillons après leur collecte, leur distribution aux laboratoires, leur stockage avant les tests et leur archivage ultérieur à long terme. Les lignes directrices sur la chaîne du froid, qui vont des liquides de refroidissement aux jauges de température et à la tenue de registres, ont pour objectif primordial de surveiller que tous les échantillons biologiques sont stockés et transportés à des températures optimales pour une détection impartiale des agents pathogènes en fonction du milieu de stockage utilisé, et que tout écart est enregistré et traité avant l'analyse en aval. Les exigences fixées par le consortium PREDICT (2019) sont une référence pertinente à consulter avant de planifier les flux de travail de la chaîne du froid.

Dans le cadre du Fever Project, des options de stockage, d'échantillonnage et de transport des échantillons ont été choisies afin de minimiser les exigences de la chaîne du froid et de garantir que les échantillons peuvent rester stables et viables même si la chaîne du froid ne peut pas être maintenue de manière cohérente. À cette fin, les échantillons peuvent généralement être transportés jusqu'à sept jours à température ambiante mais doivent être transférés dès que possible dans un réfrigérateur à +4°C ou un congélateur à -20°C (ISSMV pour les échantillons collectés dans la préfecture de Dalaba, et l'hôpital préfectoral de Guéckédou pour les échantillons collectés dans la préfecture de Guéckédou). La congélation et la décongélation répétées doivent être évitées car elles dégradent les acides nucléiques et les protéines. Périodiquement, les échantillons peuvent être transférés de Guéckédou à l'ISSMV pour un stockage à plus long terme, et tous les échantillons peuvent également être transférés à Conakry pour les tests finaux et l'archivage, en fonction de la disponibilité des congélateurs et des capacités de test. Le transfert d'échantillons doit respecter la politique nationale (Standley et al., 2019) en matière de transport sûr et sécuritaire des échantillons biomédicaux et doit être effectué à l'aide de glacières ou d'une réfrigération intégrée. Ceci est particulièrement important pour les échantillons qui ont été entreposés temporairement à -20°C ; ceux-ci ne doivent pas décongeler pendant le transport, de sorte que tous les efforts doivent être faits pour s'assurer qu'ils restent congelés pendant toute la durée du transport, et immédiatement remis à -20°C ou -80°C jusqu'à ce que les tests aient lieu.

## **10.2. STOCKAGE DE SPÉCIMENS D'ANIMAUX DANS LE CADRE DU FEVER PROJECT.**

Le choix de conserver chaque échantillon animal (c.-à-d.  $\leq 100\mu\text{L}$  de sang total, écouvillons buccaux, écouvillons rectaux et tiques) dans un tube de 1,5mL contenant 500 $\mu\text{L}$  DNA/RNA Shield™ (fabriqué par Zymo Research) découle de la difficulté objective de garantir une température  $\leq -20^\circ\text{C}$  immédiatement après le prélèvement et tout au long du transport. Nous avons choisi le réactif DNA/RNA Shield™ en raison de sa capacité à stabiliser les acides nucléiques, préserver leur intégrité génétique, inactiver les agents infectieux contenus dans l'échantillon et intégrer de nombreux flux de travail pour l'extraction d'acides nucléiques et les applications en aval à l'aide de diagnostics moléculaires et de technologies de séquençage de nouvelle génération. La stabilité garantie des échantillons à température ambiante (jusqu'à sept jours à  $>30^\circ\text{C}$ ), y compris l'inactivation validée d'agents viraux hautement pathogènes, sont des caractéristiques que nous avons trouvées particulièrement applicables à nos conditions de travail sur le terrain.

Néanmoins, l'inadéquation du sang total dans DNA/RNA Shield™ pour les tests sérologiques a nécessité un support de stockage et un type d'échantillon supplémentaires : des taches de sang séché sur Whatman™ 903 Protein Saver Card (fabriqué par Cytiva). Le papier filtre Whatman™ 903 peut stocker  $\leq 80\mu\text{L}$  de sang total pour chaque cercle contenu dans la zone de prélèvement d'échantillons et maintenir l'intégrité des anticorps et autres protéines. Après un temps de séchage d'environ 2h à température ambiante, les cartes sont archivées dans des sacs refermables à barrière en aluminium, y compris un sachet de gel de silice de 1 à 10g comme déshydratant. Cependant, étant donné qu'il s'agit d'une station de prélèvement installée à l'extérieur pendant les travaux sur le terrain dans le cadre du Fever Project, nous avons observé que le temps de séchage peut dépendre fortement des conditions météorologiques. Par conséquent, lors de l'échantillonnage dans des conditions météorologiques défavorables, comme pendant la saison des pluies (de juin à octobre), nous conseillons également de faire sécher ces cartes à l'intérieur avant l'archivage. Le résultat est un échantillon stabilisé adapté aux tests moléculaires et sérologiques qui ne nécessite pas de réfrigération, bien qu'un stockage à long terme à  $-20^\circ\text{C}$  soit recommandé en particulier pour la récupération de l'ARN (Arca-Lafuente et al. 2022 ; Keck et al., 2022).

## 11. LISTE DES RÉFÉRENCES.

1. Abrahamian, F. M., et Goldstein, E. J. C. (2011). Microbiology of animal bite wound infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(2), 231-246.
2. Allen, T., Murray, K. A., Zambrana-Torrel, C., Morse, S. S., Rondinini, C., Di Marco, M., Breit, N., Olival, K. J., et Daszak, P. (2017). Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nature Communications*, 8(1), 1124.
3. Arca-Lafuente, S., Casanueva-Benítez, C., Crespo-Bermejo, C., Lara-Aguilar, V., Martín-Carbonero, L., de Los Santos, I., Madrid, R., et Briz, V. (2022). 903 Protein Saver cards: the best alternative for dried blood spot storage at room temperature for HCV RNA. *Scientific Reports*, 12(1), 10124.
4. Bovendorp, R. S., McCleery, R. A., et Galetti, M. (2017). Optimising sampling methods for small mammal communities in Neotropical rainforests. *Mammal Review*, 47(2), 148-158.
5. Campbell, J. P., Merkel, A. R., Masood-Campbell, S. K., Elefteriou, F., et Sterling, J. A. (2012). Models of bone metastasis. *Journal of Visualized Experiments*, 67, e4260.
6. FAO. (2007). Wild birds and avian influenza: an introduction to applied field research and disease sampling techniques. FAO Animal Production and Health Manual, Vol. 5, Rome, Italy.
7. Granjon, L., et Duplantier, J. M. (2009). Les rongeurs de l'Afrique sahélo-soudanienne. IRD Éditions, Marseille, France.
8. Halliday, J. E., Carugati, M., Snavelly, M. E., Allan, K. J., Beamesderfer, J., Ladbury, G. A., Hoyle, D. V., Holland, P., Crump, J. A., Cleaveland, S., et Rubach, M. P. (2020). Zoonotic causes of febrile illness in malaria endemic countries: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(2), e27-e37.
9. Herbreteau, V., Jittapalpong, S., Rerkamnuaychoke, W., Chaval, Y., Cosson, J. F., et Morand, S. (2011). Protocols for field and laboratory rodent studies. Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
10. Keck, H., Eschbaumer, M., Beer, M., et Hoffmann, B. (2022). Comparison of biosafety and diagnostic utility of biosample collection cards. *Viruses*, 14, 2392.
11. Kingdon, J. (2015). The Kingdon field guide to African mammals: second edition. Bloomsbury Publishing, London, UK.
12. Kourouma, K., Grovogui, F. M., Delamou, A., Chérif, M. S., Ingelbeen, B., Beavogui, A. H., van Griensven, J., et Bottieau, E. (2022). Management of febrile illness in rural Guinea over a seven-year period: a retrospective study. *PLOS Global Public Health*, 2(10), e0001133.

13. Maze, M. J., Bassat, Q., Feasey, N. A., Mandomando, I., Musicha, P., et Crump, J. A. (2018). The epidemiology of febrile illness in sub-Saharan Africa: implications for diagnosis and management. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(8), 808-814.
14. Plowright, R. K., Reaser, J. K., Locke, H., Woodley, S. J., Patz, J. A., Becker, D. J., Oppler, G., Hudson, P. J., et Tabor, G. M. (2021). Land use-induced spillover: a call to action to safeguard environmental, animal, and human health. *The Lancet Planetary Health*, 5(4), e237-e245.
15. PREDICT Consortium. (2019). Standard operating procedures for One Health surveillance. One Health Institute, University of California, Davis, USA.
16. Saldaña-Vázquez, R. A., et Munguía-Rosas, M. A. (2013). Lunar phobia in bats and its ecological correlates: a meta-analysis. *Mammalian Biology*, 78(3), 216-219.
17. Standley, C. J., Muhayangabo, R., Bah, M. S., Barry, A. M., Ble, E., Fischer, J. E., Heegaard, W., Koivogui, L., Lakiss, S. K., Sorrell, E. M., VanSteelandt, A., Dahourou, A. G., et Martel, L. D. (2019). Creating a national specimen referral system in Guinea: lessons from initial development and implementation. *Frontiers in Public Health*, 7, 83.
18. Stuart, C., et Stuart, M. (2021). Flying mammals: quick ID guide to the bats of Africa. Penguin Random House South Africa, Cape Town, South Africa.
19. Underwood, W., et Anthony, R. (2020). AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition. American Veterinary Medical Association, Schaumburg, USA.
20. Valitutto, M. T. (in preparation). Field Biosafety Manual. EcoHealth Alliance, New York, USA.
21. Wu, H. J., Easwaran, T., Offutt, C. D., Elgar, R. L., Spandau, D. F., Koyama, S., et Foley, J. (2015). Expansion of specialized epidermis induced by hormonal state and mechanical strain. *Mechanisms of Development*, 136, 73-86.

## ANNEXE A. LISTE DES ÉQUIPEMENTS.

La liste suivante a été établie dans le seul but de faire preuve de transparence quant à l'équipement utilisé lors des activités d'échantillonnage des animaux dans le cadre du Fever Project. Notre intention est que les éléments énumérés ci-dessous, y compris leurs fabricants, puissent servir de guide pour les futurs utilisateurs plutôt que d'indiquer un choix prescriptif. Des équipements similaires fabriqués par diverses entreprises sont disponibles dans différents pays.

Équipement	Fabricant	N° catalogue*
<b>Anesthésie</b>		
Masque anesthésiant exotique	Jorgensen	173271
Masque anesthésiant félin	Midmark Corporation	007296
Remplisseur d'entonnoir	Vetland Medical	520-11-22
Chambre d'induction petite	MWI Animal Health	180084
Isoflurane Fluriso™	VetOne	501017
Lubrifiant ophtalmique	Optixcare	142423
Adaptateur 15mm, 15mm ID x 22mm OD	Vetamac	1422
Adaptateur, 15mm OD x 22mm OD	Vetamac	KC-2119
Adaptateur, FS-2A vaporiser inlet	MidMark	92305072
Adaptateur, FS-2 vaporiser outlet	MidMark	92305073
Tube en silicone 3m, 6mm ID x 10mm OD	Amazon.com	Pas disponible
Concentrateur d'oxygène Eclipse 5™	CAIRE Inc.	Pas disponible
Étui 1650	Pelican Products	1650-020-110
Vaporisateur D20 Vetland	Vetland Medical	Pas disponible
<b>Premiers soins</b>		
Solution de douche oculaire	PhysiciansCare	24-201
Station de douche oculaire portable	MAASTERS	Pas disponible
DEXDOMITOR® (dexmédétomidine chlorhydrate)	Zoetis	052922
Chlorure de potassium 20mEq/10mL	Hospira	0409-6651-06
Vaccin post-exposition contre la rage VERORAB	SANOFI PASTEUR	Pas disponible
Solution saline stérile 0.9g/100mL	VetOne	510223
<b>Équipement de protection individuelle</b>		
Tabliers jetables	BAYMRO	BDP461
Respirateurs N95	Indiana Face Mask	A105
Manchons jetables	ULINE	S-17928
Combinaison Tyvek® 400	DuPont	TY122S
<b>Sampling</b>		
BCM système de poteau de filet à triple brume élevée	Bat Conservation and Management	Pas disponible
Sacs à cordon en tissu 25x25cm	Not applicable, handmade	Pas disponible
DNA/RNA Shield™	Zymo Research	R1100

Sacs refermables à barrière en aluminium	Cytiva	10534321
Réfrigérateur/congélateur portable	SnoMaster	SMDZ-LS28
GPS GPSmap 60CSx	Garmin	010-00422-01
Filets japonais nylon maille 9m x 60mm	Avinet	RT09
Muselières	Copthinktu	Pas disponible
Pièges Sherman 9x3x3.5 pouces	H.B. Sherman Traps	LFATDG
Sachets de gel de silice 10g	Manutan	A329277
Étriers coulissant 150mm	Ultrassist	Pas disponible
Balanciers à ressort 100g	PESOLA	10100
Balanciers à ressort 500g	PESOLA	10500
Écouvillons stériles	Thermo Fisher Scientific	22-363-170
Pièges Tomahawk 19x6x6 pouces	Tomahawk Live Trap	202
Papiers filtres Whatman™ 903 Protein Saver	Cytiva	10534612

\* Le numéro de catalogue de chaque article n'a été inclus que lorsqu'il est disponible sans équivoque.

## ANNEXE B. FORMULAIRE DE CONSENTEMENT POUR LES PROPRIÉTAIRES D'ANIMAUX.

---

### Autorisation de participer à une étude de recherche humaine : analyse de la politique de surveillance

#### Université de Georgetown

Lieu : Guinée

**Informations clés :** Ce qui suit est une brève description du projet qui a été élaborée pour vous aider à décider de participer ou non à cette étude en tant qu'informateur clé ou partie prenante du système national de surveillance des maladies de la Guinée. Des informations plus détaillées sont listées plus loin dans ce formulaire.

#### Pourquoi participer à une étude de recherche ?

Je vous invite à participer à une étude de recherche en raison de votre **rôle, de votre expertise et de votre expérience dans le développement et la mise en œuvre du système national de surveillance des maladies**, y compris l'aspect politique et les approches en Guinée par votre travail ou votre collaboration avec le **[insérer le secteur]** . Vos connaissances et votre expérience du système national de surveillance et de ses politiques, procédures et approches de mise en œuvre connexes sont cruciales pour notre étude de recherche qui vise à évaluer le système de surveillance de la Guinée, avant et après l'épidémie de maladie à virus Ebola de 2013 ; et analyser les politiques et procédures existantes en ce qui concerne les maladies fébriles aiguës en Guinée.

#### Que dois-je savoir sur une étude de recherche ?

- ✓ Un membre de l'équipe de recherche vous expliquera les détails de cette étude de recherche.
- ✓ La décision de participer ou non à cette étude vous appartient entièrement.
- ✓ Vous pouvez décider de participer ou non à cette étude sans aucune conséquence.
- ✓ Vous avez la possibilité d'accepter de participer à cette étude et de changer d'avis ultérieurement.
- ✓ Votre décision de participer ou non à cette étude ne sera pas retenue contre vous.
- ✓ Vous pouvez poser toutes les questions que vous voulez avant de décider de participer à cette étude.

#### Pourquoi cette recherche est-elle menée ?

La surveillance épidémiologique est cruciale pour la préparation et la riposte aux épidémies. Cependant, son efficacité dépend de la conception, de la collecte des données, de l'analyse des données et de la cohérence des rapports. En Guinée, comme dans de nombreux autres pays d'Afrique de l'Ouest, la fièvre est l'un des symptômes les plus répandus des maladies et peut être associée à des agents pathogènes à tendance épidémique dans certains cas. Néanmoins, les maladies fébriles aiguës (MFA) peuvent être oubliées par l'approche de surveillance nationale car elle n'est pas classée comme une maladie ou un syndrome à déclaration obligatoire, et la cause de la fièvre indifférenciée peut ne pas être identifiée en raison d'un manque de plateformes de diagnostic efficaces. Cette étude, qui fait partie du projet "Fever Project" mis en œuvre par GU et l'ONG Santé Plus Organisation, évaluera les

approches de surveillance nationale pré- et post-Ebola en Guinée et recueillera les informations des informateurs clés et des parties prenantes sur la manière dont les MFA peut être intégrée dans le système existant sous forme de stratégie de veille.

Les résultats de cette étude seront très pertinents pour les efforts en cours de la Guinée pour renforcer les capacités des systèmes de santé et améliorer la préparation nationale et régionale aux épidémies/pandémies. Le domaine universitaire croissant de la sécurité sanitaire mondiale se taille de nouveaux domaines d'enquête et de pratique liés à des sujets tels que l'analyse de l'efficacité des systèmes de surveillance pour détecter les épidémies, pour lesquels cette étude apportera des avancées précieuses.

### **Combien de temps durera la recherche et que dois-je faire ?**

Nous nous attendons à ce que vous participiez à cette étude de recherche pour une courte entrevue en personne/virtuelle d'une durée de 30 à 60 minutes. Le processus global de collecte de données se déroulera sur une période de trois mois à compter d'août 2023. Nous prévoyons de terminer la collecte de données en octobre 2023.

Il vous sera demandé de comparaître pour un entretien semi-structuré avec l'un des membres de l'équipe de recherche, qui vous posera des questions sur votre point de vue sur les directives, politiques et/ou procédures actuelles liées au système national de surveillance des maladies en Guinée. Un autre membre de l'équipe peut être présent pendant l'entretien en tant qu'observateur et pour prendre des notes. De plus, à votre demande, vous pouvez recevoir une liste de questions avant l'entretien pour aider à guider le processus d'entretien.

Des informations plus détaillées sur les procédures de l'étude sont énumérées dans le volet « **Que se passe-t-il si je dis oui, je veux participer à cette recherche ?** »

### **Y a-t-il un impact négatif pour moi-même en tant que participant à cette étude ?**

Nous ne prévoyons aucun risque associé à votre participation à cette recherche car nous ne collecterons aucune information personnelle pendant les entretiens et nous interrogerons tous les répondants dans le cadre de leur fonction officielle actuelle ou passée.

Cependant, il pourrait y avoir des cas de risques et d'inconforts psychologiques perçus. Dans de tels cas, vous avez le droit de ne pas répondre à des questions spécifiques ou de vous retirer complètement de l'étude. Les enquêteurs mèneront les entretiens de manière à mettre les répondants à l'aise et à minimiser tout stress associé à votre participation. Aucun identifiant personnel comme votre nom, âge, sexe, fonction et coordonnées ne sera partagé avec quiconque en dehors de l'équipe de recherche sans votre consentement.

Des informations plus détaillées sur les risques de cette étude sont énumérées dans le volet « **Y a-t-il un impact négatif sur moi-même en tant que participant à cette étude ? (Risques détaillés)** »

### **La participation à cette étude apportera-t-elle un quelconque avantage pour m'aider de quelque manière que ce soit ?**

Votre participation à cette recherche ne vous apportera aucun avantage. Nous ne pouvons promettre aucun avantage lié à votre participation à cette recherche.

### **Que se passe-t-il si je ne veux pas participer à cette recherche ?**

La participation à la recherche est entièrement volontaire. Vous pouvez décider de participer ou de ne pas participer ou de vous retirer à tout moment au cours de la recherche. Si vous

choisissez de retirer votre participation à n'importe quelle étape de la recherche, la décision sera respectée et votre décision ne sera pas retenue contre vous. Les données recueillies auprès de vous (le cas échéant) seront partagées avec vous et toutes les copies restantes seront détruites et ne seront utilisées sous aucune forme dans cette étude.

Votre alternative à la participation à cette étude de recherche est de ne pas participer ou de vous retirer à tout moment pendant l'étude.

**Des informations détaillées :** Vous trouverez ci-dessous des informations plus détaillées sur cette étude en plus des informations énumérées ci-dessus.

### **À qui puis-je parler ?**

Si vous avez des questions, des préoccupations ou des plaintes, ou si vous pensez que la recherche vous a causé du mal, parlez à l'équipe de recherche à :

Nom : Dr Claire Standley

Organisation : Centre pour la science et la sécurité de la santé mondiale/Université de Georgetown

Adresse e-mail : [cjs322@georgetown.edu](mailto:cjs322@georgetown.edu)

Titre : Co-chercheur principal

Nom : Dr Alpha Mahmoud Barry

Organisation : Organisation Santé Plus

Adresse e-mail : [alphaguinea@gmail.com](mailto:alphaguinea@gmail.com)

Téléphone : (+224) 622 64 64 80

Titre : Co-chercheur principal

Nom : M. Zoumana Isaac TRAORE

Organisation : Centre pour la science et la sécurité de la santé mondiale/Université de Georgetown

Adresse e-mail : [zt118@georgetown.edu](mailto:zt118@georgetown.edu)

Titre : Doctorant

Cette recherche a été examinée et approuvée par un comité institutionnel d'éthique ("IRB"). Vous pouvez leur parler au (202) 687-1506 ou [irboard@georgetown.edu](mailto:irboard@georgetown.edu) si :

- L'équipe de recherche ne répond pas à vos questions, préoccupations ou plaintes.
- Vous ne pouvez pas joindre l'équipe de recherche.
- Vous voulez parler à quelqu'un en dehors de l'équipe de recherche.
- Vous avez des questions sur vos droits en tant que participant à la recherche.
- Vous souhaitez obtenir des informations ou donner votre avis sur cette recherche.

### **Combien de personnes seront étudiées ?**

Pour cette recherche, nous avons l'intention d'interroger des experts gouvernementaux et non gouvernementaux/internationaux ayant une expérience avec le système national de surveillance de la Guinée. Nous prévoyons d'inclure jusqu'à 10 informateurs clés gouvernementaux et jusqu'à 12 partenaires non gouvernementaux ou internationaux : un total de 22 entretiens.

### **Que se passe-t-il si je dis oui, je veux participer à cette recherche ?**

Si vous souhaitez faire partie de cette étude de recherche, vous pouvez vous attendre aux étapes suivantes :

- Un membre de l'équipe de recherche de l'Université de Georgetown vous contactera / votre bureau par e-mail ou par téléphone pour planifier une heure pour organiser une session d'entretien.
- Un membre de l'équipe vous interviewera.
- Cette réunion se déroulera via des réunions en personne ou en utilisant les plateformes virtuelles (Zoom ou équivalent). Les entretiens en personne auront lieu dans le cadre professionnel des personnes interrogées ou dans un autre lieu où la confidentialité et la confidentialité des réponses peuvent être assurées (par exemple, une salle de réunion d'hôtel). Les entretiens virtuels seront menés par téléphone ou par Zoom en utilisant les services de l'Université de Georgetown.
- La durée des entretiens individuels sera de 30 à 60 minutes.
- L'entretien aura lieu à tout moment entre août et octobre 2023. La réunion sera fixée selon votre convenance et votre disponibilité à un endroit qui vous convient.

### **Que se passe-t-il si je dis oui, mais que je change d'avis plus tard ?**

Vous pouvez quitter la recherche à tout moment. Si vous choisissez de retirer votre participation à n'importe quelle étape de la recherche, la décision sera respectée et votre décision ne sera en aucun cas retenue contre vous. Les données recueillies auprès de vous (le cas échéant) seront partagées avec vous et toutes les copies restantes seront détruites et ne seront utilisées sous aucune forme dans cette étude.

Si vous décidez de quitter la recherche à tout moment, veuillez contacter l'investigateur par e-mail. Les coordonnées des enquêteurs sont fournies ci-dessous.

Coordonnées des enquêteurs :

Nom : Dr Claire Standley

Organisation : Centre pour la science et la sécurité de la santé mondiale/Université de Georgetown

Adresse e-mail : [cjs322@georgetown.edu](mailto:cjs322@georgetown.edu)

Titre : Co-chercheur principal

Nom : Dr Alpha Mahmoud Barry

Organisation : Organisation Santé Plus

Adresse e-mail : [alphaguinea@gmail.com](mailto:alphaguinea@gmail.com)

Téléphone : (+224) 622 64 64 80

Titre : Co-chercheur principal

Nom : M. Zoumana Isaac TRAORE

Organisation : Centre pour la science et la sécurité de la santé mondiale/Université de Georgetown

Adresse e-mail : [zt118@georgetown.edu](mailto:zt118@georgetown.edu)

Titre : Doctorant

### **Qu'advient-il des informations recueillies pour la recherche ?**

Stockage des données :

- Des efforts seront faits pour protéger vos informations personnelles dans la mesure permise par la loi. Cependant, nous ne pouvons garantir une confidentialité absolue.
- Les données, sous forme d'entretiens, seront stockées dans une plate-forme de stockage en ligne protégée par un mot de passe utilisée par l'Université de Georgetown (stockage Box en ligne) avec autorisation de droits d'accès au PI de cette étude.
- Les identifiants, y compris le nom du répondant, le poste/titre, l'organisation et les coordonnées, seront stockés avec les transcriptions lorsque le consentement à divulguer l'identité est disponible.
- Toutefois, dans les cas où le consentement à la divulgation de l'identité n'est pas fourni par les participants, les identifiants seront stockés séparément dans un fichier MS Word/MS Excel dans le dossier Box.

#### Analyse des données :

- Les transcriptions seront analysées pour identifier les idées, expressions et concepts généraux. Les thèmes émergeant des entretiens seront ensuite triangulés avec les conclusions de l'examen documentaire pour improviser les conclusions.

#### Partage de données :

- Les transcriptions des entretiens ne seront fournies qu'aux répondants respectifs, sur demande. Les demandes de transcriptions d'entretiens seront obtenues et approuvées par e-mail par le PI du projet. Aucune donnée ne sera partagée avec une autre partie (à l'exception des personnes interrogées) en dehors de l'équipe de recherche. En cas de demande raisonnable d'utilisation académique des données par toute autre source, des données anonymisées seront partagées. Toutes ces demandes seront adressées au PI pour approbation.
- Les résultats de nos analyses seront partagés avec les personnes interrogées avant leur publication sous quelque forme que ce soit. Le partage ultérieur des résultats avec toute autre partie (y compris leurs organisations respectives, les gouvernements) sera à la discrétion des participants à l'étude.

Vous ne serez identifié dans aucun rapport ou publication résultant de cette étude, à moins que vous ne nous en donniez l'autorisation. En plus des chercheurs et des instituts de recherche menant cette étude, les organisations qui peuvent demander à inspecter et/ou copier vos dossiers de recherche pour l'analyse des données d'assurance qualité et à d'autres fins liées à la recherche et à des fins opérationnelles ou administratives, comprennent des groupes tels que : The Defense Threat Reduction Agency [commanditaire de l'étude de recherche], Georgetown University, Georgetown University Institutional Review Board (IRB), agences fédérales de surveillance de la recherche, etc.

Cependant, les données anonymisées des entretiens pourraient être utilisées pour de futures études de recherche ou distribuées à un autre chercheur pour de futures études de recherche sans votre consentement éclairé supplémentaire.

En participant à l'entretien, je consens à participer à l'étude.

**À remplir par les participants à l'étude** en ce qui concerne l'utilisation des identifiants personnels dans les publications et les rapports :

Veillez sélectionner l'une des options suivantes

J'autorise l'équipe de recherche à utiliser mon nom et mon intitulé de poste dans des documents accessibles au public.

Rapports et publications découlant des résultats de cette étude.

Je ne donne pas à l'équipe de recherche la permission d'utiliser mon nom et mon titre de poste en public

Rapports et publications disponibles qui découlent des résultats de cette étude

---

Nom imprimé Date

## ANNEXE C. ÉTIQUETAGE DES ÉCHANTILLONS D'ANIMAUX ET DES FICHES DE COLLECTE DES DONNÉES.

Les fiches de collecte des données incluses dans le présent document (c.-à-d. les animaux domestiques, les chauves-souris et les rongeurs/musaraignes) ont été conçues pour s'adapter aux flux de travail d'échantillonnage des animaux dans le cadre du Fever Project. La police de caractères gris clair a été utilisée pour fournir des exemples. Nous avons choisi de ne pas étiqueter le type d'échantillon prélevé dans des tubes de 1,5mL contenant 500µL de DNA/RNA Shield™ (c.-à-d. un écouvillon buccal, un écouvillon rectal, du sang total et des ectoparasites) car différentes couleurs d'autocollants de tube (c.-à-d. brun, rouge et vert) ont été appliquées sur le dessus de chaque tube pour la reconnaissance des échantillons.

FEVER PROJECT : FICHE DE COLLECTE DES DONNÉES - ANIMAUX DOMESTIQUES													
Préfecture : Dalaba			Sous-préfecture (ID sous-préfecture) : Mitty (MI)			Site : Seboury		Coordonnées GPS : 10.783, -12.309			Type d'environnement* : Habitat rural		
Identification			Statut physique					Collecte d'échantillons					Remarques
Initiales opérateur	Espèces	ID animal**	Âge†	Sexe (statut)††	Écoulement nasal (oui/pas)	Diarrhée (oui/pas)	Ecto‡	Écouvillon oral (500µL Zymo)	Écouvillon rectal (500µL Zymo)	Sang total (500µL Zymo)	Sang total (papier filtre)	Ecto (500µL Zymo)	
SC	Chèvre	DMI-G1-4.9.23	A	F (N)	Oui	Pas	Tiques	Oui	Oui	Oui	Oui	7 tiques	-
SC	Poulet	DMI-K1-4.9.23	J	M	Pas	Pas	Pas	Oui	Oui	Oui	Oui	Pas	Réhydraté 20mL
SC	Chien	DMI-D1-4.9.23	A	F (E)	Pas	Oui	Puces + Tiques	Oui	Oui	Pas	Pas	2 puces 4 tiques	Chien nerveux, sang non prélevé
CJS	Canard	DMI-U1-5.9.23	A	M	Pas	Pas	Pas	Oui	Oui	Oui	Oui	Pas	-
CJS	Poulet	DMI-K1-5.9.23	A	M	Pas	Pas	Pas	Oui	Oui	Oui	Oui	Pas	-
CJS	Chien	DMI-D1-5.9.23	J	F (N)	Pas	Pas	Tiques	Oui	Oui	Oui	Oui	2 tiques	-

\* Des exemples de types d'environnement sont l'habitat rural, le champ de culture, le centre-ville, la ferme et la forêt.

\*\* ID animal : **DMI-G1-4.9.23 = Dalaba Mitty Chèvre 1 Date (bovin = C ; poulet = K ; chien = D ; canard = U ; chèvre = G ; mouton = S).**

† Âge de l'animal : adulte = A ; juvénile = J.

†† Sexe animal et statut reproducteur : femelle = F (enceinte = E ; allaitement = L ; pas enceinte/allaitement = N) ; mâle = M.

‡ Ectoparasites : tiques, puces, poux et acariens.

FEVER PROJECT : FICHE DE COLLECTE DES DONNÉES - CHAUVES-SOURIS													
Préfecture : Dalaba		Sous-préfecture (ID sous-préfecture) : Mitty (MI)		Site : Seboury		Coordonnées GPS : 10.783, -12.309		Type d'environnement* : Forêt					
Date nuit de piégeage no. 1 : 04.09.23				hh:mm filets japonais installés : 19.45				hh:mm filets japonais enlevés : 00.15					
Date nuit de piégeage no. 2 : 05.09.23				hh:mm filets japonais installés : 19.20				hh:mm filets japonais enlevés : 21.00					
Identification			Statut physique				Collecte d'échantillons					Remarques	
Initiales opérateur	Espèces	ID animal**	Âge†	Sexe (statut)††	Poids animal+sac (juste sac) en grammes	Longueur avant-bras en mm	Ecto‡	Écouvillon oral (500µL Zymo)	Écouvillon rectal (500µL Zymo)	Sang total (500µL Zymo)	Sang total (papier filtre)		Ecto (500µL Zymo)
SC	R. aegyp.	DMI-B1-4.9.23	A	F (N)	130 (12)	94	Tiques	Oui	Oui	Oui	Oui	3 tiques	-
SC	R. aegyp.	DMI-B2-4.9.23	A	M (SC)	163 (12)	100	Pas	Oui	Oui	Oui	Oui	Pas	-
SC	Unknown	DMI-B3-4.9.23	A	F (E)	55 (13)	66	Pas	Oui	Oui	Pas	Pas	Pas	Relâché, faible
SC	H. monst.	DMI-B4-4.9.23	J	F (N)	270 (15)	123	Tiques	Oui	Oui	Oui	Oui	5 tiques	Anesthésié
CJS	Unknown	DMI-B1-5.9.23	J	M (AB)	42 (12)	58	Pas	Oui	Oui	Oui	Oui	Pas	Jus refusé
CJS	Unknown	DMI-B2-5.9.23	A	F (L)	58 (12)	65	Tiques	Oui	Oui	Oui	Oui	1 tique	-
CJS	H. monst.	-	J	F (N)	270 (12)	-	-	Pas	Pas	Pas	Pas	Pas	Relâché, re-capture

\* Des exemples de types d'environnement sont l'habitat rural, le champ de culture, le centre-ville, la ferme et la forêt.

\*\* ID animal : **DMI-B1-4.9.23 = Dalaba Mitty Chauve-Souris 1 Date (chauve-souris = B).**

† Âge de l'animal : adulte = A ; juvénile = J.

†† Sexe animal et statut reproducteur : femelle = F (enceinte = E ; allaitement = L ; pas enceinte/allaitement/reproductive = N) ; mâle = M (testicules abdominaux/pas visibles = AB ; testicules scrotales = SC).

‡ Ectoparasites : tiques, puces et poux.

FEVER PROJECT : FICHE DE COLLECTE DES DONNÉES - RONGEURS (RATS, SOURIS ET MUSARAIGNES)														
Préfecture : Dalaba			Sous-préfecture (ID sous-préfecture) : Mitty (MI)			Site : Seboursy			Coordonnées GPS : 10.783, -12.309			Type d'environnement* : Ferme		
Type et nombre de pièges à l'intérieur par nuit : 60 Sherman									Type et nombre de pièges à l'extérieur par nuit : 40 Sherman + 15 Tomahawk					
Date nuit de piégeage no. 1 : 04.09.23				hh:mm pièges installés : 18.45				hh:mm pièges inspectés : 06.15				Nombre pièges ratés et type : 3 Sherman + 1 Tomahawk		
Date nuit de piégeage no. 2 : 05.09.23				hh:mm pièges installés : 18.30				hh:mm pièges inspectés : 06.30				Nombre pièges ratés et type : 5 Sherman + 0 Tomahawk		
Date nuit de piégeage no. 3 : 06.09.23				hh:mm pièges installés : 18.10				hh:mm pièges inspectés : 06.10				Nombre pièges ratés et type : 1 Sherman + 2 Tomahawk		
Date nuit de piégeage no. 4 : pas fait				hh:mm pièges installés : pas fait				hh:mm pièges inspectés : pas fait				Nombre pièges ratés et type : pas fait		
Identification				Statut physique					Collecte d'échantillons					Remarques
Initiales opérateur	Espèces	ID animal**	Interne/ Externe	Âge†	Sexe (statut)††	Poids animal+sac (juste sac) en grammes	Longueur corps (queue) en mm	Ecto‡	Écouvillon oral (500µL Zymo)	Écouvillon rectal (500µL Zymo)	Sang total (500µL Zymo)	Sang total (papier filtre)	Ecto (500µL Zymo)	
SC	Mastomys	DMI-R1-5.9.23	Interne	A	F (N)	80 (12)	135 (125)	Tiques	Oui	Oui	Oui	Oui	2 tiques	-
SC	Mastomys	DMI-R2-5.9.23	Externe	J	M (AB)	50 (12)	100 (98)	Pas	Oui	Oui	Pas	Pas	Pas	Évadé
SC	Cricetomys	DMI-R3-5.9.23	Externe	A	F (L)	>500g	-	Tiques Hemi merus	Oui	Oui	Oui	Oui	1 tique	Anesthésié
CJS	Crocidura	DMI-M1-6.9.23	Externe	J	F (N)	40 (15)	82 (65)	Puces	Oui	Oui	Oui	Oui	2 puces	Anesthésié
CJS	Unknown	DMI-R1-6.9.23	Externe	A	M (SC)	67 (12)	95 (110)	Pas	Oui	Oui	Oui	Oui	Pas	-
CJS	Cricetomys	-	Externe	A	F (L)	>500g	-	-	Pas	Pas	Pas	Pas	Pas	Relâché, re-capture
CJS	M. musc.	DMI-R1-7.9.23	Interne	A	M (SC)	38 (15)	100 (98)	Tiques	Oui	Oui	Pas	Pas	Pas	Relâché, faible

\* Des exemples de types d'environnement sont l'habitat rural, le champ de culture, le centre-ville, la ferme et la forêt.

\*\* ID animal : DMI-R1-4.9.23 = Dalaba Mitty Rongeur 1 Date (rats et souris = R ; musaraignes = M).

† Âge de l'animal : adulte = A ; juvénile = J.

†† Sexe animal et statut reproducteur : femelle = F (enceinte = E ; allaitement = L ; pas enceinte/allaitement/reproductive = N) ; mâle = M (testicules abdominaux/pas visibles = AB ; testicules scrotales = SC).

‡ Ectoparasites : tiques, puces et poux.