

Protocoles, instructions et formulaires pour l'échantillonnage de l'ADNe

Auteurs :

Annie Claude Bélisle (Conseil de la Première Nation Abitibiwinni, INRS)

Benoît Croteau (Conseil de la Première Nation Abitibiwinni)

Tuan Anh To (INRS)

Julie Couillard (INRS)

Glenn Polson (Conseil de la Première Nation Abitibiwinni)

Julie-Christine Martin (IDDPNQL)

Valérie Langlois (INRS)

Documents préparés pour la formation en ADNe dédiée aux organisations
autochtones à Pikogan, mai 2025

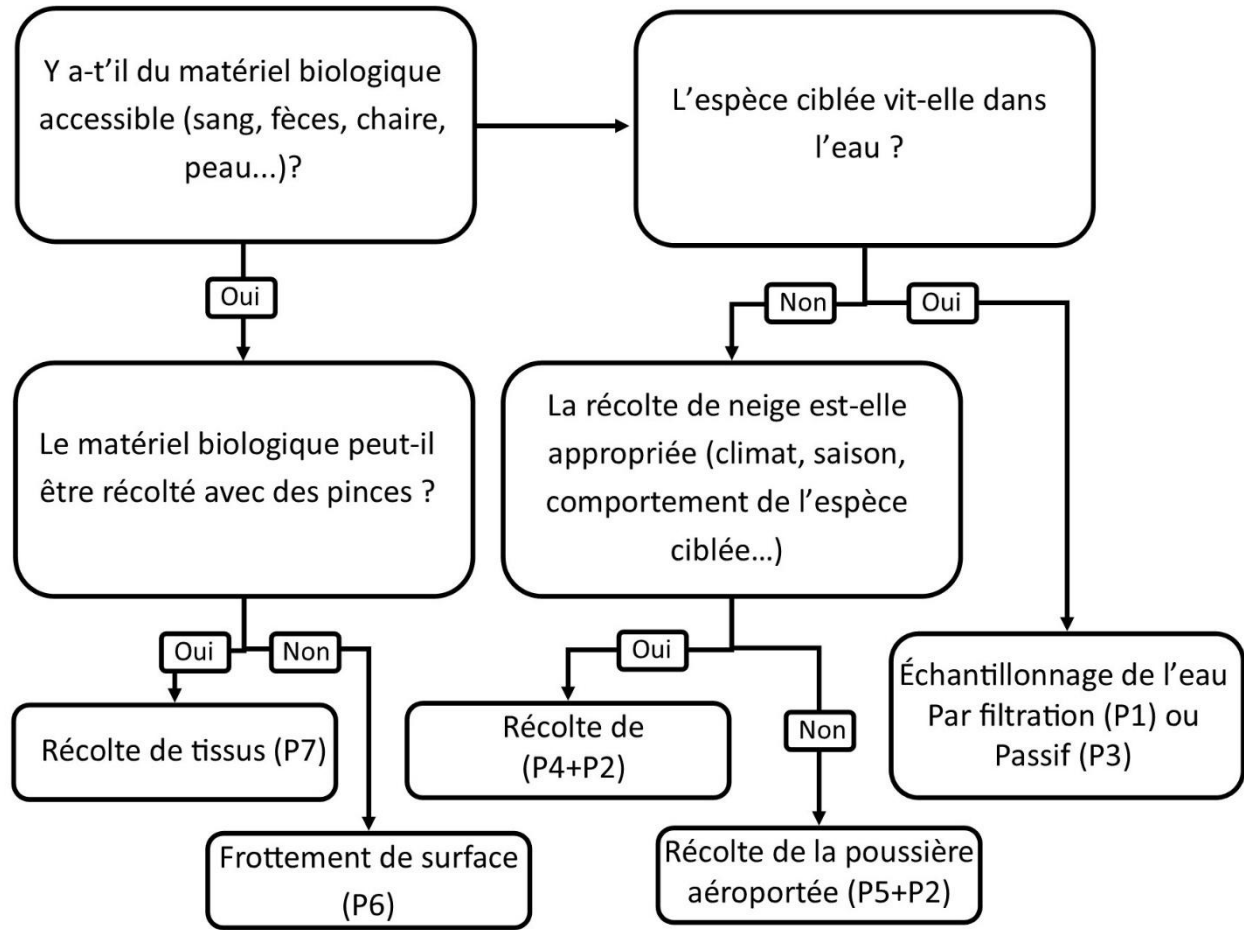
Conseil de la Première Nation Abitibiwinni, IDDPNQL, INRS



Table des matières

Table des matières	1
Choisir la méthode appropriée	1
Protocole 1 : Échantillonnage de l'eau par filtration directe.....	2
Protocole 2 : Filtration d'échantillons d'eau au laboratoire (dans la communauté)	11
Protocole 3 : Échantillonnage passif de l'ADNe dans l'eau	16
Protocole 4 : Échantillonnage de neige de surface pour la récolte d'ADNe.....	25
Protocole 5 : Échantillonnage passif de l'ADNe transporté dans l'air	29
Suivre les étapes du Protocole 2 Filtration au laboratoire (dans la communauté) pour filtrer le contenu des trappes (environ 1 l selon la pluie et l'évaporation). Noter le volume d'eau filtrée, le temps de filtration et toute observation pertinente (Formulaire 1).	33
Protocole 6: Échantillonnage de surfaces par frottement pour la collecte d'ADNe.....	34
Protocole 7 : Échantillonnage de tissus pour la collecte d'ADNe	40
Formulaire 1: Récolte d'échantillons d'ADNe	42
Instructions: Envoi d'échantillons au laboratoire	44

Choisir la méthode appropriée



Protocole 1 : Échantillonnage de l'eau par filtration directe

Adapté du *Protocole d'échantillonnage d'ADNe dans l'eau par bouteille et filtration directe*, préparé par l'équipe de la Pr Valérie Langlois, Version 1.0 – 2024-06-07 et du protocole illustré par Fidji Sandré.

Description

But	Échantillonner l'ADNe dans l'eau à l'aide d'un système de filtration.
Temps	1 visite terrain, calculer 1h00 par station + 1h au laboratoire pour préparer les échantillons.
Personnel	2 personnes
Autre protocole	Aucun
Notes	- Veiller à ne pas contaminer la station d'échantillonnage avec les bottes, les vêtements et le matériel d'échantillonnage.

Matériel terrain

Item	Qté
Perche	1
Système de filtration	1
Rouleau de tuyaux de rechange	1
Filtres-entonnoirs <i>Nalgene Analytical Test Filter Funnels with 0.45 um Cellulose Nitrate Filters [CAT No. 145-2045]</i>	1 par échantillon +1
Sacs refermables « Ziplocs » (format sandwich)	1 par échantillon
Crayons feutres permanents (de type sharpie)	2
Stylos	2
GPS ou téléphone pour prendre les coordonnées géographiques	1
Thermomètre	1
Boîte de gants de latex ou de nitrile non-poudrés	1
Boîte de sacs poubelles	1
Rouleau de papier absorbant	1

Item	Qté
Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
Blocs de froid (ice packs)	3
Glacière	1
Paire de ciseaux	1
Pinces coupantes	1
Ruban adhésif (Duct tape ou tape électrique)	1 rouleau
Eau embouteillée (bouteilles de 1,5l)	3
Formulaire de prise de données (Formulaire 1)	1

Matériel laboratoire

Item	Qté
Solution de javel 10 % (dans un vaporisateur)	
Boîte de gants non poudrés	1
Rouleau de papier absorbant (papier brun)	1
Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
Papiers filtres Whatman™ (ronds, 15 mm diamètre) (Cat No 1 55)	1 par station
Tube polypropylène 50 mL (Javel 50 %)	1
Tube polypropylène 50 mL (eau embouteillée)	1
Crayon marqueur (type Sharpie)	2
Sacs refermables (Ziplocs) (format collation)	1 par station
Enveloppes Manila, Kraft (#1; 5.5 x 9 cm)	1 par éch. +1
Sacs refermables (Ziplocs) larges	1
Paquet de billes de silices	1
Pinces de laboratoire ou pinces à épiler	2
Eau embouteillée (bouteille de 500 ml)	1

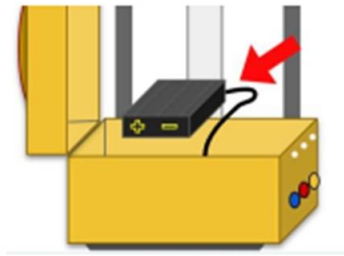
Préparation du matériel terrain

Le système de filtration directe comporte trois pompes et deux batteries 12V dans une boîte *Pelican* adaptée. Trois longs tubes sont connectés au côté « In » de la boîte et servent à acheminer l'eau de l'environnement à travers les trois filtres. Les tubes sont connectés aux filtres (qui recueillent l'ADNe) par des adaptateurs de plastique. Trois tubes courts sont connectés au côté « Out » et servent à évacuer l'eau qui a déjà été filtrée. L'eau est évacuée dans des bouteilles afin d'en mesurer le volume et d'éviter les dégâts. Une perche est utilisée afin de submerger les filtres et de les maintenir en place. Des interrupteurs servent à activer et à éteindre les pompes.

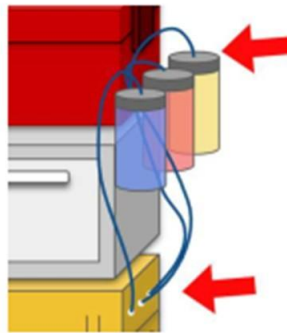
Préparer le système de filtration (Figure 1):

1. Charger les batteries du système de filtration.
2. Brancher la batterie à l'intérieur de la boîte et vérifier le bon fonctionnement des pompes.
3. Brancher les tuyaux de sortie (courts) aux bouteilles de collecte (côté OUT) (respecter le code couleur).
4. Brancher les tuyaux d'entrée (longs) sur la pompe et installer les embouts (côté IN) (respecter le code couleur).
5. Monter la perche.

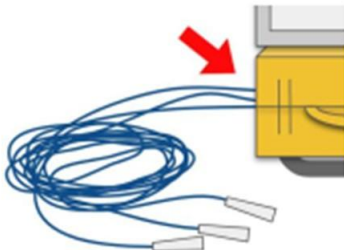
1-2.



3.



4.



5.



Figure 1.1 Préparation du système de filtration (crédit Fidji Sandré)

Récolte des échantillons

À l'arrivée à la station d'échantillonnage (Figure 2)

1. Enfiler des gants
2. Nettoyer la perche, les tuyaux et les embouts avec la solution de javel 10 % et le papier absorbant.
3. Conditionner le système de filtration en amont de la station d'échantillonnage.
Immerger les embouts et faire fonctionner la pompe 30 secondes afin que le système se remplisse d'eau.
4. Éteindre la pompe, sortir les embouts de l'eau et vider les bouteilles.

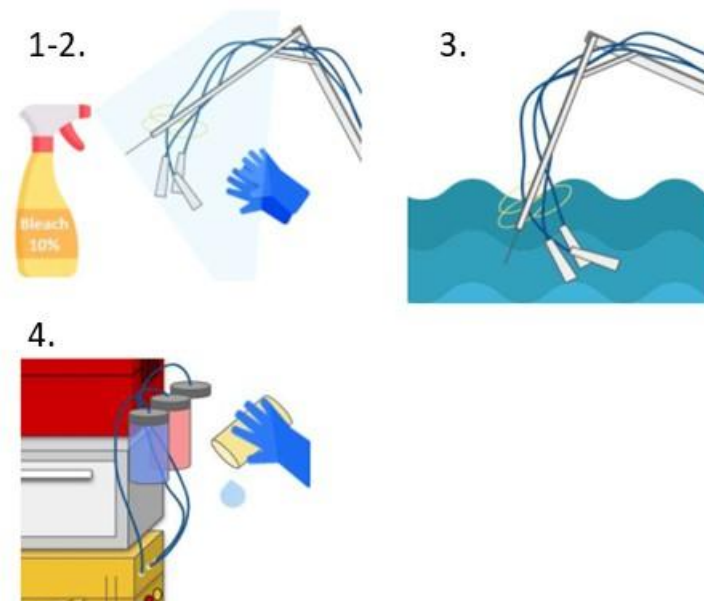
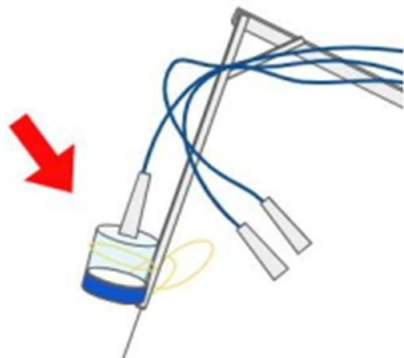


Figure 1.2 Préparation de la filtration (crédit Fidji Sandré)

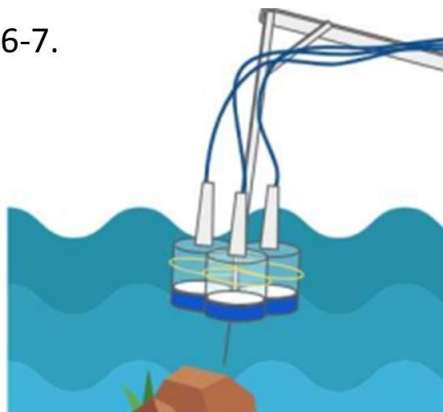
Filtration (Figure 3)

5. Fixer les entonnoirs-filtres sur la perche et connecter les embouts en pesant fermement. Conserver les couvercles dans un endroit propre (enveloppe d'origine, Ziploc)
6. Plonger les entonnoirs-filtres dans l'eau et enlever les bulles d'air dans les entonnoirs en inclinant la perche. Attention à ne pas remuer les sédiments qui viendraient colmater le filtre. La tige empêche les entonnoirs de toucher le fond.
7. Activer les pompes et filtrer 1L d'eau, ou durant 30 minutes. Il se peut que les filtres soient colmatés et que l'eau ne circule plus. Si l'eau ne s'écoule plus (aucune goutte, pas de mouvements de bulles dans les tubes), éteindre la pompe.
8. Une fois la filtration terminée, sortir la perche de l'eau et laisser la pompe en marche 3 minutes pour sécher les filtres.
9. Éteindre la pompe. Retirer les entonnoirs-filtres un à un, remettre les couvercles et placer les entonnoirs-filtres dans des Ziplocs individuels. Inscrire le numéro d'échantillon et le volume filtré sur le Ziploc avec le crayon feutre permanent. Placer les Ziplocs dans la glacière. Remplir le formulaire de données (Formulaire 1).

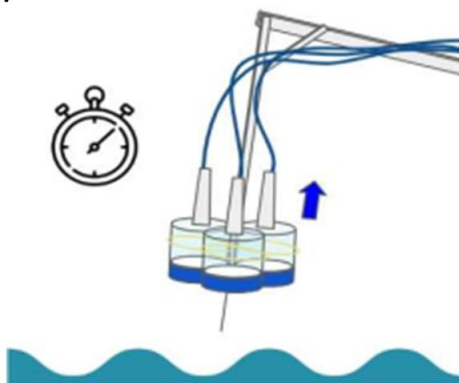
5.



6-7.



8.



9.



Figure 1.3 Étapes pour la filtration de l'eau sur le terrain (crédit Fidji Sandré)

Préparation des échantillons

À la fin de la journée, de retour au bureau / laboratoire (Figure 4):

1. Enfiler des gants
2. Désinfecter la table de travail avec la solution de javel 10 %. Bien essuyer.
3. Pré-identifier une enveloppe par échantillon (+ 1 échantillon « blanc »). Inscrire le numéro d'échantillon, le volume filtré et les initiales de la personne responsable. L'échantillon blanc sera identifié « Blk » avec la date.
4. Mettre à disposition tout le matériel de laboratoire (voir Figure 4).
5. Réaliser un échantillon « blanc » en filtrant le contenu d'une bouteille d'eau embouteillée (500 ml) (vider l'eau directement dans le filtre entonnoir).
6. Disposer un filtre de papier Whatman™ sur la table avec les pinces désinfectées, rincées et séchées. Le papier doit être changé entre les échantillons ou les stations, selon le design expérimental.
7. Entre chaque échantillon, désinfecter les pinces selon la procédure suivante :
 - a. Tremper les pinces dans le tube contenant la solution javel 50 %;
 - b. Tremper les pinces dans le tube contenant l'eau;
 - c. Essuyer les pinces avec du papier absorbant.

Attention! Le javel détruit l'ADN

8. Séparer l'entonnoir de la bague en faisant attention à ne pas expulser ou abimer le filtre à l'intérieur.
9. Retirer le filtre délicatement avec les pinces et le déposer sur le papier. Plier le filtre en deux et le placer dans l'enveloppe correspondante. Nettoyer les pinces entre chaque échantillon (voir étape 7).
10. Disposer les trois enveloppes d'une même station dans un sac Ziploc avec une cuillère à soupe de billes de silice.
11. Placer les échantillons au congélateur (-20 °C) jusqu'à leur envoi au laboratoire.
12. Une fois la campagne terrain terminée, expédier les échantillons au laboratoire choisi (INRS ou autre) selon le document *Instructions : Envoi des échantillons au laboratoire*.

4.



9.



10.

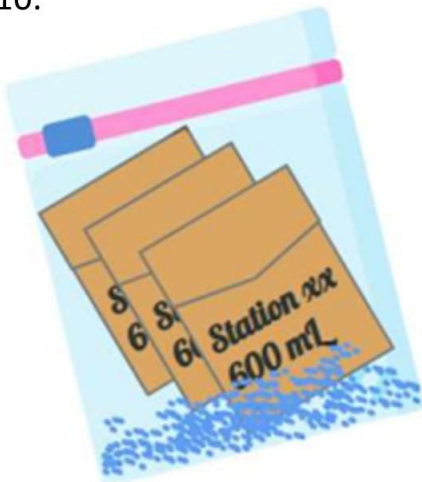


Figure 1.4 Préparation des filtres

Référence

Bélisle, Annie Claude, Croteau, Benoit, To, Tuan Anh, Polson, Glenn, Couillard, Julie, Langlois, Valérie (soumis). Tracking terrestrial wildlife with eDNA: methods designed by and for Indigenous organizations. *Journal of Applied Ecology*.

Protocole 2 : Filtration d'échantillons d'eau au laboratoire (dans la communauté)

Adapté du *Protocole échantillonnage d'ADNe dans l'eau par bouteille et filtration directe*, par l'équipe de la Pr Valérie Langlois, Version 1.0 – 2024-06-07 et du protocole illustré associé par Fidji Sandré.

Description

But	Filtrer l'eau récoltée sur le terrain (échantillon de neige, de poussière, etc) pour recueillir l'ADNe qu'elle contient
Temps	45 minutes par station (3 échantillons)
Personnel	1 personne
Autre protocole	Aucun

Matériel

Item	Qté
Boîte de gants non poudrés	1
Rouleau de papier absorbant (papier brun)	1
Système de filtration (voir Protocole 1)	1
Filtres-entonnoirs Nalgene Analytical Test Filter Funnels with 0.45 um Cellulose Nitrate Filters [CAT No. 145-2045]	1 par échantillon +1
Support pour les filtres (si nécessaire, fait maison ou support de laboratoire)	1
Papiers filtres Whatman™ (ronds, 15 mm diamètre) (Cat No 1 1 55)	1 par échantillon+1
Tube polypropylène 50 mL Javel 50 %	1
Tube polypropylène 50 ml Eau embouteillée	1
Crayon feutre permanent (Sharpie)	2
Sacs refermables (Ziploc) format sandwich	1 par station +1
Enveloppes Manila, Kraft (#1; 5.5 x 9 cm)	1 par échantillon+1
Boîte de sacs refermables (Ziplocs) larges	1

Item	Qté
Contenant de billes de silice	1
Eau embouteillée (bouteille de 500 ml)	1 par jour
Pinces de laboratoire /pinces à écharde	2
Morceaux de moustiquaire neufs (si besoin de préfiltrer l'échantillon)	1 par échantillon
Contenants de 1L (si besoin de préfiltrer l'échantillon)	1 par échantillon

Préparation du système de filtration

Système de filtration

Le système de filtration directe comporte trois pompes et deux batteries 12V dans une boîte *Pelican* adaptée. Trois longs tubes sont connectés au côté « In » de la boîte et servent à acheminer l'eau de l'environnement à travers les trois filtres. Les tubes sont connectés aux filtres (qui recueillent l'ADNe) par des adaptateurs de plastique. Trois tubes courts sont connectés au côté « Out » et servent à évacuer l'eau qui a déjà été filtrée. L'eau est évacuée dans des bouteilles afin d'en mesurer le volume et d'éviter les dégâts. Des interrupteurs servent à activer et à éteindre les pompes.

Préparer le système de filtration (Fig. 1.1):

1. Charger les batteries du système de filtration.
2. Brancher la batterie à l'intérieur de la boîte et vérifier le bon fonctionnement.
3. Brancher les tuyaux de sortie (courts) aux bouteilles de collecte (côté OUT) (respecter le code couleur).
4. Brancher les tuyaux d'entrée (longs) sur la pompe et installer les embouts (côté IN) (respecter le code couleur).

Filtration des échantillons

1. Enfiler des gants et travailler dans un endroit propre. Désinfecter les surfaces avec la solution de javel 10 % et essuyer avec du papier absorbant.
2. Conditionner le système de filtration en pompant de l'eau propre (dans un seau).
3. Éteindre la pompe et vider les bouteilles.
4. Nettoyer les tuyaux (extérieur) et les embouts avec la solution de javel 10 % et le papier absorbant.

5. Connecter les embouts aux filtres entonnoirs en pesant très fermement. Conserver les couvercles dans un endroit propre (enveloppe d'origine, Ziploc).
6. Réaliser un échantillon « blanc » en filtrant le contenu d'une bouteille d'eau embouteillée (500 ml) (vider l'eau directement dans le filtre entonnoir).
7. Si possible, plonger les entonnoirs-filtres dans l'eau directement dans le seau. Si non, installer les filtres sur un support pour les conserver en position verticale. Verser les échantillons directement dans le filtre. Si nécessaire, utiliser un contenant en verre nettoyé préalablement avec la solution javel 10 % et rincé trois fois à grande eau (eau embouteillée), couvert d'une moustiquaire neuve pour filtrer les débris (si nécessaire) (Figure 2.1).
8. Démarrer la pompe et filtrer 1L d'eau, ou durant 30 minutes. Il se peut que les filtres soient colmatés et que l'eau ne circule plus. Si l'eau ne s'écoule plus (aucune goutte, pas de mouvements de bulle dans les tubes), éteindre la pompe.
9. Une fois la filtration terminée, laisser la pompe en marche une minute pour sécher les filtres. S'il reste de l'eau qui n'a pu être filtrée, la jeter et filtrer une minute à vide.
10. Éteindre la pompe. Retirer les entonnoirs-filtres un à un et remettre les couvercles. Préparer les échantillons immédiatement.
11. Remplir le formulaire de prise de données – noter le volume filtré pour chaque échantillon (Formulaire 1).

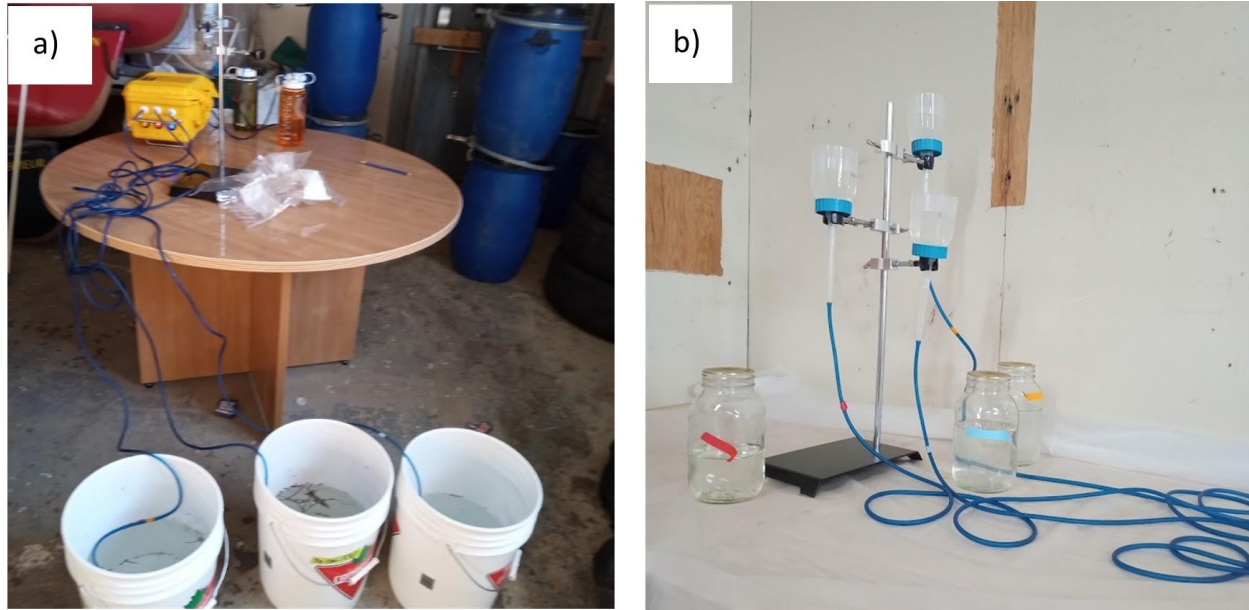


Fig. 2.1 Filtration au laboratoire a) directement dans les seaux et b) sur un support

Préparation des échantillons (Fig. 1.4)

1. Enfiler des gants et travailler dans un endroit propre. Désinfecter les surfaces avec la solution de javel 10 % et essuyer avec du papier absorbant.
2. Pré-identifier une enveloppe par échantillon (+ 1 échantillon « blanc »). Incrire le numéro d'échantillon, le volume filtré et les initiales de la personne responsable. L'échantillon blanc sera identifié « Blk » avec la date.
3. Mettre à disposition tout le matériel de laboratoire (Fig. 1.4).
4. Préparer l'échantillon « blanc » en premier (filtration d'eau embouteillée).
5. Disposer un filtre de papier Whatman™ sur la table avec les pinces préalablement désinfectées (voir point 6.). Les filtres d'une même station seront déposés sur le même papier. Le papier doit être changé entre les stations ou les échantillons, selon le design expérimental.
6. Entre chaque échantillon, désinfecter les pinces selon la procédure suivante :
 - a. Tremper les pinces dans le tube contenant la solution javel 50 %;
 - b. Tremper les pinces dans le tube contenant l'eau;
 - c. Essuyer les pinces avec du papier absorbant.

Attention! Le javel détruit l'ADN

7. Séparer l'entonnoir de la bague (bleue) en faisant attention à ne pas expulser ou abimer le filtre à l'intérieur.

8. Retirer le filtre délicatement avec les pinces, le plier en deux et le placer dans l'enveloppe correspondante.
9. Disposer les trois enveloppes d'une même station dans un sac Ziploc avec une cuillère à soupe de billes de silice.
10. Placer les échantillons au congélateur (-20 °C) jusqu'à leur envoi au laboratoire.
11. Une fois la campagne terrain terminée, expédier les échantillons au laboratoire choisi (INRS ou autre) en suivant les *Instructions pour l'envoi d'échantillon au laboratoire*.

Référence

Bélisle, Annie Claude, Croteau, Benoit, To, Tuan Anh, Polson, Glenn, Couillard, Julie, Langlois, Valérie, (soumis). Tracking terrestrial wildlife with environmental DNA: methods designed by and for Indigenous organizations. *Journal of Applied Ecology*.

Protocole 3 : Échantillonnage passif de l'ADNe dans l'eau

Adapté de Protocole d'échantillonnage passif d'ADNe avec membranes dans une balle (Pickleballs), Langlois Lab Version 1.0 – 2024-06-07

Description

But	Échantillonner l'ADNe dans l'eau sans avoir recours à un système de filtration.
Temps	2 visites terrain à 24h d'intervalle et environ 1h au laboratoire pour traiter les échantillons.
Personnel	1-2 personnes (le travail peut être réalisé seul si le contexte est sécuritaire).
Notes	- Veiller à ne pas contaminer la station d'échantillonnage avec les bottes et les vêtements.
Autre protocole	Aucun

Matériel terrain

Item	Qté
Sacs refermables « Ziplocs » (grand format)	1 par station
Crayons feutres permanents (de type sharpie)	2
Stylos	2
GPS ou téléphone pour prendre les coordonnées géographiques	1
Thermomètre	1
Boîte de gants non-poudrés	1
Boîte de sacs poubelles	1
Rouleau de papier absorbant	1
Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
Blocs de froid (ice packs)	5
Glacière	1
Paire de ciseaux	1
Pinces coupantes	1
Ruban adhésif (Duct tape)	1

	Item	Qté
	Eau embouteillée (bouteilles de 1,5l)	3
	Système ancre-bouée	1 par station
	Attaches autobloquantes (tie-wrap) (petites)	1 par échantillon.
	Membranes de microfibres de verre (Glass Microfiber Free Grade GF/F, 47 mm *)	1 par échantillon+1
	Formulaire de prise de données (Formulaire 1)	1

Matériel laboratoire

	Item	Qté
	Boîte de gants non poudrés	1
	Papier absorbant (papier brun)	1
	Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	
	Papiers filtres Whatman™ (ronds, 15 mm diamètre) (Cat No 1 1 55)	1 par station
	Tube polypropylène 50 ml (Javel 50 %)	1
	Tube polypropylène 50 ml (eau embouteillée)	1
	Crayon feutre permanent (type Sharpie)	2
	Sacs refermables (Ziploc) (format collation)	1 par station
	Enveloppes Manila, Kraft (#1; 5.5 x 9 cm)	1 par échantillon+1
	Sac refermable (Ziploc) large	1
	Contenant de billes de silice	1
	Pincettes de laboratoire ou pincettes à écharde	2
	Savon à vaisselle et bouteilles d'eau embouteillée (4l) pour le nettoyage	

Préparation du matériel terrain

Fabrication du système ancre-bouée

Le système ancre-bouée doit permettre aux membranes de demeurer immergées à environ 30cm sous la surface de l'eau sans se toucher (Fig. 3.1).

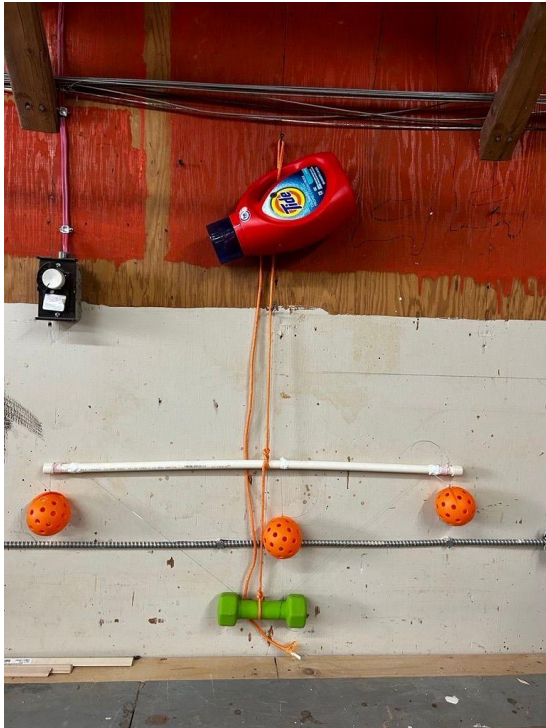


Fig. 3.1 Exemple d'un système ancre-bouée pour l'échantillonnage passif de l'eau

- Équipement pour fabriquer le système ancre-bouée

Item	Qté
Tuyau de pvc d'environ 1m avec bouchons aux deux extrémités	1 par station
Balles trouées (type pickleball ou hockey cosum)	3 par station
Petites attaches de plastique de type tie-wrap)	3 par station
Bouée (bouteille d'eau peinte en jaune, par exemple)	1
Ancre (altère de 2 lbs, par exemple)	1
Corde de nylon (pour faciliter le lavage)	
Fil à pêche	1 bobine

Marche à suivre

1. Attacher trois morceaux de fil à pêche d'environ 30 cm sur le tuyau de pvc (extrémités bouchées avec un bouchon), un à chaque extrémité et un au centre.
2. Fixer les trois fils à pêche avec le ruban adhésif pour qu'ils ne se déplacent pas le long du tuyau.
3. Attacher la bouée aux deux extrémités du tuyau avec une corde de nylon propre afin qu'il y ait une distance d'environ 40 cm entre la bouée et le tuyau.
4. Attacher l'ancre au centre du tuyau. Si la profondeur du site d'échantillonnage est connue, ajuster la longueur de la corde pour que le tuyau soit maintenu à environ 40 cm sous la surface. Si la profondeur est inconnue, prévoir suffisamment de corde et ajuster la longueur sur le terrain.

Nettoyage et préparation de l'équipement (Fig. 3.2)

1. Découper les balles en deux moitiés en laissant une portion attachée pour que les moitiés ne se séparent pas (en utilisant une scie à ruban, par exemple) (Fig 3.2b).
2. Porter des gants pour le nettoyage de l'équipement. Les balles et le système ancre-bouée doivent être nettoyés à l'eau et au savon à vaisselle puis désinfectés avec la solution de javel 10 % et rincés à grande eau trois fois avec de l'eau embouteillée. Une fois lavés et désinfectés, placer les systèmes ancre-bouée dans un sac poubelle neuf (sans les balles).
3. Insérer une membrane dans chaque balle puis refermer à l'aide d'une attache de plastique de type tie-wrap (Fig. 3.2 c-f). Placer les balles dans un grand Ziploc neuf.

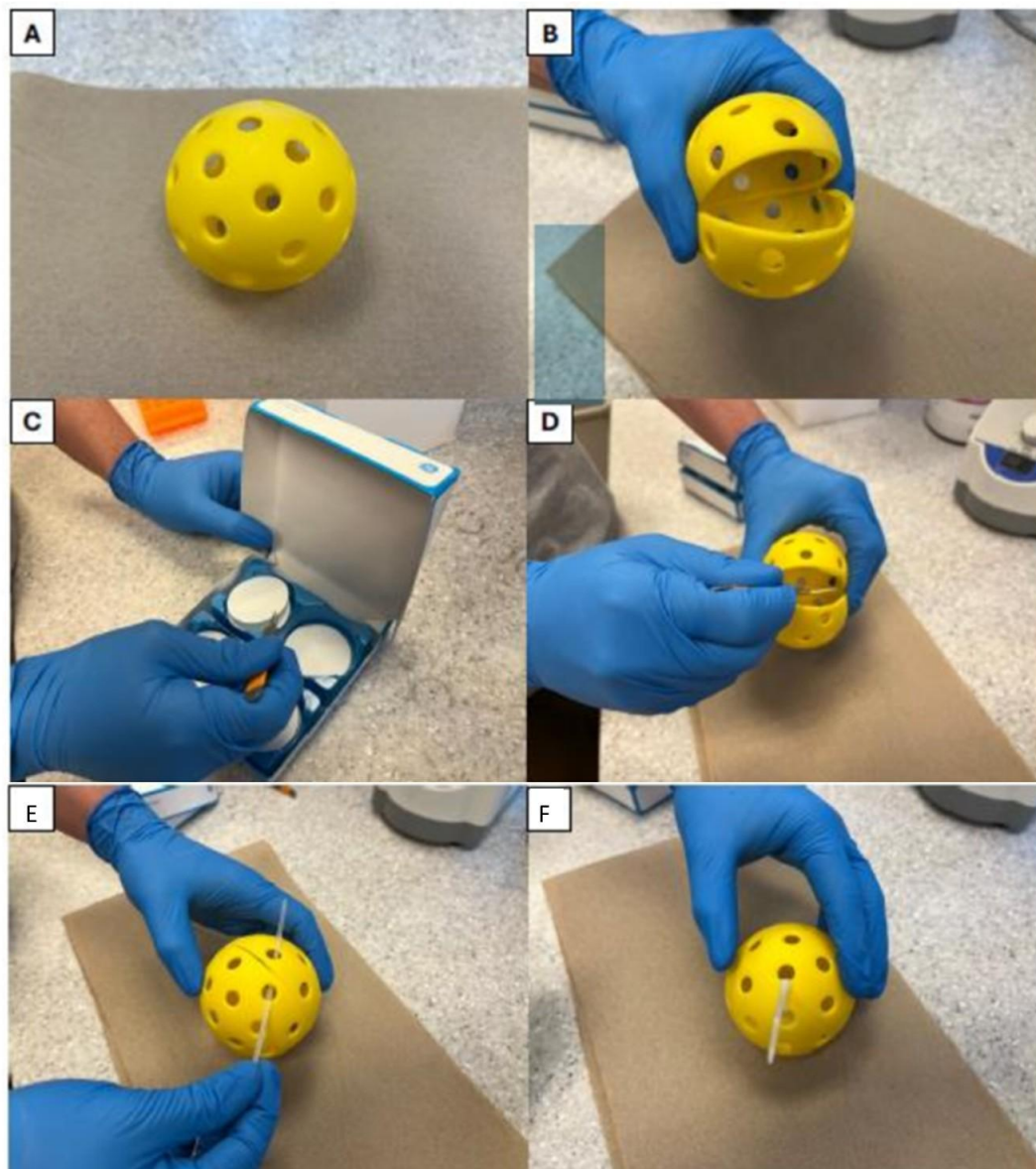


Fig. 3.2 Insertion des membranes dans les balles coupées

Récolte des échantillons

Installation du système ancre-bouée

1. Enfiler des gants.
2. Fixer trois balles contenant une membrane au système ancre-bouée avec les fils à pêche. S'assurer que la distance entre la balle et le tuyau ne dépasse pas 10 cm.
3. Disposer le système ancre-bouée dans l'eau en évitant de contaminer la station (attention aux bottes dans l'eau, bateau, etc.). Les balles devraient se trouver à environ 30 cm sous la surface (Figure 3). S'assurer que le dispositif soit accessible au moment de le récupérer.
4. **Laisser les membranes immergées 24h**



Fig. 3.3 Balles immergées et maintenues en place par le système ancre-bouée

Récupération des balles et préparation des échantillons

Sur le terrain

1. Enfiler des gants.
2. Récupérer système ancre-bouée en évitant la contamination.
3. Avant de déposer le tuyau, couper les fils à pêche et placer les trois balles dans un grand Ziploc identifié avec l'identifiant de la station.
4. Essuyer le Ziploc avec la solution de javel et le placer au frais dans la glacière jusqu'à la préparation des échantillons, le jour même.

Au laboratoire (de la communauté)

5. S'installer dans un endroit propre pour récupérer les filtres. Nettoyer la table de travail avec la solution de javel 10 % et bien essuyer.
6. Préparer une table de travail avec tout l'équipement (voir Fig. 1.5).
7. Préparer une enveloppe par échantillon (ID échantillon, no réplikat - date - initiales) et une enveloppe pour l'échantillon « blanc » avec l'identifiant BLK, la date et les initiales.
8. Désinfecter les pinces au début puis entre chaque échantillon en suivant les étapes suivantes :
 - a) Tremper les pinces dans le tube contenant la solution de javel 50 %.
 - b) Tremper les pinces dans le tube contenant de l'eau.
 - c) Essuyer les pinces avec du papier absorbant
9. Récupérer les filtres de chaque balle :
 - a. Préparer d'abord un échantillon « blanc » à partir d'une membrane inutilisée insérée dans l'enveloppe préidentifiée.
 - b. Ouvrir la balle en retirant le tie-wrap à l'aide de ciseaux ou de pinces propres.
 - c. À l'aide de pinces (préalablement nettoyées avec l'eau de Javel 10 % et rincées à l'eau embouteillée), sortir le filtre.
 - d. Laisser sécher le filtre (essuyer l'excédent sur un papier filtre Whatman en touchant légèrement le rebord de la membrane sur le papier, ne pas déposer complètement la membrane sur le papier).
 - e. Placer le filtre dans une petite enveloppe pré-identifiée. Disposer les trois enveloppes d'une même station dans un sac Ziploc (format collation) contenant une cuillère à soupe de billes de silice.
 - f. Répéter pour les autres filtres.

10. Placer les échantillons au congélateur (-20 °C) jusqu'à leur envoi au laboratoire dans un gros sac Ziploc.
11. Une fois la campagne terrain terminée, expédier les échantillons au laboratoire choisi (INRS ou autre) dans une boîte contenant un bloc de glace (ice-pack). Acheminer les échantillons au laboratoire selon les *Instructions pour l'envoi d'échantillons au laboratoire*.

Référence

Bélisle, Annie Claude, Croteau, Benoit, To, Tuan Anh, Polson, Glenn, Couillard, Julie, Langlois, Valérie (soumis). Tracking terrestrial wildlife with environmental DNA: methods designed by and for Indigenous organizations. *Journal of Applied Ecology*.

Protocole 4 : Échantillonnage de neige de surface pour la récolte d'ADNe

Description

But	Échantillonner la neige de surface afin d'y détecter la présence d'ADN de mammifères terrestres.
Temps	Deux journées de travail : une journée d'échantillonnage et une journée de laboratoire une fois la neige fondue
Personnel	2-3 personnes
Autre protocole	- Protocole 2 Filtration d'échantillons d'eau au laboratoire (dans la communauté)
Notes	- Choisir des journées d'échantillonnage où la température n'est pas trop froide ou prévoir un lieu tempéré pour nettoyer l'équipement

Matériel Terrain

	Item	Qté
	Crayon marqueur permanent (type sharpie)	2
	Stylos	2
	GPS ou téléphone pour prendre les coordonnées géographiques	1
	Boîte de gants non-poudrés	1
	Boîte de sacs poubelles	1
	Rouleau de papier absorbant	1
	Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
	Eau embouteillée (bouteilles de 1,5 l)	3
	Formulaire de prise de données	1
	Seaux de plastique de qualité alimentaire de 19 l	1 par échantillon
	Pelle à neige de plastique	1
	Quadrat 1 m x 1 m (tuyaux de pvc assemblés en carré)	1

	Item	Qté
	Crayon marqueur permanent (type sharpie)	2
	Eau embouteillée (bouteille de 4 l) (pour le nettoyage)	1 par station
	Savon à vaisselle liquide (pour le nettoyage)	

Matériel laboratoire

Voir Protocole 2 Filtration d'échantillons au laboratoire (dans la communauté)

Préparation de l'équipement terrain

1. Enfiler des gants propres. Travailler dans un environnement propre et désinfecter les surfaces avec la solution de javel 10 %.
2. Nettoyer les seaux à l'eau et au savon à vaisselle puis les désinfecter avec la solution de javel 10 %. Rincer à grande eau trois fois avec de l'eau embouteillée.
3. Refermer les seaux désinfectés et ne pas les ouvrir avant d'arriver à la station d'échantillonnage.
4. Identifier chaque seau avec l'identifiant de l'échantillon (station – réplikat) inscrit sur un ruban adhésif.
5. Désinfecter l'extérieur des seaux avec la solution d'eau de javel 10 % et les ranger dans un sac poubelle neuf pour le transport (un sac par station).
6. Désinfecter tout l'équipement qui sera déployé sur le terrain (quadrat, pelle, seaux, vaporisateur) avec la solution d'eau de javel 10 % et le ranger dans des sacs poubelle neufs (pour éviter une contamination durant le transport).

Récolte des échantillons

1. Arrivé à la station d'échantillonnage, attention à ne pas contaminer l'environnement. Désinfecter à nouveau l'équipement (pelle, quadrat) et les gants avec la solution d'eau de javel 10 %. Bien essuyer pour enlever les traces d'eau de javel.
2. Pelleter quelques fois dans la station à l'extérieur de la zone planifiée pour le quadrat pour nettoyer les traces d'eau de javel sur la pelle.
3. Disposer le quadrat à l'endroit souhaité (viser les traces et autres signes de présence, s'il y a lieu). Récolter les 10 cm de neige de surface dans le quadrat et compacter la

- neige dans le seau (la profondeur peut varier en fonction de la compaction de la neige). Remplir le seau et le refermer (Fig 4.1).
4. Conserver les échantillons de neige congelés jusqu'à leur préparation (congélateur ou extérieur si la météo le permet).



Fig. 4.1 Échantillonnage de la neige de surface

Préparation des échantillons

1. Décongeler les échantillons à température ambiante (peut prendre toute une nuit) en conservant les seaux fermés.
2. Préparer le système de filtration selon le Protocole 2 Filtration d'échantillons d'eau au laboratoire (dans la communauté). Travailler dans un endroit propre.
3. Enfiler des gants et désinfecter toutes les surfaces avec la solution de javel 10 %.

4. Réaliser une filtration à blanc avec un de l'eau embouteillée (500 ml). Le blanc suivra les échantillons au laboratoire. Inscrire « Blk » et la date sur l'enveloppe.
5. Une fois toute la neige fondue, agiter les seaux et les ouvrir (une station à la fois).
6. Suivre les étapes du Protocole 2 Filtration d'échantillons d'eau au laboratoire (dans la communauté) pour filtrer la neige fondue de chaque échantillon, directement dans le seau (Fig. 4.2). Noter le volume d'eau filtrée, le temps de filtration et toute observation pertinente sur le formulaire de prise de données (Formulaire 1)



Fig. 4.2 Filtration de la neige fondue directement dans les seaux

Référence

Bélisle, Annie Claude, Croteau, Benoit, To, Tuan Anh, Polson, Glenn, Couillard, Julie, Langlois, Valérie (soumis). Tracking terrestrial wildlife with environmental DNA: methods designed by and for Indigenous organizations. *Journal of Applied Ecology*.

Protocol 5 : Échantillonnage passif de l'ADNe transporté dans l'air

Description

But	Échantillonner la poussière transportée par l'air qui se dépose au sol afin d'y détecter la présence d'ADN de mammifères terrestres d'intérêt.
Temps	2 visites terrain à 4-5 jours d'intervalle et quelques heures au laboratoire pour traiter les échantillons.
Personnel	2-3 personnes
Autres protocoles	Protocole 2 Filtration d'échantillons d'eau (dans la communauté)
Notes	- Veiller à ne pas contaminer la station d'échantillonnage avec les bottes et les vêtements.

Matériel terrain

Item	Qté
Crayons feutres permanents (de type sharpie)	2
Stylos	2
GPS ou téléphone pour prendre les coordonnées géographiques	1
Boîte de gants non-poudrés	1
Boîte de sacs poubelles	1
Rouleau de papier absorbant	1
Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
Blocs de froid (ice packs)	5
Pinces coupantes	1
Eau embouteillée (bouteilles de 1,5 l)	3
Seaux de plastique de qualité alimentaire de 7,5 l	1 par échantillon
Carrés de moustiquaire 16 po x 16 po	1 par échantillon
Attaches de plastique de type tie-wrap longs	3 par échantillon

	Item	Qté
	Eau embouteillée (bouteille de 500 ml)	2 par échantillon
	Élastiques à crochet de type bungee	2 par échantillon
	Eau embouteillée (bouteille de 4l) pour le nettoyage	1 par station
	Savon à vaisselle liquide (pour le nettoyage)	

Matériel de laboratoire

Voir Protocole 2 Filtration d'échantillons au laboratoire (dans la communauté)

Préparation du matériel terrain

1. Enfiler des gants. Travailler dans un environnement propre et désinfecter les surfaces avec la solution de javel 10 % et bien essuyer.
2. Nettoyer les seaux à l'eau et au savon à vaisselle puis les désinfecter avec la solution de javel 10 %. Rincer à grande eau trois fois avec de l'eau embouteillée.
3. Refermer les seaux désinfectés et ne pas les ouvrir avant d'arriver à la station d'échantillonnage.
4. Identifier chaque seau et chaque couvercle avec l'identifiant de l'échantillon (station – réplikat) sur un ruban adhésif.
5. Désinfecter l'extérieur des seaux avec la solution d'eau de javel 10 % et les ranger dans un sac poubelle neuf pour le transport (un sac par station).
6. Découper des carrés de moustiquaire neufs sur une surface propre en utilisant des ciseaux désinfectés. Entreposer les carrés de moustiquaire dans un Ziploc propre pour le transport.
7. Désinfecter la glacière et l'équipement qui sera transporté sur le terrain (javel 10 %)

Récolte des échantillons

Installation des trappes

1. Enfiler des gants et travailler dans un environnement propre. Désinfecter la surface de travail avec la solution de javel 10 % et bien essuyer avec le papier absorbant.
2. Ouvrir le seau et installer la moustiquaire avec les attaches de plastique (tie-wrap) pour couvrir toute la surface (il faut être deux personnes) (Fig. 5.1).
3. À chaque station, installer trois trappes sur des arbres, poteaux ou autre objet fixe pour éviter que des animaux ne les renversent. Les seaux peuvent être disposés au sol ou en hauteur selon le contexte (évaluer le risque d'interaction avec la faune et la taille des

espèces ciblées). Disposer les seaux afin de maximiser les chances de présence d'individu de l'espèce ciblée (appât si pertinent).

4. Vider 500 ml d'eau embouteillée au fond du seau
5. Laisser la trappe sur place 4-5 jours



Fig. 5. 1 Trappe à poussière

Récolte des trappes

1. Enfiler des gants.
2. Rincer la moustiquaire avec 500ml d'eau embouteillée (qui tombera dans la trappe) et retirer l'appât olfactif.
3. Refermer le seau avec un couvercle propre
4. Placer les seaux au frais (sur « ice pack ») jusqu'à leur filtration au laboratoire le jour même.

Préparation des échantillons

Suivre les étapes du Protocole 2 Filtration au laboratoire (dans la communauté) pour filtrer le contenu des trappes (environ 1 l selon la pluie et l'évaporation). Noter le volume d'eau filtrée, le temps de filtration et toute observation pertinente (Formulaire 1).

Référence

Bélisle, Annie Claude, Croteau, Benoit, To, Tuan Anh, Polson, Glenn, Couillard, Julie, Langlois, Valérie (soumis). Tracking terrestrial wildlife with environmental DNA: methods designed by and for Indigenous organizations. *Journal of Applied Ecology*.

Protocol 6: Échantillonnage de surfaces par frottement pour la collecte d'ADNe

Adapté de SOP#116 (Artificial cover object swabbing for eDNA recovery), iTrackDNA SOP Manual, Helbing lab, 2021.

Description

But	Échantillonner l'ADNe d'espèces terrestres ou aquatiques à partir de matériel biologique laissé par un individu sous forme de dépôt sur une surface.
Temps	Une seule visite terrain. Les échantillons peuvent être préparés sur le terrain directement en quelques minutes.
Personnel	1-2 personnes (le travail peut être réalisé seul si le contexte est sécuritaire).
Notes	- La collecte de dépôt est appropriée lorsque le matériel biologique est trop petit ou trop friable pour être prélevé avec des pinces.
Autre protocole	Aucun

Matériel terrain

Item	Qté
Sacs refermables « Ziplocs » (format collation)	1 par station
Enveloppes Manila, Kraft (#1; 5,5 x 9 cm)	1 par échantillon + 1
Crayons feutres permanents (de type Sharpie)	2
Stylos	2
GPS ou téléphone pour prendre les coordonnées géographiques	1
Boîte de gants non-poudrés	1
Boîte de sacs poubelles	1
Rouleau de papier absorbant	1
Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
Blocs de froid (ice packs)	2

	Item	Qté
	Glacière	1
	Paire de ciseaux	1
	Eau embouteillée (bouteilles de 1,5l)	3
	Pinces de laboratoire (ou pincés à sourcils), scalpel	2
	Formulaire de prise de données (Formulaire 1)	1
	Protège-doigts en coton (disponibles en pharmacie)	1 par échantillon
	Bouteille d'alcool isopropylique (alcool à friction)	1
	Billes de silice	1 contenant

Matériel de laboratoire

None

Préparation du matériel terrain

1. Enfiler des gants et travailler dans un environnement propre (désinfecter les surfaces avec la solution de javel 10 %).
2. Pour chaque échantillon, pré-identifier une enveloppe de papier (numéro d'échantillon, date, initiales) (+ une enveloppe pour le blanc : inscrire « Blk » et la date).
3. Insérer un protège doigt dans chaque enveloppe
4. Placer les trois enveloppes d'une même station (trois répliques) dans un sac ziploc contenant une cuillère à soupe de billes de silice.
5. Nettoyer une glacière (intérieur et extérieur) et des blocs de froid (ice packs) avec la solution de javel 10 %.
6. Placer les ziplocs et les ice packs dans la glacière

Récolte des échantillons

1. Enfiler des gants (ne pas mettre d'eau de javel).
2. Enfiler un protège doigt.
3. Humidifier le protège doigt avec de l'alcool isopropylique (alcool à friction) (Figure 1).
4. Frotter son doigt sur la surface de l'objet en suivant le même patron pour chaque objet (Figure 2).
5. Faire une croix avec le crayon feutre sur le protège doigt côté ongle (Figure 3).
6. Retirer le protège doigt pour que l'échantillon se retrouve à l'intérieur (Figure 4).
7. Replacer le protège doigt dans son enveloppe, placer l'enveloppe dans son sac Ziploc et placer le sac dans la glacière.



Fig. 6.1 Humidification du protège doigt avec l'alcool à friction (crédit Laura Matthias)

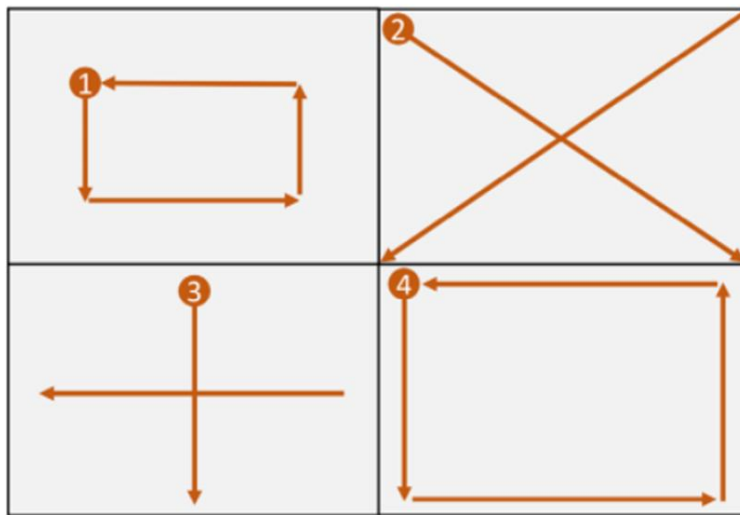


Fig. 6.2 Patron à tracer avec le doigt sur la surface échantillonnée (crédit Laura Matthias)

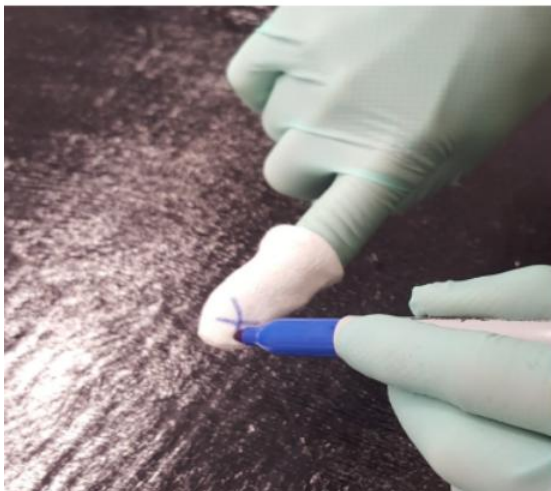


Fig. 6.3 Inscription d'une marque côté ongle (crédit Laura Matthias)



Fig. 6.4 Retrait du protège doigt pour que l'échantillon se trouve à l'intérieur (crédit Laura Matthias)

Préparation des échantillons

Conserver les échantillons à -20°C jusqu'à leur envoi au laboratoire. Suivre les *Instructions pour l'envoi d'échantillons au laboratoire* pour acheminer les échantillons au laboratoire choisi.

Référence

Matthias, L., Allison, M.J., Maslovat, C.Y., Hobbs, J., et Helbing, C.C. 2021. Improving ecological surveys for the detection of cryptic, fossorial snakes using eDNA on and under artificial cover objects. *Ecological Indicators*, 131: 108187. DOI: 10.1016/j.ecolind.2021.108187

Protocol 7 : Échantillonnage de tissus pour la collecte d'ADNe

Adapté de SOP#104 (Tissue collection protocol for DNA Analysis), iTrackDNA SOP Manual, Helbing lab, 2021.

Description

But	Échantillonner l'ADNe d'espèces terrestres ou aquatiques à partir de matériel biologique laissé par un individu sous forme de tissus (chaire, salive, sang, crottes...).
Temps	Une seule visite terrain. Les échantillons peuvent être préparés sur le terrain directement en quelques minutes.
Personnel	1-2 personnes (le travail peut être réalisé seul si le contexte est sécuritaire).
Notes	- La collecte de tissus est appropriée si la taille et la texture du matériel biologique permettent le prélèvement avec une pince. Si le matériel biologique est trop fin, liquide ou friable pour être récolté avec des pinces, utiliser le Protocole 6 Échantillonnage de surfaces par frottement pour la collecte d'ADNe.
Autre protocole	Aucun

Matériel terrain

Item	Qté
Crayons feutres permanents (de type sharpie)	2
Stylos	2
GPS ou téléphone pour prendre les coordonnées géographiques	1
Boîte de gants non-poudrés	1
Boîte de sacs poubelles	1
Rouleau de papier absorbant	1
Bouteille de solution de javel 10 % (vaporisateur)	1
Blocs de froid (ice packs)	2
Glacière	1
Eau embouteillée (bouteilles de 1,5l)	3

	Item	Qté
	Pinces de laboratoire (ou pinces à sourcils), scalpel	2
	Scalpel ou couteau	1
	Tube avec solution javel 50 % pour le lavage des pinces	1
	Tubes de plastique stériles (disponible en pharmacie ou au laboratoire)	1 par échantillon
	Formulaire de prise de données (Formulaire 1)	1

Matériel de laboratoire

Aucun

Préparation du matériel terrain

1. Pré-identifier les tubes qui contiendront les tissus d'un même échantillon.

Récolte et préparation des échantillons

Note : Les pinces et le scalpel doivent être nettoyés et rincés avec grand soin entre chaque échantillon. Pour les laver, immerger dans une solution d'eau de javel 50 % durant 30 secondes puis rincer abondamment à l'eau embouteillée. Les particules qui collent aux pinces peuvent contaminer les échantillons, mais attention, l'eau de javel détruit l'ADN.

1. Récolter les tissus avec les pinces ou le scalpel préalablement désinfectés et rincés. Déposer les tissus dans le tube approprié.
2. Nettoyer et désinfecter l'équipement entre chaque échantillon.
3. Remplir la feuille de prise de données (Formulaire 1).
4. Mettre les échantillons dans la glacière et les congeler (-20°C) jusqu'à leur envoi au laboratoire selon les *Instructions : Envoi d'échantillons au laboratoire*

Formulaire 1: Récolte d'échantillons d'ADNe

Informations générales

Date :	Espèces ciblées:
Météo :	Personnes présentes :
Protocole :	Notes :
Personne responsable :	

Lieu d'échantillonnage

Site	Station	Coordonnées

Échantillons

Station	ID échantillon	Volume filtré*	Température de l'eau*	Commentaires

*Si pertinent, selon le protocole. Envoyer une copie du formulaire au laboratoire avec les échantillons. **Conserver une copie.**

Instructions: Envoi d'échantillons au laboratoire

1. Contacter une personne responsable au laboratoire de Pr Valérie

Langlois (INRS) ou autre laboratoire choisi:

- Julie Couillard, coordonnatrice : julie.couillard@inrs.ca
- Tuan Anh To, Technicien : Tuan_Anh.To@inrs.ca
- Valérie Langlois, Professeure : valerie.langlois@inrs.ca

*Mentionner la formation à Pikogan (responsable Annie Claude Bélisle) s'il y a lieu

2. Mettre les échantillons dans une boîte avec des blocs de froid (ice-packs).

Insérer une copie du Formulaire de récolte d'échantillons (Formulaire 1).

3. Envoyer la boîte par courrier rapide à l'adresse suivante:

Laboratoire de Valérie Langlois
[Inscrire le nom de la personne contact]
490, rue de la Couronne
Québec (Québec) G1K 9A9
Canada

4. Vérifier avec la personne contact que le colis a bien été reçu.