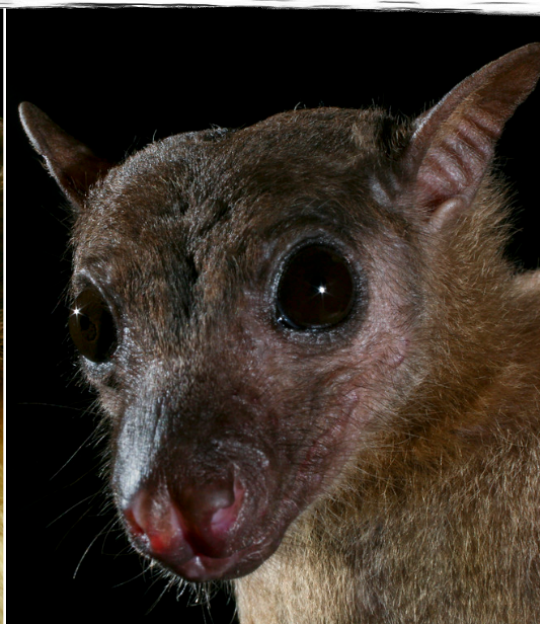


Collecte de tissus pour
l'analyse du mercure
2024



*Méthodes d'échantillonnage sur le
terrain des chauves-souris*



MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE DES CHAUVES-SOURIS SUR LE TERRAIN

Collecte de tissus pour l'analyse du mercure

Octobre 2024



Biodiversity Research Institute

276 Canco Road

Portland, Maine, USA 04103

+1 (207) 839-7600

bri@briwildlife.org

www.briwildlife.org

Le Biodiversity Research Institute (BRI) est une organisation à but non lucratif de type 501(c)3 située à Portland, dans le Maine, aux États-Unis. Fondé en 1998, le BRI se consacre au soutien de la santé mondiale par le biais de la recherche écologique collaborative, de l'évaluation de la santé des écosystèmes, de l'amélioration de la sensibilisation à l'environnement et de l'information sur la prise de décision fondée sur la science.

Citation suggérée:

Evers DC, Guilbert, JM. 2024. Méthodes d'échantillonnage des chauves-souris sur le terrain: collecte de tissus pour l'analyse du mercure (version française). Rapport BRI 2024-12, Biodiversity Research Institute, Portland, Maine, USA.

Cover Photographs © Merlin Tuttle Foundation: Top: Egyptian slit-faced bat (*Nycteris thebaica*); Top row L to R: Damara woolly bat (*Kerivoula argentata*); Lappet-eared free-tailed bat (*Chaerephon major*); Dusky pipistelle (*Pipistrellus hesperidus*); Bottom row L to R: African yellow bat (*Scotophilus dinganii*); Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*); Rufous myotis (*Myotis bocagii*).

Table des matières

1.0 Collecte de sang en total	1
1.1 Fournitures pour la ponction veineuse	1
1.2 Prélèvement de sang de chauve-souris	2
1.3 Format d'étiquetage des échantillons de sang	2
2.0 Collecte d'échantillons de fourrure.....	4
2.1 Fournitures pour la collecte des fourrures	4
2.2 Procédure de collecte des fourrures.....	4
2.3 Format d'étiquetage des échantillons de fourrure.....	5
3.0 Tableaux de procédure.....	6
4.0 Exigences en matière de métadonnées.....	6
5.0 Stockage des échantillons Storage of Samples.....	7
6.0 Expédition d'échantillons.....	7
7.0 Permis requis.....	9
8.0 Références.....	10
Appendix: Fiche de métadonnées sur les chauves-souris.....	11

1.0 Collecte de sang en total

La collecte et l'analyse non létales d'échantillons de sang entier chez les chauves-souris sont utilisées pour identifier l'absorption alimentaire récente de contaminants, tels que le mercure (Evers 2018), et divers isotopes stables (c'est-à-dire $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{34}\text{S}$) qui permettent de reconstruire le régime alimentaire et d'identifier les origines migratoires. Les échantillons de sang peuvent être obtenus par ponction des veines de l'aile ou de la queue.

Les tubes capillaires à micro-hématocrite sont préférables pour les analyses de laboratoire, mais nécessitent des dispositions spécifiques de stockage et d'expédition. Si les tubes capillaires ne sont pas disponibles, les vacutainers constituent une solution de remplacement adéquate et permettent de stocker un volume d'échantillon plus important. Pour faciliter le stockage et l'expédition des échantillons, le sang séché sur des cartes Whatman peut être utilisé pour les analyses des contaminants et des isotopes stables (Perkins et Basu 2018 ; Barst et al. 2020).

IMPORTANT:

Les analyses de contaminants exigent que le sang soit conservé dans des récipients héparinés au lithium, tandis que les analyses d'isotopes stables exigent que le sang soit conservé dans des récipients stériles.

Règle empirique pour le volume maximal de sang : L'extraction de sang ne doit jamais dépasser 1% du poids corporel total d'un individu (Eshar & Weinberg 2010). Le sang représente environ 10% du poids d'une chauve-souris (Eshar & Weinberg 2010) ; il est donc possible de prélever jusqu'à 10% du volume de sang d'une chauve-souris. Par exemple, une chauve-souris frugivore adulte de 1000 g contient environ 100 g de sang. Un maximum de 10 g de sang peut donc être prélevé (1 g = 1 ml). Une chauve-souris de 20 g a 2 g de sang; on peut donc prélever au maximum 0,2 ml ou 200 μl de sang.

IMPORTANT: Le BRI ne recommande pas de prélever la quantité maximale, quelle que soit l'espèce.

1.1 Fournitures pour la ponction veineuse*

Procédure générale	Procédure de perçage
<input type="checkbox"/> Fiche de données	<input type="checkbox"/> Aiguilles de calibre 26-27 (pour les petites chauves-souris)
<input type="checkbox"/> Carte du pays/site d'échantillonnage	<input type="checkbox"/> Tubes capillaires micro-hématocrites (héparinés pour les contaminants, stériles pour les isotopes stables)
<input type="checkbox"/> Glacière portable (~5L)	<input type="checkbox"/> Leica Microsystems Critoseal™
<input type="checkbox"/> Bloc réfrigérant	<input type="checkbox"/> Vacutainer d'archives de 6 ml
<input type="checkbox"/> Tampons d'alcool isopropylique	
<input type="checkbox"/> Boules de coton sèches	
<input type="checkbox"/> Crito-caps	
<input type="checkbox"/> Marqueur permanent Sharpie™ ultra-fin	
<input type="checkbox"/> Sandwich-size Ziploc™ plastic bags	
<input type="checkbox"/> Récipient portable pour objets tranchants	
<input type="checkbox"/> Optionnel: Cartes de sang Whatman	
<input type="checkbox"/> Optionnel: sachets de gel de silice déshydratant (pour le stockage des cartes Whatman uniquement)	

**Pour savoir où acheter des fournitures, envoyez un e-mail à BRI (voir page 8)*

1.2 Prélèvement de sang de chauve-souris

Les protocoles standard pour la collecte de sang de chauve-souris sont décrits dans cette section. Pour chaque chauve-souris, une série de mesures standard doit être enregistrée sur la fiche de données de l'échantillon.

Procédure

1. Localiser la cubitale aiguë dans l'aile (Figure 1) ou une veine dans la partie caudale de la membrane de l'aile (de préférence).
2. Piquez la veine avec une aiguille.
IMPORTANT: Ne pas traverser les deux parois de la veine dans le patagium, seulement la paroi supérieure; (c'est seulement dans l'uropatagium que vous pouvez piquer l'aiguille à travers les deux parois).
3. Laisser le sang s'accumuler (ce qui se produit généralement très rapidement).
4. Prélevez le sang en plaçant les tubes capillaires ou le microtube en dessous de l'amas de sang (un angle vers le bas permettra au sang d'être plus facilement aspiré dans le tube capillaire ou le microtube).
5. Recueillir 1 à 2 tubes capillaires ou au moins 0,2 cc dans un microtube.
IMPORTANT: Ne remplir les tubes capillaires que d'un minimum de ¼ à ½ maximum.
6. Maintenez un coton-tige frais sur la zone de prélèvement jusqu'à ce que le saignement s'arrête (généralement dans les 10 secondes).
 - i. Si vous utilisez des cartes de Whatman, sélectionnez l'un des tubes capillaires, avant de le sceller, pour déposer le sang sur la carte.
 - ii. Conserver la carte dans un sac en plastique contenant des sachets déshydratants.
7. Utiliser soit Critocaps (de préférence), soit Critoseal pour sceller chaque extrémité du tube capillaire.
8. Placer les tubes capillaires dans un flacon à vide et étiqueter correctement tous les flacons.
9. Conservez tous les échantillons de sang dans une glacière avec des blocs de glace lorsque vous êtes sur le terrain.
10. Transférer les échantillons dans un congélateur pour les conserver dès que possible; ils doivent rester congelés jusqu'à l'analyse.

1.3 Format d'étiquetage des échantillons de sang

Include the following information:

1. Date de la collecte
2. Espèce
3. L'âge et le sexe
4. ID #
5. Lieu d'échantillonnage (p. ex. nom de la rivière ou du lac)
6. État ou province

IMPORTANT:

Il est impératif que tous les échantillons aient un numéro d'identification unique et qu'ils soient étiquetés correctement et lisiblement.



Figure 1. Prélèvement direct de sang dans la veine cubitale cutanée à l'aide d'une seringue manuelle

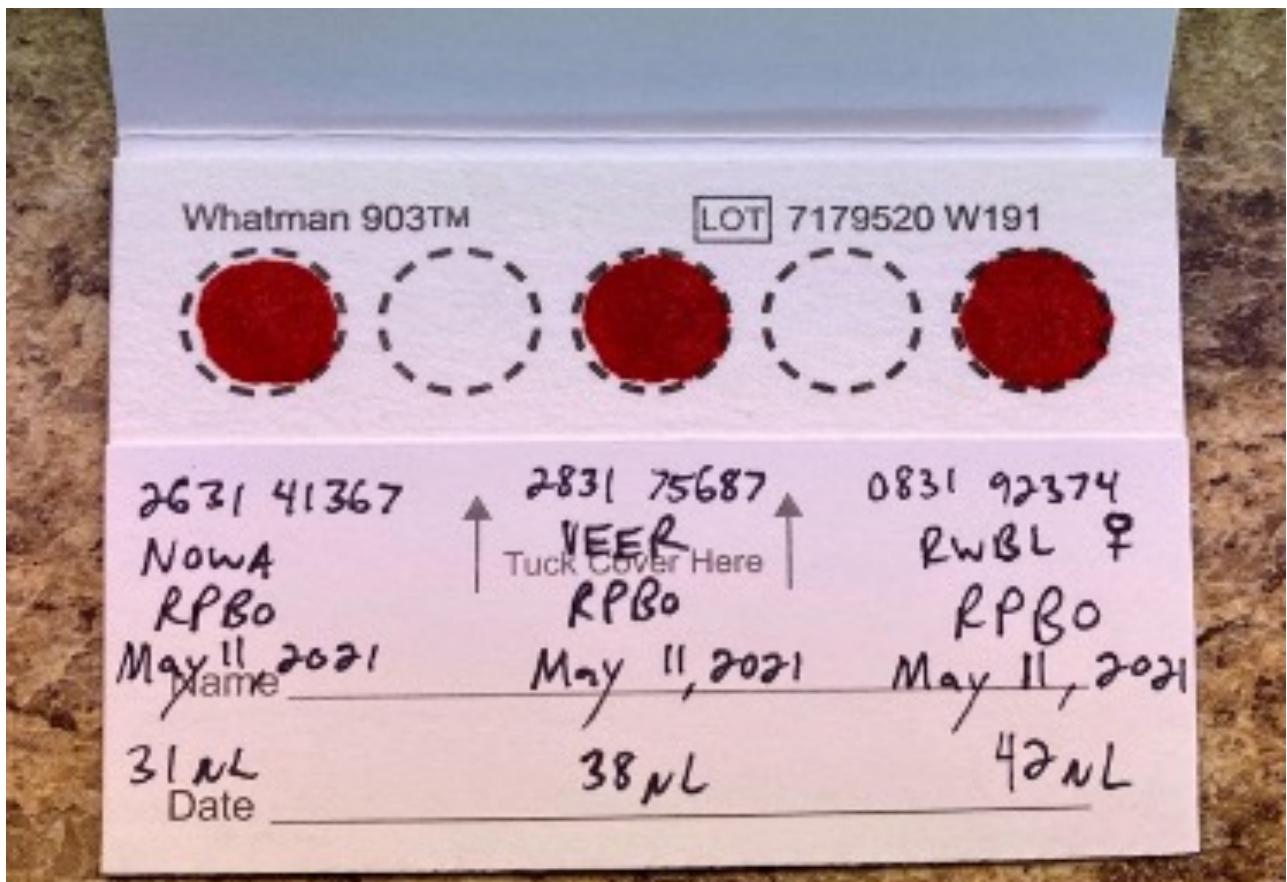


Figure 2. Carte Whatman remplie avec les métadonnées appropriées.

2.0 Collecte d'échantillons de fourrure

La collecte d'échantillons de fourrure est utile pour identifier la charge corporelle de métaux lourds, tels que le mercure, car le méthylmercure est généralement transféré à la fourrure pendant la croissance de celle-ci (Evers 2018). Les échantillons collectés fourniront des informations importantes pour développer la sensibilisation aux risques potentiels associés à la pollution par le mercure. Il est important de s'assurer que tous les échantillons sont collectés de manière sûre et propre. Les organisations collaboratrices sont invitées à enregistrer des informations de base pour chaque échantillon. L'échantillonnage de la fourrure des chauves-souris est révélateur d'une exposition chronique au mercure chez les chauves-souris.

2.1 Fournitures pour la collecte des fourrures

- Fiche de données
- Carte du pays/site d'échantillonnage
- Ciseaux à cuticules en acier inoxydable
- Petites enveloppes en papier, petits sacs en plastique à fermeture éclair, flacons
- Marqueur permanent et stylo à bille

2.2 Procédure de collecte des fourrures

1. Enregistrez les espèces de chauves-souris et le nom commun sur la fiche de données.
2. Prélever un échantillon de fourrure à l'aide de petits ciseaux à cuticules en acier inoxydable.
3. Coupez la fourrure sur le ventre et le dos et à d'autres endroits si nécessaire. Coupez la fourrure aussi près de la peau que possible sans couper la chauve-souris. Il n'est pas nécessaire de récolter le follicule de la fourrure. Il faudra 4 à 5 coups de ciseaux (~0,01 gramme de fourrure).
4. Conservez la fourrure dans des récipients d'échantillonnage étiquetés individuellement (par exemple, petites enveloppes en papier, sacs en plastique de type zip lock, flacons).
5. Veiller à ce que les ciseaux soient nettoyés entre chaque chauve-souris échantillonnée en les essuyant avec des tampons d'alcool et en les inspectant visuellement pour s'assurer qu'il n'y a pas de fourrure provenant d'une chauve-souris précédente, afin d'éviter toute contamination croisée.
6. Note: les échantillons ne doivent pas être réfrigérés ou congelés.

2.3 Format d'étiquetage des échantillons de fourrure

Follow this format for labeling fur samples:

- Utilisez un code alphanumérique de l'espèce [code à 2 lettres]
- Month, Day, Year
- l'espèce (nom latin)
- l'emplacement (site, ville, comté, État, pays),
- la longueur de l'avant-bras (mm)
- la masse corporelle (g)
- l'âge (adulte, juvénile)
- Sexe (M=mâle, F = femelle),
- état reproducteur des femelles (P = gestante, L= lactation, PL = post-lactation, NR = non reproductive)
- état reproducteur des mâles (longueur et largeur des testicules)

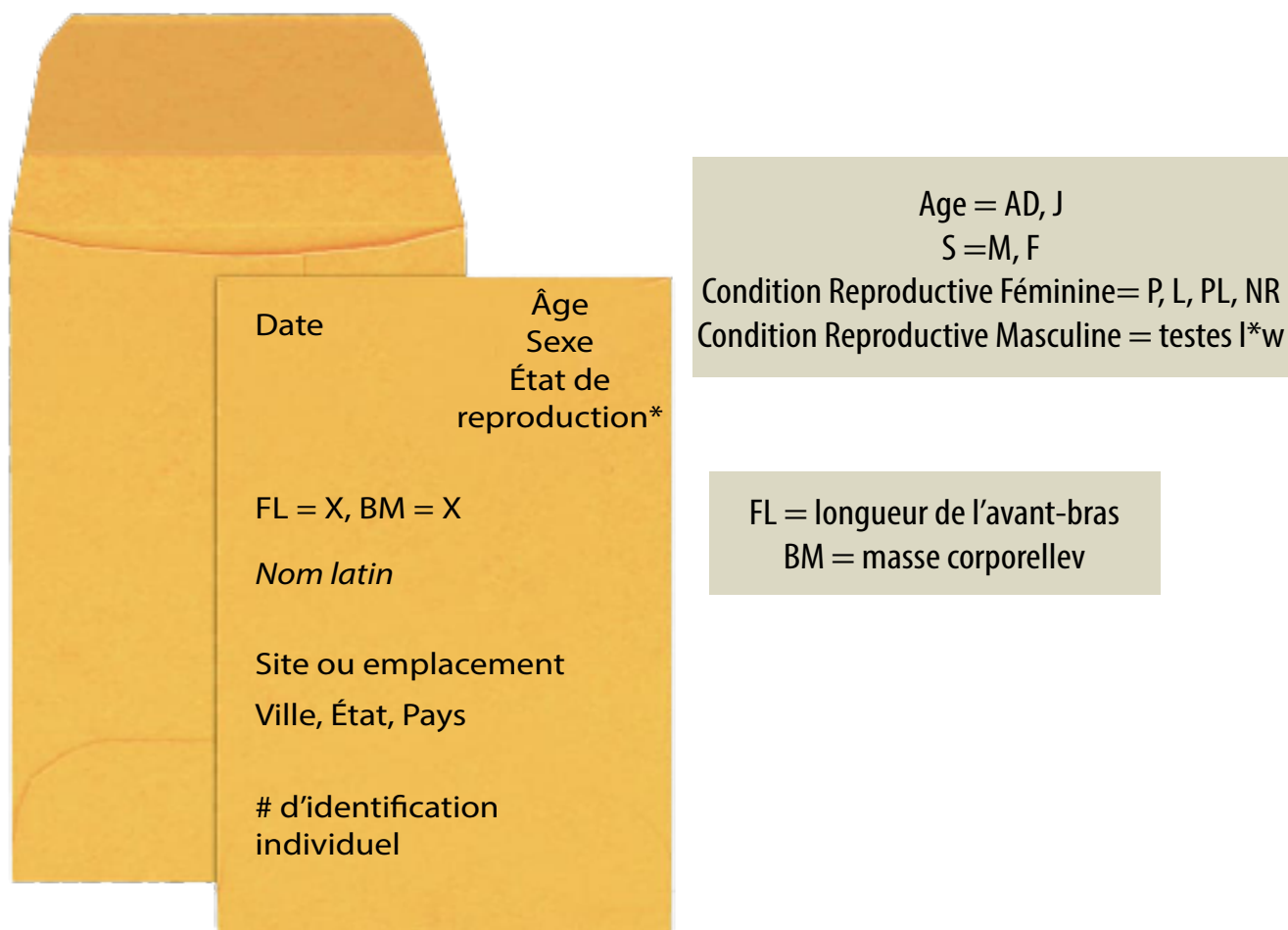


Figure 3. Convention d'étiquetage correcte pour les échantillons individuels expédiés.

3.0 Tableaux de procédure

Tableau 1. Organigramme de la procédure d'échantillonnage des tissus pour l'analyse du mercure. La sélection des tissus dépend du (des) groupe(s) taxonomique(s) cible(s) et du (des) objectif(s) de la recherche.

Tissu	Méthode de collecte	Taxons focaux appropriés	Réceptacle	Montant minimum	Stockage
Sang	Perçage	Tous	Tube capillaire hépariné au lithium	0.4 µL	Congélateur
			Carte de Whatman	1 card	Au réfrigérateur ou à température ambiante
Fourrure	Découpage	All taxa	Petite enveloppe en papier	2 symmetrical feathers	Au réfrigérateur ou à température ambiante

4.0 Exigences en matière de métadonnées

Veillez inscrire clairement au moins les informations suivantes sur chaque flacon d'archives, enveloppe de pièces de monnaie en papier ou étiquette d'échantillon à l'aide d'un marqueur permanent :

- Numéro de bande, le cas échéant
- Nom commun de l'espèce (veuillez également indiquer le nom latin de l'espèce si elle est collectée en dehors des États-Unis)
- Date (veuillez utiliser des lettres pour le mois au lieu de chiffres, p. ex., 11 mars 2021)
- Nom du lieu d'échantillonnage, état ou province et pays
- Âge et sexe de l'individu, le cas échéant

Veillez organiser toutes les métadonnées en utilisant les modèles préférés et les soumettre à l'IRB via les formulaires.

IMPORTANT: Si vous fournissez des échantillons à BRI ou à un autre groupe/agence de recherche, entamez la collaboration dès que possible.

Veillez organiser toutes les métadonnées en utilisant les modèles préférés et les soumettre à l'IRB via les formulaires. Envoyez toutes les données de baguage pour toutes les chauves-souris échantillonnées sous forme de feuille de calcul Excel ou de fichier .csv. Une copie de ces fiches de données peut être obtenue à l'adresse suivante : josh.guilbert@briwildlife.org

L'identification des chauves-souris individuelles peut être réalisée à l'aide d'une photo d'identification d'une ou des deux ailes. Il est conseillé de collecter ces données si le baguage n'est pas possible ou si le travail est effectué dans une zone où la photo d'identification a été réalisée dans le passé. Prenez une photo claire de la face ventrale de l'aile d'extension avec les fibres de collagène visibles. Notez les numéros des photos sur la fiche de données.

IMPORTANT:

Si une chauve-souris ne peut pas être baguée sur le terrain, l'individu et l'échantillon correspondant doivent recevoir un numéro d'identification unique (c'est-à-dire « Organisation-Pays -Unbanded0001 »), qui doit figurer à la fois sur le réceptacle de l'échantillon et sur la (les) fiche(s) de données.

5.0 Stockage des échantillons

Please follow these requirements:

- Les échantillons de sang total dans des tubes capillaires ou des vacutainers doivent être immédiatement conservés dans une glacière avec de la glace ou des blocs réfrigérants sur le terrain. Alors que les métaux lourds, tels que le mercure, sont stables dans le sang, la congélation des échantillons empêche la dégradation du sang.
- Les taches de sang séchées sur des cartes Whatman doivent être conservées avec un sachet déshydratant dans des sacs en plastique séparés et scellés (pour réduire l'influence de l'humidité). L'idéal est de les conserver dans un réfrigérateur à 4°C (pour éviter les moisissures), mais elles peuvent également être conservées à température ambiante, à l'abri de la lumière directe du soleil, avant d'être expédiées et analysées.
- Les enveloppes des échantillons de fourrure doivent idéalement être conservées dans un sac en plastique scellé dans un réfrigérateur à 4°C (pour éviter la moisissure), mais peuvent également être conservées dans un sac en plastique scellé à température ambiante, à l'abri de la lumière directe du soleil, avant d'être expédiées et analysées.

6.0 Expédition d'échantillons

Si vous soumettez des échantillons à BRI en vue d'une collaboration, nous vous remercions de votre contribution ! Au moins deux semaines avant l'envoi des échantillons, veuillez remplir le formulaire de soumission des métadonnées afin de laisser suffisamment de temps à l'IRB pour obtenir les autorisations nécessaires. Le BRI enverra tous les formulaires remplis nécessaires au transport une fois que les permis auront été délivrés. Une fois toutes les autres autorisations approuvées (voir 7.1. Autorisations requises), veuillez planifier une expédition avec le service de transport de votre choix. Pour emballer les échantillons de tissus:

To package the tissue samples, please follow these instructions:

- Utilisez une petite glacière pour protéger et isoler tous les échantillons de sang pendant le transport.
- Placez un ou plusieurs blocs de glace à l'intérieur de la glacière pour isoler le sang congelé.
- Si les flacons d'archives sont en verre, il est IMPORTANT de rembourrer les échantillons avec du papier bulle ou du papier journal à l'intérieur de la glacière pour éviter qu'ils ne se cassent.
- Les fourrures et les taches de sang séché sur cartes Whatman ne nécessitent pas d'emballage spécial ni de conservation au froid (si elles sont expédiées dans les 3 à 4 mois suivant le prélèvement).
- Placez la glacière dans une boîte en carton et remplissez l'espace vide avec des matériaux d'emballage supplémentaires, tels que du papier bulle ou du papier journal, pour sécuriser la glacière pendant le transport.
- Ajoutez un jeu de tous les permis et formulaires nécessaires au sommet du matériel d'emballage avant de sceller le colis avec du ruban adhésif (voir 7.1. Permis requis). Joignez une deuxième série de copies de permis dans une pochette en plastique à l'extérieur du colis.

Veillez inclure les détails suivants sur l'étiquette d'expédition et sur l'extérieur du colis:

Biodiversity Research Institute
276 Canco Road
Portland, Maine 04103 USA

WILDLIFE :: USFWS :: MBTA

EXTRA COPIES OF DOCUMENTS INSIDE BOX

IMPORTANT:

Pour éviter les retards postaux ou douaniers, les échantillons doivent être expédiés un lundi ou un mardi, et jamais juste avant un jour férié fédéral. Lorsque le représentant de l'expédition vous demande si vous expédiez des denrées périssables, répondez **NON**.

7.0 Permis requis

Pour les envois à l'intérieur des États-Unis, veuillez inclure:

- Une copie du permis fédéral de l'USFW pour les espèces menacées et en voie de disparition du collectionneur.
- Une copie du permis de collecte scientifique de l'État du collectionneur.
- Une copie du permis d'importation USDA de l'importateur * (non requis si les échantillons ont été prélevés aux États-Unis).

Pour les envois en dehors des États-Unis, veuillez inclure:

- Une copie du permis d'importation de l'USDA de l'importateur *
- Une copie du permis CDC de l'importateur.
- Formulaire 3-177 de l'USFWS (Déclaration d'importation ou d'exportation de poissons ou d'animaux sauvages)
- Déclaration de FedEx pour les envois de produits biologiques*
- Facture commerciale FedEx
- Permis d'exportation CITES, le cas échéant
- Une copie de la licence d'exportation du pays d'origine, le cas échéant

**Formulaires fournis par l'IRB par courrier électronique*

IMPORTANT:

Les envois arrivant aux États-Unis peuvent se voir refuser l'entrée, être détruits ou renvoyés s'ils ne sont pas accompagnés des permis appropriés. Pour toute question ou clarification supplémentaire, ou si vous êtes intéressé par une collaboration, n'hésitez pas à contacter le BRI par téléphone, par courrier électronique ou à visiter notre site web.

Pour d'autres questions ou précisions, ou si vous souhaitez collaborer, n'hésitez pas à contacter BRI par téléphone, par e-mail ou à nous rendre visite sur notre site Web.

Josh Guilbert, Ph.D., Director, Mammal Program
josh.guilbert@briwildlife.org
Biodiversity Research Institute | Portland, ME USA
+1 (207) 839-7600
bri@briwildlife.org
www.briwildlife.org

8.0 Références

- Barst BD, Wooller MJ, O'Brien DM, et al (2020) Dried blood spot sampling of landlocked Arctic char (*Salvelinus alpinus*) for estimating mercury exposure and stable carbon isotope fingerprinting of essential amino acids. *Environ Toxicol Chem* 39:893–903. <https://doi.org/10.1002/etc.4686>
- Eshar D, Weinberg M (2010) Venipuncture in bats. *Lab Amin* 39 p175-176
- Evers DC (2018) The effects of methylmercury on wildlife: a comprehensive review and approach for interpretation. In: Dellasala DA, Goldstein MI (eds) *Encyclopedia of the anthropocene*, vol. 5. Elsevier, New York, pp 181–194
- Perkins M, Lane OP, Evers DC, Sauer A, Adams EM, O'Driscoll NJ, Edmunds ST, Jackson AK, Hagelin JC, Trimble J, Sunderland EM (2019) Historical patterns in mercury exposure for North American songbirds. *Ecotoxicology* 29:1161–1173. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02054-w>

Appendix: Fiche de métadonnées sur les chauves-souris

SITE: _____ DATE (YYYY-MM-DD) PAGE: _____ OF _____ STAFF: _____ COUNTRY: _____ X: _____ Y: _____

#	TIME	Recapture?	CODES (U)known	SEX: (M)ale, (F)emale		AGE: (A)dult, (J)uvenile		Demographic Information							Net Info	
				SPECIES GGG SSS	AGE	SEX	REPRO	Weight (g)	Forearm (mm)	Ear (mm)	Tragus (mm)	Tail (mm)	Wing Score	#	Height M	
1	23:03	Y	BRM42069	TAD BRA	A	F	PR	11	43	19	10	16	0	A	2	
2																
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																
11																
12																
13																
14																
15																

Wing Score 0: <5% splotches, no discolored flaking forearm, no necrotic tissue, no holes, membrane intact.

Wing Score 1: 5-50% splotches, discolored flaking forearm, no necrotic, no holes, membrane intact

Wing Score 2: 50-90% splotches, discolored flaking forearm, few areas of necrotic issue, small holes <50 mm in diameter holes, Necrosis edges no loss of area

Wing Score 3: >90% splotches, discolored flaking forearm, Abundant necrosis, large holes >50 mm in diameter holes, Noticeable loss of membrane area

Discolored flaking forearm alone automatically scores Wing Score of 1