

# METHODOLOGIE ADNe AMPHIBIENS PRELEVEMENTS SUR LE TERRAIN



ÉTAT : FEVRIER 2020

# Sommaire

|    |  |    |
|----|--|----|
| 1. | Introduction .....                             | 3  |
| 2. | Remarques importantes et recommandations ..... | 3  |
| 3. | Relevés ADNe 2020 .....                        | 4  |
| 4. | Liste de matériel.....                         | 5  |
| 5. | Plan d'échantillonnage.....                    | 6  |
| 6. | Travail sur le terrain .....                   | 10 |
| 7. | Glossaire.....                                 | 13 |
| 8. | Offre et prix courants .....                   | 14 |
| 9. | Commandes .....                                | 16 |

**Proposition de citation** : ARNAL et al. (état : février 2020). Méthodologie ADNe amphibiens - prélèvements sur le terrain

## Bureaux accrédités 2020

|   |                   |
|---|-------------------|
| ARNAL, Büro für Natur und Landschaft AG | Herisau, Salzburg |
| IC Infraconsult AG                      | Berne             |
| Info fauna - karch                      | Neuchâtel         |
| Naturschutz und Feldherpetologie Peyer  | Ottensbach        |
| Quadra GmbH                             | Zurich            |

## Contacts

Informations générales et commande de matériel de prélèvement :

Envoi des échantillons pour analyse :

|   |  |
|---|--|
| ARNAL, Büro für Natur und Landschaft AG<br>Kasernenstrasse 37<br>9100 Herisau<br>assistenz@arnal.ch (objet : ADNe)<br>071 366 00 50 | Ecogenics GmbH<br>Jeannette Kast   eDNA<br>Schützenstrasse 15<br>9436 Balgach<br>info@ecogenics.ch |
|---|--|

# 1. Introduction

Ces dernières années, de nouvelles techniques de laboratoire ont révolutionné l'analyse génétique des végétaux et des animaux. Grâce aux énormes projets réalisés, la génétique peut maintenant être utilisée dans de nouveaux domaines d'application pratique. L'ADN environnemental (ADNe) permet par exemple de déterminer quels amphibiens peuplent un plan d'eau. Dans le cadre du projet CTI « Génétique de la conservation », des marqueurs ont été définis pour toutes les espèces d'amphibiens indigènes. Une méthodologie de relevé a également été développée et testée entre 2016 et 2017 dans quelque 80 plans d'eau de différents cantons de Suisse alémanique. Pour plus d'informations sur le projet CTI, nous vous renvoyons au site [www.naturschutzgenetik.ch](http://www.naturschutzgenetik.ch).

En plus des connaissances acquises dans le cadre du projet CTI, les résultats obtenus dans le cadre d'une utilisation à plus large échelle sont intégrés annuellement dans la méthodologie, afin de l'optimiser continuellement. Les retours des utilisateurs sur les problèmes rencontrés ainsi que les propositions d'amélioration sont donc les bienvenus.

La présente méthodologie « Prélèvements sur le terrain ADNe Amphibiens » a été complétée par une méthodologie « Aide à l'interprétation Détection des amphibiens par ADNe », qui décrit comment les résultats de laboratoire doivent être analysés et interprétés.

Le glossaire en page 13 explicite les principaux termes utilisés dans le présent document.

## 2. Remarques importantes et recommandations

À l'instar des autres méthodes de recensement, le relevé par ADNe ne peut garantir que toutes les espèces d'amphibiens présentes dans une aire définie seront effectivement recensées. Si le taux d'erreurs des analyses est comparativement bas, le taux d'erreurs lors du prélèvement des échantillons sur le terrain peut être élevé, suivant les espèces. D'une part, parce que toutes les espèces ne sont pas présentes simultanément dans le plan d'eau (ponte précoce ou tardive) et, d'autre part, parce que la durée de séjour dans l'eau est variable d'une espèce à l'autre (p. ex. le crapaud accoucheur). Pour obtenir une image aussi complète que possible des espèces d'amphibiens qui peuplent une aire donnée, il convient donc d'inclure tous les plans d'eau qui s'y trouvent (voir chapitre 5 « Plan d'échantillonnage ») dans l'étude (p. ex. sonneur à ventre jaune dans les petits plans d'eau voisins).

Afin de réduire le plus possible le taux d'erreurs lors du prélèvement des échantillons, il est recommandé de définir la fenêtre temporelle et les sites de prélèvement avec un spécialiste, comme pour les relevés de terrain « classiques ». Le déroulement des opérations est décrit dans les chapitres « Plan d'échantillonnage » et « Travail sur le terrain ». Il est extrêmement important de connaître la problématique exacte avant de procéder aux relevés d'ADNe, car la

sélection des plans d'eau à échantillonner, le nombre de visites à effectuer et le nombre d'échantillons de laboratoire à fournir en dépendent. Il est donc nécessaire de consulter un spécialiste reconnu disposant de connaissances sur les amphibiens.

Le karch - info fauna accepte les résultats des relevés par ADNe et alimente sa banque de données avec les résultats obtenus. Il est recommandé de procéder à des relevés de terrain par ADNe en complément à des relevés de terrain « classiques ». La méthode ADNe permettra ainsi d'acquérir des informations supplémentaires, en particulier sur les espèces qui vivent cachées ou qui sont difficiles à identifier.

### 3. Relevés ADNe 2020

La présente méthodologie (voir chapitres 4 « Liste de matériel », 5 « Plan d'échantillonnage » et 6 « Travail sur le terrain ») présente le déroulement des opérations, le matériel requis, la manipulation des échantillons (y c. préparation et nettoyage/désinfection) ainsi que les différentes analyses possibles.



Figure 1 : Flux de matériel et d'informations pour la réalisation d'un relevé par ADNe

Tout le matériel d'usage peut être commandé auprès d'ARNAL AG avec le formulaire annexé.

La date de référence pour l'envoi des échantillons de laboratoire à ecogenics GmbH pour l'analyse collective<sup>1</sup> est le 31 juillet 2020. Les données seront livrées cinq semaines plus tard. L'envoi des échantillons de projet<sup>2</sup> peut se faire à n'importe quelle date.

<sup>1</sup> Voir Glossaire. Échantillon collectif : Échantillons envoyés au laboratoire qui doivent être analysés pour une date fixe avec tous les autres échantillons de laboratoire envoyés. Le coût par échantillon est fixe.

<sup>2</sup> Voir Glossaire. Échantillons de projet : Échantillons envoyés au laboratoire qui doivent être analysés jusqu'à la date fixée par le client. Le coût des échantillons diminue avec le nombre d'échantillons envoyés.

## 4. Liste de matériel

### Prélèvement d'échantillons

#### Matériel de base

|                          |                                      | Nombre                                  |
|--------------------------|--------------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> | Gants en plastique                   | 1 paire par site (+ 1 paire de réserve) |
| <input type="checkbox"/> | Bouteille PET (0,5 à 1,5 l)          | Min. 1 par site                         |
| <input type="checkbox"/> | Codes QR préimprimés                 | 1 par échantillon / éprouvette          |
| <input type="checkbox"/> | Sample Submission Form (SSF)         | 1 par site                              |
| <input type="checkbox"/> | Outil de prélèvement d'échantillons* | 1                                       |

\* Peut être commandé en sus

#### Matériel pour la méthode standard

|                          |  |                                 |
|--------------------------|--|---------------------------------|
| <input type="checkbox"/> | Râteliers  | Selon le nombre d'éprouvettes   |
| <input type="checkbox"/> | Tube de prélèvement / éprouvettes (50 ml)  | Selon le plan d'échantillonnage |
| <input type="checkbox"/> | Tampon standard = 33,5 ml éthanol (pur, Honeywell) + 1,5 ml acétate de sodium (3M, pH 5,2) | 35 ml par éprouvette            |
| <input type="checkbox"/> | Éprouvettes avec tampon de réserve   | 1 à 2 par site                  |

#### Matériel pour la méthode par filtration

|                          |   |                          |
|--------------------------|---|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | Tampon pour la méthode par filtration (dans une bouteille PET de 0,5 l) | 125 ml par éprouvette    |
| <input type="checkbox"/> | Bouteilles PET avec tampon de réserve (méthode par filtration)          | Selon le nombre de sites |

#### Matériel supplémentaire (à se procurer soi-même)

|                          |   |   |
|--------------------------|---|---|
| <input type="checkbox"/> | Glacière avec éléments réfrigérants     | 1 |
| <input type="checkbox"/> | Appareil photographique                 | 1 |
| <input type="checkbox"/> | Ruban adhésif transparent               | 1 |
| <input type="checkbox"/> | Matériel d'écriture / feutre indélébile | 1 |

#### Nettoyage et désinfection sur le terrain (à se procurer soi-même)

|                          |                                   |               |
|--------------------------|-----------------------------------|---------------|
| <input type="checkbox"/> | Spray à l'alcool (70 %) ou Virkon | 1             |
| <input type="checkbox"/> | Serviettes en papier              | Selon besoins |
| <input type="checkbox"/> | Eau du robinet pour le nettoyage  | Selon besoins |

#### En sus pour les grands sites (à se procurer soi-même)

|                          |   |            |
|--------------------------|---|------------|
| <input type="checkbox"/> | Bidon de 5 l                              | 1          |
| <input type="checkbox"/> | Sacs en plastique pour recouvrir le bidon | 1 par site |



Figure 2 : Tube de prélèvement (50 ml) fixé sur l'outil de prélèvement (photo : ARNAL AG).



Figure 3 : Râtelier à éprouvettes avec étiquette QR (photo : ARNAL AG).

## 5. Plan d'échantillonnage

Avant de procéder aux prélèvements d'échantillons dans le terrain, il convient de définir un plan d'échantillonnage. Il s'agit entre autres de déterminer les paramètres suivants :

- problématique (quelles espèces s'agit-il de recenser ?) ;
- méthode d'échantillonnage (méthode standard ou par filtration ?) ;
- nombre d'échantillons de laboratoire (standard : trois par site) ;
- sites à étudier ;
- période de prélèvement.

### Problématique

Il s'agit ici de déterminer si l'on veut recenser tout le spectre des espèces d'amphibiens (méthode standard) ou une seule espèce bien spécifique, et ce dans un seul (plan unique) ou plusieurs plans d'eau (plan complexe).

#### **Recensement de l'ensemble du spectre des espèces d'amphibiens**

On parle ici de la méthode standard, qui permet de déterminer la présence d'espèces sur l'ensemble du spectre des espèces d'amphibiens, pour un ou pour plusieurs plans d'eau.

#### **Option : recensement d'une seule espèce\* (voir encadré 1, chap. 6)**

Il s'agit ici de recenser la présence d'une espèce bien particulière dans un ou plusieurs plans d'eau. Dans ce cas, la technique de laboratoire utilisée est plus sensible que celle utilisée dans la méthode standard, en ce sens qu'elle est calibrée sur une espèce spécifique. On relèvera que cette méthode ne permet pas de recenser les espèces accompagnatrices du site examiné.

### Méthode d'échantillonnage

#### **Méthode standard**

La méthode standard est présentée de manière détaillée dans le présent guide. Elle convient pour les petits comme pour les grands plans d'eau et peut aussi être utilisée pour des eaux relativement troubles. Cette méthode permet de récolter et d'analyser aussi bien de l'ADN libre que de l'ADN lié.

#### **Option : méthode par filtration\* (voir encadré 2, chap. 6)**

Cette méthode convient plus particulièrement pour les eaux vives et les grands plans d'eau claire. Son avantage est qu'elle permet d'analyser de plus grandes quantités d'eau. L'échantillon est filtré en laboratoire par ecogenics GmbH / microsynth AG. L'ADN lié est retenu par le filtre avant d'être analysé. On relèvera que cette méthode ne permet pas d'analyser l'ADN dissous.

*\* Il est recommandé de procéder à une estimation globale du projet (but du recensement, ampleur de l'échantillon, etc.) avant de recourir à ces méthodes, notamment pour déterminer le rapport coût-utilité.*

### Nombre d'échantillons de laboratoire (méthode standard)

Le nombre d'échantillons de laboratoire (nombre d'éprouvettes à analyser) dépend de la problématique et doit être déterminé à l'avance par un spécialiste. On recommande en principe de faire analyser trois échantillons de laboratoire par site et par visite. L'analyse d'un à deux échantillons peut être envisagée dans les situations suivantes :

- le but du recensement est seulement de démontrer la présence d'amphibiens ;
- le budget est limité et des relevés « classiques » sont réalisés simultanément sur le terrain.

## Sites

Avant de procéder au prélèvement d'échantillons, il faut déterminer le nombre et la taille exacts ainsi que le type des sites à étudier (plan unique et/ou plan complexe).

### Plan unique

Dans le cas d'un plan unique, on prélèvera des échantillons d'eau en plusieurs endroits. Le nombre de sites de prélèvement doit être déterminé sur place (ou préalablement à l'aide d'une vue aérienne) par un spécialiste (Figure 4). Valeurs indicatives selon la surface du plan d'eau :

- < 50 m<sup>2</sup> = 3 à 5 sites de prélèvement
- 50-500 m<sup>2</sup> = 6 à 10 sites de prélèvement
- > 500 m<sup>2</sup> = 11 à 20 sites de prélèvement

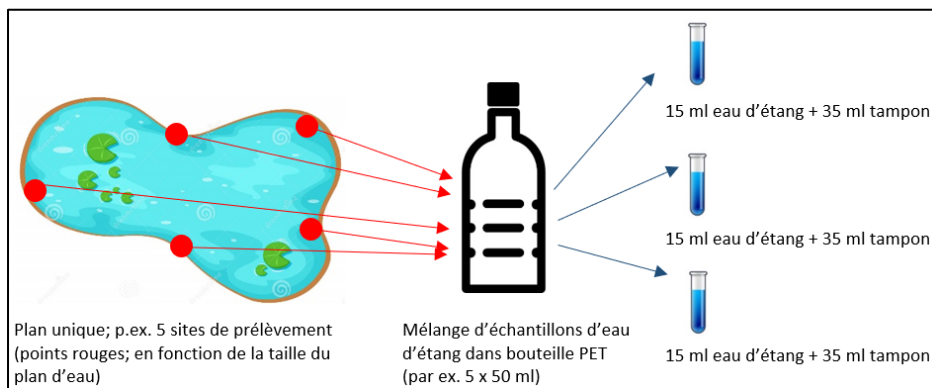


Figure 4 : Prélèvement d'échantillons dans un plan unique (méthode standard)

## Plan complexe

On entend par plan complexe un ensemble de plans d'eau qui forment un seul site aux fins du recensement (échantillons de laboratoire considérés comme une unité d'analyse).

Les échantillons des différents plans d'eau sont recueillis sur les sites de prélèvement définis par le spécialiste puis mélangés dans une bouteille PET. Le mélange d'échantillons est ensuite transvasé dans les éprouvettes avec tampon aux fins d'analyse (= échantillons de laboratoire ; Figure 5).

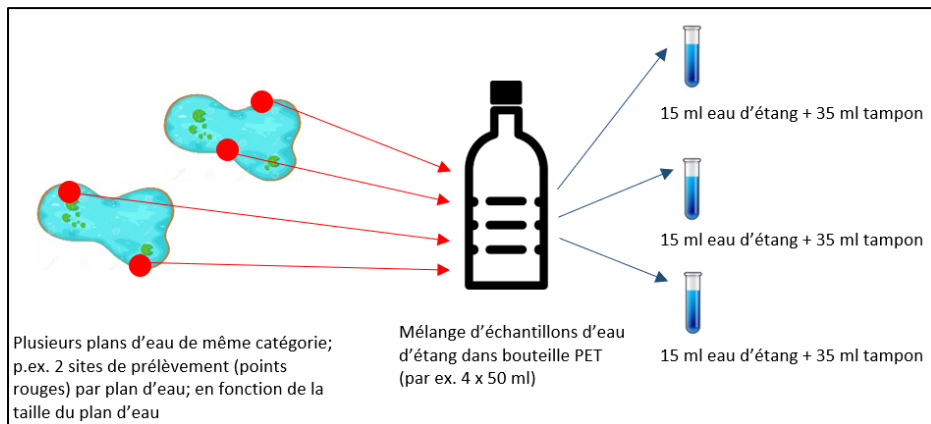


Figure 5 : Prélèvement d'échantillons dans un plan complexe (deux plans d'eau temporaires) – Méthode standard

Pour les grands plans complexes comportant plus de 20 sites de prélèvement, les échantillons d'eau sont recueillis dans plusieurs bouteilles PET, qui sont ensuite transvasées dans un bidon de 5 l (revêtu d'un sac en plastique). On utilise ce mélange d'échantillons pour remplir les éprouvettes de laboratoire (Figure 6).

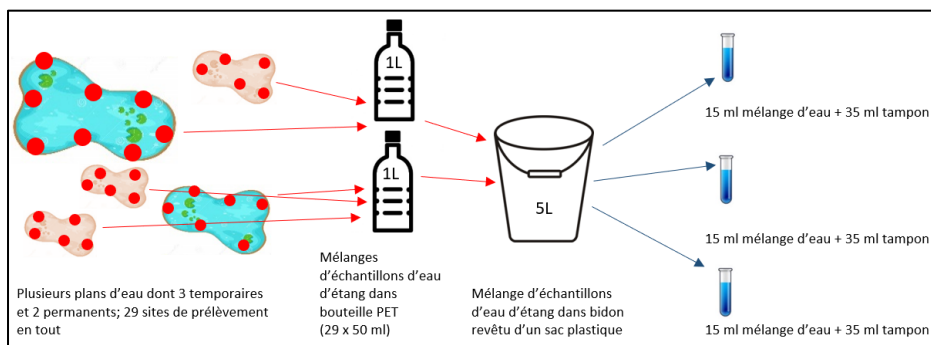


Figure 6 : Prélèvement d'échantillons dans un grand plan complexe – Méthode standard



## Période de prélèvement

La période de prélèvement des échantillons dépend de la problématique. L'heure du jour et la météo ne jouent aucun rôle. Pour recueillir des données sur les espèces à ponte précoce et à ponte tardive, il est recommandé d'effectuer deux visites. Si l'on veut seulement savoir si un plan d'eau sert d'habitat aux amphibiens ou recueillir des données sur une seule espèce, une seule visite peut suffire. Valeurs indicatives selon la nature des données recherchées :

- Présence générale d'amphibiens 1 visite avec prélèvements (3 échantillons) début mai  
(peuplement d'amphibiens : oui ou non ? ; plus grande probabilité pour la présence d'amphibiens en général : début mai)
- Présence de plusieurs espèces 2 visites avec prélèvements (3 échantillons chaque fois) dans la première moitié d'avril (ponte précoce) et fin mai / début juin (ponte tardive)
- Présence d'une espèce spécifique 1 visite avec prélèvements (3 échantillons) soit dans la première moitié d'avril (ponte précoce) soit fin mai / début juin (ponte tardive)  
(période du relevé en fonction de la période de vie aquatique de l'espèce visée)

## Exemple pratique

### Situation initiale

Au moyen de relevés de terrain et de relevés par ADNe, on veut recenser tout le spectre des espèces d'amphibiens qui peuplent un site (plan complexe) comprenant des plans d'eau temporaires et permanents.

### Conception du recensement

Le recensement combinera simultanément deux relevés de terrain « classiques » et deux relevés par ADNe à deux moments distincts de la saison, soit dans la première moitié d'avril (ponte précoce) et à fin mai / début juin (ponte tardive). Pour chacun des deux relevés par ADNe, on constituera un mélange d'échantillons pour tous les plans d'eau et l'on enverra au laboratoire trois éprouvettes (avec tampon) pourvues d'un code QR.

### Données

En plus des résultats des relevés de terrain « classiques », on disposera de six jeux de données (2x3 échantillons de laboratoire) pour les relevés par ADNe. On peut donc estimer que, de la sorte, tout le spectre des espèces d'amphibiens peuplant le plan complexe sera couvert.

## 6. Travail sur le terrain

### Préparation

- Préparer le Sample Submission Form (SSF) et éventuellement le rapport de terrain.
- Attribuer les codes QR aux éprouvettes de laboratoire (avec tampon) et les coller sur les éprouvettes à l'aide du ruban adhésif.

### Déroulement du travail sur le terrain

(voir tutoriel « Probenahme eDNA Tutorial » sur [www.naturschutzgenetik.ch](http://www.naturschutzgenetik.ch))

1. Enfiler les gants jetables avant de commencer les prélèvements.
2. Fixer le tube de prélèvement sur l'outil de prélèvement.
3. Prélever les échantillons d'eau le long de la rive. L'emplacement exact des sites de prélèvement est déterminé sur le terrain par un spécialiste (habitats potentiels d'amphibiens). Plonger le tube dans l'étang, à une distance d'environ 1 m de la rive et à une profondeur d'environ 10 cm et le remplir complètement d'eau (soit environ 50 ml par prélèvement) et transvaser son contenu dans une bouteille PET. Pour les plans d'eau profonds, et quelle que soit la problématique (espèce cible), l'échantillon d'eau peut aussi être prélevé à une plus grande profondeur.
4. Répéter l'étape 3 tous les 10 à 20 m, au moins trois à cinq fois.
5. Fermer et agiter la bouteille PET une fois les prélèvements terminés.
6. Préparer les éprouvettes de laboratoire (avec tampon) dans un râtelier.
7. Remplir les éprouvettes de laboratoire contenant le tampon avec l'eau du mélange d'échantillons, jusqu'à la ligne graduée de 50 ml (standard: trois éprouvettes de laboratoire par site).
8. Coller les codes QR sur les éprouvettes de laboratoire (peut également être fait avant).
9. Mettre les échantillons de laboratoire dans un sachet plastique étiqueté à fermeture zip et placer ce dernier dans une glacière ou un sac thermique.
10. Compléter le Sample Submission Form (SSF) et éventuellement le rapport de terrain.
11. Au besoin, signaler les sites de prélèvement sur la carte ou sur une orthophotographie.
12. Si nécessaire, documenter le site avec une photo.
13. Éliminer tout le matériel jetable (éprouvettes, bouteilles PET, gants, sacs plastique) avant de passer au site suivant.

### Désinfection et nettoyage (à effectuer à la fin du travail sur chaque site)

14. Laver l'outil de prélèvement avec de l'eau du robinet, puis l'essuyer avec des serviettes en papier pour éliminer d'éventuelles traces d'ADN.
15. Désinfecter ensuite les bottes et l'outil de prélèvement avec la solution alcoolique ou le Virkon afin d'éviter la propagation éventuelle du chytride (*Batrachochytrium dendrobatidis*) ou d'autres vecteurs de maladies.

### **Stockage / expédition**

16. Expédier ou apporter les échantillons de laboratoire au laboratoire dans un délai d'un jour (non réfrigérés) ou les stocker à plus long terme (plusieurs jours) au congélateur (-20° C).
17. Imprimer le Sample Submission Form et le joindre aux échantillons de laboratoire ; l'envoyer également par courriel à [info@ecogenics.ch](mailto:info@ecogenics.ch).

### **Important**

- Il est recommandé d'effectuer tous les travaux sur le terrain avec des gants afin de réduire le plus possible une contamination des échantillons par de l'ADN humain.
- Le matériel jetable (éprouvettes, bouteilles PET, gants, sacs plastique) doit être utilisé pour un seul prélèvement puis être éliminé à la fin du travail.
- Le nettoyage de l'outil de prélèvement avec de l'eau (contre la contamination par ADN) et la désinfection (contre la propagation du chytride) doivent être effectués soigneusement à la fin du travail sur chaque site.

### **Encadré 1 – Option : recensement d'une seule espèce**

Il s'agit ici de recenser la présence d'une seule espèce bien particulière (par ex. Triton crêté) dans un ou plusieurs plans d'eau.

Dans ce cas, la technique de laboratoire utilisée est plus sensible que celle utilisée dans la méthode standard, en ce sens qu'elle est calibrée sur une espèce spécifique. On relèvera que cette méthode ne permet pas de recenser les espèces accompagnatrices du site examiné. Un même échantillon peut toutefois être utilisé pour plusieurs recensements d'une seule espèce de même que pour une analyse selon la méthode standard.

#### **Prélèvement d'échantillons**

Les échantillons sont prélevés de la même manière que pour la méthode standard.

## Encadré 2 – Option : méthode par filtration (travail sur le terrain)

### Prélèvements d'échantillons dans un plan unique

Les échantillons d'eau d'un plan unique sont prélevés sous forme de mélange d'échantillons sur les sites de prélèvement définis par le spécialiste (voir méthode standard) puis transvasés dans la bouteille PET de 500 ml (contenant 125 ml de tampon) (Figure 7). Cet échantillon de laboratoire<sup>3</sup>, qui contient 375 ml d'eau d'étang et 125 ml de tampon, est expédié au laboratoire pour filtration et analyse.

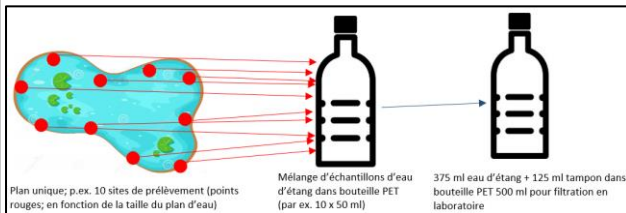


Figure 7 : Prélèvements d'échantillons dans un plan unique

### Prélèvement d'échantillons dans un plan complexe

Pour un plan complexe, on mélange les échantillons des différents plans d'eau puis on les transvase dans la bouteille PET de 500 ml (contenant 125 ml de tampon) (Figure 8). Cet échantillon de laboratoire est expédié au laboratoire pour filtration et analyse.

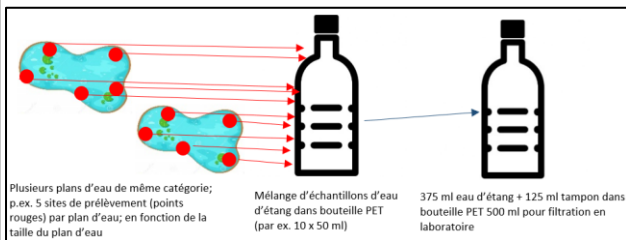


Figure 8 : Prélèvement d'échantillons dans un plan complexe (deux plans d'eau temporaires)

Pour les grands plans complexes, les échantillons sont recueillis dans plusieurs bouteilles PET, puis mélangés dans un bidon de 5 l (revêtu d'un sac plastique) avant d'être transvasés dans la bouteille PET de 500 ml contenant le tampon. Cet échantillon de laboratoire est expédié au laboratoire pour filtration et analyse (Figure 9).

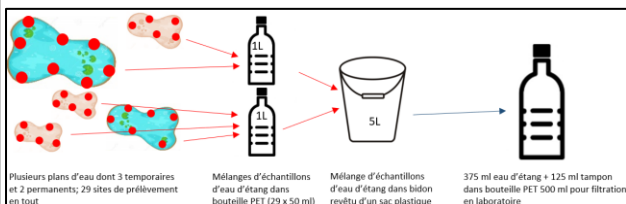


Figure 9 : Prélèvement d'échantillons dans un grand plan complexe

<sup>3</sup>Vgl. Buxton et al. 2018. Comparison of two citizen scientist methods for collecting pond water samples for environmental DNA studies. Citizen Science: Theory and Practice, 3(2): 2, pp. 1-9.

## 7. Glossaire

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Visite                              | Visite sur le terrain dans le but de prélever des échantillons d'eau et de laboratoire.   |
| Recensement d'une seule es-<br>pèce | Recensement d'une espèce spécifique dans un site.   |
| Plan unique                         | Plan d'eau sans connexion directe avec d'autres plans d'eau.  |
| Méthode par fil-<br>tration         | Méthode qui convient plus particulièrement pour les eaux vives et les grands plans d'eau claire. Elle permet d'analyser une plus grande quantité d'eau qu'avec la méthode standard. Par contre, l'ADNe dis-<br>sout ne peut pas être analysé. |
| Plan complexe                       | Ensemble de plans d'eau qui forment un seul site aux fins du recen-<br>sement (échantillons de laboratoire pour le site considérés comme<br>une unité d'analyse).   |
| Échantillon d'eau                   | Échantillon prélevé dans un plan d'eau avec le tube de prélèvement. Il<br>est ensuite mélangé avec d'autres échantillons d'eau dans la bouteille<br>PET.  |
| Échantillon de la-<br>boratoire     | Échantillon d'eau dans l'éprouvette pourvue d'un code QR, mélangé<br>avec le tampon (= éprouvette de laboratoire). Il est ensuite transmis<br>au laboratoire pour analyse.  |
| Mélange d'échan-<br>tillons         | Échantillons d'eau mélangés dans la bouteille PET.  |
| Site                                | Plan unique ou plan complexe dont tous les échantillons prélevés sont<br>mélangés et envoyés au laboratoire comme un seul échantillon de la-<br>boratoire.  |
| Site de prélève-<br>ment            | Lieu où l'échantillon d'eau est prélevé.  |
| Échantillons de<br>projet           | Échantillons envoyés au laboratoire qui doivent être analysés jusqu'à<br>la date fixée par le client. Le coût des échantillons diminue avec le<br>nombre d'échantillons envoyés.  |
| Râtelier                            | Support pour l'entreposage des éprouvettes de laboratoire.  |
| Échantillon collec-<br>tif          | Échantillons envoyés au laboratoire qui doivent être analysés pour une<br>date fixe avec tous les autres échantillons de laboratoire envoyés. Le<br>coût par échantillon est fixe.  |
| SSF                                 | Sample Submission Form (rapport d'envoi des échantillons au labora-<br>toire).  |

## 8. Offre et prix courants

### Méthode standard

#### Kit de départ pour un site

Prix\* : CHF 42.-- (+ frais de port)  
+ CHF 4.-- par éprouvette supplémen-  
taire, y c. tampon et code QR

Contenu :

- 1 éprouvette avec code QR ; y c. tampon pour analyses de laboratoire (35 ml)
- 1 tube de prélèvement (échantillons d'eau)
- 1 éprouvette avec tampon de remplacement (35 ml)
- 1 éprouvette de remplacement (sans tampon)
- Documentation Méthode de prélèvement
- Râtelier (gratuit ; à retourner avec les échantillons de laboratoire)
- 2 bouteilles PET (pour prélèvement + réserve)
- Gants jetables

#### Kit complémentaire

##### (pour chaque site supplémentaire)

Prix\* : CHF 8.-- (+ frais de port)  
+ CHF 4.-- par éprouvette  
suppl., y c. tampon et code QR

Contenu :

- 1 éprouvette avec code QR ; y c. tampon pour analyses de laboratoire (35 ml)
- 1 tube de prélèvement (échantillons d'eau)
- Râtelier (gratuit ; à retourner avec les échantillons de laboratoire)
- Bouteille PET y c. réserve (selon le nombre de sites)
- Gants jetables

### Méthode par filtration

#### Kit de départ pour un site

Prix\* : CHF 42.-- (+ frais de port)

Contenu :

- 1 bouteille PET (pour prélèvements)
- 1 bouteille PET avec tampon
- 1 tube de prélèvement (échantillons d'eau)
- Documentation Méthode de prélèvement
- Gants jetables

#### Kit complémentaire

##### (pour chaque site supplémentaire)

Prix\* : CHF 8.-- (+ frais de port)

Contenu :

- 1 bouteille PET y c. réserve (selon le nombre de sites)
- 1 bouteille PET avec tampon
- 1 tube de prélèvement (échantillons d'eau)
- Gants jetables

#### Outillage (méthode standard et par filtration)

- Outil de prélèvement d'échantillons : CHF 90.-- (+ frais de port)\*

\* Prix indicatifs hors TVA. En fonction de la méthode, il faut prévoir plusieurs analyses par site.

## Frais de laboratoire Monitoring des amphibiens (méthode standard et par filtration)

### Échantillon collectif

- Prix par analyse (1 échantillon de laboratoire)\* : CHF 220.—

Remarque : les échantillons de laboratoire sont analysés à une date fixe (vendredi 31 juillet 2020). Les analyses peuvent être proposées à un bas coût grâce au regroupement des échantillons de tous les fournisseurs. Le délai de livraison des résultats est de cinq semaines à compter de la date fixée. Le nombre d'échantillons envoyés n'a aucune influence sur le coût par échantillon.

### Échantillons de projet

| Nombre d'échantillons de laboratoire | Frais de laboratoire par analyse (CHF) * |
|--------------------------------------|--|
| 1                                    | 1800.00                                  |
| 2                                    | 1000.00                                  |
| 3-4                                  | 700.00                                   |
| 5-8                                  | 550.00                                   |
| 9-16                                 | 400.00                                   |
| 17-24                                | 300.00                                   |
| 24-48                                | 250.00                                   |
| 49-100                               | 220.00                                   |
| >100                                 | 190.00                                   |

Remarque :

les échantillons de laboratoire peuvent être remis en tout temps. Le délai de livraison des résultats est de cinq semaines à compter de la réception des échantillons. Le coût des analyses est dégressif.

## Frais de laboratoire Monitoring des amphibiens (recensement d'une seule espèce)

| Nombre d'échantillons de laboratoire | Coût par échantillon (CHF) ** |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| 10                                   | 195.00                        |
| 20                                   | 175.00                        |
| 50                                   | 141.00                        |
| 100                                  | 130.00                        |

\* Prix indicatifs hors TVA. En fonction de la méthode, il faut prévoir plusieurs analyses par site.

\*\* Prix indicatifs hors TVA. En fonction de la méthode, il faut prévoir plusieurs analyses par site. D'éventuels frais de développement ne sont pas inclus dans le prix. On peut estimer que le coût par échantillon, y compris d'éventuels frais de développement, commence à diminuer par rapport à la méthode standard à partir de 50 échantillons environ.

En cas de demande concernant un projet visant une espèce spécifique, les coûts seront détaillés.

## 9. Commandes

La quantité nécessaire de matériel sera calculée et préparée sur la base du nombre de sites, de visites et d'échantillons de laboratoire indiqué. Pour vos commandes, veuillez utiliser le formulaire ci-dessous. Vous pouvez également nous envoyer un courriel. Veuillez prendre contact préalablement par téléphone ou par courrier électronique pour les cas complexes.

|   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |
|---|-----------------|--|-------------------|--|---|--|---|-----------------|--|-------------------|--|---|--|
| <p><b>Commande 1</b></p> <p><input type="checkbox"/> Plan unique<br/><input type="checkbox"/> Plan complexe</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="width: 80%;">Nombre de sites</td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> <tr> <td>Nombre de visites</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nombre d'échantillons de laboratoire (standard = 3)</td> <td></td> </tr> </table> <p>Analyse :</p> <p><input type="checkbox"/> Analyse collective (standard)<br/><input type="checkbox"/> Échantillons de projet</p> <p><input type="checkbox"/> Méthode standard</p> <p><input type="checkbox"/> Option : méthode par filtration<br/><input type="checkbox"/> Option : recensement d'une seule espèce<br/>Espèce :</p> | Nombre de sites |  | Nombre de visites |  | Nombre d'échantillons de laboratoire (standard = 3) |  | <p><b>Commande 2</b></p> <p><input type="checkbox"/> Plan unique<br/><input type="checkbox"/> Plan complexe</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="width: 80%;">Nombre de sites</td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> <tr> <td>Nombre de visites</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nombre d'échantillons de laboratoire (standard = 3)</td> <td></td> </tr> </table> <p>Analyse :</p> <p><input type="checkbox"/> Analyse collective (standard)<br/><input type="checkbox"/> Échantillons de projet</p> <p><input type="checkbox"/> Méthode standard</p> <p><input type="checkbox"/> Option : méthode par filtration<br/><input type="checkbox"/> Option : recensement d'une seule espèce<br/>Espèce :</p> | Nombre de sites |  | Nombre de visites |  | Nombre d'échantillons de laboratoire (standard = 3) |  |
| Nombre de sites   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |
| Nombre de visites   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |
| Nombre d'échantillons de laboratoire (standard = 3)   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |
| Nombre de sites   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |
| Nombre de visites   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |
| Nombre d'échantillons de laboratoire (standard = 3)   |                 |  |                   |  |   |  |   |                 |  |                   |  |   |  |

### Matériel supplémentaire

|                                  | Quantité | Nombre |
|----------------------------------|----------|--------|
| Outil de prélèvement (CHF 90.00) | 1        |        |

Remarques :

---



---



---



---



---



---

Commande par courrier électronique à l'adresse [assistentz@arnal.ch](mailto:assistentz@arnal.ch) (objet : ADNe) ou par courrier postal à ARNAL AG, Kasernenstrasse 37, 9100 Herisau