



Institut de Génétique et Développement de Rennes
UMR 6290, Équipe « Génétique du chien »
2 av du Pr Léon Bernard 35043 Rennes Cedex
Tél : 02 23 23 45 09 Fax : 02 23 23 44 78
Adresse mail : cani-dna@univ-rennes1.fr
Site internet : <http://dog-genetics.genouest.org/>



Etude de l'influence du microbiote oral sur le développement des mélanomes buccaux canins

Dans le cadre du travail de recherche que nous menons sur **l'influence du microbiote oral sur le développement des mélanomes buccaux** (chez le Caniche, le Golden Retriever, le Labrador Retriever, le Rottweiler, le Yorkshire Terrier et d'autres races), en collaboration avec les Drs F. Boutoille (ATLANTIA), P. Devauchelle (MICENVET) et J. Abadie (ONIRIS) nous souhaiterions recueillir des échantillons de chiens sains et atteints de mélanome buccal. Les prélèvements doivent être effectués au cours d'une anesthésie générale prévue pour soins dentaires ou un autre motif. Pouvez-vous nous envoyer (l'ensemble des tubes sont fournis par le CNRS) :

Pour les chiens sains de mélanome buccal :

- **3 écouvillons buccaux** : réalisés par un roulement doux sur la surface à prélever (l'objectif est de récolter de la salive et du biofilm bactérien, mais pas de cellule épithéliale). Les sites de prélèvements sont : le vestibule buccal en regard de M1 à droite et son symétrique à gauche, et le dessus de la langue.
- **Dans les poches parodontales de plus de 5 mm, réaliser 2 à 5 prélèvements à l'aide de pointes de papiers stériles**. Placer ensuite les pointes de papier dans des tubes Eppendorf avec les étiquettes vertes. Bien renseigner la localisation et la profondeur des poches prélevées, selon la formule dentaire rappelée sur le schéma.
- **Du plasma** : via un prélèvement de 2 à 5 ml de sang sur anticoagulant EDTA. Réaliser une centrifugation, prélever le plasma surnageant et le déposer dans un tube Eppendorf avec une étiquette blanche. Nous faire suivre ensuite le culot restant sur EDTA et le plasma sur Eppendorf.
- **Un questionnaire clinique à remplir** (fourni par nos soins) : bien noter les **coordonnées téléphoniques des propriétaires** (les prévenir qu'un vétérinaire du CNRS les contactera afin de recueillir des informations plus précises sur le mode de vie du chien). Préciser également l'identification du chien, et fournir si possible le pédigrée.

BIEN PENSER A IDENTIFIER LES TUBES avec le nom de l'animal, du propriétaire et la date, ainsi que la localisation des sites dentaires (initiales de la formule dentaire rappelée sur le questionnaire, latéralisation (D : Droite / G : Gauche et H : Haut / B : Bas et L : langue).

Tous les tubes sont placés dans la boîte hermétique noire puis dans la pochette de transport, avec les écouvillons. Le questionnaire est glissé dans la partie réservée à cet effet. La pochette annotée avec le nom du chien et la date est fermée par adhésif et stockée à -20°C jusqu'à envoi au CNRS via transporteur.

Le CNRS affrètera un transporteur pour le retour des pochettes conservées à -20°C, lorsque leur nombre sera suffisant.

Pour les chiens atteints de mélanome buccal :

- **3 écouvillons buccaux** : réalisés par un roulement doux sur la surface à prélever (l'objectif est de récolter de la salive et du biofilm bactérien, mais pas de cellule épithéliale). Les sites de prélèvements sont : le site tumoral avec sa périphérie proche, le site symétrique s'il existe, et le dessus de la langue.



- **Dans les poches parodontales de plus de 5 mm, réaliser 2 à 5 prélèvements à l'aide de pointes de papiers stériles.** Placer ensuite les pointes de papier dans des tubes Eppendorf avec les étiquettes vertes. Bien renseigner la localisation et la profondeur des poches prélevées.
- **Du plasma** via un prélèvement de 2 à 5 ml de sang sur un tube EDTA **ou du sang total** sur tube STRECK (pour rechercher l'ADN circulant). Pour les prélèvements sur EDTA, réaliser une centrifugation, prélever le plasma surnageant et le déposer dans un tube Eppendorf avec une étiquette blanche. Nous faire suivre ensuite le culot restant sur EDTA et le plasma sur Eppendorf, ou le tube STRECK tel que prélevé.
- **Un prélèvement de tissu tumoral.** Couper chaque prélèvement en 3 petits fragments (taille d'un petit pois) : placer le fragment le plus externe (en contact avec la cavité buccale) dans le tube de formol, le fragment intermédiaire dans le tube de **RNA-later** et le dernier dans **du milieu de culture** (fournie par nos soins). *Rem : La solution RNA later (Qiagen) se garde à température ambiante et doit être manipulée avec des gants.*
- **Un questionnaire clinique à remplir** (fourni par nos soins) : bien noter les **coordonnées téléphoniques des propriétaires** (les prévenir qu'un vétérinaire du CNRS les contactera afin de recueillir des informations plus précises sur le mode de vie du chien). Préciser également l'identification du chien, et fournir si possible le pédigrée

BIEN PENSER A IDENTIFIER LES TUBES avec le nom de l'animal, du propriétaire et la date, ainsi que la localisation des sites dentaires : initiales de la formule dentaire rappelée sur le questionnaire et latéralisation (D : Droite / G : Gauche et H : Haut / B : Bas et L : langue).

Pour les prélèvements tissulaires et le tube STRECK : conserver les tubes à 4°C dans la boîte hermétique bleue (RNA-later, formol, milieu de culture, Streck) en attendant le passage du transporteur. Ce dernier est affrété par le CNRS et doit passer le plus rapidement possible : il est donc très important de **nous contacter** idéalement **la veille**, et au plus tard **avant 15 heures** le jour du prélèvement **au 02 23 23 45 09**.

Pour les autres prélèvements (pointes de papier et dérivés sanguins autre que Streck) placer les tubes directement **dans la pochette de transport**, avec les écouvillons. Le questionnaire est glissé dans la partie réservée à cet effet. La pochette annotée avec le nom du chien et la date est fermée par adhésif et stockée à -20°C jusqu'à envoi au CNRS via transporteur.

Ces prélèvements n'engagent aucuns frais supplémentaires pour le propriétaire : soit le vétérinaire consent à la gratuité de l'acte dans le cadre de la recherche, soit le vétérinaire transmet une facture à l'ordre du CNRS UMR 6290. Le **remboursement par virement bancaire** du CNRS ne s'effectuera que sur présentation d'un RIB et du numéro de SIRET de la clinique.

Les prélèvements qui nous sont envoyés entreront anonymement dans le cadre d'une étude globale. Il n'y aura donc pas de résultat individuel.

Nous vous remercions chaleureusement de votre collaboration, cette étape de recrutement est indispensable à la réussite de ces recherches. N'hésitez pas à nous contacter ou à consulter notre site pour tous renseignements complémentaires.

Dr Catherine ANDRE