

Procédure Opérationnelle Normalisée

| | |
|--|------------------------------|
| TITRE : TESTS DE TOLÉRANCE AU GLUCOSE OU À L'INSULINE CHEZ LA SOURIS | NUMÉRO : T-32 |
| DESTINATAIRES : Personnel du Service des animaleries et usagers | Version 1 : 9.04.2020 |
| ÉMISE PAR : Normand Lapierre, T.S.A. CORRIGÉE : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire | CIPA : 14.05.2020 |
| APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire | DATE : 14.04.2020 |
| BUT : Énumérer les étapes d'un test de tolérance au glucose ou à l'insuline chez la souris. | |

MATÉRIEL :

- Lancette ou aiguille 25G
- Seringue 1ml + aiguille 26G
- Solution glucose (mag. CB)
- Solution insuline (Thermo-Fisher #12585-014)
- Dispositif de contention
- Glucomètre commercial + bandelettes
- Crème analgésique topique
- Minuteur
- Gelée de pétrole

SANTÉ ET SÉCURITÉ : Le port de gants, d'un sarrau ou d'un habit de travail de type chirurgical et d'un masque N95 est obligatoire, afin de réduire l'exposition du manipulateur aux protéines urinaires des rongeurs qui sont hautement volatiles et allergènes.

A. Test de tolérance au glucose (GTT)

Définition

Le GTT est un test qui consiste à déterminer la capacité d'un individu à normaliser un épisode d'hyperglycémie suite à l'administration d'un bolus de glucose par la voie intraveineuse (IV), orale (PO) ou intrapéritonéale (IP). Dans le cadre de cette P.N.F., seule la voie IP sera discutée*.

PROCÉDURES :

1. Établir une cédule pour l'expérience. Une personne expérimentée sera en mesure de tester 5 souris simultanément. Afin d'espacer chaque prélèvement et injection, il faut prévoir un délai minimal de 2 minutes entre chaque prélèvement et souris. Il est possible de décaler plusieurs groupes dans une même expérience, mais la cédule doit être vérifiée et éprouvée. Dans cette procédure, la voie IP est privilégiée*.
2. Élaborer une feuille de prises de données et d'intervention pour chaque souris (voir exemple ci-dessous) :

* La voie IP est utilisée puisque c'est la méthode la plus simple à réaliser

| Identification de la souris: | Poids corporel (g): | Volume d'injection (ul): | | |
|------------------------------|---------------------|---|-------------------------|--------------|
| Temps de prélèvement | Temps (HH :MM) | | Glucose sanguin (mg/dL) | Commentaires |
| -15 | | G | | |
| 0 | | <i>injection de glucose (1g/kg poids corporel)</i> | | |
| 5 | | G | | |
| 15 | | G | | |
| 30 | | G | | |
| 45 | | G | | |
| 60 | | G | | |
| 90 | | G | | |
| 120 | | G | | |

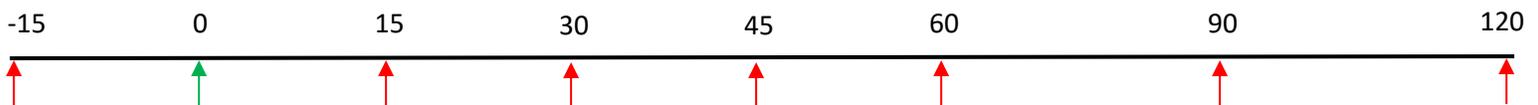
G: glycémie

3. Peser et noter le poids de toutes les souris qui subiront le test.
4. Mettre les souris à jeun 4 heures avant le GTT (accès à l'eau conservé).
5. Préparer une solution de glucose 20% dans du PBS stérile :
 - a. Peser 200 mg de glucose.
 - b. Mélanger le glucose dans 1 ml de PBS à température pièce.
 - c. Identifier la solution.
6. Préparer les doses (1g glucose/kg de poids corporel) à injecter pour chaque souris dans des seringues 1ml avec aiguille 26G (1 seringue et aiguille par souris). Identifier les seringues avec l'ID de la souris.

Ex. : 1 souris de 20g → dose 1g/kg, donc 20mg → solution 200mg/ml, donc 100µL.
7. Mettre la première souris dans un dispositif de contention.
8. Procéder à l'analyse basale du glucose, c'est-à-dire à jeun 15 minutes (temps -15 (T-15)) avant l'injection de glucose:
 - a. Appliquer une crème analgésique sur l'extrémité de la queue.
 - b. Appliquer une fine couche de gelée de pétrole à l'extrémité de la queue.
 - c. Ponctionner une des veines latérales avec une lancette ou une aiguille 25G.
 - d. Apposer la partie absorbante d'une bandelette de glucomètre sur la goutte de sang (5µl) produite par la ponction.
 - e. Insérer immédiatement la bandelette dans le glucomètre et faire la lecture de glycémie.
 - f. S'assurer de l'hémostase du site de prélèvement avant de remettre l'animal dans sa cage.
 - g. Répéter les étapes a. à e. pour toutes les souris.
9. Injecter la solution de glucose avec la seringue identifier pour chaque souris, 15 minutes (T0) après le prélèvement basal pour chacune des souris.

10. Procéder à la mesure de glycémie en grattant la gale du site initial pour les temps de 15-30-45-60-90 et 120 minutes suivants l'injection de glucose.
11. S'assurer de l'hémostase du site de prélèvement entre chaque lecture de glycémie avant de remettre l'animal dans sa cage.
12. À la fin du dernier prélèvement, remettre l'animal dans une cage propre avec accès à l'eau et la nourriture à volonté.

Ligne temporelle d'un GTT pour une souris



Exemple de cédule pour GTT

| ID | Jeun | T-15 | Injx 0 | T15 | T30 | T45 | T60 | T90 | T120 |
|----|------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 8h | 11h45 | 12h | 12h15 | 12h30 | 12h45 | 13h | 13h15 | 13h45 |
| 2 | 8h03 | 11h48 | 12h03 | 12h18 | 12h33 | 12h48 | 13h03 | 13h18 | 13h48 |
| 3 | 8h06 | 11h51 | 12h06 | 12h21 | 12h36 | 12h51 | 13h06 | 13h21 | 13h51 |
| 4 | 8h09 | 11h54 | 12h09 | 12h24 | 12h39 | 12h54 | 13h09 | 13h24 | 13h54 |
| 5 | 8h12 | 11h57 | 12h12 | 12h27 | 12h42 | 12h57 | 13h12 | 13h27 | 13h57 |

B. Test de tolérance à l'insuline (ITT)

Définition

Le ITT est un test qui consiste à déterminer la sensibilité d'un individu à l'insuline suite à un épisode d'hypoglycémie induite par l'administration d'un bolus d'insuline par la voie intraveineuse (IV) ou intrapéritonéale (IP). Dans le cadre de cette P.N.F., la voie IP est privilégiée*.

PROCÉDURES :

- Établir une cédule pour l'expérience. Une personne expérimentée sera en mesure de tester 4 souris simultanément. Afin d'espacer chaque prélèvement et injection, il faut prévoir un délai minimal de 2 minutes entre chaque prélèvement et souris. Il est possible de décaler plusieurs groupes dans une même expérience, mais la cédule doit être vérifiée et éprouvée.

2. Élaborer une feuille de prises de données et d'intervention pour chaque souris (voir exemple ci-dessous) :

| Identification de la souris: | | Poids corporel (g): | | Volume d'injection (ul): | |
|------------------------------|----------------|---|-------------------------|--------------------------|--|
| Temps de prélèvement | Temps (HH :MM) | | Glucose sanguin (mg/dL) | Commentaires | |
| -15 | | G | | | |
| 0 | | <i>Injection d'insuline (0,75U/kg de poids corporel)</i> | | | |
| 5 | | G | | | |
| 15 | | G | | | |
| 30 | | G | | | |
| 45 | | G | | | |
| 60 | | G | | | |
| 90 | | G | | | |
| 120 | | G | | | |

G: glycémie

3. Peser et noter le poids de toutes les souris qui subiront le test.
4. Mettre les souris à jeun 4 heures avant le ITT (accès à l'eau conservé).
5. Préparer une solution d'insuline [0,1U/ml] dans du PBS stérile :
 - a. Avec une seringue, aspirer 0,1U d'insuline.
 - b. Mélanger l'insuline dans 1 ml de PBS à température pièce.
 - c. Identifier la solution.
6. Préparer les doses (0,75U insuline/kg de poids corporel) à injecter pour chaque souris dans des seringues 1ml avec aiguille 26G (1 seringue et aiguille par souris). Identifier les seringues avec l'ID de la souris.

Ex. : 1 souris de 20g → dose 0,75U/kg, donc 0,015U → solution 0,1U/ml, donc 150µL.
7. Mettre la première souris dans un dispositif de contention.
8. Procéder à l'analyse basale de glucose, c'est-à-dire à jeun 10 minutes (temps -10 (T-10)) avant l'injection d'insuline :
 - a. Appliquer une crème analgésique sur l'extrémité de la queue (facultatif).
 - b. Appliquer une fine couche de gelée de pétrole à l'extrémité de la queue (facultatif).
 - c. Ponctionner une des veines latérales avec une lancette ou une aiguille 25G.
 - d. Apposer la partie absorbante d'une bandelette de glucomètre sur la goutte de sang produite par la ponction.
 - e. Insérer immédiatement la bandelette dans le glucomètre et faire la lecture de glycémie.
 - f. S'assurer de l'hémostase du site de prélèvement avant de remettre l'animal dans sa cage.
 - g. Répéter les étapes a. à e. pour toutes les souris.

9. Injecter la solution d'insuline avec la seringue identifier pour chaque souris, 10 minutes (T0) après le prélèvement basal pour chacune des souris.

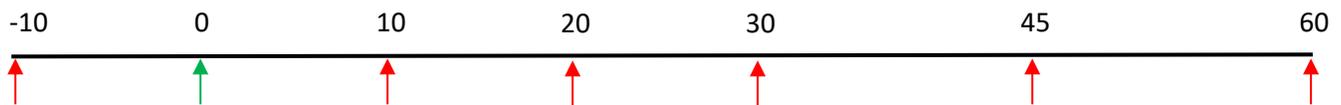
ATTENTION! Suite à l'injection d'insuline, certaines souris peuvent démontrer des signes de faiblesse et même sombrer dans un coma hypoglycémique. Pour contrer cet effet secondaire, une solution de glucose [200mg/ml] doit être disponible afin d'injecter (IP) 1g/kg au moindre signe d'affaiblissement d'une souris, soit 100µL pour une souris de 20g.

10. Procéder à la mesure de glycémie en grattant la gale du site initial pour les temps 10-20-30-45 et 60 minutes suivants l'injection d'insuline.

11. S'assurer de l'hémostase du site de prélèvement entre chaque lecture de glycémie avant de remettre l'animal dans sa cage.

12. À la fin du dernier prélèvement, remettre l'animal dans une cage propre avec accès à l'eau et la nourriture à volonté.

Ligne temporelle d'un ITT pour une souris



Exemple de cédule pour un ITT

| ID | Jeun | T-10 | Injx 0 | T10 | T20 | T30 | T45 | T60 |
|----|------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 8h | 11h50 | 12h | 12h10 | 12h20 | 12h30 | 12h45 | 13h |
| 2 | 8h03 | 11h52 | 12h02 | 12h12 | 12h22 | 12h32 | 12h47 | 13h02 |
| 3 | 8h06 | 11h54 | 12h04 | 12h14 | 12h24 | 12h34 | 12h49 | 13h04 |
| 4 | 8h09 | 11h56 | 12h06 | 12h16 | 12h26 | 12h36 | 12h51 | 13h06 |

Références :

[Animal Models of Diabetic Complications Consortium](#)

[Mouse Metabolic Phenotyping Centers](#)

[International Mouse Phenotyping Consortium](#)