



UNIVERSITÉ
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Test de tolérance au glucose, à l'insuline et au pyruvate chez les rongeurs	Numéro : TS-3
Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires (DSV) à l'intention des utilisateurs et du personnel des animaleries de l'Université Laval (campus et centres de recherche affiliés).	
Préparée par Jessie Tremblay <i>Technicienne en santé animale conformité, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 14 avril 2020
Révisée par Anne-Marie Catudal, Geneviève Fortin Simard <i>Vétérinaires, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 12 mai 2020
But : Décrire la procédure des tests de tolérance au glucose (GTT) à l'insuline (ITT) et au pyruvate (PTT) chez les rongeurs.	Version 1

Généralités

- Les tests de GTT, ITT et PTT sont utilisés pour connaître le phénotype métabolique du glucose.
- La réponse aux différents tests de métabolisme du glucose diffère d'une lignée de rongeur à l'autre et parfois même entre deux souches d'un même fond génétique ne provenant pas du même fournisseur. Par exemple, les souris C57BL/6Tac et C57BL/6N présentent une tolérance au glucose supérieure aux souris C57BL/6J. Le choix et la mention de la lignée utilisée sont donc primordiaux pour l'analyse et la comparaison des données.
- Puisque la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline diminuent avec l'âge, les expérimentations devraient être menées sur des animaux d'un même groupe d'âge.
- Le sexe des animaux peut faire varier les résultats. Il est préférable d'utiliser le même nombre de mâles que de femelles pour chaque groupe.
- Le métabolisme du glucose pouvant varier selon le cycle circadien, les tests devraient toujours être faits à la même heure.
- Il est important de connaître les valeurs normales de glycémie pour l'animal selon les différentes variables. Certaines valeurs sont disponibles au tableau 1. Lorsqu'elles ne sont pas connues, il est recommandé de prévoir un groupe d'animaux pour les déterminer.
- Afin d'éviter une période de jeûne plus longue que prévue, celui-ci ne devrait pas être fait durant la phase de noirceur.

- Le jeûne précédant un ITT ne doit pas être trop long pour éviter le développement d'une hypoglycémie sévère.
- Pour éviter les biais, il est recommandé de ne pas placer de matériel comestible dans la cage durant le jeûne (litière de maïs, maisonnette en carton, etc.).
- Pour éviter des variations dans les résultats, la solution devrait être préparée par la même personne et le même appareil de mesure devrait être utilisé tout au long du protocole.
- Les prélèvements sanguins doivent être faits en respect de la PNF P-16.

Tableau 1 : Valeurs de glycémie normale connues selon l'espèce, la lignée et le sexe^a

	Glycémie normale (mmol/l)	
	Mâles	Femelles
Souris		
BALB/cBy ^b	9,53 ± 3,18	9,72 ± 1,72
C57BL/6J (8 semaines) ^c	9,77	8,68
C57BL/6J (16 semaines) ^c	8,44	8,82
C57BL/6NCrI ^d	13,71 ± 3,38	13,09 ± 3,03
CrI:CD1(ICR) ^d	9,15 ± 1,55	7,39 ± 1,41
Rats		
CrI:CD(SD) ^e	12,61 ± 4,83	13,86 ± 5,45
Fisher ^b	6,39 ± 0,69	---

^a La valeur de glycémie peut également varier selon l'âge, la nourriture fournie, la durée du jeûne et la méthode d'euthanasie.

^b Valeurs converties du *Laboratory animal medicine – Third edition* (1 mg/dl = 0,0555 mmol/l). Données sur l'âge et la souche exacte non disponibles.

^c Valeurs converties du *Physiological Data Summary – C57BL/6J*.

^d Animaux âgés de 8-10 semaines. Valeurs converties du *Mouse Model Information Sheet* de Charles River.

^e Animaux âgés de 8-10 semaines. Valeurs converties du *Rat Model Information Sheet* de Charles River.

Abréviations

IP : intrapéritonéale

IV : intraveineux

Procédures

Préparation

- Le jour précédent les tests, planifier les temps d'administration et de prélèvements sanguins subséquents pour chaque animal et prévoir les ressources humaines et matérielles en conséquence.
- Pour l'ITT, prévoir une solution de dextrose 50 % et du matériel de gavage oral pour son administration, puisque ce test peut mener à des cas d'hypoglycémie modérée à sévère chez les animaux.

Jeûne

- Effectuer la mise à jeun en plaçant les animaux dans une cage propre avec un accès à l'eau *ad libitum*.

Note : La durée du jeûne peut varier en fonction de l'objectif de la recherche. Habituellement, les tests nécessitent un jeûne de 5 à 6 heures ou de 12 à 14 heures.
- Pour éviter des variations dues au stress, placer les animaux dans la salle de procédure dès la mise à jeun. S'assurer que les paramètres environnementaux du local respectent la PNF H-1 Hébergement des rongeurs.

Test de tolérance

- Préparer la solution (glucose, insuline ou pyruvate) à la concentration prévue au protocole.
- Peser les animaux 30 à 60 minutes avant les tests. Calculer la dose (glucose, insuline ou pyruvate) à administrer pour chaque animal selon le poids.

Note : Pour certains protocoles, le calcul se fait selon la masse maigre obtenue lors d'une mesure de composition corporelle (test Bruker) qui doit être décrite au protocole.
- Si requis au protocole, effectuer un premier prélèvement sanguin (temps 0) à l'aide d'une ponction de la veine saphène ou de la veine caudale.
- Administrer la solution selon le test effectué (voir tableau 2), à la concentration indiquée au protocole.

Tableau 2 : Type de solution et voie d'administration selon le test

Test	Solution	Voie d'administration
GTT	Glucose	IP (IPGTT) ou IV (IVGTT) ou Gavage (OGTT)
ITT	Insuline	IP
PTT	Pyruvate	IP ou IV

- Noter l'heure d'administration de la solution pour chaque animal.
- Effectuer les prélèvements sanguins subséquents par la veine saphène ou la veine caudale, selon les temps prévus au protocole, en fonction de l'heure d'administration notée précédemment. Les temps de prélèvement varieront en fonction de la courbe métabolique de la solution administrée.

Note : Selon les besoins du protocole, le sang sera utilisé soit pour faire une glycémie (1 goutte), soit pour mesurer l'insulinémie (environ 30 ul) ou encore pour faire les deux.

- Alternier les sites de ponctions (patte gauche/droite) si la veine saphène est utilisée.
- Attention de ne pas contaminer les échantillons de sang si un corps gras est appliqué avant la ponction.
- Après le dernier prélèvement de la journée, administrer un fluide de remplacement sous-cutané à raison de trois fois la quantité totale de sang prélevé (lactate de Ringer privilégié, minimalement température pièce, idéalement réchauffé).
- Remettre la nourriture dans la cage et ramener les animaux dans leur pièce d'hébergement.

Points limites lors d'hypoglycémie (ITT)

- Ne pas administrer l'insuline si la valeur de glycémie au temps 0 est significativement inférieure à la valeur normale, puisque les risques de causer une hypoglycémie sévère et non traitable sont élevés. Revoir la durée du jeûne à la baisse.
- Si l'animal présente des signes cliniques d'hypoglycémie durant le test (ex. inactivité, yeux fermés, posture prostrée, tremblements, froid au toucher) ou encore une glycémie ≤ 3 mmol/l pour les C57BL/6J :
 - le retirer du test;
 - lui administrer une solution de dextrose 50 % par gavage à raison de 50 ul par 25 g de poids corporel;
 - le remettre dans sa cage avec accès à la nourriture;

- le surveiller pour s'assurer que les signes cliniques s'améliorent;
- reprendre une glycémie avant le retour dans la salle d'hébergement;
- si les signes cliniques ne s'améliorent pas ou si la glycémie ne remonte pas, administrer une deuxième dose de solution de dextrose 50 % par gavage.
- Euthanasier l'animal s'il devient léthargique, si des convulsions surviennent ou si son état ne s'améliore pas malgré les suppléments de dextrose.

Références

Ayala JE, Samuel VT, Morton GJ, et al. *Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice*. *Dis Model Mech*. 2010; 3 (9-10):525–534.

Charles River, C57BL/6 Mouse Model Information Sheet, 2011.

Charles River, CD-1® IGS Mouse Model Information Sheet, 2011.

Charles River, CD® IGS Rat Model Information Sheet, 2011.

Elased K, Playfair JH. *Hypoglycemia and hyperinsulinemia in rodent models of severe malaria infection*. *Infect Immun*. 1994; 62(11): 5157–5160.

Fisher-Wellman KH, Ryan TE, Smith CD, Gilliam LAA, Lin C, Reese LR, Torres MJ, Neuffer PD. *A Direct Comparison of Metabolic Responses to High-Fat Diet in C57BL/6J and C57BL/6NJ Mice*, *Diabetes* 2016; 65(11): 3249-3261.

Fox, James G., Anderson, Lynn C., Otto, Glen M., Pritchett-Corning, Kathleen R., Whary, Mark T., *Laboratory animal medicine – Third edition*, Elsevier, 2015.

Nagy C, Einwallner E. *Study of In Vivo Glucose Metabolism in High-fat Diet-fed Mice Using Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) and Insulin Tolerance Test (ITT)*. *J. Vis. Exp.* (131), e56672, (2018).

The Jackson Laboratory, *Physiological Data Summary – C57BL/6J (000664)*, 2007.