

But

- Décrire la procédure d'utilisation et d'entretien des Intellicage à l'animalerie du CRCHU de Québec-Université Laval.

Généralités

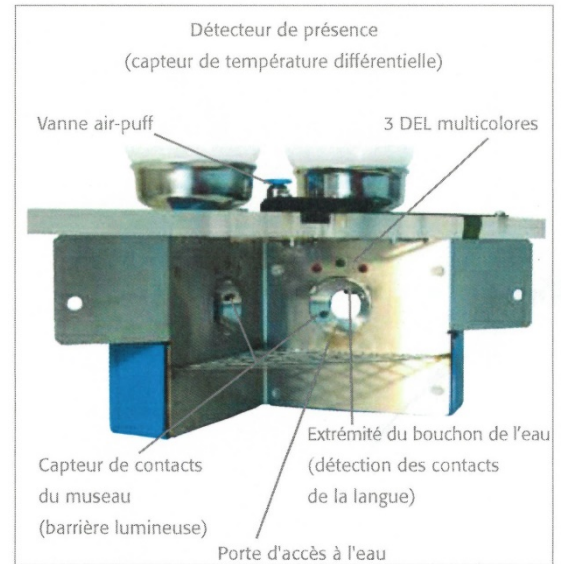
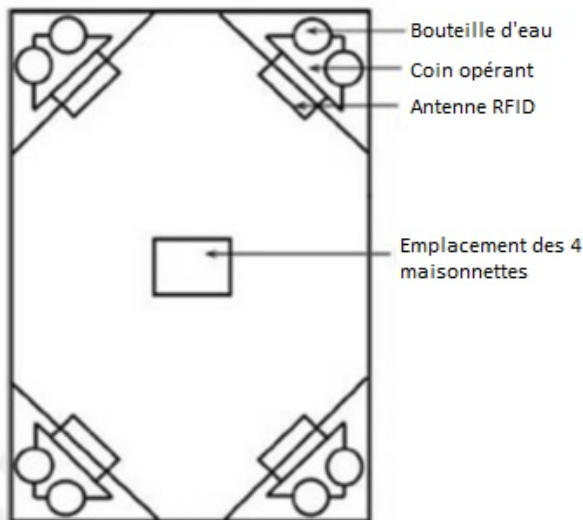
- L'Intellicage est utilisé pour évaluer l'apprentissage spatial et la mémoire chez la souris.
- Plus la durée d'acclimatation sera longue, meilleurs seront les résultats.
- Les schémas décrits dans cette PNF sont des standards mais ils peuvent être ajustés ou modifiés selon le besoin du protocole.
- Toutes les souches de souris peuvent être utilisées.
- L'occupation maximum est de 16 souris par Intellicage. Les souris doivent être acclimatées ensemble avant le début du test. Il n'est pas possible de « pooler » deux cages de mâles.
- Lors de l'utilisation des Intellicages, le cycle de lumière 12h/12h est maintenu et l'accès à la nourriture est à volonté.
- La litière utilisée est la Diamond Bedding ou équivalent car la poussière doit être évitée pour protéger les circuits électroniques.
- Les changements de cage se font aux deux semaines et, idéalement, lors de la fin d'un schéma.

Matériel

- Deux Intellicages incluant quatre angles de lecture RFID chacun (voir image ci-dessous)
- Ordinateur
- 4 maisonnettes rouges par Intellicage
- 3 Logiciels : Intellicage Plus : Designer, Controller et Analyzer
- Litière sans poussière (exemple : Diamond bedding)
- 8 bouteilles d'eau de 300 ml par Intellicage (deux par coin)
- Grille de nourriture
- Micropuce RFID (avec appareil d'injection)
- Lecteur de micropuce

- Air comprimé
- Peroxyde d'hydrogène dilué (oxyvir)
- Alcool 70%
- Plaque ½ pouces pour faciliter l'accès à la nourriture
- Produit à tester soluble dans l'eau (sel, sucre, saccharine ou médicament)
- Mélange Kétamine-Xylazine, seringue, aiguille 27 G
- Système d'anesthésie à l'isoflurane
- Système de captation du gaz anesthésiant et filtre.

Images



Responsabilités

- La mise en fonction des Intellicages se fait uniquement par un TSA de l'animalerie formé sur ces cages.
- Les observations quotidiennes sont effectuées par les TSA de l'animalerie.
- Les équipes de recherche sont responsables de l'analyse des données recueillies par les Intellicages.

Définitions

- **RFID** : La radio-identification, Abréviation RFID (de l'anglais radio frequency identification), est une méthode pour mémoriser et récupérer des données à distance en utilisant des marqueurs appelés « radio-étiquettes » (« RFID tag » ou « RFID transponder » en anglais) Permet d'attribuer un numéro unique à chaque animal.
- **Contact du museau** : (nosepoke) Chaque angle est muni de 2 portes activées lors de la présence du museau de la souris. Le museau brise un faisceau invisible qui active la porte.
- **Compteur de coup de langue** : (LickOmeter) Technologie qui permet de capter précisément chaque coup de langue sur la bouteille.
- **Lumière LED** : Trois lumières pouvant afficher chacune indépendamment 4 couleurs (Jaune, Vert, Rouge, Bleu)
- **Logiciel Designer** : Permet de concevoir et définir les schémas expérimentaux, de créer une liste d'animaux et d'attribuer les configurations spécifiques à chaque animal. La création des schémas expérimentaux permet de lier le comportement d'un animal (visite, contact de museau et contact de langue) au déclenchement d'évènement (ouverture d'une porte, éclairage, jet d'air).
- **Logiciel Controller**: Permet d'extraire et d'entreposer les données de tous les événements comportementaux (visite, contact de museau et contact de langue) provenant des capteurs de chaque Intellicage. L'emplacement, la durée et la fréquence des visites ainsi que le décompte des coups de langue sont enregistré pour chaque animal. De plus, si le renforcement négatif est utilisé, le nombre de jet d'air est comptabilisé. Le contrôleur est aussi programmé pour envoyer des alertes via courriel si un animal n'a effectué aucune visite de coin en 24h.
- **Logiciel Analyzer**: Permet d'accéder aux données enregistrées par le Controller. Il permet aussi de créer et d'appliquer des filtres et des graphiques pour une visualisation personnalisée des données. Les données peuvent aussi être exportées en format Excel afin d'être analysées avec d'autres logiciels de statistiques.

Procédure

I. Installation des micro-puces

- 1- L'implantation des micro-puces est faite sous anesthésie à l'Isoflurane.
- 2- Appliquer le collant avec l'identification de la puce à l'endroit approprié sur le carton de cage afin d'identifier le bon animal.
- 3- Prendre soins de garder l'aiguille d'implantation stérile.
- 4- Insérer l'aiguille sous-cutanée entre les omoplates.
- 5- Injecter la puce en actionnant l'appareil d'implantation.

- 6- Tenir la puce entre ses doigts avant de retirer l'aiguille.
- 7- Vérifier que le trou n'a pas été aggravé par le biseau de l'aiguille.
- 8- Peser l'animal et noter le poids.
- 9- Remplacer la souris dans la cage.
- 10- Une période de récupération d'au moins 4 jours est nécessaire afin de s'assurer que la plaie est bien refermée et que l'implant reste en place.

II. Mise en fonction de l'Intellicage

- 1- Mettre les cages sous tensions avec l'interrupteur de la barre distributrice.
- 2- Surveiller que toutes les lumières s'allument simultanément.
- 3- Allumer l'ordinateur
- 4- Placer de la litière $\frac{1}{2}$ pouce dans la section centrale (ne pas en mettre dans les angles)
- 5- Remplir et placer les bouteilles d'eau ou de produit à 250ml ou 200 ml.
- 6- Placer les souris dans la cage en vérifiant grâce au lecteur que les animaux ont bien leur implant.
- 7- Démarrer le programme de contrôle approprié.

III. Schémas expérimentaux

Pour une étude, il est possible d'utiliser un seul schéma ou d'en combiner plusieurs selon le besoin de l'équipe de recherche. Les principaux schémas utilisés dans les publications sont décrits ci-dessous :

A. Comportement spontané¹ : Acclimatation à l'Intellicage

Durée: 5 jours

- | | |
|------------|--|
| 1er. étape | 48h accès libre à l'eau |
| 2e. étape | 72h Contact du museau pour accès à l'eau |

Il est possible d'augmenter le nombre d'heure d'hébergement en comportement spontané afin d'obtenir davantage de données sur le niveau d'activité de base, le rythme circadien, la néophobie, l'anxiété, les stéréotypes d'exploration, etc.

B. Conditionnement temporel : Adaptation à une période d'abreuvement fixe

Durée: 10 jours

¹ Obligatoire avant tout autre schéma sauf pour le comportement temporel qui peut aussi être utilisé comme acclimatation.

- | | |
|------------|--|
| 1er. étape | 48h accès libre à l'eau
(Sert aussi d'acclimatation en remplacement du schéma A) |
| 2e. étape | 72h (3 jrs) ouverture des portes pour accès à l'eau suite à un contact du museau de 5 secondes |
| 3e. étape | 120h (5 jrs) phase d'adaptation avec accès à l'eau de 21h à minuit seulement. |

C. Apprentissage spatial et spatial inversé:

Durée: 8 à 12 jours

- | | | |
|-----------|------------|--|
| | 1er. étape | 96h d'apprentissage avec accès à un seul coin. Les souris sont réparties de façon aléatoire et un angle leur est attribué. Lors d'un contact du museau, l'accès à l'eau sera possible uniquement dans ce coin. |
| Optionnel | 2e. étape | Retour à la cage d'hébergement standard pour une durée de 24h à 72h (Cette étape est optionnelle car certaines publications passent directement à l'étape 3). |
| | 3e. étape | 96h d'apprentissage avec accès à l'angle inverse. (Le % de visite de l'ancien coin versus le coin inverse est calculé) |

D. Apprentissage d'évitement par la peur

Durée: 8 à 10 jours

- | | | |
|-----------|------------|--|
| | 1er. étape | 96h d'apprentissage d'évitement à un coin (Un jet d'air au niveau du coin correct si l'apprentissage d'évitement suit le schéma d'apprentissage spatial. Exemple : si l'animal avait le coin 4 programmé comme correct pendant l'apprentissage spatial, l'animal recevra une bouffée d'air du coin 4 pendant l'apprentissage d'évitement.) |
| Optionnel | 2e. étape | Retour à la cage d'hébergement standard pour une durée de 24h. |
| | 3e. étape | Retour des souris dans l'Intellicage pendant 24 h pour vérification de l'apprentissage du même angle que l'étape #1 mais sans jet d'air
(Vérification de la mémoire : le % de visite au coin appris vs les autres coins est calculé pour cette journée spécifique) |
| | 4e. étape | 96h d'apprentissage d'évitement dans le coin inverse
(Apprentissage inverse : le % de visite au coin punis vs les autres coins est calculé) |

E. Récompense différée

On utilise une bouteille d'eau additionnée de sucrose 0.5% à 1% comme récompense. Les portes sont activées simultanément pendant la période d'accoutumance. Pendant les 8 autres jours, la porte du sucre prend une 0.5 à 1 seconde de plus à chaque jour avant d'ouvrir, Si l'animal bois de l'eau, la porte d'accès au sucre n'ouvrira pas.

Durée: 12 à 20 jours

- | | |
|------------|--|
| 1er. étape | 4 jours accoutumance au sucre (Accès à l'eau simultanée 5 sec) |
| 2e. étape | 8 jours avec augmentation de 1 sec de délai d'accès à la bouteille de sucre par jour jusqu'à concurrence de 8 sec. |

F. Discrimination de la lumière

Une lumière bleue pour indiquer le mauvais côté punis par un jet d'air et aucun accès à l'eau et une lumière jaune pour indiquer le bon côté accès à l'eau sont utilisées pour déterminer le temps d'apprentissage à la discrimination de la couleur. À chaque visite d'un coin les deux lumières allument (Côté gauche et côté droit aléatoirement)

Durée : variable

- | | |
|------------|--|
| 1er. étape | Lorsqu'une souris visite un coin, une lumière s'allume indiquant le bon côté pour s'abreuver. (côté aléatoire)
(Le % de visite du côté punis vs l'autre côté calculé) |
|------------|--|

G. Conditionnement à proportion progressive

Répétition d'accès augmenté par nombre de répétitions. Une bouteille sucrose de 0.5% à 10% de concentration d'un côté et une bouteille d'eau de l'autre.

Accès au sucre possible par l'ouverture de la porte suite un contact de museau, 10 répétitions d'accès au sucre par contact museau réussi active une augmentation à 2 contact de museau simultanée pour obtenir l'accès au sucre, et ainsi de suite jusqu'à 10 contact de museau simultanée.

Durée : 12 à 14 jours

- | | |
|------------|--|
| 1er. étape | 4 jours d'accoutumance au sucre. |
| 2e. étape | 8 à 10 jours accès à l'eau par une activation du museau augmenté |

H. Renforcement différentiel des mauvais répondeurs (impulsivité)

Délais d'attente entre 2 activations de museau, l'animal active un délai d'attente à la première activation du museau la souris doit attendre un certain temps (fixe ou incrémentiel) avant de faire une autre activation du museau sinon il annule la récompense. Pour aider le délais peut être accompagné d'un stimulus visuel.

Durée : 12 à 14 jours

- | | |
|------------|---|
| 1er. étape | Une seule étape de 12 à 14 jours avec un délais d'attente entre 2 activation de museau fixe, ou augmenté à proportion progressive ou constante. |
|------------|---|

I. Préférence ou aversion gustative : Sucre, Sel, Médicament
Accès à l'eau et au médicament en tout temps.

Durée : 4 à 12 jours

1er. étape Accès libre à l'eau et au produit X. (Le % de visite à l'eau et au produit x est calculé quotidiennement, pour la durée totale et entre le 1er et le dernier jour)

IV. Nettoyage et désinfection des cages (2 personnes)

- 1- Assurez-vous que le programme est arrêté.
- 2- Fermer l'interrupteur de la barre d'alimentation
- 3- Afin de Sortir les animaux et créer le moins de stress possible, Soulever doucement la grille et sans déranger les souris, appliquer un bouchon à chaque coin afin de bloquer les accès.
- 4- Sortir doucement les animaux un à un et les replacer dans leur cage d'hébergement respectif.
- 5- Une personne soulève la partie métallique en prenant soins de ne pas abimer les fils et l'autre retire le fond.
- 6- Envoyer le fond des Intellicages avec les bouteilles directement au lave-cage.
- 7- Redéposer la partie métallique et nettoyer chaque coin un à un (attention aux fils et tuyau d'air).
- 8- Enlever les fèces et la litière mécaniquement (pinceau ou jet d'air).
- 9- À l'aide d'une lingette d'Oxivir ou d'un papier imbibé avec de l'Oxivir, nettoyer les surfaces métalliques.
- 10- À deux soulever et insérer un fond propre avec plaque ½ pouces pour faciliter l'accès à la nourriture et replacer la partie métallique.
- 11- Si une nouvelle étude est prévue, remettre de la litière et de l'eau.

V. Points Limites

- 1- Une fenêtre s'affichera à l'écran quotidiennement si un animal ne s'est pas abreuvé pendant 24h et un courriel d'alerte sera envoyé.
- 2- Animal ne s'abreuvant pas pendant 24h, sera pesé, si une perte de 15% ou plus est observé, il sera exclu de l'étude et remis en cage normale.
- 3- Animal ne s'abreuvant pas les 24 heures suivantes, sera exclu de l'étude.
- 4- Les animaux ne seront jamais privés d'eau pendant plus de 21h par jour.

VI. Analyse des résultats

- 1- L'analyse est effectuée par l'équipe de recherche
- 2- Exemple non-exhaustive des paramètres d'intérêts :
 - ✓ Activité générale mesurée par les angles
 - ✓ Temps avant de trouver l'eau

- ✓ Pourcentage de visites correcte vs incorrect
- ✓ Pourcentage de contact de museau correct vs incorrecte.

Nomenclature :

DRL : Latence de réponse différé.

Références

- TSE system
- PNF ETH-10 CHU
- SOP de Stanford Behavioral and Functional Neuroscience Laboratory
(<http://med.stanford.edu/content/dam/sm/sbfnl/documents/resourcesharing/sop/Intellicage.pdf>)
- The University of Sydney Animal Ethics Committee
(http://sydney.edu.au/medicine/medsci/whs/docs/sops/SOP%20Old%20Form/aethics_SOP_behavioural_testing_mice.pdf)
- Masuda, A., et al. Cognitive deficits in single App knock-in mouse models. *Neurobiology of Learning and Memory* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2016.07.001>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3594921/>

	<u>Modifications apportées</u>
Version 2 5 novembre 2024	• Révision de la version et du logo du CRCHU