



UNIVERSITÉ
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Administrations et injections chez la souris

Numéro : AD-2

Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires à l'intention des utilisateurs et du personnel des animaleries de l'Université Laval (campus et centres de recherche affiliés).

Préparée par Stéphanie Caron

Technicienne en santé animale conformité, Direction des services vétérinaires

Date : 10 juin 2012

Modifiée par Jessie Tremblay et Annie-Christine Fillion

Techniciennes en santé animale conformité, Direction des services vétérinaires

Date : 6 juin 2022

Révisée par Anne-Marie Catudal

Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires

Date : 13 juin 2022

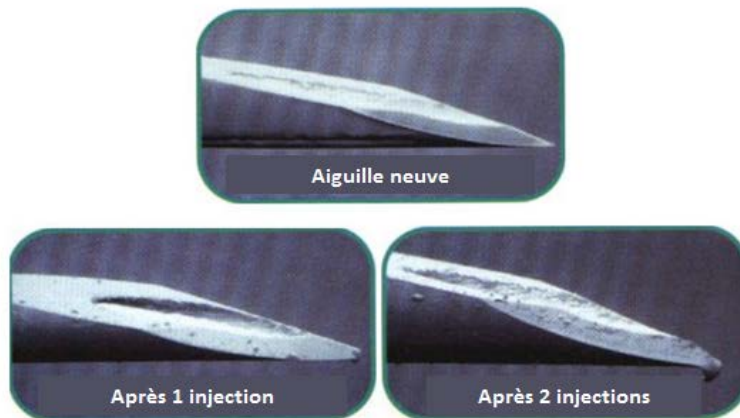
But : Décrire les procédures d'administrations et d'injections de substances chez la souris.

Version 8

Généralités

- Avant de commencer, l'identification de l'animal doit être vérifiée et l'état général de l'animal observé. Toute anomalie doit être notée.
- L'animal doit être pesé afin qu'une dose adéquate puisse être calculée avant l'injection. Ainsi, chaque animal reçoit une dose identique (mg/kg) afin de faciliter l'analyse des résultats et de s'assurer de ne pas administrer une surdose ou une sous-dose.
- Toute substance administrée de façon parentérale doit être stérile et devrait être isotonique et de pH physiologique. Si elle n'est pas stérile, elle doit être filtrée à l'aide d'un filtre 0,22 µm.
- Il est recommandé de réchauffer les substances sur un tapis chauffant ou dans un bain-marie afin d'éviter la diminution de la température corporelle lors de l'administration. Cela est d'autant plus important lorsque de grands volumes sont injectés. Les substances doivent minimalement être amenées à température de la pièce avant l'administration.
- Le nombre d'injections par jour devrait être limité à trois pour la voie sous-cutanée.
- Le nombre d'injections par jour devrait être limité à deux pour les voies intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale, intradermique et intranasale.
- L'embout du contenant dans lequel le produit à administrer est conservé doit toujours être nettoyé avec de l'alcool avant de prendre la dose à injecter.
- La seringue doit être remplie avec le volume approprié et les bulles d'air présentes doivent être éliminées.

- Le nombre d'essais infructueux devrait se limiter à trois, après quoi l'assistance d'une personne expérimentée doit être demandée.
Note : Pour l'injection intraosseuse, le nombre d'essais infructueux se limite à deux.
- Si le produit administré s'écoule du site pendant ou après l'administration, noter la perte afin qu'elle soit prise en considération lors de l'analyse des résultats.
- Si une injection est faite au mauvais site (ex. : lors d'une injection IV, une quantité a été injectée SC), noter cette information afin qu'elle soit prise en considération lors de l'analyse des résultats.
- Les seringues et aiguilles utilisées doivent être disposées immédiatement dans un contenant biorisque pour objets piquants et tranchants, sans avoir remis le capuchon.
- La voie intramusculaire est à éviter chez les souris, car les risques de douleur et de nécrose sont importants vu leur petite masse musculaire. Cette voie doit être justifiée avant son utilisation.
- L'aiguille doit être changée entre chaque animal afin d'éviter la contamination croisée. De plus, les aiguilles de petits calibres s'usent très rapidement (après une seule insertion dans la peau) et sont donc moins efficaces pour percer la peau sans blesser par la suite (voir image ci-dessous).



Source : http://www.caninediabetes.org/pdorg/bd_needle.htm

- Une même aiguille pourrait, en de rares cas, être utilisée, pour la voie sous-cutanée seulement, pour plusieurs animaux, pourvu que ces animaux soient hébergés dans la même cage. Il est à noter que des seringues et aiguilles sans espace-mort existent et peuvent être utilisées.

Définitions

- **Gavage**: introduction d'une substance dans l'estomac à l'aide d'une sonde gastrique
- **ID**: intradermique
- **IM**: intramusculaire
- **IN**: intranasal
- **IO**: intraosseux
- **IP**: intrapéritonéal
- Isotonique : solution contenant la même concentration de solutés que le sang
- **IT**: intratrachéal
- **ITh**: intrathécal
- **IV**: intraveineux caudal
- Parentéral : administration de substances à l'extérieur du tractus gastro-intestinal
- **PO**: per os
- **SC**: sous-cutané
- **SO**: sinus rétro-orbital
- **TOP**: topique

Procédures

- Choisir la grosseur d'aiguille (G) appropriée selon le site d'injection :

Gavage	ID	IM	IP	IO	IV	SC	SO	ITh
18-22	29-30	27	25-27	28-30	25-27	25-27	27-30	27-30

- Respecter les limites ci-dessous pour le volume à administrer à un animal adulte :

	Gavage (ml)	ID (ml/site)	IM (ml/site)	IN (µl)	IP (ml)	IO (µl) ^a	IV bolus (ml) ^b	IV injection lente (ml) ^c	SC (ml) ^d	SO (µl/œil)	ITh (ul)	IT (ul) ^a
Volume idéal	0,25	0,05	0,05	35-50	0,50	10	0,12	0,62	0,25	150	10	50

^a Ceci est le volume d'injection maximal, même si le poids de la souris est supérieur à 25 g.

^b L'administration du produit est effectuée rapidement, entre 30 secondes et 1 minute.

^c L'administration du produit est faite sur un minimum de 5 minutes.

^d Le volume de fluide injecté sous-cutané lors d'une procédure d'anesthésie ou suite à un prélèvement sanguin diffère. Les fluides seront alors administrés selon la PNF A-1 lors de l'anesthésie et selon la PNF P-16 lors des prélèvements sanguins.

Administration intranasale (IN)

- Utiliser une micropipette afin d'avoir le volume exact du produit à administrer.
- Maintenir la tête de l'animal et approcher l'embout de la pipette d'une narine.
- Administrer la dose tranquillement sur la narine (et non à l'intérieur, afin de ne pas blesser l'animal).

Note : Si l'administration est effectuée sous sédation, placer l'animal dans une chambre à induction propre reliée à l'appareil d'anesthésie. Ajuster l'isoflurane à 3-4 % et le débit d'oxygène à 0,8-1,5 L/min. Effectuer l'administration lorsque le niveau de sédation est adéquat, sans contention. Répéter la procédure si l'animal se réveille avant que l'administration ne soit complétée.

Administration per os volontaire (PO)

Substance administrée par l'entremise de la bouteille d'eau

- Connaître la consommation d'eau normale des souris visées avant l'ajout du produit à l'eau.

Note : Il existe variabilité de la consommation d'eau selon le stade de vie et la souche, notamment. Si l'information n'est pas connue (ex. [Forty mouse strain survey of water and sodium intake](#)), il faut la déterminer avant le début du protocole.

- S'assurer de la solubilité et stabilité du produit avant le début du protocole.
- Diluer le produit en prenant en considération la consommation d'eau quotidienne des souris, pour s'assurer d'avoir une dose adéquate.
- Protéger la substance de la lumière, si requis, en utilisant des bouteilles opaques.
- Surveiller l'état d'hydratation des animaux pendant l'administration, afin de s'assurer que la substance n'altère pas négativement le goût.
- Remplacer l'eau une fois par semaine ou plus souvent selon la stabilité du produit.

Substance administrée par l'entremise de la nourriture (humide, moulée, gel, gâterie)

- Utiliser une nourriture certifiée disponible commercialement.
- S'assurer de la stabilité du produit avant le début du protocole.
- Incorporer le produit à la nourriture en prenant en considération la consommation quotidienne des souris, pour s'assurer d'avoir une dose adéquate.
- Pour les substances administrées dans une forme de supplément à la diète fournie, noter toute quantité non consommée.
- Surveiller le poids des animaux pendant l'administration, afin de s'assurer que la substance n'altère pas négativement le goût.

Application topique (TOP)

- Raser la zone où l'application sera faite, si nécessaire. Raser avec la lame parallèle à la peau, dans le sens contraire du poil. Ne pas utiliser le bout des dents de la lame. Retirer les poils avec une gaze sèche. Raser la zone la plus petite possible.
- La crème dépilatoire est recommandée pour les endroits où le rasage est difficile ou dangereux. Appliquer la crème à l'aide d'un coton-tige et effectuer des mouvements circulaires sur la zone à dépiler pour un maximum de 35 secondes, en faisant attention aux yeux et aux organes génitaux. Retirer délicatement toute la crème à l'aide de gazes humides et répéter une deuxième fois au besoin. Un temps de contact prolongé ou l'omission de retirer toute trace de crème peut brûler sévèrement la peau.
- Appliquer le produit topique en quantité requise à l'aide d'un coton-tige propre ou d'une micropipette.

Gavage

- Utiliser une aiguille pour gavage (en acier inoxydable ou en plastique) de longueur appropriée à la grosseur de l'animal. Mesurer la longueur requise de la bouche de l'animal aux dernières côtes.
- Maintenir la souris de façon à ce que la tête ne puisse bouger pendant la procédure.
- Entrer l'aiguille à côté des incisives avec un angle de 45 ° et l'insérer en longeant délicatement le palais. Descendre lentement sans forcer.
- Administrer le volume et retirer doucement l'aiguille.



Contention adéquate pour le gavage

Injection intradermique (ID)

- Anesthésier l'animal selon la PNF A-1.
- Raser le site d'injection.
- Nettoyer le site avec de la chlorhexidine 0,05 %.

- Insérer l'aiguille parallèlement à la peau, biseau vers le haut.
- Insérer uniquement le biseau. Une résistance sera ressentie à l'insertion de l'aiguille.
- Injecter le volume requis (une résistance sera ressentie sur le piston) et retirer l'aiguille. Une petite bosse sera présente à l'endroit où le liquide a été injecté.

Injection intramusculaire (IM)

* Cette méthode ne devrait pas être utilisée si d'autres méthodes s'avèrent pratiques pour l'expérience et pour l'espèce, car elle comporte des risques pour la santé de l'animal. Son utilisation doit être justifiée auprès du comité de protection des animaux.

- Immobiliser la patte arrière gauche ou droite en pinçant la peau devant le genou (un appareil de contention peut être utilisé au besoin).
- Dans un angle de 30 °, insérer une aiguille caudalement biseau vers le haut dans le muscle de la cuisse. Faire attention pour ne pas toucher le nerf sciatique.
- Soutirer et vérifier l'absence de sang (si du sang apparaît, retirer l'aiguille et recommencer).
- Injecter le volume requis.
- Relâcher le piston puis retirer l'aiguille.

Injection intraosseuse (IO)

- Peser l'animal.
- Comme l'injection intraosseuse au niveau fémoral cause de la douleur, administrer de la buprénorphine SR (0,75 mg/kg) SC un minimum de 30 minutes avant la procédure.
- Anesthésier la souris par inhalation d'isoflurane selon la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs et appliquer de l'onguent ophtalmique. Prévoir une source de chaleur.
- Placer l'animal en décubitus dorsal.
- Raser ou épiler le genou et retirer les poils avec une gaze sèche.
- Vérifier l'absence de réflexes de retrait.
- Effectuer, en alternance, trois passages alcool isopropylique 70 %/chlorhexidine 0,5 % au niveau de la zone rasée, en terminant toujours par la chlorhexidine. Faire seulement 3 passages de Baxedin Preop® lorsque celui-ci est utilisé (il s'agit d'un mélange d'alcool isopropylique 70 % et de chlorhexidine 0,5 %). Utiliser une gaze ou un coton-tige par passage et effectuer les passages du milieu du site vers la périphérie. (Voir PNF C-1 Chirurgie aseptique chez les rongeurs.)

- Immobiliser la patte en la repliant (la maintenir pliée avec l'index sur le fémur et le pouce sur la patte). Basculer légèrement le genou vers soi.
- Localiser le tendon patellaire. Insérer une aiguille 27G x 1/2" dans la tête du fémur qui se trouve légèrement au-dessus du ligament.
- En effectuant des mouvements rotatoires, insérer la totalité de l'aiguille dans le fémur.
- Vérifier le bon emplacement de l'aiguille. Lors de mouvements rotatoires de l'aiguille, la patte devrait suivre le mouvement. Lorsque la patte est dépliée et repliée, l'aiguille devrait suivre le mouvement du fémur.
- Retirer doucement l'aiguille en épongeant les saignements au fur et à mesure avec des cotons-tiges stériles. Au moment de retirer complètement l'aiguille, garder en vue le site d'insertion créé.
- Insérer dans le site d'insertion une aiguille de calibre plus petit montée sur la seringue.
- Vérifier son bon positionnement en repliant et dépliant la patte.
- Retirer légèrement l'aiguille pour créer de l'espace, déplier la patte et injecter le volume requis.
- Surveiller l'animal dans la cage jusqu'au réveil complet.

Injection intrapéritonéale (IP)

- Tenir l'animal la tête vers le bas (ainsi les organes descendent par gravité).
- Dans un angle de 45 °, insérer une aiguille biseau vers le haut, dans le cadran inférieur droit de l'abdomen.
- Soutirer et vérifier l'absence de sang ou d'urine (si du sang ou de l'urine apparaît, retirer l'aiguille et recommencer).
- Injecter le volume requis.
- Relâcher le piston puis retirer l'aiguille.



Injection intrapéritonéale

Injection intrathécale (ITh)

- Anesthésier l'animal par inhalation d'isoflurane selon la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs et appliquer de l'onguent ophtalmique. Prévoir une source de chaleur.
- Raser le dos de l'animal de la base de la queue jusqu'aux premières côtes. Retirer les poils avec une gaze humide de chlorhexidine 0,5 %.

Note : L'injection intrathécale est effectuée entre les vertèbres lombaires 5 (L5) et 6 (L6) pour minimiser les risques d'endommager la colonne vertébrale.

- Placer l'animal en décubitus ventral et rabattre ses membres postérieurs sous le ventre pour former une arche avec le dos. L'usage d'un tube (ex. tube Falcon de 15ml) placé sous l'animal peut faciliter le positionnement.
- Effectuer, en alternance, trois passages d'alcool isopropylique 70 %/chlorhexidine 0,5 % au niveau de la zone rasée, en terminant toujours par la chlorhexidine. Faire seulement 3 passages de Baxedin Preop® lorsque celui-ci est utilisé (il s'agit d'un mélange d'alcool isopropylique 70 % et de chlorhexidine 0,5 %). Utiliser une gaze ou un coton-tige par passage et effectuer les passages du milieu du site vers la périphérie.
- Revêtir un gant stérile et localiser l'apophyse épineuse des vertèbres L6 et L5 avec le bout d'un doigt ou d'un ongle.
- Localiser la vertèbre L6, qui devrait être la plus proéminente. Maintenir la colonne vertébrale en place en exerçant une légère pression.

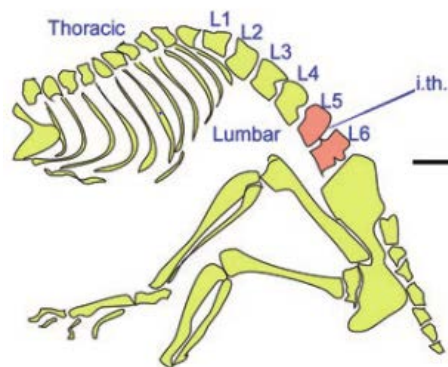


Image tirée de: Huang, Nan-Xing & Shen, Yun-An & Mei, Feng. (2018). Modeling CNS Myelination Using Micropillar Arrays: Methods and Protocols. 10.1007/978-1-4939-7862-5_13

- Avec un angle de 90 °, insérer doucement l'aiguille entre la lame de la vertèbre L6 et L5. Observer un coup de queue et une résistance pour confirmer le bon emplacement de l'aiguille.
- Sécuriser la position de la seringue d'une main, soutirer doucement le piston avec l'autre main pour vérifier l'absence de sang et injecter doucement. Attendre quelques secondes avant de retirer l'aiguille pour éviter un reflux.
- Procéder au réveil de l'animal conformément à la PNF A-1.

Injection intratrachéale (IT)

* L'oxygénation de l'animal doit être vérifiée tout au long de la procédure (rythme respiratoire et couleur des muqueuses). Au besoin, le cathéter doit être retiré temporairement.

Notes : L'injection intratrachéale devrait toujours être lente pour éviter un reflux du produit vers l'œsophage.

Pour assurer une meilleure oxygénation après l'injection, il est recommandé d'administrer de l'air dans les poumons via le cathéter avant son retrait à raison de 100 ul pour une souris de 8 semaines et plus. Pour les souris de moins de 8 semaines, suivre les indications du vétérinaire.

- Pour optimiser la diffusion du produit dans les deux poumons, éviter les reflux vers l'œsophage et diminuer les risques pour l'animal, positionner la souris en décubitus dorsal à un angle de 45 °.
- Anesthésier l'animal par inhalation d'isoflurane selon la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs et appliquer de l'onguent ophtalmique.

Injection directe (seringue standard)

- Remplir la seringue et retirer les bulles d'air.
- Intuber l'animal avec un cathéter de longueur et de calibre appropriés et vérifier le bon positionnement selon la PNF A-1.
- Connecter la seringue sur le cathéter et injecter la quantité requise lentement.
- Vider le contenu restant dans le cathéter en injectant de l'air avec une autre seringue prévue à cet effet.
- Retirer le cathéter de la trachée.

Injection en vaporisation (seringue de type Micro Sprayer)

- Remplir la seringue Micro Sprayer et retirer les bulles d'air.
- Intuber l'animal avec un cathéter de longueur et de calibre appropriés et vérifier le bon positionnement selon la PNF A-1.
- Insérer l'aiguille métallique de la seringue Micro Sprayer dans le cathéter et injecter le produit.
- Retirer l'aiguille et le cathéter de la trachée.

Injection passive

- Préparer un cathéter de longueur et de calibre appropriés pour l'intubation.
- Injecter la quantité du produit à administrer dans l'embout du cathéter. Connecter une seringue vide au cathéter pour prévenir la perte du produit.

- Intuber l'animal avec le cathéter monté sur la seringue, selon la PNF A-1.
- Retirer la seringue du cathéter. Un bon positionnement sera confirmé par la descente du produit dans les poumons via le rythme respiratoire de l'animal.
- Retirer le cathéter de la trachée.

Réveil

- Fournir de l'oxygène à l'animal via un masque d'anesthésie jusqu'à ce qu'il démontre des signes d'éveil (mouvements volontaires).
- Réveiller l'animal conformément à la PNF A-1.

Injection intraveineuse caudale (IV)

- Utiliser la veine caudale gauche ou droite.
- Placer l'animal dans un appareil de contention prévu pour les injections intraveineuses.
- Nettoyer la queue avec de la chlorhexidine 0,05 %.
- Au besoin, réchauffer l'animal à l'aide d'une lampe chauffante ou d'un tapis chauffant ou bien réchauffer la queue avec de l'eau chaude afin d'induire une vasodilatation. La température du système utilisé doit être contrôlée en tout temps (maximum 40 °C). Surveiller en tout temps les animaux afin d'éviter l'hyperthermie et les brûlures.
- Commencer le plus près possible du bout de la queue afin de pouvoir recommencer plus haut en cas d'échec.
- Dans un angle de 30 °, insérer une aiguille, biseau vers le haut, puis placer l'aiguille parallèlement à la queue une fois la peau transpercée afin d'atteindre la veine.
- Soutirer et vérifier la présence de sang. Si le sang n'apparaît pas, essayer de replacer doucement l'aiguille et soutirer à nouveau.
- Injecter le volume requis en s'assurant qu'il n'y a pas de gonflement ni de résistance.
- Maintenir le piston enfoncé et retirer l'aiguille.
- Arrêter le saignement au besoin, en effectuant une légère pression au site d'injection.

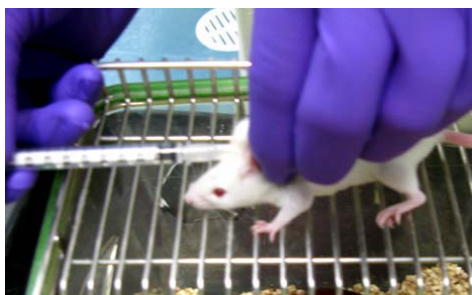
Injection sinus rétro-orbital (SO)

* Cette méthode ne devrait pas être utilisée si d'autres méthodes s'avèrent pratiques pour l'expérience et pour l'espèce, car elle comporte des risques pour la santé de l'animal. Son utilisation doit être justifiée auprès du comité de protection des animaux.

- Anesthésier l'animal par inhalation d'isoflurane selon la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs. Prévoir une source de chaleur.
- Appliquer une goutte d'Alcaïne 0,5 % sur l'œil utilisé. Si l'autre œil n'est pas utilisé, appliquer de l'onguent ophtalmique. L'Alcaïne doit être appliquée même sur un souriceau dont les yeux sont encore fermés, car le produit peut pénétrer via la mince couche cutanée.
- Ouvrir l'œil au maximum avec le pouce et l'index.
- Insérer l'aiguille, biseau vers le bas pour éviter toute lésion à l'œil, dans le canthus médial dans un angle de 45 ° par rapport au museau.
- Injecter et retirer l'aiguille.
- Avec une gaze, refermer l'œil et faire une légère pression pour prévenir les risques de saignement.
- Ne pas effectuer plus de 2 injections dans le sinus rétro-orbital de chaque œil dans la vie de l'animal.
- Espacer de 24 h les injections faites dans un même œil.

Injection sous-cutanée (SC)

- Lorsque possible, faire les injections sous-cutanées entre les omoplates.
- Pincer et soulever la peau du site visé pour former une tente avec la peau.
- Insérer une aiguille biseau vers le haut, à la base de la tente, parallèlement à l'animal.
- Soutirer et vérifier l'absence de sang (si du sang apparaît, retirer l'aiguille et recommencer).
- Injecter le volume requis.
- Relâcher le piston puis retirer l'aiguille.
- Une rotation des sites peut être faite lorsque plusieurs injections sous-cutanées doivent être régulièrement effectuées.



Injection sous-cutanée

Références

- American College of toxicology, *International journal of toxicology* 21, 2006.
- BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW, *Refining procedures for the administration of substances*, 2001.
- CCPA, *Lignes directrices du CCPA : les souris*, 2019.
- Diehl, K-H et al., *A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes*, *J. of Applied Toxicology*, 21, 15-23 2001.
- Fox, James G., Barthold, Stephen W., Davisson, Muriel T., Newcomer, Christian E., Quimby, Fred W., Smith, Abigail L. *The mouse in biomedical research*, second edition, 2007.
- Hawk, Terrance C., Leary, Steven L., Morris, Timothy H., *Formulary for laboratory animals*, 2005.
- Hoff, Janet, *Methods of Blood Collection in the Mouse*, 2000.
- Mitzner W, Brown R, Lee W, *In vivo measurement of lung volumes in mice*, *Physiol Genomics*, <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.2001.4.3.215>
- National center for the replacement, refinement and reduction of animal in research, *Blood sampling microsite*.
- Njoo C, Heintz C, Kuner R, *In Vivo siRNA Transfection and Gene Knockdown in Spinal Cord via Rapid Noninvasive Lumbar Intrathecal Injections in Mice*. *J. Vis. Exp.* (85), e51229, doi:10.3791/51229 (2014).
- Ortiz-Muñoz G, Looney MR. *Non-invasive Intratracheal Instillation in Mice*. *Bio Protoc.* 2015;5(12):e1504. doi:10.21769/bioprotoc.1504
- Podolsky Lawrence, Lukas Victor, *The care and feeding of an IACUC*, 1999.
- Southam DS, Dolovich M, O'Byrne PM, Inman MD, *Distribution of intranasal instillations in mice: effects of volume, time, body position, and anesthesia*, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, Vol. 282, No. 4, 2002.
- Tordoff MG, Bachmanov AA, Reed DR. *Forty mouse strain survey of water and sodium intake*. *Physiol Behav.* 2007;91(5):620–631.
- Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA, *Administration of substances to laboratory animals : routes of administration and factors to consider*, *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2011 Sep; 50(5): 600–613. Published online 2011 Sep.
- Yardeni T, Eckhaus M, Morris HD, Huizing M, Hoogstraten-Miller S, *Retro-orbital injections in mice*, *Lab Anim (NY)*. 2011 May; 40(5): 155–160.

Mises à jour de la PNF		
Version 2	6 mars 2013	Retrait des volumes maximaux d'injection, le volume idéal étant maintenant le volume maximal. Ajout de la nuance pour l'utilisation multiple d'une même aiguille lors d'injections sous-cutanées. Clarification des injections IV bolus et lentes.
Version 3	10 juin 2013	Précision du volume idéal sous-cutané.
Version 4	2 octobre 2015	Modification des mesures utilisées (ml plutôt que ml/kg).
Version 5	20 novembre 2015	Précision des vitesses d'injection IV.
Version 6	14 juin 2019	Ajout du volume idéal pour l'injection intradermique. Ajout de l'injection dans le sinus rétro-orbital.
Version 7	24 mars 2020	Modification de l'obligation de réchauffer les substances pour une recommandation. Ajout de précisions quant à l'administration IN sous sédation à l'isoflurane. Ajout des voies d'administration PO et intraosseuse.
Version 8	6 juin 2022	Ajout des injections IT et ITh et de l'application topique.