



DOI 10.2376/0032-681X-1912

Paul-Ehrlich-Institut, Langen¹, Lehr- und Forschungseinrichtung Oberer Hardthof, Gießen², Henke-Sass, Wolf GmbH Tuttlingen³, Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Justus-Liebig-Universität Gießen⁴
Peer-reviewed | Eingegangen: 30.11.2018 | Angenommen: 15.05.2019

Vergleich von zwei intrakutanen Methoden zur Verabreichung von Rindertuberkulin im Rahmen der allergischen Untersuchung auf bovine Tuberkulose

Sandra Schack', Arne Bodenbender', Marius Leyhausen', Frank Altermann', Klaus Eder', Veronika von Messling', Heike Gyra'

Korrespondenzadresse: Heike.Gyra@pei.de

Zusammenfassung Die Tuberkulose des Rindes ist eine chronisch verlaufende bakterielle Infektionskrankheit, die durch die Erreger *Mycobacterium (M.) bovis* und *M. caprae* u. a. bei Rindern verursacht werden kann. Eine diagnostische Methode zum Nachweis der Tuberkulose ist die allergische Untersuchung mittels Tuberkulinprobe, wobei das Tuberkulin üblicherweise intradermal mit einer Kanüle injiziert wird.

Die vorliegende Studie beschreibt den Einsatz eines IDAL® (IntraDermal Application of Liquids)-Injektors, der bisher erfolgreich zur Impfung von Schweinen eingesetzt wurde, als nadellose Alternative zur intradermalen Verabreichung von Tuberkulin. Der Vergleich beider Methoden erfolgte zuerst mit einer Farblösung an Rinderhautproben und anschließend intra vitam an 22 Rindern der Lehr- und Forschungseinrichtung Oberer Hardthof Gießen. Die Tuberkulinisierung wurde als Simultantest mit aviärem Tuberkulin vorgenommen, um zweifelhafte Befunde interpretieren zu können. An einer Halsseite wurden aviäres und bovines Tuberkulin mittels Kanüle und an der anderen Halsseite bovines Tuberkulin mittels IDAL®-Injektor verabreicht. Die Hautdicke wurde jeweils vor und 72 Stunden nach der Injektion gemessen. Die statistische Auswertung der Daten ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede der Hautdickenveränderung nach Verabreichung des Tuberkulins mittels Tuberkulinspritze im Vergleich zur nadellosen Applikation. Zudem zeigten die Rinder deutlich weniger Abwehrreaktionen gegenüber der Applikation mittels IDAL®-Injektor. Die nadellose Verabreichung von Diagnostika ist daher mit weniger Stress und Schmerzen für die Tiere verbunden und kann zudem zur Minimierung von Anwendungsfehlern sowie Infektionsübertragungen zwischen den Tieren beitragen.

Schlüsselwörter Tuberkulin-Test, Tuberkulin, IDAL®-Injektor, intradermal, nadellose Injektion

A comparison of two intradermal methods for the administration of bovine tuberculin within the scope of tuberculin skin testing

Summary Bovine tuberculosis is a chronic infectious disease caused, amongst others, in cattle by the bacteria Mycobacterium (M.) bovis and M. caprae. It can be diagnosed with the tuberculin test by evaluating the immune response after application of tuberculin, which is generally injected intradermally with a cannula. This study describes the usage of an IDAL® (IntraDermal Application of Liquids) injector, which has so far been successfully used for the vaccination of pigs as a needle-free alternative to intradermal administration of tuberculin. First, the two methods have been compared by means of a coloured solution in bovine skin samples and, subsequently, intra vitam in 22 cattle at the Teaching and Research Institute Oberer Hardthof, Giessen, Germany.. Tuberculin testing was performed using a comparative test with avian and bovine tuberculin to be able to interpret equivocal findings. Avian and bovine tuberculins were applied with a cannula to one side of the neck and bovine tuberculin alone with an IDAL® injector to the other side of the neck. Skin thickness was measured before and 72 hours after injection, respectively. Statistical evaluation of the data did not reveal any statistically significant differences regarding changes in skin thickness after application of tuberculin between cannula and needle-free application. Furthermore, the cattle showed considerably less defence reactions against the IDAL® injector. Thus, the needle-free application of diagnostics means less stress and pain for the animals and, in addition, helps to minimize application errors and reduce the risk of infection transmission between animals.

Keywords Tuberculin test, tuberculin, IDAL® injector, intradermal, needle-free injection





Einleitung

Die Tuberkulose des Rindes oder bovine Tuberkulose ist eine in typischen Fällen chronisch verlaufende bakterielle Infektionskrankheit bei Rindern, anderen Haustieren und einigen Wildtieren, die durch die Erreger *Mycobacterium* (*M.*) *bovis* und *M. caprae* verursacht werden kann.

Gemäß der Verordnung zum Schutz gegen die Tuberkulose des Rindes (Tuberkulose-Verordnung) vom 16.06.1972 in der geltenden Fassung können zum Nachweis der Tuberkulose verschiedene diagnostische Methoden zur Anwendung kommen. Eine diagnostische Methode, die in der Verordnung Nr. 1226/2002 der Kommission vom 8. Juli 2002 zur Änderung von Anhang B der Richtlinie 64/432/ EWG des Rates beschrieben wird, ist die allergische Untersuchung mittels intrakutaner Tuberkulinprobe. Diese Methode basiert auf der Messung des Vorhandenseins bzw. der Stärke einer für mykobakterielle Antigene spezifischen T-Zellantwort. Das dabei verwendete Tuberkulin ist eine Antigenzubereitung aus dem Überstand von Mykobakterienkulturen und wird mithilfe einer sogenannten Tuberkulinspritze intradermal appliziert. Wird ein solches Antigengemisch in die Haut eines Rindes injiziert, das zuvor - meist infolge einer Infektion - eine Immunantwort gegen Mykobakterien ausgebildet hat, sammeln sich antigenspezifische T-Zellen am Ort der Applikation und verursachen dort eine Entzündungsreaktion, die zu einer messbaren Hautverdickung führt.

Auch Impfstoffe oder andere Arzneimittel werden üblicherweise mithilfe von Spritze und Kanüle verabreicht. Alternativ wird aber auch das nadellose Impfen oder Verabreichen von Arzneimitteln praktiziert. Nadelfreie Injektoren eignen sich für Massentätigkeiten und können Impfstoffe sowie Arzneimittel in verschiedene Kompartimente (intrakutan, subkutan, intramuskulär) verbringen, abhängig vom einstellbaren Druck des Gerätes. Zur nadellosen Injektion stehen verschiedene Systeme zur Verfügung; Es gibt pneumatische, durch verdichtetes Gas betriebene Injektoren, Injektoren, die über Federkraft arbeiten, oder Injektoren, die mittels einer Batterie betrieben werden (Chase et al. 2008).

Das nadellose System bietet verschiedene Vorteile. Zum einen können alle Arten von Injektionslösungen unabhängig von Zusammensetzung und Konsistenz verabreicht werden, zum anderen ist ein niedrigeres Injektionsvolumen erforderlich, um eine vergleichbare oder bessere Serokonversion zu erreichen (Chase et al. 2008, Mitragoni 2006). Unfälle durch Selbstinjektion und abgebrochene Nadeln können vermieden werden (Chase et al. 2008, Hafner et al. 1996), die Infektionsgefahr der Tiere durch die Manipulation wird minimiert und die Zeitersparnis bei Massentätigkeiten ist nicht unerheblich (Mousel et al. 2008). Darüber hinaus ist die nadellose Verabreichung von Arzneimitteln mit weniger Stress und Schmerzen für die Tiere verbunden (Chase et al. 2008, Mousel et al. 2008, Stout et al. 2004). In der Schweinepraxis wird die nadelfreie Technologie genutzt, um Antibiotika (Apley und Thacker 2003), Eisendextran (Almond und Roberts 2004) oder Impfstoffe zu verabreichen; Letztere u. a. gegen Infektionen, verursacht durch Mykoplasmen (Gergen et al. 2002), Influenza (Gergen et al. 2002, Wesly und Lager 2005), PRRS (Borghetti et al. 2003), Aujetzky (Goizo et al. 2006) oder Porcines Circovirus (Sno et al. 2016). Bei Rindern ist die Verabreichung von BHV-1-Impfstoff (Van Drunen Littel-van den Hurk 2006), bei Schafen die Verabreichung kommerzieller Schafimpfstoffe (Mousel et al. 2008), bei Pferden und Kaninchen das Verimpfen von Plasmid-Impfstoffen (Aguiar et al. 2001, Phillips et al. 2011) mittels Injektor beschrieben. Beim Kaninchen wird ein Dermo-Jet® Injektor zur Impfung gegen Myxomatose (Alfonso und Pagés-Manté 2003) und RHD (Pagés-Manté und Alfonso 2004) mittels intradermaler Injektion am Ohr eingesetzt. An Hunde können nadellos Plasmid-Impfstoffe verabreicht werden (Anwer et al. 1999) und bei Katzen ist die nadellose Impfung mit FeLV-Vakzine (Grosenbaugh et al. 2004) beschrieben. Erfahrungen mit der nadelfreien Injektion liegen auch im Humanbereich vor (Mitragoni 2005, 2006, Sarno et al. 2000).

Die Durchführung des beschriebenen intradermalen Hauttestes unter Verwendung einer Tuberkulinspritze erfordert eine gewisse Übung in Bezug auf die korrekte streng intradermale Injektion des Tuberkulins, die aber für ein zuverlässiges Testergebnis unabdingbar ist. Daher könnte die nadellose Technologie eine echte Alternative für das intradermale Verbringen von In-vivo-Diagnostika wie zum Beispiel Tuberkulin darstellen.

In dieser Studie wurde zur Verabreichung von Tuberkulin an Rinder ein IDAL® (IntraDermal application of liquids)-Injektor im Vergleich zur intradermalen Injektion mittels Kanüle getestet. Das Modell wurde bisher zur Impfung von Schweinen erfolgreich eingesetzt. Der Vergleich beider Methoden musste intra vitam erfolgen, da die verzögerte Hypersensitivitätsreaktion üblicherweise im lebenden Tier diagnostiziert wird. Für dieses Vorhaben wurden in einem Rinderbestand der Lehr- und Forschungseinrichtung Oberer Hardthof Gießen 22 Rinder ausgewählt, die vergleichend mit beiden Methoden tuberkulinisiert wurden.

Material und Methoden

Eignung der nadellosen Inokulation zur intradermalen Applikation

Das Potenzial des IDAL®-Injektors zum intradermalen Verbringen eines Diagnostikums wurde zunächst an Rinderhalsstücken mit Haut untersucht. Als Test-Injektionslösung wurde eine Mischung aus dem Farbstoff "Meyers Hämalaunlösung" und dem Lösungsmittel "Diluvac Forte" im Verhältnis 2:1 verwendet, um die Konsistenz des Diagnostikums zu simulieren und die verabreichte Flüssigkeit in der Haut gut sichtbar zu machen. Der IDAL®-Injektor wurde auf ein Injektionsvolumen von 0,1 ml jeweils mit dem kleinsten und ohne Abstandshalter justiert und mit der herkömmlichen Tuberkulinspritze verglichen.

Die Applikation der Test-Injektionslösung mittels Tuberkulinspritze erfolgte intradermal entsprechend der Vorgabe für die Testung am lebenden Tier. Dazu wurde die kurze Kanüle mit der abgeschrägten Seite nach außen schräg in die tieferen Hautschichten eingeführt, um dann die Farbstoffmischung zu applizieren. Zur Applikation der Test-Injektionslösung mittels IDAL®-Injektor wurde dieser bei gezogenem Abzug senkrecht auf die Injektionsmatrix aufgesetzt, wodurch die Injektion ausgelöst wird.

Die jeweiligen Injektionsstellen (zwei mittels Tuberkulinspritze, zwei mittels IDAL®-Injektor mit Abstandshalter und zwei mittels IDAL®-Injektor ohne Abstandshalter) wurden mit einem Skalpell 2 cm tief eingeschnitten, um die Eindringtiefe der Test-Injektionslösung vergleichen zu können (▶ Abb. 1a-c). Die Auswer-











Abb. 1: Injektionstiefe der verschiedenen Applikationsformen: Mittels IDAL®-Injektor ohne (a) oder mit (b) Abstandshalter oder mittels Tuberkulinspritze (c) wurden 0,1 ml einer gefärbten Testlösung in Rinderhälse mit Haut appliziert und die Verteilung und Inokulationstiefe bestimmt.

tung der Eindringtiefe erfolgte durch makroskopischen Vergleich der Injektionsstellen.

Tuberkuline

Geflügel- und Rindertuberkulin wurden von der Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG (WdT) bezogen und enthalten Phenol als Konservierungsmittel in einer Konzentration von maximal 0,5 %. Das Geflügeltuberkulin ist ein gereinigtes Proteinderivat aus Kulturen von *Mycobacterium avium*, Stamm D4, mit einer Wirksamkeit von 2.500 Internationalen Einheiten (IE) pro Dosis (0,1 ml). Die Injektionslösung ist für Geflügel, Puten, Tauben, Rinder, Schafe, Ziegen, Schweine und Hunde zugelassen. Das Rindertuberkulin ist ein gereinigtes Proteinderivat aus Kulturen von *Mycobacterium bovis*, Stamm AN5, mit einer Wirksamkeit von 5.000 Internationalen Einheiten (IE) pro Dosis (0,1 ml). Die Injektionslösung ist für Rinder, Schweine, Schafe, Ziegen und Hunde zugelassen.

Injektionsverfahren

Für die intradermale Injektion von bovinem und aviärem Tuberkulin (TBC) wurde eine Tuberkulinspritze von Henke-Sass, Wolf benutzt. Dabei handelt es sich um eine spezielle 2,0-ml-Spritze mit einem Skalenwert von 0,1 ml zur Verbringung von 0,1 ml Tuberkulin in die Haut. Für das bovine und das aviäre Tuberkulin wurde jeweils eine separate Spritze verwendet. Die Kanülen wurden nach jedem fünften Tier gewechselt.

Zur nadellosen Applikation wurde ein IDAL®-Injektor eingesetzt. Der IDAL®-Injektor ist ein batteriebetriebener Injektor, der ursprünglich kalibriert wurde, um 0,2 ml Impfstoff intradermal applizieren zu können. Im Rahmen dieses Tests wurde das Gerät für die Applikation von 0,1 ml Tuberkulin von der Firma neu eingestellt. Der Injektor löst aus, das heißt, eine Dosis wird erst abgegeben, wenn der Abzug gezogen und der Injektor mit leichtem Druck auf die Haut aufgesetzt wird. Er kann auf der gesamten Hautoberfläche des Tieres zur Anwendung kommen. Nach der Injektion wird automatisch die nächste Dosis nachgeladen.

Vor der Hautdickenerfassung wurden die betreffenden Hautareale mit einer Schermaschine geschoren. Zur Hautdickenerfassung wurde ein Kutimeter mit digitaler Millimeter-Anzeige mit einer Genauigkeit von drei Stellen hinter dem Komma verwendet. Die Messergebnisse wurden für jedes einzelne Tier, identifiziert durch Name und Tiernummer, erfasst.

Die Abwehrreaktion der Tiere (Kopfschütteln und Rückwärtsdrängen) auf die unterschiedlichen Injektionsverfahren wurde ebenfalls beobachtet.

Vergleichende Tuberkulinisierung von Rindern

Nachdem das Potenzial des IDAL®-Injektors zum intradermalen Verbringen eines Diagnostikums zunächst an Rinderhalsstücken getestet wurde (siehe Sektion 'Ergebnisse' und ▶ Abb. 1a-c), erfolgte die Beantragung der Studie beim Regierungspräsidium Gießen. Sie wurde unter dem Aktenzeichen V 54 − 19 c 20 15 h 01 GI 19/3 Nr. G 64/2017 genehmigt. In einem Rinderbestand des Institutes für Tierernährung und Ernährungsphysiologie Gießen wurden hierzu 22 Rinder (die Fallzahl wurde so gewählt, dass eine hinreichend präzise Schätzung der Hautdickenunterschiede [incl. 95%-Konfidenzintervall] gewährleistet ist) im Alter zwischen einem und vier Jahren mit mindestens 350 kg Lebendgewicht ausgewählt. Die Tuberkulinisierung erfolgte beidseitig am Hals vor der Schulterblattgräte im Übergangsbereich zwischen dem ersten und dem mittleren Nackendrittel in cranio-caudaler Richtung.

Die zur Tuberkulinisierung vorgesehenen Bereiche auf beiden Seiten wurden in einer parallel zur Schulterlinie verlaufenden Linie mit einer Schermaschine in einem Bereich von etwa 8 cm Länge und 3 cm Breite geschoren (Abb. 2a). Da auf der linken Halsseite Geflügel- und Rindertuberkulin gleichzeitig injiziert wurden, lag die Injektionsstelle entsprechend der Vorgabe der Verordnung (EG) Nr. 1226/2002 für das aviäre Tuberkulin ca. 10 cm unter der Kammlinie des Halses (dorso-ventrale Richtung) und die für das bovine Tuberkulin weitere ca. 12,5 cm tiefer auf einer parallel zur Vorderkante des Schulterblattes/der Schulterlinie verlaufenden Linie. Auf der rechten Halsseite lag die Inokulationsstelle (IDAL®) ca. 12 cm unter der Kammlinie des Halses. Die Injektionsstellen durften keine Verdickung oder sonstige Veränderung aufweisen. Zur Hautdickenerfassung wurde das beschriebene Kutimeter mit digitaler Millimeter-Anzeige verwendet. Innerhalb des geschorenen Bereiches wurde mit Zeigefinger und Daumen eine Hautfalte gebildet, deren Dicke mit dem Kutimeter gemessen und aufgezeichnet wurde (Abb. 2b). Danach erfolgte zunächst die Simultan-Tuberkulinisierung (▶ Abb. 2c). Um zweifelhafte Befunde interpretieren zu können, wurde die Tuberkulinisierung als Simultantest durchgeführt, das heißt auf der linken Seite wurden im vorgeschriebenen Abstand jeweils bovines und aviäres Tuberkulin auf die herkömmliche Weise mittels Tuberkulinspritze, auf der rechten Seite nur das Rindertuberkulin mit dem IDAL®-Injektor inokuliert. Dazu wurde der Injektor im rechten Winkel auf die Haut aufgesetzt und unter kräftigem Druck ausgelöst (▶Abb. 2d).

Es wurde auf die streng intrakutane Injektion des Tuberkulins geachtet und darauf, dass aus der Injektionsstelle kein Abfluss nach außen erfolgte. Zur Kontrolle über den richtigen



Originalartikel











Abb. 2: Darstellung des Tuberkulinisierungsprozesses: Die Injektionsstellen werden zunächst geschoren (a) und die Hautdicke vor der Injektion wird mit dem Kutimeter bestimmt (b). Das Tuberkulin wird dann mittels Tuberkulinspritze (c) oder IDAL®-Injektor (d) appliziert.

Sitz der intrakutanen Injektion wurden die Injektionsstellen mit der Fingerkuppe auf das Vorhandensein einer etwa linsengroßen Quaddel überprüft. Die InjektionssteIlen wurden mit einem Markierungsstift gekennzeichnet. Die Reaktion wurde 72 (+/– vier Stunden) Stunden nach Injektion der Tuberkuline abgelesen und wiederum protokolliert. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte entsprechend den Angaben der Tuberkulose-Verordnung.

Statistische Auswertung

Für den Vergleich beider Methoden der Tuberkulinisierung wurden der mittlere Unterschied in der Hautdicke und das 95%-Konfidenzintervall berechnet. Beide Methoden können als vergleichbar betrachtet werden, wenn das 95%-Konfidenzintervall klinisch relevante Unterschiede ausschließt.

Die Durchführung der vergleichenden Tuberkulinisierung an 22 Tieren reicht aus, um den mittleren Unterschied der Hautdicke zwischen beiden Methoden nebst 95%-Konfidenzintervall hinreichend präzise schätzen zu können. Es ist keine Kontrolle notwendig, da mit dieser Versuchsplanung jedes Tier als seine eigene Kontrolle fungiert, da in beide Halsseiten jedes Tieres mit einer der beiden Methoden Tuberkulin verabreicht wird.

Die statistischen Auswertungen erfolgten explorativ (ohne Adjustierung für multiple Vergleiche) mit einem linearen Modell für wiederholte Messungen (Tier) für die abhängige Variable "Vorher-Nachher-Differenz" jedes Tieres mit dem festen Faktor "Haut-

stelle" mit der Prozedur PROC MIXED der SAS/STAT Software, Version 9.4, SAS System für Windows.

Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse beider Methoden nach Verbringen der Test-Injektionslösung in Rinderhalsstücke ergab, dass bei der Applikation mittels IDAL®-Injektor ohne Anwendung eines Abstandhalters eine ideale Eindringtiefe der Test-Injektionslösung erreicht werden konnte. Das Injektionsvolumen von 0,1 ml verteilte sich intradermal in den ersten zwei Dritteln der Dermis (Lederhaut). Das untere Drittel der Dermis wurde nicht eingefärbt (▶ Abb. 1a). Die Applikation mittels Tuberkulinspritze ergab ein identisches Verteilungsbild der Test-Injektionslösung (▶ Abb. 1c). Bei der Applikation mittels IDAL®-Injektor mit einem Abstandhalter konnte keine ideale Eindringtiefe erreicht werden (▶ Abb. 1b).

Da nach beiden Applikationsverfahren ein ähnliches Verteilungsbild der Farblösung dokumentiert wurde, konnte geschlussfolgert werden, dass der IDAL $^{\otimes}$ -Injektor für die Tuberkulinisierung grundsätzlich geeignet ist.

Vergleichbarkeit der Tuberkulinisierungsergebnisse nach Anwendung verschiedener Inokulationsmethoden

Der Mittelwert der Hautdicke "Linke Halshälfte oben, aviäres TBC" betrug vor der Tuberkulinisierung 7,58 mm und nach der Tuberkulinisierung 7,65 mm. Der Mittelwert der Hautdicke "Linke Halshälfte unten, bovines TBC" betrug vor der Tuberkulinisierung 7,46 mm und





Fazit für die Praxis

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass im vorliegenden Betrieb nach Tuberkulinisierung von Rindern mit einem nadellosen Druckinjektor im Vergleich zur Verabreichung des Tuberkulins mit einer herkömmlichen Tuberkulinspritze mit Mehrfachkanüle keine statistisch signifikanten Unterschiede der Hautdickenveränderung auftraten. Bezüglich der Anwenderfreundlichkeit und der Akzeptanz der Tiere gegenüber der Verabreichung des Tuberkulins war die nadellose Methode der Verabreichung mittels herkömmlicher Tuberkulinspritze überlegen. In einem nachfolgenden Versuch muss die Eignung des Druckinjektors im Vergleich zur herkömmlichen Methode an sensibilisierten Rindern getestet werden.

nach der Tuberkulinisierung 7,36 mm. Der Mittelwert der Hautdicke "Rechte Halshälfte oben IDAL®, bovines TBC" betrug vor der Tuberkulinisierung 7,53 mm und nach der Tuberkulinisierung 7,55 mm. Jeweils ein Tier zeigte nach Verabreichung des aviären TBC bzw. des bovinen TBC eine Hautdickenzunahme von 1,5 mm. Alle anderen erfassten Hautdickenzunahmen waren geringer (0–0,8 mm) oder es wurde keine Zunahme registriert (bis zu –1,6 mm). Die statistische Auswertung ist in den \blacktriangleright Tabellen 1 und 2 zusammengefasst. Während es rechts und oben links geringe Zunahmen (+0,04 mm bzw. +0,07 mm) in der Hautdicke gab, nahm sie unten links leicht ab (–0,10 mm). Die gefundenen Unterschiede waren statistisch nicht signifikant (p \ge 0,05). Diese Ergebnisse bestätigen die Tuberkulosefreiheit der getesteten Tiere und zeigen, dass sich die Inzidenz unspezifischer Reaktionen bei Tuberkulinisierung mittels nadel-

loser Applikation mit der Tuberkulinisierung mittels Spritze nicht unterscheiden.

Bei den Tieren, die mittels IDAL® tuberkulinisiert wurden, konnten deutlich weniger Abwehrreaktionen beobachtet werden. Die Reaktionen auf die Injektion mittels Kanüle äußerten sich durch Kopfschütteln und Rückwärtsdrängen der Tiere. Die Anzahl und Intensität der Reaktionen wurden nur durch Beobachtung bewertet. Die Reihenfolge war immer gleich, erst die Injektion mittels Spritze und danach der Injektor. Da jedes Tier nur einmal mit dem Injektor behandelt wurde, konnte keine Gewöhnung eintreten.

Diskussion

Der in dieser Studie verwendete IDAL®-Injektor wurde bisher zur Impfung gegen Aujetzky (Goizo et al. 2006), PRRS (Borghetti et al. 2003), *Mycoplasma hyopneumoniae* (Gergen et al. 2002) und Porcines Circovirus (Sno et al. 2016) bei Schweinen verwendet, wobei die nadellose Injektion auch bei anderen Tierarten (u. a. bei Rindern) erfolgreich eingesetzt wurde.

Um die Eignung des IDAL®-Injektors zur Verabreichung von Tuberkulinen zu untersuchen, wurde dieser im Vergleich zur intradermalen Injektion mittels Kanüle bei der Tuberkulinisierung lebender Rinder eingesetzt. Dabei wurden vor und nach Verabreichung des Tuberkulins die Hautdicken erfasst, um die beiden Applikationsarten miteinander vergleichen zu können. Die statistische Auswertung der Daten ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede der Hautdickenveränderung nach Verabreichung des Tuberkulins mittels Tuberkulinspritze, verglichen mit der nadellosen Applikation.

Zudem konnten bei der Anwendung des IDAL®-Injektors deutlich weniger Abwehrreaktionen in Form von Kopfschütteln und Rückwärtsdrängen der Rinder gegenüber dieser Applikationsart festgestellt werden. Die Beobachtungen von Chase et al. (2008),

Tab. 1: Mittlere Hautdickendifferenzen und Konfidenzintervalle nach Tuberkulinisierung mit der Tuberkulinspritze (linke Halshälfte) im Vergleich zum IDAL®-Injektor (rechte Halshälfte)

Bereich der Tuberkulinisierung	Mittelwert¹ der Differenz in mm	95%	5-KI ²
Rechte Halshälfte, IDAL® bovines TBC	0,04	-0,19	0,27
Linke Halshälfte unten, bovines TBC	-0,10	-0,34	0,13
Linke Halshälfte oben, aviäres TBC	0,07	-0,16	0,30

¹ – mittlere Veränderung Tage 0−3

Tab. 2: Statistischer Vergleich der Hautdickendifferenzen nach Verabreichung des bovinen Tuberkulins mit der Tuberkulinspritze (linke Halshälfte) im Vergleich zum IDAL®-Injektor (rechte Halshälfte)

Vergleich	mit	mittlerer Unter- schied¹ in mm	95%	-KI ²	p-Wert
Linke Halshälfte unten, bovines TBC	Rechte Halshälfte IDAL®, bovines TBC	-0,14	-0,50	0,22	0,4270

¹ – mittlerer Unterschied der Veränderung Tage 0–3 zwischen beiden Stellen

 $^{^{\}rm 2}$ – 95%-Konfidenzintervall für die mittlere Veränderung

 $^{^2}$ – 95%-Konfidenzintervall





Mousel et al. (2008) und Stout et al. (2004) bestätigen, dass die nadellose Verabreichung von Arzneimitteln mit weniger Stress und Schmerzen für die Tiere verbunden ist.

Darüber hinaus lassen sich durch die nadelfreie Injektion Anwendungsfehler, z. B. eine nicht korrekte intrakutane Injektion, reduzieren. Dadurch wird eine homogenere Auswertung des Testes ermöglicht. Da die nadellose Technik besser standardisierbar ist, würde die individuelle Fähigkeit des Anwenders das Ergebnis weniger beeinflussen. Weitere Vorteile sind in der Minimierung der Infektionsgefahr der Tiere durch die Manipulation und die Zeitersparnis bei Massentätigkeiten zu sehen (Mousel et al. 2008). Beide Aspekte spielen bei der Tuberkulinisierung mittlerer und großer Rinderbestände eine wichtige Rolle. Die Testung einer höheren Tierzahl wäre in kürzerer Zeit möglich, was letztlich weniger Stress für die Tiere, den Tierhalter und den Praktiker bedeutet.

Die Frage der möglichen Erregerübertragung zwischen den Tieren wurde in der Vergangenheit wiederholt diskutiert und kann nicht völlig ausgeschlossen werden. Belegt wurde bisher nur eine Übertragung von Hepatitis-B-Virus beim Menschen durch Kontamination des Injektors mit Körperflüssigkeiten (Giudice und Campbell 2006). Die Haut des Menschen ist aber nur bedingt vergleichbar mit der viel dickeren, behaarten Tierhaut. Daher ist eine Erregerübertragung zwar theoretisch möglich, aber äußerst unwahrscheinlich.

Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die nadellose Applikationsart zum Verbringen eines In-vivo-Diagnostikums eine Alternative zur herkömmlichen intrakutanen Injektion darstellen könnte. Dass die nadellose Tuberkulinisierung und die Verabreichung des Tuberkulins mittels Tuberkulinspritze vergleichbare antigenspezifische T-Zell-gesteuerte Entzündungsreaktionen am Ort der Applikation hervorrufen, muss nun in einer weiterführenden Studie an sensibilisierten Tiere parallel getestet werden.

Ausblick

Da sich beide Methoden bei der Testung negativer Rinder als vergleichbar erwiesen haben, müsste in einem nachfolgenden Versuch geklärt werden, ob sensibilisierte Rinder auf die intrakutane Tuberkulinprobe reagieren und ob mit beiden Applikationsarten vergleichbare Resultate erzielt werden können.

Ethische Anerkennung

Alle maßgeblichen internationalen, nationalen und institutionellen ethischen Richtlinien für den Umgang mit in der Studie verwendeten Tieren wurden beachtet. Angaben zum Versuchstierantrag und dessen Genehmigung finden sich im veröffentlichten Text. Die Autoren versichern während des Entstehens der vorliegenden Arbeit die allgemeingültigen Regeln Guter Wissenschaftlicher Praxis befolgt zu haben.

Conflict of interest

Die Autoren versichern, dass keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderweitigen persönlichen Interessen an einem Produkt oder einer Firma bestehen, welche die in dieser Veröffentlichung genannten Inhalte oder Meinungen beeinflussen können.

Funding

Finanziert durch das Paul-Ehrlich-Institut Langen.

Autorenbeitrag

Konzeption der Arbeit: HG, SS, AB, KE. Datenerhebung: HG, SS, AB, ML, FA. Datenanalyse und -interpretation: HG, SS. Manuskriptentwurf: SS, HG, kritische Revision: VM, AB, KE, ML, FA, endgültige Zustimmung: VM, KE, AB, ML, FA

Literatur

- Aguiar JC, Hedstrom RC, Rogers WO, Charoenvit Y, Sacci JB, Lanar DE, Majam VF, Stout RR, Hoffmann SL (2001): Enhancement of the immune response in rabbits to a malaria DNA vaccine by immunization with a needle-free jet device. Vaccine 20: 275–280.
- Alfonso M, Pagés-Manté A (2003): Serological response to myxomatosis vaccination by different inoculation systems on farm rabbits. World Rabbit Sci 11: 145–156.
- Almond GW, Roberts JD (2004): Assessment of a needleless injection device for iron dextran administration to piglets. Proc IPVS 618.
- Anwer K, Earle KA, Shi M, Wang J, Mumper RJ, Proctor B, Jansa K, Ledebur HC, Davis S, Eaglstein W, Rolland AP (1999): Synergistic effect of formulated plasmid and needle-free injection for genetic vaccines. Pharm Res 16: 889–895.
- Apley M, Thacker B (2003): Determination of the pharmacokinetics of procaine penicillin in swine administered by intramuscular injection and with a needleless injection device. National Pork Board. Pork Checkoff. Research
- Borghetti P, De Angelis E, Miduri F, Gozio S, Blanchaert A, Alborali LG, Cordiioli P, Lombardi G, Quintavalla C, Guazzetti S, Martelli P (2003): Intradermal and intramuscular porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) vaccination in piglets: changes of peripheral lymphocyte subpopulations. Proc Int Symp Emerging Re-emerging Pig dis 77–78.
- Chase CCL, Daniels CS, Garcia R, Milward F, Nation T (2008): Needle-Free injection technology in swine: Progress toward vaccine efficacy and pork quality. J Swine Health Prod 16(5): 254–261.
- Gergen L, Eddy B, McCalmon P, Loskutov A, Wasmoen T (2002): Needle-free vaccination for *Mycoplasma hyopneumoniae* and swine influenza virus. Proc IPVS 288.
- Gozio S, Ferrari L, Borghetti P, De Angelis E, Smets J, Blanchaert A, Martelli P (2006): Specific humoral and cell-mediated immune response in pigs vaccinated intradermally (IDAL) against Aujetzky's disease. Proc IPVS 2:
- Grosenbaugh DA, Leard T, Pardo MC, Motes-Kreimeyer L, Royston M (2004):
 Comparison of the safety and efficacy of a recombinant feline leukemia virus (FeLV) vaccine delivered transdermally and an inactivated FeLV vaccine delivered subcutaneously. Vet Ther 5: 258–262.
- Guidice I, Campbell JD (2006): Needle-free vavvine delivery. Adv Drug Delivery Rev 58: 68–69.
- Hafner AL, Langley RL, Morrow WEM, Tulis JJ (1996): Occupational hazards reported by swine veterinarians in the Unites States. Swine Health Prod 4: 128–141.
- Mitragoni S (2005): Immunization without needles. Nat Rev Immunol 5: 905–916.
- Mitragoni S (2006): Current status and future prospects of needle-free liquid jet injectors. Nat Rev Drug Discov 5: 543–548.
- Mousel MR, Leeds TD, White SN, Herrmann-Hoesing LM (2008): Technical Note: Comparison of traditional needle vaccination with pneumatic, needle-free vaccination for sheep. J Anim Sci 86: 1468–1471.
- Pagés-Manté A, Alfonso M (2004): Efficacy of intradermal RHD vaccination using various adjuvants on fattening rabbits. Proceedings-8th world rabbit congress September 7–10, 2004, Puebla, Mexico.

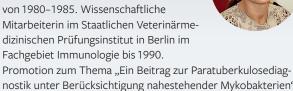




- Sarno MJ, Blasé E, Galindo N, Ramirez R, Schirmer CL, Trujillo-Juarez DF (2000): Clinical immunogenicity of measles, mumps and rubella vaccine delivered by the Injex jet injector: comparison with standard syringe injection. Ped Inf Dis J 19: 839-842.
- Sno M, Cox E, Holtslag H, Nell T, Pel S, Segers R, Fachinger V, Witvliet M (2016): Efficacy and safety of a new intradermal PCV2 vaccine in pigs. Trials Vaccinol 5: 24-31.
- Stout RR, Gutierrez MJ, Roffman M, Marcos J, Sancez R, Marcias M, Quiroz R, Taylor D, Mckenzie B, Restrepo E, Pinera I, Craig-Rodriguez A, Restepo M, Turner P, Richardson R, Baizer L, Walker M, Walker E (2004): Subcutaneous injections with a single-use, pre-filled, disposable needle-free injection device or needle & syringe: comparative evaluation of efficacy & acceptability. Drug Delivery Tech 4: 2-6.
- Van Drunen Little-van den Hurk S (2006): Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine hervesvirus-1. Vet Microbiol 113:
- Verordnung (EG) Nr. 1226/2002 der Kommission vom 8. Juli 2002 zur Änderung von Anhang B der Richtlinie 64/432/EWG des Rates, Anhang B
- Wesly RD, Lager KM (2005): Evaluation of a recombinant human adenovirus-5 vaccine administered via needle-free device and intramuscular injection for vaccination of pigs against swine influenza virus. Am J Vet Res 66: 1943-1947.

Heike Gyra

Studium der Veterinärmedizin an der Humboldt-Universität zu Berlin von 1980-1985. Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Staatlichen Veterinärmedizinischen Prüfungsinstitut in Berlin im Fachgebiet Immunologie bis 1990.



nostik unter Berücksichtigung nahestehender Mykobakterien". Derzeit wissenschaftliche Mitarbeiterin im Paul-Ehrlich-Institut in Langen, Abteilung Veterinärmedizin, Fachgebiet 4/1, Bewertung immunologischer Tierarzneimittel.

Korrespondenzadresse:

Dr. Heike Gyra, Paul-Ehrlich-Institut, Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel, Paul-Ehrlich-Str. 51–59, 63225 Langen, Heike.Gyra@pei.de