

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire
ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 118 (1976)

Heft: 10

Artikel: Intramuskuläre Eisentherapie

Autor: Schmitz, H. / Schaub, E. / Müller, A.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-593080>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 02.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Aus der Forschungsabteilung der Laboratorien Hausmann AG
St. Gallen (Schweiz);
Leiter: Dr. sc. techn., dipl. Ing. chem. ETHZ A. Müller

Intramuskuläre Eisentherapie¹

von H. Schmitz, E. Schaub und A. Müller²

I. Tiermodell

Zur tierexperimentellen Prüfung der therapeutischen Wirksamkeit von Arzneimitteln, ihrer Verträglichkeit und Nebenwirkungen sollten Versuchstiere eingesetzt werden, welche wenigstens annähernd den durch das jeweilige Präparat zu behandelnden pathologischen Zustand aufweisen. Bezüglich der Prüfung von Eisen-Antianämica ist unabhängig von der Applikationsform demnach ein Modell zu fordern, *welches einen nicht artefiziell erzeugten Eisenmangelzustand aufweist*.

Darüber hinaus sollten sich die durch den Eisenmangel provozierten Störungen des Eisenstoffwechsels, erniedrigtes Serumeisen, erhöhte Totale Eisenbindungskapazität (TIBC) sowie Alterationen des roten Blutbildes, *als messbare Grössen reproduzierbar objektivieren lassen*.

Wird ein nicht-sideropenisches Tier zur Überprüfung von Eisen-Antianämica herangezogen, muss zwangsläufig ein verfälschter Eindruck z.B. über die therapeutische Effektivität des Präparates entstehen, weil schon zu Versuchsbeginn alle relevanten Parameter im Normbereich liegen. Besteht kein Eisenmangel, so wird beispielsweise nach intramuskulärer Verabreichung der Abtransport des Eisens von der Injektionsstelle verlangsamt ablaufen. Auch nach längerer Zeit post injectionem werden nicht mobilisierte Eisenablagerungen am Injektionsort vorgefunden. Dieser Befund und die gesicherte Aussage, dass die Eisenverwertung, unabhängig vom Applikationsmodus, bezüglich Zeit und Ausmass wesentlich vom Grad des bestehenden Eisenmangels abhängt [1, 2, 3], muss bei der Beurteilung experimentell erhobener Befunde nach oraler oder parenteraler Eisenapplikation berücksichtigt werden.

Schon vor 20 Jahren wurde eine Studie über lokale Wirkungen und Eisenresorption nach intramuskulärer Injektion von Eisen-Dextran-Präparaten an Kaninchen veröffentlicht [4]. Der Molekulargewichtsbereich der injizierten, polydispersen Eisen-Dextrane wurde mit «zwischen 10 000 und 20 000» angegeben. Entweder handelte es sich dabei um völlig andere Eisen-Dextrane als

¹ Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Untersuchungen und ihre Veröffentlichung wurde von den Laboratorien Hausmann AG in St. Gallen (Schweiz) finanziert.

² Korrespondenzadresse: Dr. A. Müller, Forschungsabteilung der Laboratorien Hausmann AG, 9001 St. Gallen (Schweiz).

die heute in der Human- und Veterinärmedizin verwendeten, oder diese niedrigen Molekulargewichtsangaben sind nicht zutreffend. Sämtliche heute im Handel befindlichen Eisen-Dextrane weisen Molekulargewichte $>150\,000$ auf. Für die in Figur 2 dieser Publikation [4] dargestellten Eisen-Resorptionskurven fehlen Angaben über Anzahl pro Präparat eingesetzter Kaninchen sowie insbesondere über die Streuungen der Einzelwerte. Aus unsern Untersuchungen geht aber hervor, dass gerade die grossen Streuungen der Messwerte bei diesem Kaninchen-Versuch unakzeptabel sind und zu falschen Interpretationen führen.

Prüfmethoden, wie sie die Britische bzw. Amerikanische Pharmakopöe (B.P. [5] bzw. U.S.P. [6]) vorschreiben, basieren möglicherweise auf der zitierten Arbeit [4]. Sie sind aufgrund obiger Überlegungen zur Beurteilung von intramuskulär zu applizierenden Eisenpräparaten ungeeignet. Entsprechend der Vorschrift aus B.P. bzw. U.S.P. wird der Abtransport des Eisens nach intramuskulärer Injektion am nichtsideropenischen Kaninchen bestimmt bzw. visuell begutachtet. Nach B.P. 1973, pag. A126, wird bei je zwei Kaninchen (1,5–2,5 kg) je pro kg KG 0,4 ml Eisen-Dextran-Lösung nach standardisierter Methode in einen der Hinterschenkel i.m. injiziert und nach 7 Tagen die Tiere geopfert. Nach Exartikulation der Extremität werden die Muskeln im Bereich der Injektionsstelle freigelegt und bezüglich eventueller Verfärbungen makroskopisch inspiziert. Die Injektionsstelle darf höchstens «leicht bräunlich» gefärbt sein. Es dürfen keine dunkelbraunen Ablagerungen vorliegen. Zur quantitativen Bestimmung des in den Muskeln retinierten Eisens wird das Muskelfleisch entbeint, nass verascht und das Eisen photometrisch bestimmt. Die Differenz der Eisenmengen zwischen dem mit Eisen injizierten und dem unbehandelten Schenkel desselben Tieres (=Resteisen=retiniertes Eisen) soll 7 Tage post injectionem nicht mehr als 20% der applizierten Dosis betragen. Gemäss U.S.P. XVIII, pag. 346, werden bei 2 Kaninchen je 0,4 ml Eisen-Dextran-Lösung pro kg KG in einen Hinterschenkel injiziert, nachdem an der Injektionsstelle die Haare entfernt worden sind. 7 Tage post injectionem werden die Tiere geopfert, die behandelten Schenkel entfernt und die Muskeln inspiziert. Diese dürfen nur leicht gefärbt sein. Es dürfen keine dunkelbraunen bzw. schwarzen Ablagerungen von nichtresorbiertem Eisen an der Injektionsstelle vorhanden sein. Im Gegensatz zum Resorptionstest gemäss B.P. verlangt die U.S.P. keine quantitative Bestimmung des retinierten Eisens.

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass im Rahmen grösserer Versuchsserien, selbst unter der Voraussetzung, dass ein und dasselbe Präparat an verschiedenen Kaninchen gemäss B.P. und U.S.P. überprüft wurde, keine einheitlichen Ergebnisse zu erzielen sind. Vielmehr werden auch unter peinlichster Beachtung der Vorschriften derart unterschiedliche Ergebnisse gefunden, dass ein und dasselbe Präparat in einem Versuch als für den humantherapeutischen Einsatz tauglich, in einem anderen Versuch als nicht tauglich beurteilt werden muss.

Aus einer Vielzahl von Untersuchungen zur Eisenresorption, welche in

unseren Laboratorien gemäss B.P.* mit den verschiedensten i.m. zu applizierenden Eisen-Antianämica durchgeführt wurden, seien hier insgesamt 4 Versuchsreihen stellvertretend dargestellt. Diese sind in ihrer Aussage repräsentativ. Zum Einsatz kamen 14 Kaninchen für das Eisen-Dextran¹ sowie 12 Kaninchen für ein bekanntes Eisen-Dextran-Handelspräparat².

Betrachtet man die in Abb. 1 dargestellten Ergebnisse der Versuche a) und b), so stellt man fest, dass hier, obwohl in jeder der dargestellten Serien jeweils dasselbe Eisenpräparat überprüft wurde, die Streuung der Einzelergebnisse derart gross ist, dass folgende Schlussfolgerungen gezogen werden müssen:

1. Bei der durch die B.P. vorgegebenen Limite von 20% Resteisen sind zwei Versuchstiere nicht ausreichend, um eine nur annähernd «sichere» Aussage über die Qualität des jeweils geprüften Eisenpräparates machen zu können.

2. Selbst bei Verwendung grösserer Kollektive von Kaninchen bleibt, wie die in Tab. 1 und Abb. 1 dargestellten Untersuchungsergebnisse deutlich zeigen, das Ergebnis zufällig.

3. Der Eisen-Resorptionstest nach B.P., am Kaninchen durchgeführt, ist für eine hier zu machende Aussage im Sinne der Arzneimittelsicherheit ungeeignet.

Die Ursache für die Zufälligkeit der Einzelergebnisse, auch bei Einsatz grösserer Kollektive, erklärt sich dadurch, dass es sich beim Kaninchen, jedenfalls für die hier von der B.P. geforderte Qualitätsprüfung i.m. zu applizierenden Eisenantianämica, aus folgenden Gründen um ein inadäquates Tiermodell handelt:

Wie erwähnt, sind Eisenresorption und -Verwertung neben der Qualität des applizierten Eisenpräparates direkt abhängig vom Zustand des Eisenhaushaltes und von der applizierten Eisen-Dosis. Liegt eine Sideropenie vor, so wird, entsprechend ihrem Ausmass und dem dadurch gegebenen Bedarf, Eisen zur Aufrechterhaltung «eisengebundener» Stoffwechselvorgänge sowie für die Hämoglobin-Synthese bei gesteigertem Eisenangebot vermehrt resorbiert.

Übertragen auf den Eisen-Resorptionstest nach B.P. heisst dies:

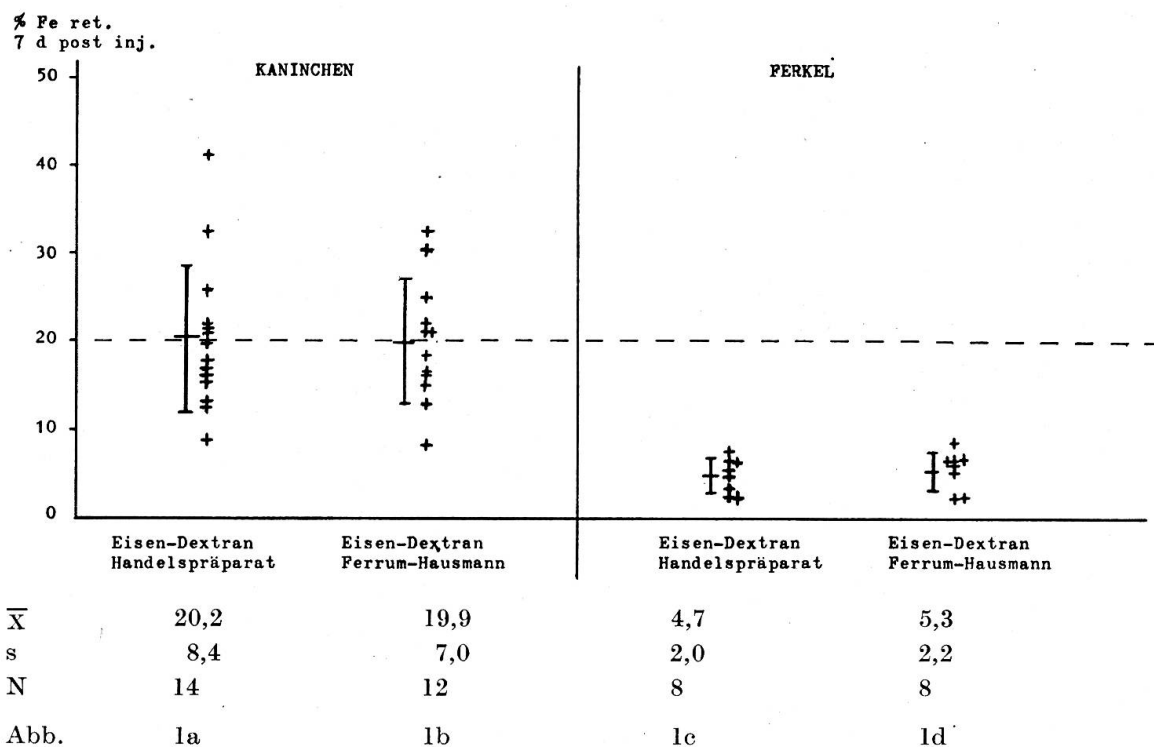
1. Die hier dargestellten physiologischen Fakten sind unberücksichtigt. Die Vorschrift beinhaltet keinerlei Forderung, vor Durchführung des Tests z.B. das Serumeisen, die TIBC oder auch nur Hämoglobin oder die Erythrozytenzahl zu bestimmen.

2. Die in Tab. 1 und Abb. 1 dargestellten Ergebnisse und ihre Streuung implizieren, dass zumindest ein Teil der hier für den Resorptionstest herangezogenen Kaninchen einen nicht bilanzierten Eisenstoffwechsel unterschiedlichen Ausmasses aufweisen.

3. Aufgrund der Tatsache, dass innerhalb der einzelnen Tests der Versuche a) und b) jeweils dasselbe Eisenpräparat zur Anwendung kam, ist zu schliessen,

¹ Versuche a) und c): Eisen(III)-Hydroxid-Polyisomaltose-Komplex = Eisen-Dextran = Ferrum Hausmann i.m.

² Versuche b) und d): Eisen-Dextran-Handelspräparat



dass bei Einsatz des Kaninchens für den Eisen-Resorptionstest mit einem bezüglich des Eisenstoffwechsels völlig inhomogenen Tiermaterial zu rechnen ist. Auch aus dieser Perspektive ist der z. Zt. noch gültige Eisen-Resorptionstest nach B.P. als ungeeignet zu bezeichnen.

Zwangsläufig ergibt sich die Forderung nach einem Test, durch den die Differenzierung unterschiedlicher Qualitäten von i.m. zu applizierenden Eisenpräparaten möglich ist.

Auch der Versuch, weisse Mäuse und Laboratoriums-Ratten für einen Eisen-Resorptionstest heranzuziehen, scheiterte daran, dass hier ebenfalls kein sideropenisches Modell vorliegt.

Welche Voraussetzungen sollten erfüllt werden, um Eisenpräparate bezüglich Resorbierbarkeit im Tierversuch qualitativ klassifizieren zu können?

Ein spontan-sideropenisches Versuchstier, bei welchem *nicht* artefiziell z.B. mit Eisen-Komplexbildnern (EDTA, Desferrioxamin etc.), durch Entblutung oder diätetische Massnahmen ein Eisenmangel provoziert wurde. Der Zustand nach Phlebotomie entspricht zwar der Blutungsanämie beim Menschen, setzt jedoch einen unverhältnismässig grossen Aufwand voraus, berücksichtigt darüber hinaus nicht den Zustand der prälatenten und latenten Sideropenie.

Als spontan-sideropenisches Tier zur Überprüfung der Resorbierbarkeit von i.m. bzw. s.c. applizierten Eisenpräparaten diene uns das 4 Tage alte Saugferkel. In der heute praktizierten Schweinezucht sind die Ferkel nach der Geburt sowie während der ersten Wachstumsperiode einzig auf die eisenarme



Abb. 2 Ferkel mit kutaner Läsion der Hinterhand nach intramuskulärer Injektion eines Eisen-Sorbitol-Zitrat-Komplexes¹.

¹ Handelspräparat

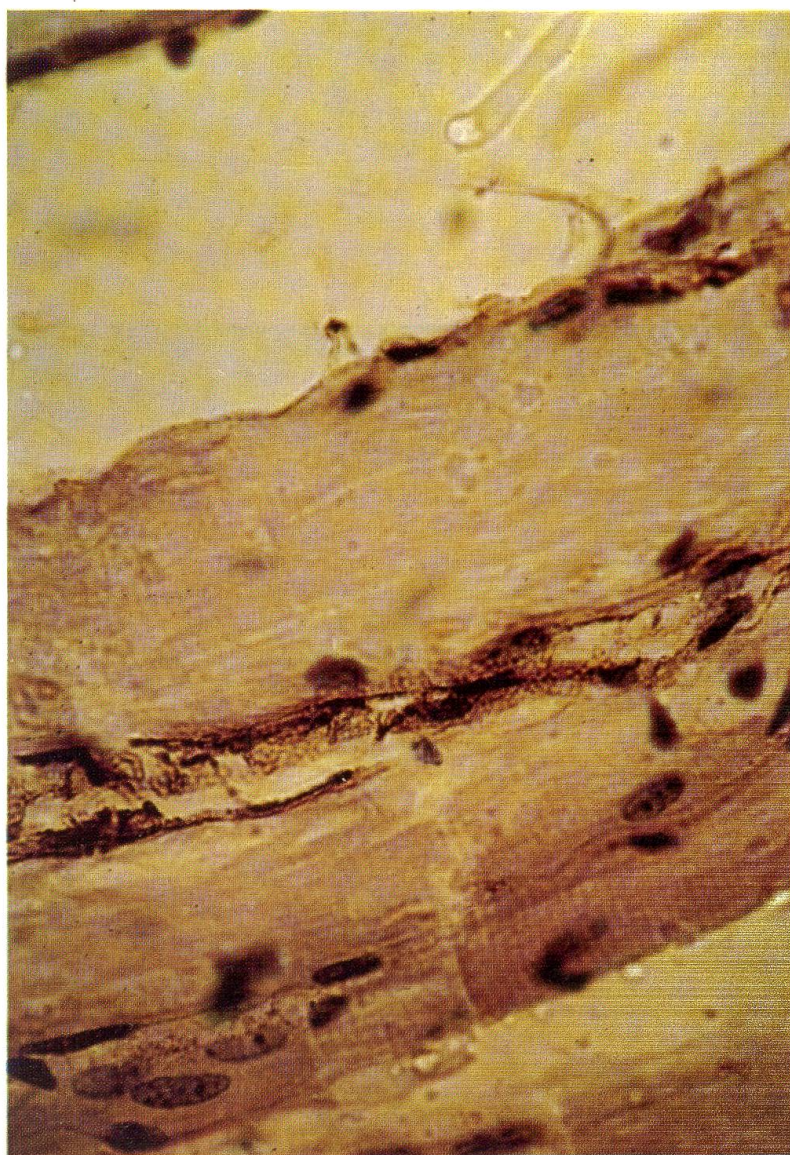


Abb. 3 Verlust der Querstreifung des Muskels nach Injektion eines «gewebsaggressiven», weniger gut verträglichen Eisen(III)-Hydroxid-Kohlenhydrat-Komplexes. Deutlich erkennbar die Eisenablagerungen im Bindegewebe.

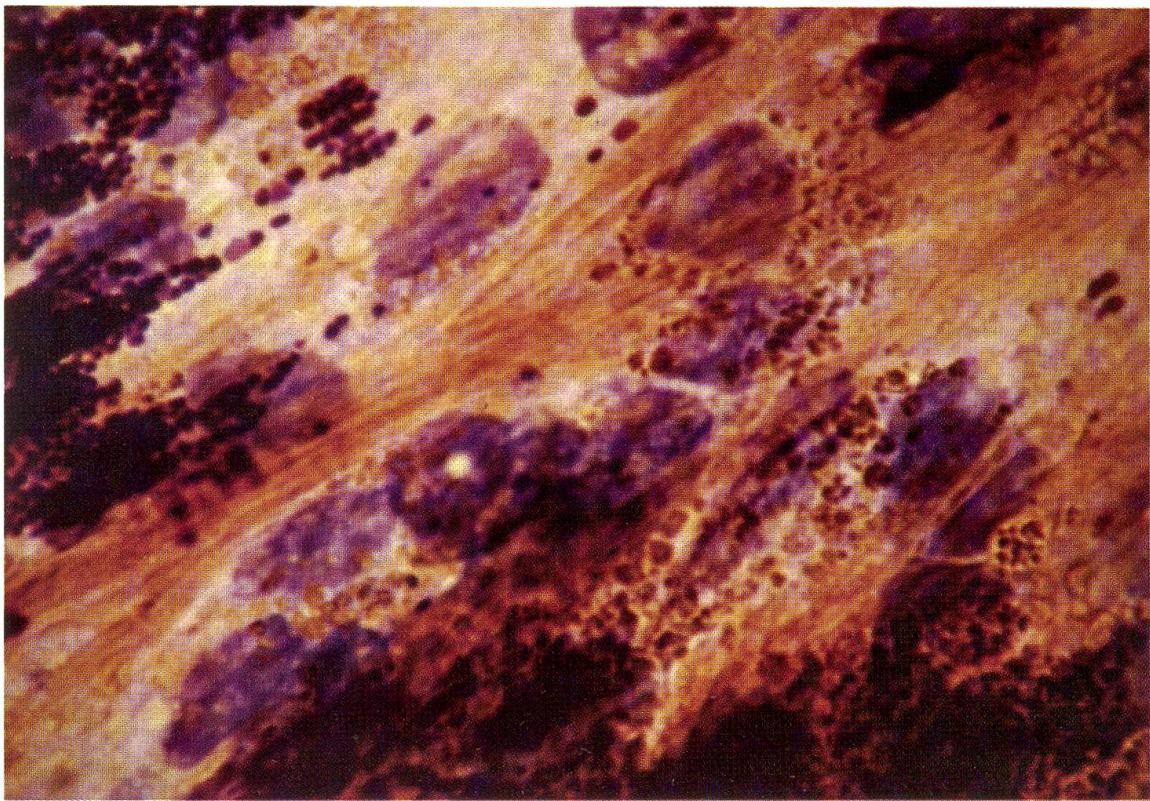


Abb. 4

Abb. 5

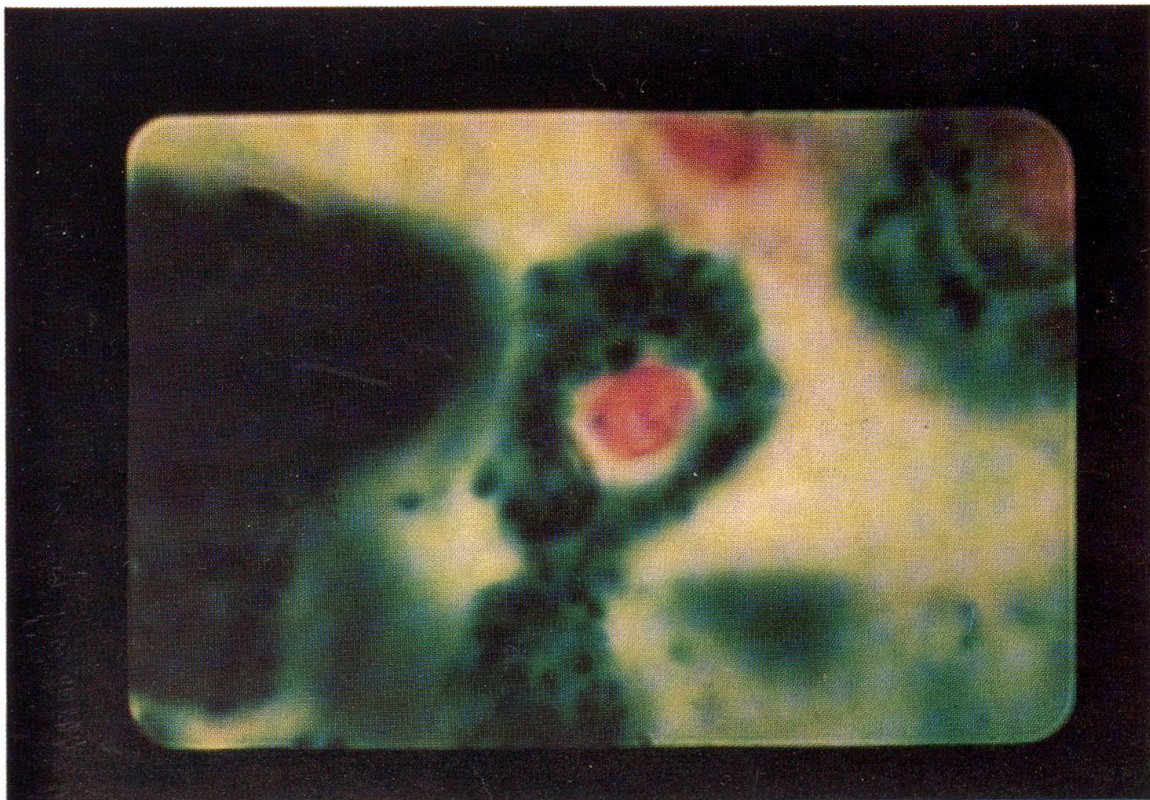


Tabelle 1 Eisen Resorptionstest nach B.P. an Kaninchen und Ferkeln

Präparate: Eisen-Dextran-Handelspräparat und Ferrum-Hausmann i.m. (Eisen-Dextran)

Beide Präparate (10% G/V Fe) wurden auf 5% G/V Fe verdünnt

Dosis: 20 mg Fe/kg i.m. als 5% G/V – eisenhaltige Lösung

Einzelwerte retiniertes Eisen im Schenkel 7 Tage post injectionem in % bezogen auf die applizierten Fe-Mengen

Kaninchen		Ferkel	
1a	1b	1c	1d
Handelspräparat	Ferrum-Hausmann i.m.	Handelspräparat	Ferrum-Hausmann i.m.
21,7	21,0	4,6	6,3
16,9	18,4	3,3	8,3
16,0	16,6	2,3	2,1
21,4	25,0	5,3	2,2
20,8	15,0	6,3	6,5
12,5	22,0	2,2	6,3
8,8	32,5	7,5	5,0
17,8	16,2	6,4	6,0
15,3	30,2		
19,7	12,8		
13,1	8,2		
41,1	21,1		
32,2			
25,7			
$\bar{X}$ 20,2	19,9	4,7	5,3
s 8,4	7,0	2,0	2,2
N 14	12	8	8

Signifikanzberechnung: ungepaarter t-Test,

Vergleich: Kaninchen gegen Ferkel.

Handelspräparat	Fe-Hausmann	Handelspräp./ Fe-Hausmann	Fe-Hausmann/ Handelspräp.
1a/1c	1b/1d	1a/1d	1b/1c
t 5,09	5,67	4,87	5,93
n 20	18	20	18
p < 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Handelspräparat gegen Fe-Hausmann			
Kaninchen	Ferkel		
1a/1b	1c/1d		
t 0,10	0,57		
n 24	14		
p 0,92	0,57		

Sauenmilch angewiesen, so dass sich am 3., spätestens jedoch am 4. Tag nach der Geburt die Symptome einer schweren Eisenmangelanämie manifestieren.

Die technischen Bedingungen zur Durchführung des Eisen-Resorptions-tests entsprechen den in der B.P. vorgegebenen. Tab. und Abb. 1c und 1d demonstrieren deutlich, dass hinsichtlich der Einzelwerte die B.P.-Limite von 20% Resteisen 7 Tage post inj. weit unterschritten bleibt. Gehen wir davon aus, dass beim Überschreiten eines Resteisen-Wertes von 20% bei Individuen mit Eisenmangelzuständen mit sogenannten Spätschäden (z.B. Verfärbungen am Injektionsort durch nicht mobilisierbare Eisenablagerungen) gerechnet werden muss, so sollte diese Limite nur an einem sideropenischen Tiermodell wie z.B. am Ferkel zur Qualitätsbeurteilung der i.m. Eisenpräparate bestimmt werden.

Versuchspräparate, die aufgrund der visuellen Routineüberprüfung an Ferkeln bezüglich Verfärbung im Injektionsbezirk (vgl. pag. 462ff.) ausserhalb unserer internen Toleranz lagen, d.h. unseren Qualitätsanforderungen nicht entsprechen, ergaben im Resorptionstest gemäss B.P. sowohl beim Kaninchen als auch beim Ferkel «Resteisenwerte» grösser als 20% (vgl. Tab. 2).

Qualitativ schlechte Eisenpräparate weisen also auch im quantitativen Test am Ferkel schlechte Resorptionsquoten auf, wobei aber im Vergleich zur Prüfung am Kaninchen wesentlich geringere Streuungen resultieren.

Da die Bedingungen beim Ferkel überdies den allgemein beim Eisenmangel angetroffenen entsprechen – auch im Bereich der Humanmedizin – bietet das Ferkel im Resorptionstest gemäss B.P. mehr Sicherheit für die Beurteilung des durch die Präparatequalität bedingten Verfärbungsrisikos an der Injektionsstelle bei Patienten.

Tabelle 2 Eisen-Resorptionstest nach B.P. an Kaninchen und Ferkeln

Präparat: Eisen-Dextran-Versuchspräparat enthaltend 5% G/V Fe. Dieses Versuchspräparat erfüllte bei der visuellen Routineüberprüfung bezüglich Verfärbung in der Injektions-
gegend unsere internen Qualitätsanforderungen nicht

Dosis: 20 mg Fe/kg i.m. als 5% G/V eisenhaltige, wässrige Lösung

Einzelwerte retiniertes Eisen im Schenkel 7 Tage post injectionem in % bezogen auf die appli-
zierten Fe-Mengen

	Kaninchen	Ferkel
	58,8	25,5
	55,1	23,6
	35,2	22,5
	30,4	20,9
$\bar{x}$	44,9	23,13
s	14,2	1,93

Es wird deshalb vorgeschlagen, den Eisen-Resorptionstest nach B.P. in der Weise zu modifizieren, dass statt des Kaninchens das sideropenische 3–4 Tage alte Saugferkel als Versuchstier eingesetzt wird.

Da die Schweinezucht heute weltweit Hauptabnehmer für intramuskuläre Eisenpräparate ist, deckt sich das Prüfmodell überdies mit *dem* Tier, bei welchem Eisen vornehmlich therapeutisch eingesetzt wird.

II. Die «Entzündliche Reaktion» nach intramuskulärer Applikation von Eisenpräparaten

Die entzündliche Reaktion stellt auch nach intramuskulärer Applikation von Eisenpräparaten einen Zustand dar, der als *die* zweckmässige Reaktion des Bindegewebs-Gefässapparates auf einen gewebsschädigenden Reiz bezeichnet wird. Tatsache ist, dass grundsätzlich jeder inadäquate Reiz, jede exogene Noxe, unter anderem eine mechanisch-traumatische oder chemische Einwirkung, *hier die Injektion von Eisenpräparaten, zur Reizbeantwortung im Sinne der entzündlichen Reaktion* führt.

Die Abb. 2 zeigt, dass hier die lokalentzündliche Reaktion die Inaktivität der Extremität zur Folge hat. Diese wird nachgezogen, kutane und muskuläre Läsionen sowie Nekrosen sind die Folge.

Es sollte gerade auch bei der intramuskulären Applikation von Eisenpräparaten berücksichtigt werden, dass hier Störungen der geweblichen Grundaktivität, Störungen essentieller metabolischer Wechselbeziehungen zwischen Gefäss einerseits, dem umgebenden Gewebe andererseits und umgekehrt, speziell die überschüssende Aktivität korpuskulärer Gewebsanteile u.U. zu *Gewebsveränderungen im Sinne von Spätschäden* führen können, hier z.B. zur *Eisenfixation an bindegewebige Elemente*.

Wie bei allen entzündlichen Vorgängen, sind auch hier die Reaktionen, zumindest in ihrer Initialphase fast auf das interstitielle mesenchymale Gewebe, auf sogenannte «synergistische Primitiveinheiten», als grössere *Funktions-einheit* von Zellen, Grundsubstanz, Lymph- und Kapillargefässen sowie Nervenfasern, begrenzt. Durch zahlreiche Untersuchungen ist dieser Befund belegt worden [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22].

Nach Reizeinwirkung auftretende Störungen an den bindegewebigen Membranen, an den als «Transitstrecken» [23, 24, 25, 26, 27] bezeichneten *Septen* zwischen Kapillarlumen und umgebendem Gewebe sind von grösster Bedeutung [27, 28, 29, 30, 31, 32, 33].

Speziell angelegte Untersuchungen zeigen, dass diese Transitstrecken bei den entzündlichen Reaktionen frühzeitig, auch nach Einwirkung von «Minimal-Reizen» zunächst von Stoffwechselstörungen, nachfolgend von Strukturveränderungen betroffen sind [23, 24, 25, 26, 27, 32].

Bezogen auf die Membran- und Transportfunktionen des Mesenchyms in den Transitstrecken haben Stoffwechselstörungen bzw. Strukturschäden deshalb eine besondere Bedeutung, weil auch der *unspezifische* Reiz frühzeitig Ver-

änderungen provoziert, die über die Beeinträchtigung der Transportfunktionen zur Störung der Substrat-Versorgung führen [20, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 34].

In Abhängigkeit von der Intensität der Reizeinwirkung lassen sich alle morphologischen Zeichen der Entzündung bis zur Nekrose nachweisen. *Dies auch nach intramuskulärer Applikation von Eisenpräparaten verschiedener Art, welche aufgrund ihrer chemischen Struktur und Zusammensetzung mit unterschiedlicher Intensität pro-inflammatorisch wirken* [35].

Denkbar wäre auch hier, dass die verschiedenen starken Reize primär an den Gefässen bzw. ihren Nerven unmittelbar angreifen. Als wahrscheinlicher hat sich jedoch herausgestellt, dass zunächst *lebende Zellen geschädigt* werden, die dann erst jene auf die Blutgefässe wirkenden Stoffe freisetzen.

Es handelt sich in erster Linie um Histamin, Serotonin und Heparin, um Stoffe, welche die Permeabilität der Gefässwand steigern und die Gefässlichtung erweitern.

Menkin [36, 37] konnte andere, beim Zellzerfall frei werdende Stoffe, meist Polypeptide, nachweisen (sog. *Menkin-Stoffe*), die aktiv in den Prozess der Entzündung eingreifen.

Die Entzündung müsste demnach mit einer Zellschädigung beginnen, durch welche erst sekundär die Zirkulationsstörung sowie weitere Alterationen induziert würden. Diese Anschauung könnte unter anderem die Tatsache verständlich machen, dass *verschiedenste* Einwirkungen, mechanische, bakterielle, *hier physikalisch-chemische*, durch die intramuskuläre Applikation von Eisen-Antianämica zu der *grundsätzlich gleichen Gewebsreaktion* führen.

Daraus ergibt sich die Möglichkeit, das Ausmass der nach intramuskulärer Injektion von Eisen-Antianämica auftretenden entzündlichen Reaktion, speziell den «Tumor cum Rubore», d.h. die Schwellung und Rötung zur Beurteilung der Präparatequalität, heranzuziehen.

Änderungen des lokalen Metabolismus kurz nach sowie zu verschiedenen Zeiten nach intramuskulärer Eisen-Applikation werden in direktem Zusammenhang zu bestimmten Enzymmustern des regenerierenden bzw. reparativ agierenden Gewebes gebracht.

Die Gewebs-Aggressivität von intramuskulär zu applizierenden Eisenpräparaten wird im ungünstigsten Falle schon spätestens 6 Stunden nach der Injektion als lokale ödematös-entzündliche Schwellung nachgewiesen werden können.

Die histologische und enzymhistochemische Untersuchung des Muskel- und Bindegewebes nach der Injektion zeigt im Umfang und Ausmass die Nekrotisierung des betroffenen Gewebes. Das Muskelgewebe verliert seine Querstreifung, die bindegewebigen Anteile erscheinen wie braun gefärbte Wollfasern. 24 Stunden nach intramuskulärer Injektion von Eisen-Dextran oder -Dextrinpräparaten erfolgt – abhängig von der Eisen-Präparate-Qualität – in der Muskulatur ein partieller Verlust der Querstreifung (wachsartige Degeneration der Muskelfasern). Der histopathologische Befund des Injektionsortes zeigte 2–3 Monate nach Injektion unserer Eisenpräparate durchwegs eine

vollständige restitutio ad integrum. Ca. 4–6 Monate nach i.m. Applikation unserer Präparate konnte auch histologisch im injizierten Gewebe Eisen nicht mehr nachgewiesen werden.

Bei Betrachtung der Abb. 4 werden granuläre Strukturen festgestellt, welche als Granula von Mastzellen identifizierbar sind. Diese Abbildung demonstriert einen Bereich, der dem Defektzentrum nach intramuskulärer Eisen-Injektion zuzuordnen ist. Das braune, körnige Material ist identisch mit dem injizierten Eisen. Die Abb. 5 zeigt eine Zelle, welche hier zwischen der 4. und 6. Stunde post injectionem das Eisen in sich aufgenommen hat. Bei Vergleich der beiden Abbildungen wird festgestellt, dass das injizierte Eisen zu dem hier festgestellten Zeitpunkt *in mindestens 2, wenn nicht 3 verschiedenen Formen vorliegt*. Nämlich: an Bindegewebelemente fixiert in *nicht granulärer, homogener Form*. In *granulärer Form* frei im Injektionsgebiet liegend sowie in *fraglich veränderter Form intrazellulär*.

Die von verschiedenen Autoren [48, 49, 50] beschriebenen morphologisch-strukturellen Veränderungen nach intramuskulärer Eisen-Applikation beim Saugferkel werden durch eigene histologische Untersuchungen bestätigt. Diese Veränderungen sind weitgehend von der Qualität der injizierten Präparate abhängig.

III. Eisensubstitution

Die heute praktizierte Schweinezucht macht die Eisensubstitution notwendig, da das Ferkel nach der Geburt, vor allem aber während des ersten Wachstums, einzig auf die eisenarme Sauenmilch angewiesen ist.

Dem täglichen Bedarf des Saugferkels von mindestens 7 mg Eisen steht lediglich ein Angebot von maximal 1 mg Fe/die gegenüber [7].

Wird diese Diskrepanz zwischen Bedarf und Angebot nicht ausgeglichen, entwickeln die Ferkel eine schwere Eisenmangelanämie, die nicht nur das Wachstum der Tiere entscheidend beeinträchtigt, sondern in ca. 30% der Fälle ad exitum führt [8]. Die Entwicklung dieser Anämie beginnt am 1. Tag post partum. Am 3., spätestens jedoch am 4. Tage nach der Geburt werden die Symptome einer schweren Eisenmangelanämie manifest.

Aus dem errechneten Eisendefizit und dem Bedarf (täglich 6 mg resorbiertes Eisen während eines Zeitraums von mindestens 4 Wochen) ergibt sich bei oraler Applikation eine täglich zu substituierende Eisenmenge von 40 mg über einen Zeitraum von 3 bis 4 Wochen [38,39]. Bei intramuskulärer Verabreichung ist, wie eigene Untersuchungen zeigen, eine einmalige Dosis von 200 mg Eisen zur Deckung des Bedarfs sowie zum Ausgleich des schon vorhandenen Defizits als optimal anzusehen.

Der Versuch am Saugferkel erlaubt hingegen nicht nur die Beurteilung der therapeutischen Wirksamkeit, sondern auch der Verträglichkeit. Dies sowohl nach oraler als auch intramuskulärer Applikation. Intramuskulär zu applizierende Eisenpräparate verursachen post injectionem am Injektionsort

eine durch die rotbraune Farbe des Präparates bedingte lokale Verfärbung. Der jeweilige Verfärbungsgrad an der Injektionsstelle darf als wesentliches Kriterium zur Beurteilung der Präparatequalität herangezogen werden, da die Primär-Intensität der Verfärbung sowie das Nachlassen der Intensität der Verfärbung in Relation zur Zeit wesentliche Rückschlüsse auf die Geschwindigkeit des Abtransports vom Injektionsort, die evtl. Fixation des Präparates im Bereiche des Injektionsortes usw. erlaubt.

Gemeinhin wurde der Rattenpfotenödem-Test¹ zur Beurteilung der lokal entzündlichen Reaktionen herangezogen. Dieser konnte verlassen werden, da Präparate-abhängige Veränderungen an der Rattenpfote im Umfang und äussern Aspekt den entzündlichen Reaktionen des Ferkelschenkels entsprechen.

Es darf somit festgestellt werden, dass sich das 2–4 Tage alte, anämische Saugferkel am ehesten für die Überprüfung nicht nur des Therapie-Effekts, sondern auch für die Quantifizierung der lokalen Verträglichkeit und der Nebenwirkungen intramuskulär applizierbarer Eisen-Antianämica eignet. Dies nicht nur deshalb, weil das Saugferkel in diesem Lebensalter einen echten Eisenmangel mit Anämie unterschiedlichen Grades entwickelt (hat), sondern auch, weil dieses Tier bezüglich seines Eisen-Stoffwechsels am ehesten mit dem Menschen vergleichbar ist.

Der Verfärbungsgrad an der Injektionsstelle sowie die lokalen Gewebs-Reaktionen (Verträglichkeit) wurden nach intramuskulärer Applikation verschiedener Eisenpräparate² 24, 48 und 72 Stunden post applicationem, d.h. bei zu diesem Zeitpunkt 5–7 Tage alten Saugferkeln beiderlei Geschlechts (Rasse: veredeltes Landschwein; Gewicht 1,5–2,2 kg) untersucht.

Nebenwirkungen, die auf eine injektionsbedingte Hyperkaliämie oder einen möglichen Vitamin-E-Mangel im Sinne des sog. «Shocklike-Syndroms» [49] zurückgeführt werden könnten, wurden bei unseren Versuchen nicht beobachtet.

Gearbeitet wurde nach dem sogenannten SPLIT-LITTER-Verfahren, wobei folgende Faktoren besonders berücksichtigt wurden:

1. Injektionstechnik,
2. Blutentnahme (und Reinjektion),
3. Beurteilungsmöglichkeiten (Objektivierung),

¹ Ödemtest

Als Parameter für die lokale Verträglichkeit von intramuskulär applizierten Eisenpräparaten diente der «Rattenpfoten-Ödemtest» nach der Methode von Hillebrecht [40]. Von den zu untersuchenden Eisenpräparaten wurde jeweils 0,05 ml 5 G/V % eisenhaltige, wässrige Lösung subplantar injiziert und das Pfootenvolumen vor der Injektion, 3, 6, 24 und 48 Stunden post injectionem bestimmt. Mit Einführung des Ferkeltests konnte auf den Ödemtest an der Rattenpfote verzichtet werden, da beim Ferkel gleichzeitig *Verfärbungsgrad* an der Injektionsstelle und *lokale Verträglichkeit* überprüft und beurteilt werden können.

² Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose = Eisen-Dextrin und Eisen(III)-Hydroxid-Polysisomaltose = Eisen-Dextran (Hersteller: Laboratorien Hausmann AG, St. Gallen/Schweiz) sowie in vergleichenden Untersuchungen ein im Handel erhältliches Eisen-Dextran-Präparat.

4. Abhängigkeit der Versuchsergebnisse von «genetischen» (erbbiologischen) Faktoren des Versuchstieres,
5. Einfluss der Zeit post applicationem,
6. Einfluss wiederholt durchgeführter intramuskulärer Eiseninjektionen beim gleichen Tier,
7. Möglichkeiten der Routineprüfung von Eisen-Dextrin und -Dextran-Präparaten (Vergleich bezüglich Verfärbungsgrad an der Injektionsstelle),
8. Abhängigkeit von der zu definierenden «Qualität» der Eisenkomplexe sowie
9. Abhängigkeit des Verfärbungsgrades und der lokalen Verträglichkeit von physikalisch-chemisch definierten Parametern der Eisenkomplexe,
10. Prüfung auf therapeutische Wirksamkeit.

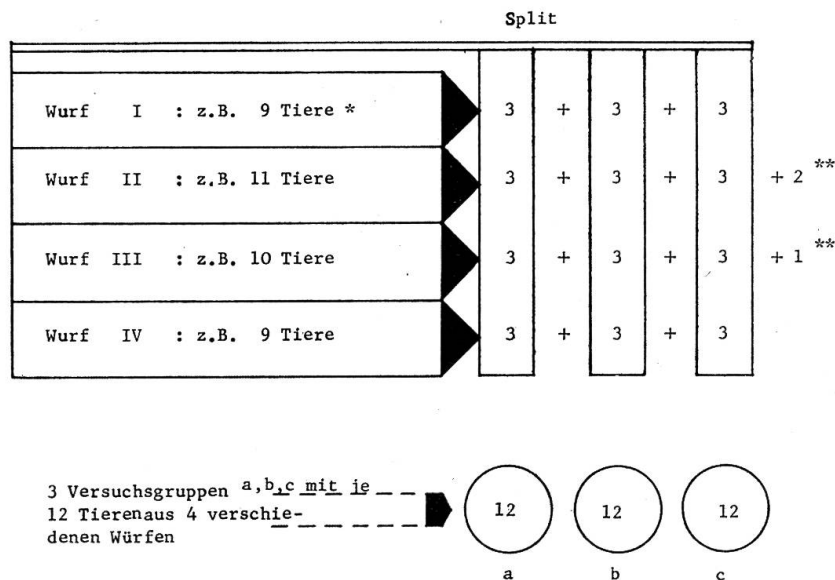
Inwieweit die ermittelten Untersuchungsergebnisse von diesen Faktoren beeinflusst werden, wird dargestellt.

Die *SPLIT-LITTER-Anordnung* ist ein Verfahren, bei welchem ein Präparat an Tieren aus verschiedenen Würfen (an Tieren verschiedener Muttertiere) geprüft wird.

Sollen z.B. 3 verschiedene Eisenpräparate geprüft werden, so werden die zur Verfügung stehenden Würfe (z.B. 4 Würfe à je 9 Ferkel) gedrittelt und diese verschiedenen Drittel zu drei neuen Gruppen gemäss nachfolgendem Schema zusammengestellt.

Aus 4 Würfen sind für 3 zu prüfende Präparate 3 Gruppen mit je 12 Tieren zusammengestellt.

Für die Versuche wurden Würfe mit mindestens 9 Ferkeln ausgewählt.



* Die hier angegebenen Zahlen entsprechen realen Bedingungen

** Werden nicht berücksichtigt

Dieses Verfahren war anzuwenden, da primär nicht ausgeschlossen werden konnte, ob der Verfärbungsgrad sowie die lokalentzündliche Reaktion an der Injektionsstelle nach intramuskulärer Eisen-Applikation nicht lediglich präparatebedingt, sondern auch abhängig ist von der individuellen Reaktionslage der Ferkel, evtl. bedingt durch «erbblologische Faktoren».

Alle folgenden Versuche wurden im Split-Litter-Verfahren durchgeführt.

1. Injektionstechnik

Zahlreiche Versuchsserien am Saugferkel zeigen, dass die Injektionstechnik bei der intramuskulären Applikation von Eisenpräparaten einen wesentlichen Einfluss auf die makroskopisch beurteilbaren Kriterien der Verfärbung und entzündlichen Schwellung hat. Um den Einfluss verschieden gehandhabter Injektionsverfahren auszuschliessen, wurde die Technik überprüft und standardisiert. Die intramuskuläre Injektion von Eisenpräparaten hat im Bereiche des hinteren rechten bzw. linken Oberschenkels proximal des Kniegelenks zu erfolgen.

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die lokale Verfärbung und die reaktiv-entzündliche Schwellung auch nach Injektion eines qualitativ «schlechten Präparates» (vgl. Abb. 2) als weniger intensiv nachgewiesen wird, wenn das Eisen möglichst nahe dem Einzugsgebiet der regionalen Lymphknoten deponiert wird. Gemeint sind hier vor allem die Lymphonoduli (Lnn.) poplitei, die ihrerseits aus oberflächlichen und tiefliegenden Anteilen bestehen. Berücksichtigt sind auch die Lnn. inguinales superficiales, deren Einzugsgebiet vorwiegend Haut und Subcutis sind (besondere Bedeutung für Abtransport bzw. eventuell auftretende subcutane Verfärbungen).

Zur Injektions-Technik selbst (Abb. 6, 7, 8, 9):

Eine Hilfsperson hält das Ferkel an den Hinterläufen in der Art, dass entweder die Bauchseite oder aber der Rücken des Tieres dem Injizierenden zugewandt ist. Dabei werden die Hinterläufe schonend seitlich abduziert, so dass cranio-ventral des Darmausganges eine möglichst horizontal verlaufende gerade Falte entsteht (Abb. 6).

Quantitativ-analytische Untersuchungen zeigen, dass in Funktion zur Zeit nach der Injektion entnommene Gewebeproben signifikant weniger Eisen enthalten ($p < 0,05$), wenn nicht «einfach» intramuskulär injiziert, sondern nach oben beschriebener Technik verfahren wurde. Histologische Untersuchungen zeigen korrelierende Ergebnisse.

Die Lymphknoten selbst sind kurz nach der Injektion massiv mit Eisen durchsetzt. Gleichzeitig wird im peripheren Blut ein sehr schneller Anstieg des Serumeisens beobachtet. Der im perilymphonodulären Muskelgewebe primär zurückgebliebene Eisenanteil dient anscheinend als Depot und wird im Laufe der folgenden 2–3 Wochen fast vollständig mobilisiert.

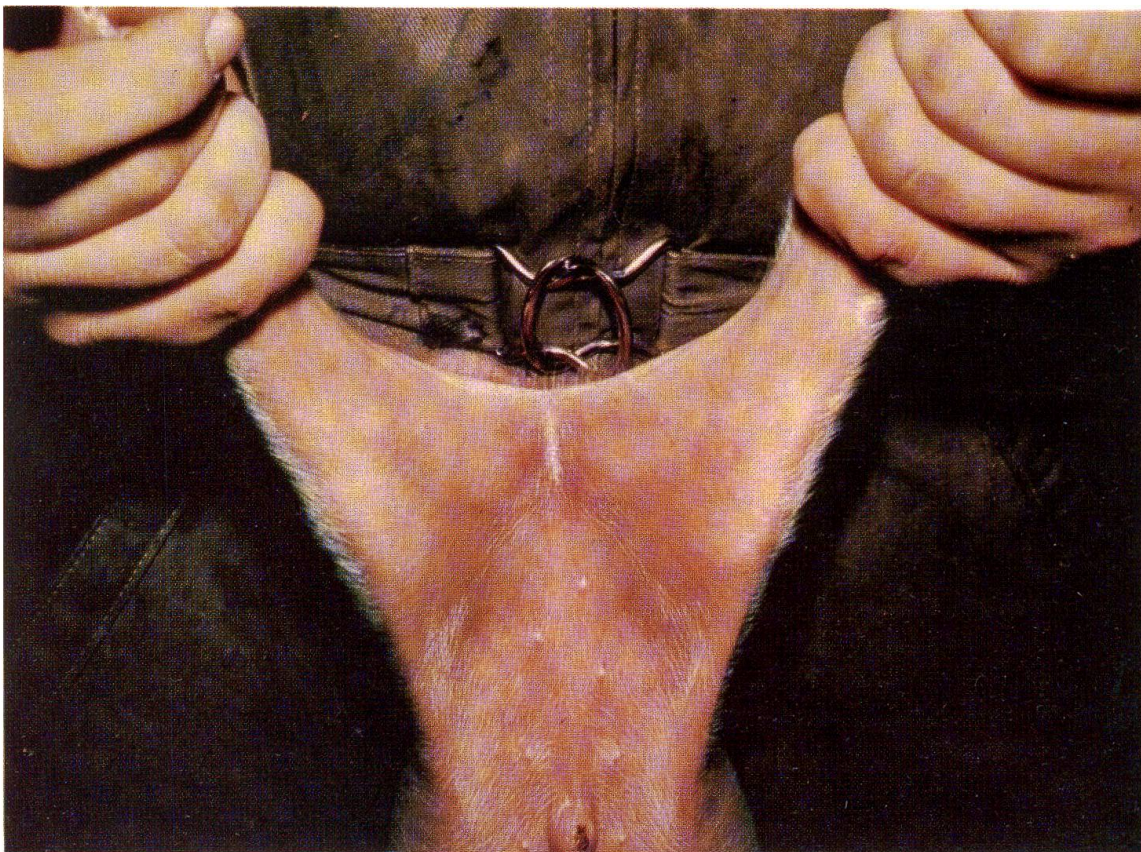


Abb. 6

Abb. 7 Vorschieben der Nadel um ca. 2–3 cm. Wichtig ist, dass die Nadel so angesetzt wird, dass ein mindestens 3 cm tiefer, Z-förmig geführter Einstich möglich ist. Die Einstichsrichtung ist durch den Trochanter major fixiert.



bb. 8 Nach erfolgtem Einstich sollte die Nadel ca. $\frac{1}{2}$ cm zurückgezogen und die Injektionspritze um ca. 30–40 Grad nach dorsolateral abgewinkelt werden.

bb. 9 In jedem Falle sollte vor der Injektion aspiriert werden, um eine Punktion grösserer Gefässe auszuschliessen. Bei derartigem Vorgehen verkürzt sich für den lymphogen resorbierbaren Anteil des Eisenpräparates der Weg erheblich.



Liegt der Ausgangswert des Serumeisen-Spiegels bei Werten $< 40 \mu\text{g Fe}$ pro 100 ml Serum, so wird nach 2–3 Stunden ein Anstieg auf Werte $\geq 10000 \mu\text{g \%}$ registriert (s. pag. 472 «Ergebnisse»). Im Verlaufe einer Woche post injectionem sinkt der Serumeisen-Spiegel auf physiologische Werte ab und bleibt dann für weitere 2–3 Wochen mit $100\text{--}150 \mu\text{g Fe}/100 \text{ ml Serum}$ konstant.

Die hier beschriebene Injektionstechnik gewährleistet somit:

- die gesicherte biologische Verfügbarkeit des Eisens in ausreichender Serum-Konzentration
- einen 2–3 Wochen anhaltenden Depoteffekt
- Die Verkürzung des Resorptionsweges, damit Verminderung des Risikos, dass zum Zeitpunkt der Schlachtreife Eisenablagerungen im Gewebe nachgewiesen werden und erhebliche Qualitätseinbussen in Kauf genommen werden müssen.

Obwohl die Durchführung dieser Injektionstechnik auf den ersten Blick schwierig erscheint, hat sich gezeigt, dass auch der «Nicht-Tierarzt» und medizinisch nicht ausgebildete Personen das beschriebene Verfahren mit Leichtigkeit erlernen und *lege artis* anwenden können.

Interessant erschien noch die Frage nach einer etwaigen Abhängigkeit des Verfärbungsgrades von Länge und Lumen der Injektionsnadel. Um eine eventuelle Abhängigkeit der lokalen Nebenwirkungen von der Länge und dem Lumen der Injektionsnadel zu untersuchen, wurden entsprechende Versuche an 3 Tage alten Saugferkeln mit 3 verschiedenlumigen Injektionsnadeln durchgeführt.

Die Injektions-Technik entsprach auch bei diesen Versuchen der oben beschriebenen.

Anzahl der Versuchstiere: Es wurden 3 Gruppen à 9 Ferkel gebildet.

Zur Untersuchung kamen folgende Injektionsnadeln:

1. Injektionsnadel $0,80 \times 38 \text{ mm}$
2. Injektionsnadel $1,00 \times 60 \text{ mm}$
3. Injektionsnadel Nr. 1 $0,90 \times 38 \text{ mm}$

Zur i.m.-Applikation kam immer das gleiche Präparat Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose enthaltend 10 G/V % Eisen. Dosierung: 2 ml entsprechend 200 mg Fe.

Ergebnis:

Verfärbung und lokal entzündliche Reaktion, 24., 48 und 72 Stunden nach Injektion bestimmt, zeigen in Abhängigkeit von Art und Grösse verschiedener Injektionsnadeln keine unterschiedlichen Ergebnisse. Es darf daraus geschlossen werden, dass bei Anwendung einer streng standardisierten Injektionstechnik Art und Grösse der Injektionsnadel keinen Einfluss auf Grad und Ausmass der hier beurteilten Nebenerscheinungen hat.

2. Blutentnahme und Reinjektion

In Anlehnung an die in «The Pig as a Laboratory Animal» (41) beschriebene Methode entnehmen wir das Blut aus der Vena brachiocephalica. Zu diesem Zwecke wird das Ferkel von einer Hilfsperson an den Vorderläufen so gehalten, dass die Bauchseite des Ferkels gegen den Operateur gerichtet ist. Anfänglich wurden die Ferkel mit Chloraethyl-Spray leicht anästhesiert. Heute entnehmen wir das Blut am wachen Tier. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass bei mehrmaliger Blutentnahme innerhalb 24 Stunden ein zusätzlicher Blutverlust (Blutungs-Anämie) entsteht (7–8 ml pro Tier), den man durch *Reinjektion* des gleichen Volumens Sauenblut ersetzen soll. Dabei spielt es keine Rolle, ob die Substitution durch Ferkelblut oder durch vom Schlachthof gewonnenes Sauenblut (Citrat-Blut, heparinisiert usw.) erfolgt. Die Reinjektion erfolgt ebenfalls nach Punktion der Vena brachiocephalica.

3. Beurteilung

Die lokale Verfärbung und Verträglichkeit nach intramuskulärer Injektion von Eisenpräparaten am Ferkel wurde 24, 48 und 72 Stunden post injectionem visuell wie folgt beurteilt:

Tabelle 3

<i>Verfärbung</i>	
<i>Index</i>	<i>Beschreibung</i>
0	Keine Verfärbung.
25	sehr leichte, spurenhafte Verfärbung auf der Schenkelinnenseite.
50	Leichte Verfärbung, nicht stark, jedoch deutlich feststellbar.
75	Sehr deutlich feststellbare, bläulich-braune Verfärbung an der Schenkelinnenseite. Oft um die Injektionsstelle herum deutliche, blau-braune Flecken
100	Starke bläuliche Verfärbung grösserer Flächen auf der Schenkelinnenseite. Grössere lokale braun-blaue Flecken um die Injektionsstelle herum.
>100	Dunkelblau-violette, intensive Verfärbung der gesamten Innen- und Aussenseite der Extremität. Ausdehnung u.U. bis in den Bauchdeckenbereich.

Tabelle 4

<i>Lokale Verträglichkeit</i>	
<i>Index</i>	<i>Beschreibung</i>
0	Keine Schwellung.
50	Leichte, visuell eben wahrnehmbare Schwellung.
100	Deutliche Volumenzunahme sichtbar. Das Tier schont die Extremität oder hinkt. Deutliche lokale Hyperthermie, Rötung.
200	Starke Schwellung. Rötung. Hyperthermie. Volumenzunahme um ca. 50%.
>200	Sehr starke Schwellung, Hyperthermie. Rötlich-glänzende oft gespannte Hautoberfläche. Ausgedehnt auf die Aussenseite des Schenkels und die Bauchdecken. Volumenzunahme >100%. Völlige Inaktivität der betroffenen Extremität.

Auswertung der Beurteilung:

Zur Festlegung des Endergebnisses wird das arithmetische Mittel der Verfärbungs- resp. Reaktions-Indizes aller pro Präparat behandelten Ferkel errechnet. Als Beispiel für eine vergleichende Verträglichkeitsprüfung von Eisen-Dextran-Hausmann und einem Eisen-Dextran-Standardpräparat am Ferkel siehe Tabelle 5.

Es wurde versucht, durch Anwendung eines Tintometers (The Tintometer Ltd., The Colorer Laboratory, Waterloo Road, Salisbury, Wiltshire, England) den Verfärbungsgrad an der Injektionsstelle zu objektivieren. Hierbei wird über eine Glasfaseroptik Licht auf die Injektionszone geworfen und das reflektierte Licht hinsichtlich seiner Intensität und Farbwerte analysiert.

Diese Methode erwies sich als für unsere Belange nicht geeignet, da der durch den Messkopf jeweils abgetastete Hautbezirk zu klein war und nicht der gesamten Verfärbungszone entspricht. Nur durch mehrere Messungen konnte das gesamte Areal erfasst werden, wodurch Überschneidungen und erhebliche Ungenauigkeiten resultierten. Darüber hinaus waren die Ergebnisse, auch nach wiederholter Messung durch die gleiche Person, nicht identisch und zeigten hochsignifikante Abweichungen ($p < 0.001$). Während die von uns seit Jahren erfolgreich praktizierte visuelle Beurteilung (siehe oben) zu gut reproduzierbaren Ergebnissen führt, war dies durch die Anwendung des Tintometers nicht möglich.

4. Abhängigkeit der lokalen Verfärbung von «genetischen» Faktoren?

In einer 1. Studie an 2286 Ferkeln aus 254 Würfen in 762 Splits zu je 3 Tieren wurden 254 Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose(Dextrin)- bzw. -Polyisomaltose (Dextran)-Komplexe nach intramuskulärer Injektion von je 200 mg Eisen pro Dosis und Ferkel geprüft. Die Ergebnisse der einzelnen Splits für das jeweilige Präparat wurden verglichen und statistisch ausgewertet.

Zur Erfassung einer eventuell vorhandenen Abhängigkeit des Verfärbungsgrads an der Injektionsstelle bei Splits aus definierten Familiengruppen wurden 2286 Nachkommen von 16 Ebern in den Versuch einbezogen. Die Ergebnisse nach Injektion von Testpräparaten aus verschiedenen Herstellungsverfahren wurden jeweils mit einem definierten *Standard-Präparat* (siehe Tabelle 5) verglichen.

Statistik

Beim Ansatz der statistischen Prüfverfahren sind wir davon ausgegangen, dass zwischen den Reaktionen unterschiedlicher Erbgruppen (Bestimmung der Eber und ihrer Nachkommen) keine Unterschiede bestehen. Unter Zuhilfenahme des Vertrauensgrades haben wir uns für die Null-Hypothese entschieden und den t-Test mit Differenzwerten durchgeführt.

Tabelle 5 (Beispiel) Verträglichkeitsprüfung von *Fe(III)-Hydroxid-Polyisomaltose-Komplexen* am Ferkel

Präparate: Eisen-Dextran-Lösung 10% G/V

Applikation: i.m.

Präparate	mg Fe	ml	h	Anz. Tiere/ Würfe	Anzahl Tiere Verfärbung					Anzahl Reaktion					Beurteilung	
					0	25	50	75	100	>100	0	50	100	200	>200	Verfärbung
Standard	200	2	24	32/8 ¹	18	12	2	—	—	—	32	—	—	—	13	0
Eisen-Dextran			48		22	8	1	—	—	—	32	—	—	—	8	0
Hausmann			72		27	5	—	—	—	—	32	—	—	—	4	0

¹ 32 Tiere aus 8 Würfen

Nach der Formulierung

$$t = \frac{(\bar{X}_A - \bar{X}_B)}{\sqrt{\left(\frac{\sum x_A^2 + \sum x_B^2}{N_A + N_B - 2}\right) \left(\frac{N_A + N_B}{N_A \cdot N_B}\right)}}$$

konnte dargestellt werden, dass die unterschiedlichen Verfärbungsgrade zeit- und produkteabhängig waren und dass das verwendete Tiermaterial aus unterschiedlichen Würfen keinen Einfluss auf die Verfärbungsgrade des Gewebes hatte. Mit den dargestellten t-Werten (mit $p > 0,10$) wurde die Hypothese bestätigt, dass erbbiologische Faktoren keinen Einfluss auf den Verfärbungsgrad hatten.

Die zweite Hypothese ging aufgrund des numerischen Materials davon aus, dass zwischen «*Standard*»- und «*Test*»-Präparat Unterschiede bestanden, die allerdings – nach Bestätigung der Null-Hypothese – unbeeinflusst vom genetischen Material waren (Abb. 10). Dazu wurden die Vertrauensgrenzen bestimmt: t-Test-Untersuchungen für gepaarte Messungen durchgeführt und die Bestätigung durch die Varianzanalyse (wegen des quantitativen Messniveaus) für notwendig erachtet. Alle Ergebnisse der t-Wert-Untersuchungen (bestätigt durch die Varianzanalyse) zeigten ein Signifikanzniveau zwischen 1% und 5%, so dass mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit zwischen den Gewebeeffekten einerseits und den gepaarten Standard-Prüfprodukten andererseits eindeutige Unterschiede bestanden.

Kurzbeschreibung t-Test

Der t-Test ist ein parametrischer Test. Er wird für gepaarte (d.h. miteinander korrelierende) und nicht gepaarte (d.h. voneinander unabhängige) Variablen eingesetzt; also für den Vergleich zweier Mittelwerte von Stichproben. In unserer pharmakologischen Versuchsanordnung gingen wir aus von zwei und mehr (Sequenzvergleiche) unabhängigen Zufallsstichproben und Umfängen (in $n_1:n_2$; $n_2:n_3$; $n_1:n_3$ usw.), deren angenäherte Normalverteilung bestimmt wurde.

Varianzanalyse

Die allgemeine statistische Technik, um Fälle mit mehr als zwei Grundgesamtheiten zu untersuchen, ist die Varianzanalyse. Sie lieferte uns Messzahlen zur Prüfung von Mittelwerten in Grundgesamtheiten. Nach Prüfung der angenäherten Normalverteilung wurde die Frage beantwortet, welche Anteile der Streuung auf Unterschiede der Grundgesamtheiten (hier Familien) oder Zufall zurückzuführen sind. Nach Ausdruck der Ergebnisse (PUMA-Programm der IFAG, Basel¹) konnten Unterschiede der Grundgesamtheiten verworfen werden.

¹ Institut Dr. Friesewinkel AG, 4052 Basel, Sissacherstrasse 29

Verfärbungsindex

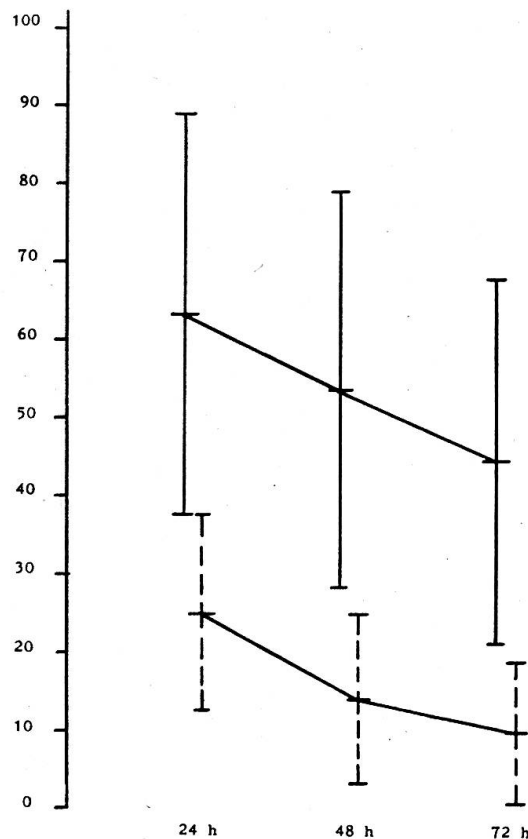


Abb. 10 Dargestellt ist die statistische Auswertung ($\bar{x} \pm s$) der Verfärbungsindizes von 254 Testpräparaten bei 1524 Ferkeln (—) sowie für das Standardpräparat bei 762 Ferkeln (---) 24, 48 bzw. 72 Stunden post injectionem.

Es wurden sowohl einfaktorielle als auch (entsprechend der Logik des Prüfprogrammes) zweifaktorielle Varianzanalysen durchgeführt.

Die Resultate für das Standardpräparat zeigen keine signifikanten Unterschiede (Nullhypothese bestätigt Abb. 11). *Dies bedeutet, dass die unterschiedlichen Verfärbungsgrade, 24, 48 und 72 Stunden post injectionem bestimmt, vom Präparat und nicht von erbbiologischen bzw. genetischen Faktoren des Tiermaterials abhängig sind.*

Die statistische Auswertung der Ergebnisse für die verschiedenen Testpräparate Eisen-Dextrin und Eisen-Dextran zeigt, dass sowohl für die Eisen-Dextrin- als auch für die Eisen-Dextran-Präparate, bezogen auf die 762 Splits (Split a, b und c, Abb. 11) keine Unterschiede im Verfärbungsindex, beurteilt an Tieren aus verschiedenen Familien, bestehen.

Aus Abb. 12 geht hervor, dass unterschiedliche Verfärbungsgrade abhängig sind von der Güte und Art des intramuskulär applizierten Eisenpräparates. Eine Abhängigkeit vom einzelnen Split, d.h. von durch verschiedene «Eltern» auf ihre Nachkommen evtl. vererbte Faktoren, konnte nicht nachgewiesen werden. Es erhebt sich deshalb die Frage, ob für die Prüfung von

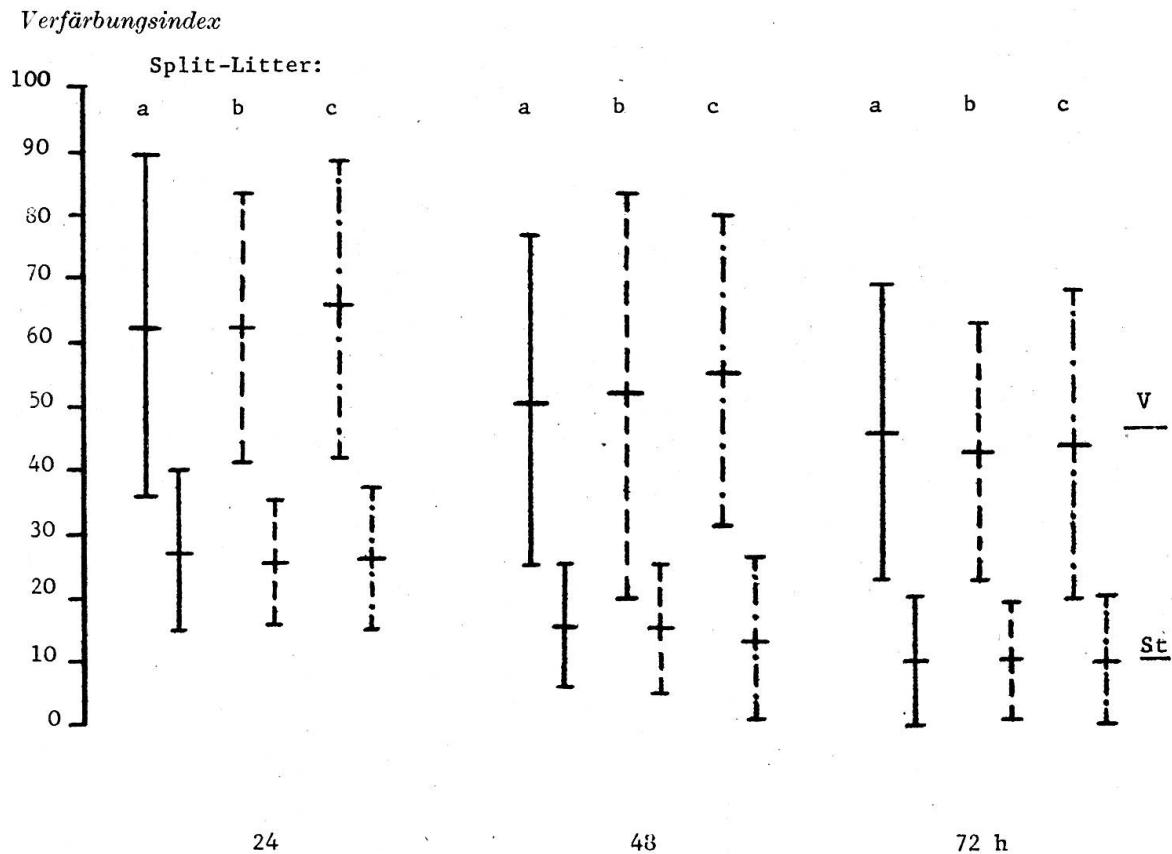


Abb. 11 V=254 Versuchspräparate bei 1524 Ferkeln St.=Standardpräparat bei 762 Ferkeln

intramuskulär zu applizierenden Eisenpräparaten das Split-Litter-Verfahren verlassen werden könnte.

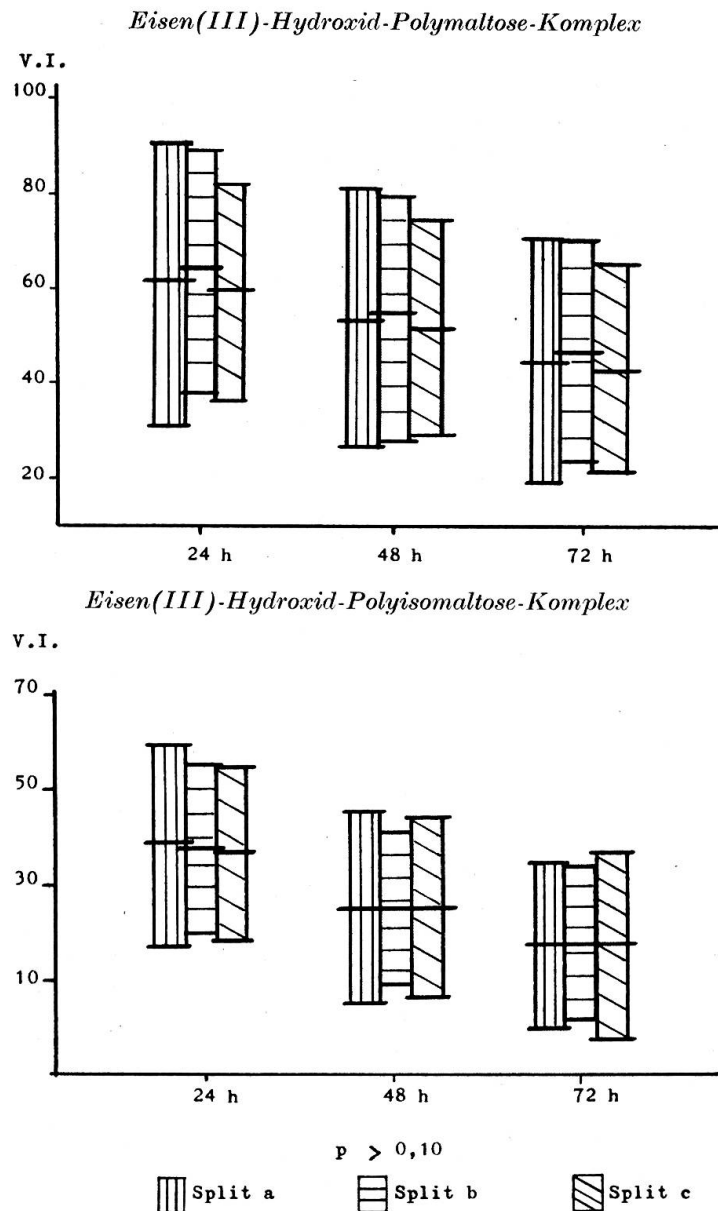
5. Einfluss der Zeit nach intramuskulärer Applikation

Es sollte nachgewiesen und überprüft werden, ob Präparate mit hohem Verfärbungsgrad an der Injektionsstelle und ungenügender lokaler Verträglichkeit (Labor-Versuchs-Chargen A 10 Nr. 814016 und HK 815216¹) beim Ferkel 3 Tage post partum injiziert, zum Zeitpunkt des Schlachtermins, 7 Monate später, Verfärbungen des Schinkens oder sonstige morphologisch-strukturellen Veränderungen am Muskelgewebe hervorrufen, d.h., ob durch die Behandlung der Ferkel mit den genannten Präparaten eine Qualitätseinbusse provoziert wird [42, 43, 44, 45, 46, 47]. Im Gegensatz zu den hier eingesetzten

¹ Definition der Präparate:

A 10=Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplex

HK =Sowohl mit Polymaltose als auch mit Polyisomaltose stabilisierter Eisen(III)-Hydroxid-Komplex



V.I. = Verfärbungsindex

Abb. 12

Versuchspräparaten mit Verfärbungsindizes von 92, 83, 83, 58 und lokalen Reaktionen 25, 0, 25, 0 lagen die Verfärbungswerte an der Injektionsstelle nach i.m. Injektion unserer Handelspräparate (200 mg Fe/Ferkel) durchwegs unter 30 (Präparat D* 057207); lokale Reaktionen dürfen nicht auftreten.

Je 6 Ferkel wurden im Split-Litter-Verfahren am 3. Tag post partum mit einer Dosis von je 200 mg Fe der oben genannten Präparate durch intramuskuläre Injektion in den hinteren Schinken behandelt. Die Untersuchungen ergaben:

D* = Ferrum Hausmann i.m.; Eisen(III)-Hydroxid-Polysomaltose-Komplex

<i>Präparat</i>	<i>Stunden post inj.</i>	<i>Verfärbung</i>	<i>Lokale Reaktion</i>
A 10 814016	24	92	25
	48	83	0
HK 815216	24	83	25
	48	58	0
D 057207	24	27	0
	48	7	0

Bei der Schlachtung 7 Monate nach Injektion konnte makroskopisch bei keinem der Versuchstiere eine auf retiniertes Eisen deutende Verfärbung festgestellt werden. Darüber hinaus wurden bei der Schlachtung die regionären Lymphknoten sowie Proben der Leber zur histologischen Untersuchung entnommen.

Die Schinken wurden in ca. 1 cm dicke Scheiben zerlegt. Die makroskopische Untersuchung ergab für die einzelnen Scheiben weder eine nachweisbare Eisenablagerung in der Muskulatur, noch eine Verfärbung des «ferrophilen» interstitiellen Bindegewebes der Muskulatur.

Histologisch ergaben sich folgende Befunde:

Gewebe vom Injektionsort, Übersichtspräparat HE, 7 μ :

Am Injektionsort findet sich normales Muskelgewebe mit physiologischer Querstreifung. Zeichen eines vorhandenen scholligen Zerfalls (wachsartige Degeneration der Muskelzellen) sind nicht feststellbar.

Berliner-Blau-Reaktion, 7 μ :

Mässige Imbibierung der interstitiellen Bindegewebsfasern durch Berliner-Blau-positives Material (diffus verteiltes Eisen).

Lymphknoten, HE, Berliner-Blau-Reaktion, 7 μ :

Eisenablagerungen im Bereich der regionären Lymphknoten nahe des Injektionsortes nicht nachweisbar.

Leber, HE, van Gieson, Berliner-Blau-Reaktion, 7 μ :

Die histologische Untersuchung zahlreicher Leberproben ergab keinen Anhalt für toxisch-degenerative Veränderungen des Leberparenchyms als Folge von Eisenablagerungen. Das RHS zeigte keine Besonderheiten. Eisen wird nicht nachgewiesen.

Beurteilung:

Sämtliche für den Langzeitversuch beim Ferkel herangezogenen, intramuskulär injizierten Präparate hinterliessen keine Veränderungen, die zum

Zeitpunkt der Schlachtreife hätten nachgewiesen werden können. Eine Qualitätseinbusse (Eisenablagerungen im Schinken) wurde bei keinem der im Versuch stehenden Tiere nachgewiesen, obschon die untersuchten Präparate bezüglich Verfärbungsgrad und lokaler Verträglichkeit als für die Praxis ungenügend taxiert werden müssen.

6. Einfluss wiederholter intramuskulärer Injektionen beim gleichen Tier bzw. des Injektionstermins post partum.

Normalerweise wird das Eisen bei 2–4 Tage alten Saugferkeln als einmalige Dosis von 200 mg Eisen intramuskulär injiziert. Die Injektion zu einem späteren Zeitpunkt (> 4 Wochen) birgt die Gefahr bleibender Schinkenverfärbungen in sich [44]. Die von Züchtern in bester Absicht vorgenommenen Zweitinjektionen hatten nach unseren Erfahrungen fast immer Qualitäts-Einbussen im Sinne von Schinkenverfärbungen zur Folge. Aus therapeutischer Sicht sind später durchgeführte Zweitinjektionen nutzlos, da das Ferkel zu diesem Zeitpunkt nicht mehr auf die parenterale Substitution von Eisen angewiesen ist.

7. Routineüberprüfung von Eisen(III)-Hydroxid-Polyisomaltose-Komplexen¹ auf lokale Verfärbung und Verträglichkeit am 3–4 Tage alten Saugferkel

Prüfergebnis von 141 Fabrikations-Chargen:

1. *Lokale Reaktionen* in Form von entzündlichen Schwellungen usw. wurden bei keinem Präparat beobachtet.

2. *Verfärbung*

Verfärbungsindex nach:	0–10	11–20	21–30	31–40
24 h	0	68	73	0
48 h	68	73	0	0
72 h	141	0	0	0

Anzahl der Präparate mit definierten Verfärbungs-Indizes zu verschiedenen Zeiten post applicationem

Die oberste, noch tolerierbare Limite bezüglich Verfärbung wurde für unsere Präparate für den Zeitpunkt «24 Stunden nach intramuskulärer Injektion von 200 mg Eisen» bei einem Index von 30 fixiert. Entzündliche Schwellungen dürfen nicht auftreten, d.h., der Wert für lokale Reaktionen muss =0 sein.

Aus der oben dargestellten Tabelle ist die deutliche Linksverschiebung der

¹ Eisen-Dextran-Lösung, enthaltend 10 G/V % Fe
Hersteller: Laboratorien Hausmann AG/St. Gallen/Schweiz

Verfärbungsindizes zu entnehmen. Diese Verschiebungen geben uns einen Hinweis auf den zeitlichen Ablauf und die Schnelligkeit des Eisenabtransports von der Injektionsstelle. Ist z.B. nach 72 h nur eine geringe Abnahme der Verfärbung zu verzeichnen, so muss das Präparat entsprechend schlechter eingestuft werden. Der durchschnittliche Verfärbungsindex unseres Standardpräparates beträgt nach 24 Stunden 20, nach 48 Stunden 12, nach 72 Stunden < 5.

8. Abhängigkeit von der «Qualität» der Eisenkomplexe

In einer vergleichenden Studie wurde der Verfärbungsgrad an der Injektionsstelle nach intramuskulärer Applikation von 2 ml einer wässrigen Eisen-Dextrin¹ – bzw. Eisen-Dextran² -Lösung geprüft. Eisengehalt: 10 G/V % Fe entsprechend einer Dosis von 200 mg Eisen/2 ml.

Die Präparate wurden beim 3–4 Tage alten Saugferkel nach der oben beschriebenen Methode intramuskulär appliziert und die Verfärbung als relatives Mass zur Beurteilung der Qualität und der Präparate-Eigenschaften 24, 48 und 72 Stunden post applicationem überprüft. Die Beurteilung erfolgte nach 4 Verfärbungsklassen (I–IV):

Verfärbungsindex	< 30	= I
Verfärbungsindex	31–60	= II
Verfärbungsindex	61–80	= III
Verfärbungsindex	> 80	= IV

Entzündliche Reaktionen am Injektionsort wurden in keinem Falle beobachtet. Bei den hier untersuchten Substanzen befinden sich auch Probepräparate, welche den «von uns für uns» aufgestellten Qualitätsanforderungen (Verfärbungsindex < 30, lokale Reaktion=0) nicht entsprechen. Dies, um aufgrund eines möglichst grossen Querschnitts qualitativ unterschiedlicher, chemisch ähnlicher und verfahrensmässig verschieden hergestellter Präparate Rückschlüsse auf den Eisenabtransport von der Injektionsstelle und die Präparate-Eigenschaften allgemein ziehen zu können.

Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplex (Eisen-Dextrin)

Geprüft wurden 577 Präparate dieses Komplexes. Während innerhalb 24 Stunden post injectionem der grösste Anteil auf die Klassen III und IV entfällt (69%), hat sich der Anteil dieser Verfärbungsgrade 72 Stunden post injectionem auf 31% reduziert (Abb. 13a). Für die kontinuierliche Abnahme

¹ Eisen-Dextrin = Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplex der Laboratorien Hausmann AG

² Eisen-Dextran = Eisen(III)-Hydroxid-Polyisomaltose-Komplex der Laboratorien Hausmann AG

hoher Verfärbungsindizes in Richtung 31–60 (Klasse II) spricht auch die Abnahme nach 48 Stunden der Klasse III und IV auf 43%. Bezüglich des Abtransports von der Injektionsstelle ergibt sich folgendes Bild:

Während nach 24 Stunden das Schwergewicht auf der Klasse IV (61%) liegt (Abb. 13b), verschieben sich die Relationen bei den hier untersuchten Eisen-Dextrin-Präparaten in der Weise, dass nach 48 Stunden die Klasse II bei unveränderter Klasse I dominiert (Abb. 13b), wobei nach 72 Stunden nur noch eine geringgradige Zunahme in I und II beobachtet wird. Die restlichen 31%, die in den Gruppen III und IV verbleiben, repräsentieren Versuchspräparate, welche qualitativ nicht tolerierbar sind.

Ausgehend vom prozentualen Anteil der Klasse IV wird innerhalb der ersten 24 Stunden post injectionem ein leichter Anstieg in der Klasse III, ein stärkerer Anstieg in II, jedoch ein konstantes Verhalten in I beobachtet. Nach 72 Stunden haben sich die Klassen III und IV zugunsten der Klassen II und I reduziert. Hierbei ist der Anstieg in I grösser als in II. Siehe auch Abb. 14: Ein von dieser Produktgruppe abweichendes Verhalten hinsichtlich der Verfärbungs-Indizes zeigen die untersuchten

Eisen(III)-Hydroxid-Polyisomaltose-Komplexe (Eisen-Dextran)

Auch hier liegt das Schwergewicht 24 Stunden post injectionem bei 60% der 268 geprüften Präparate in der Klasse IV (Abb. 15a). Jedoch wird im

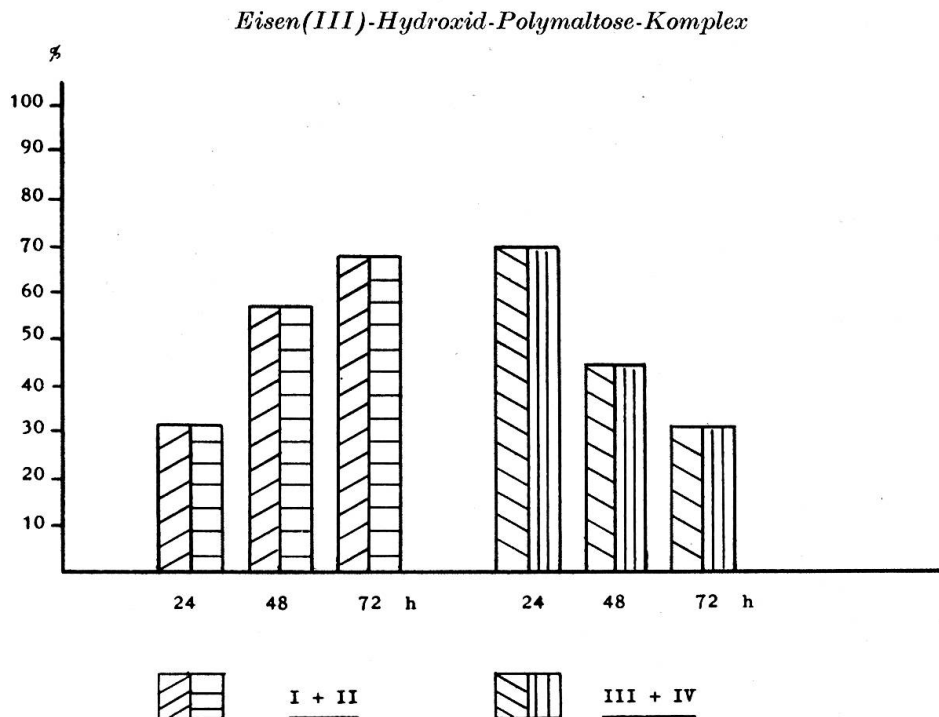


Abb. 13a Zusammengefasst: Prozentuales Verhalten der Verfärbungs-Grade
N = 577 (Anzahl Präparate)

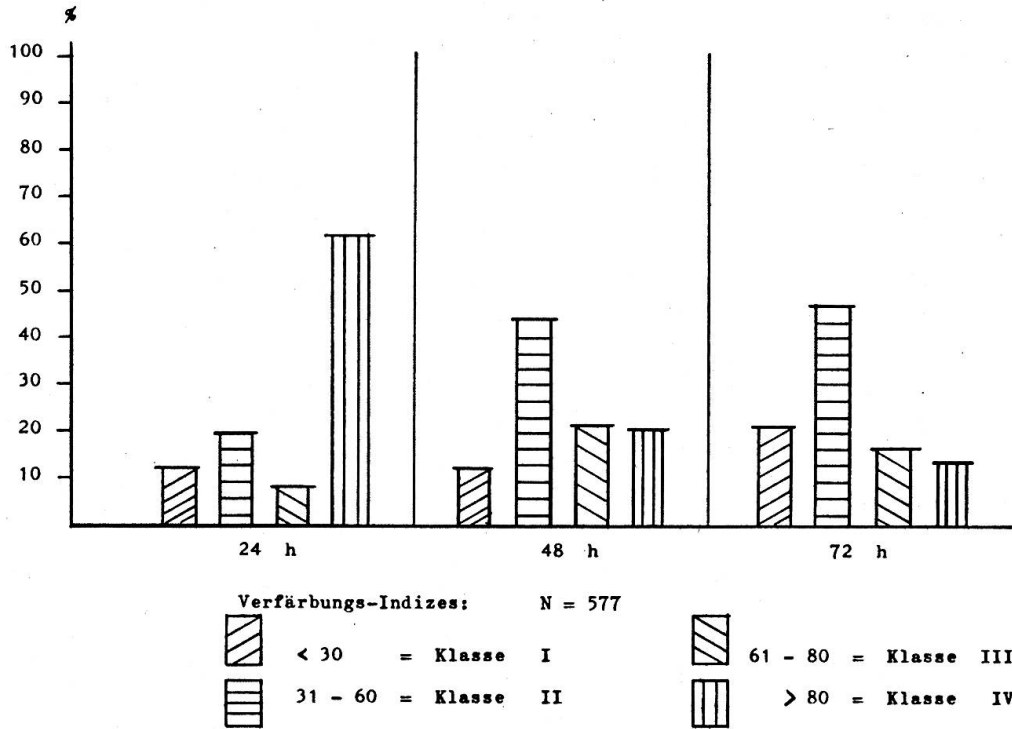
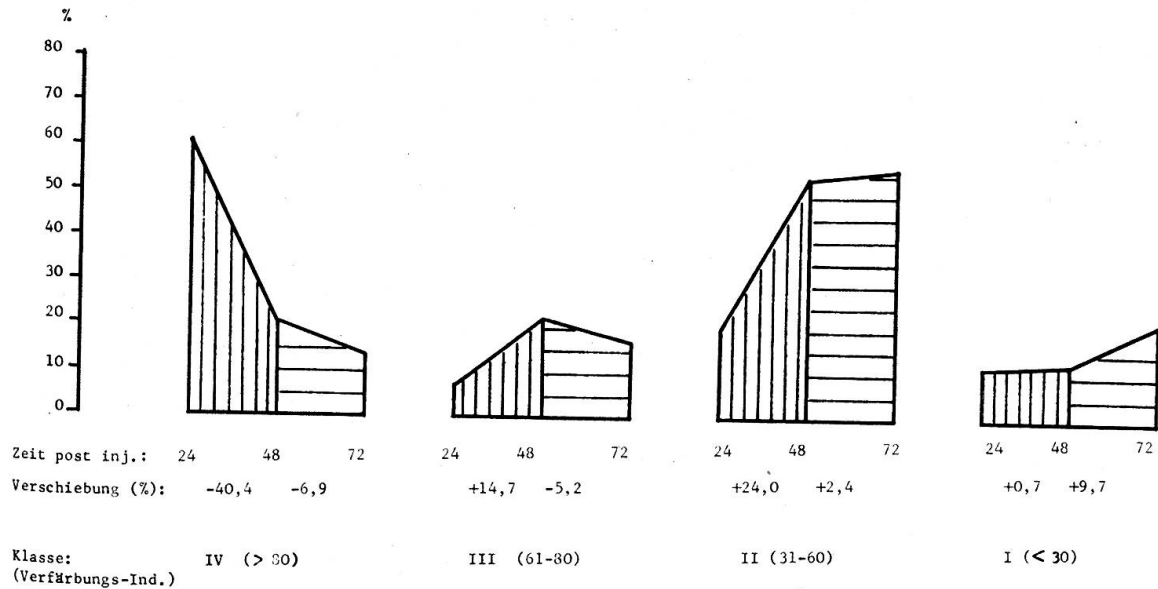
Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplex

Abb. 13b

Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplex

Verschiebung der prozentualen Anteile der Verfärbungsgruppen (Indizes) bezüglich der Zeit post inj.

Abb. 14

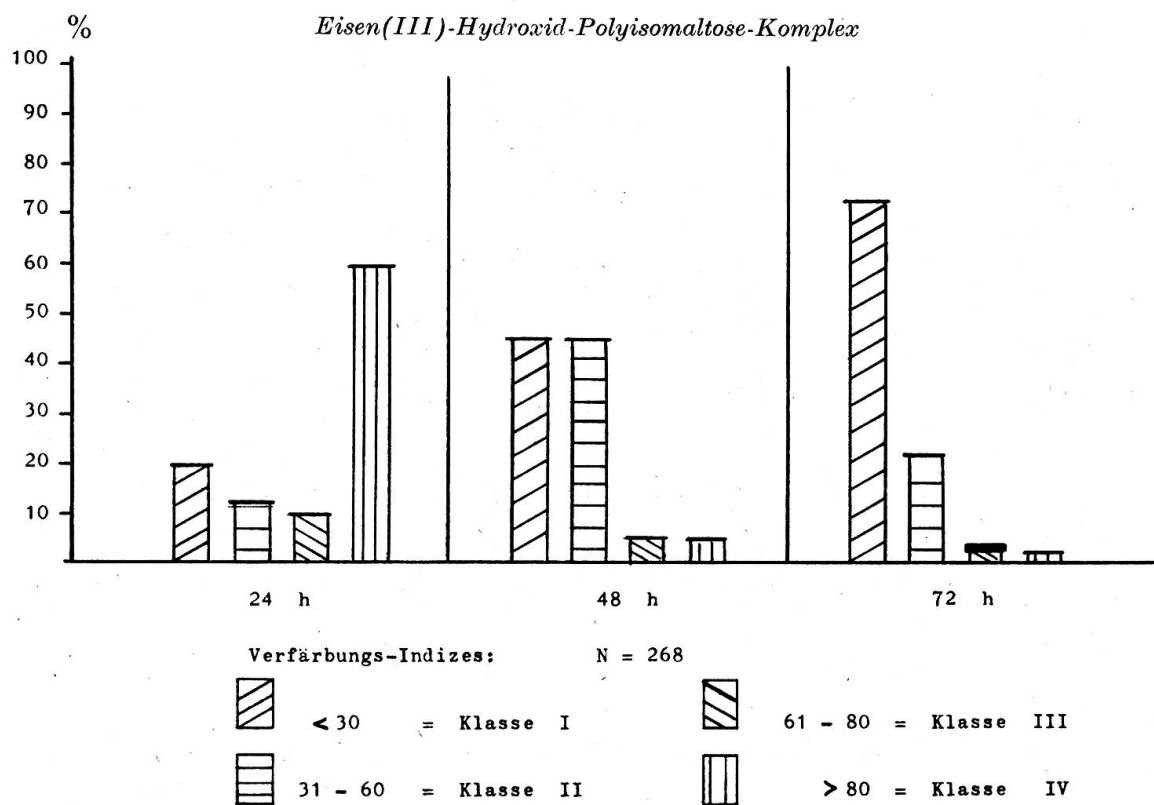


Abb. 15a

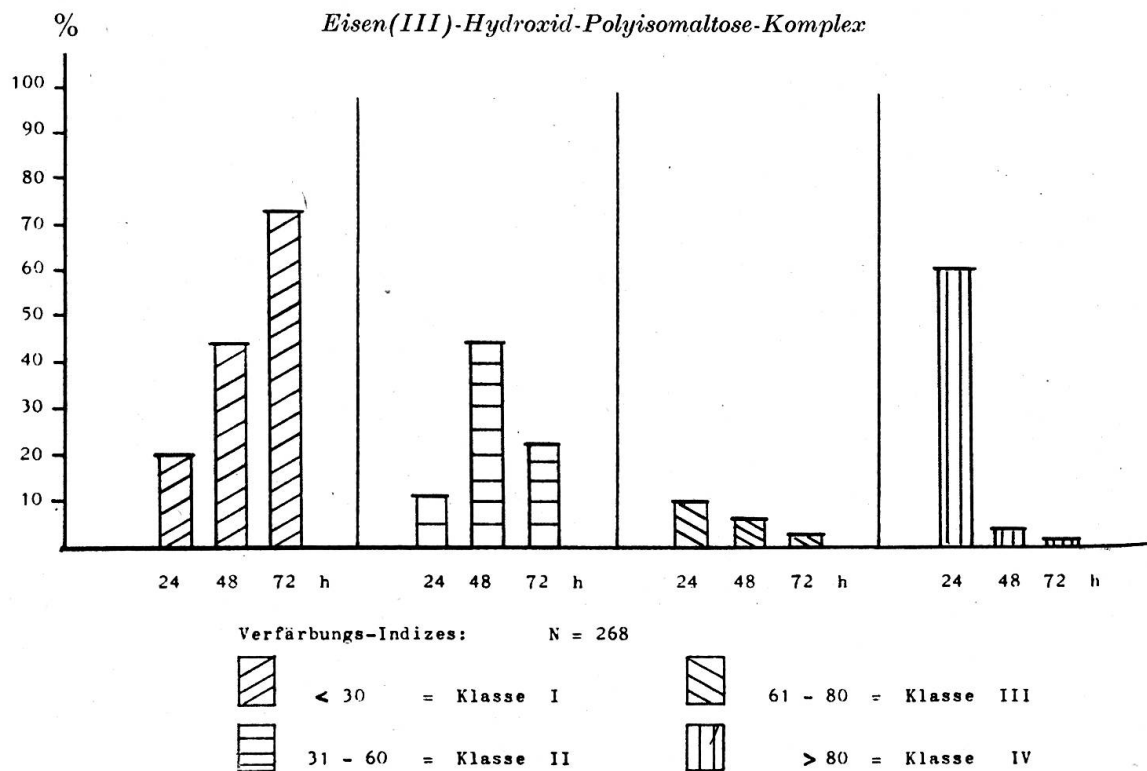


Abb. 15b

Gegensatz zu den Eisen-Dextrin-Komplexen schon innerhalb von 48 Stunden eine Verschiebung zugunsten der Klassen I und II auf insgesamt 91% beobachtet (Abb. 15c).

Nach 72 Stunden hat sich der Anteil der Klassen III und IV auf 5% reduziert, während I und II mit insgesamt 95% (Abb. 15c) (I=73%, II=22%) vertreten sind (Abb. 15b). Diese Befunde sprechen nicht nur für einen rascheren

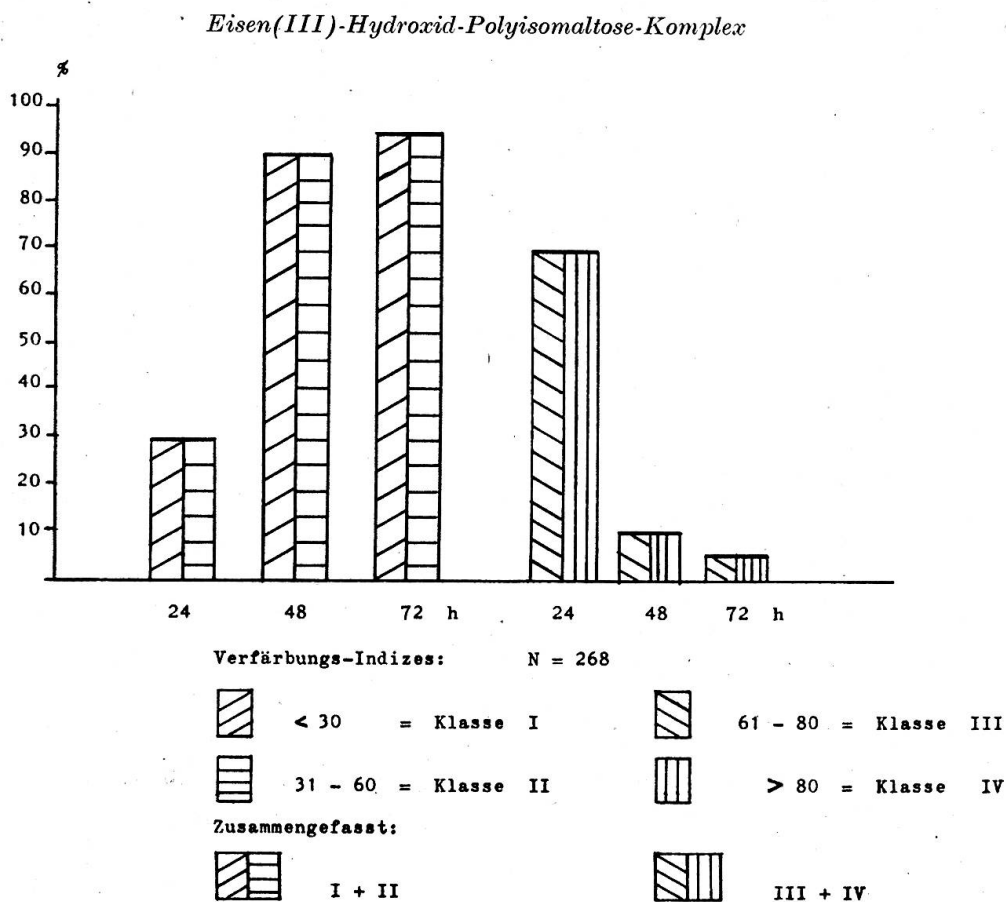
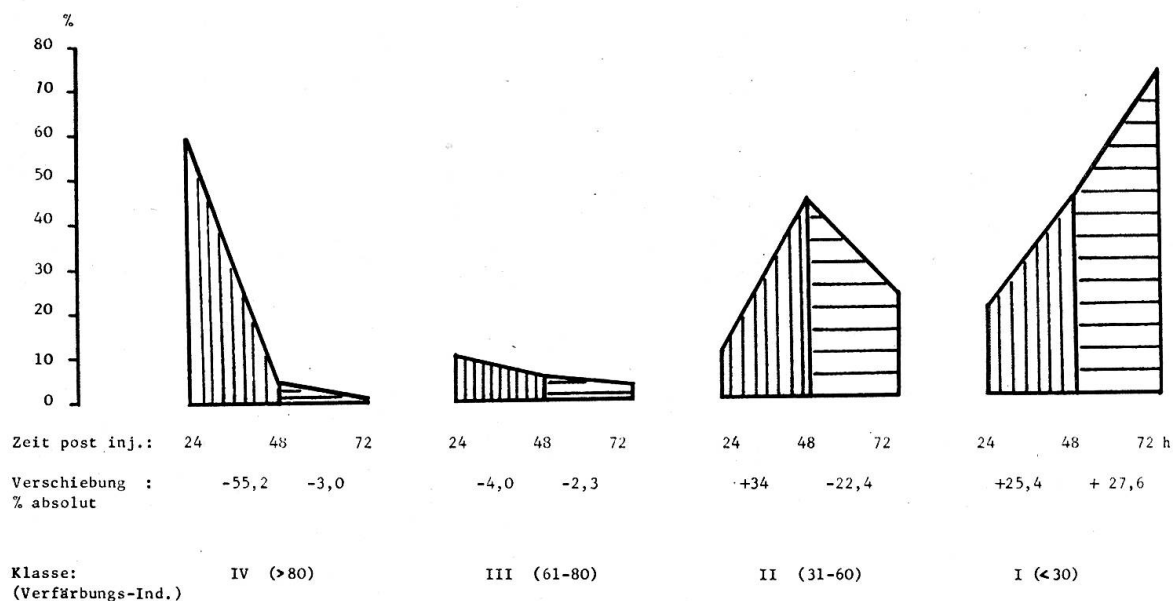


Abb. 15c

Abtransport der Eisen-Dextran-Komplexe aus dem Gewebe, sondern deuten auch darauf hin, dass selbst bei Präparaten mit einem 24-Stunden-Index von > 80 (Klasse IV) kurzfristig keine wesentlichen Verfärbungen mehr nachgewiesen werden. Die Abb. 16 zeigt, dass ausgehend von der Klasse IV innerhalb von 72 Stunden post injectionem bei mehr als 70% der Präparate eine Verfärbung nicht mehr nachgewiesen wird. Bezogen auf die Klasse III (61-80) wird zwischen der 24. und 72. Stunde ebenfalls eine kontinuierliche Abnahme, in der Klasse II (31-60) primär eine Steigerung, dann eine Abnahme und in der Klasse I (<30) innerhalb der gesamten Beobachtungszeit stetige prozentuale Zunahme beobachtet.

Eisen(III)-Hydroxid-Polysomaltose-Komplex

Verschiebung der prozentualen Anteile der Verfärbungsgruppen (Indizes) bezüglich der Zeit post inj.

Abb. 16

Die Interpretation dieser Befunde könnte so lauten, dass die zunächst in III und IV vorhandenen Präparate in den ersten 24 Stunden auf die Klassen II und I übergehen, wobei bezogen auf IV die Klasse III nicht nur übersprungen wird, sondern auch bis auf 1% abnimmt.

Vergleicht man den hier beschriebenen Präparatequerschnitt aus der «Pionierzeit» mit unseren seit Jahren erfolgreich eingesetzten Eisen-Dextrin- und Eisen-Dextran-Handelspräparaten, so ist zu sagen, dass 24 Stunden post injectionem eine Verfärbung an der Injektionsstelle > 30 nicht mehr beobachtet wird. Bis zur 72. Stunde post applicationem sollte möglichst keine Verfärbung oder höchstens eine angedeutete Verfärbung sichtbar sein, die nach unseren Erfahrungen vom ungeübten Beobachter nicht mehr wahrgenommen wird.

9. Abhängigkeit des Verfärbungsgrades von physikalisch-chemisch definierten Parametern der Eisen-Komplexe

Für diese Studie wurden verfahrensmässig verschieden hergestellte Eisen-Dextrin-Komplexe ebenfalls aufgrund ihrer Verfärbungsindizes in 4 Klassen

Verfärbungsindex	< 30	= Klasse I	(N= 40 Präparate)
	31-60	= Klasse II	(N= 117 Präparate)
	61-80	= Klasse III	(N= 19 Präparate)
	> 80	= Klasse IV	(N= 5 Präparate)

(I–IV) eingeteilt und untersucht, ob eine Abhängigkeit der Verfärbung an der Injektionsstelle (Werte 24 Stunden post injectionem) von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der applizierten Eisenpräparate besteht.

Zur Charakterisierung der Eisen-Dextrin-Komplexe wurden herangezogen:

Eisengehalt des Trockenpräparates in G/G %. Relative Viskosität (η) der 10 G/V % eisenhaltigen, wässrigen Injektionslösung.

η_{st} = nach Sterilisation (30 Min., strömender Dampf)

η_{TB} = nach Thermobelastung (3 Std., strömender Dampf) derselben Lösung

$\Delta \eta = (\eta_{st} - \eta_{TB})$ Veränderung der relativen Viskosität nach verschiedenen Thermobelastungen

pH-Werte beim isoelektrischen Punkt

Verhältnis Eisen:komplexgebundener Ligand

Der Eisengehalt wurde titrimetrisch mittels Äthylendiamintetraessigsäure bestimmt. Für die Viskositätsmessungen wurde die Fliesszeit der zu bestimmten Lösungen (10 G/V % Fe) dividiert durch die Fliesszeit von destilliertem Wasser bei $25 \pm 0,02^\circ \text{C}$ in einem Ostwald-Viskosimeter¹ ermittelt.

Der isoelektrische Punkt wurde mit der Elektrofokussierungsapparatur LKB 8101² bestimmt.

Der komplexgebundene Ligand wurde elektrophoretisch³ vom freien Ligand getrennt und mit Anthron-Schwefelsäure-Reagens photometrisch⁴ bestimmt.

Die folgende Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse ($\bar{X} \pm s$) für die Eisengehalte pulverförmiger Eisen-Dextrin-Komplexe sowie die Viskositätsdaten der 10 G/V % eisenhaltigen, wässrigen Injektionslösungen tabellarisch dargestellt. In der Abb. 17 sind diese Werte graphisch dargestellt.

Der pH-Wert beim isoelektrischen Punkt der verschiedenen Präparate liegt innerhalb enger Grenzen (6,5–7,5) und zeigt keine Korrelation zum Verfärbungsindex.

10. Prüfung auf therapeutische Wirksamkeit

In einer vergleichenden Untersuchung über die therapeutische Wirksamkeit wurde abgeklärt, in welchem Ausmasse das Serumeisen nach intramuskulärer Injektion

¹ Viskositätsbestimmung gemäss B.P. 1973, Appendix IV H, A 61

² Hersteller: LKB-Produkter AB, Stockholm-Bromma 1, Sweden

³ Acrylamid-Säulen-Elektrophorese von SHANDON, Shandon Labortechnik GmbH., Frankfurt a.M.

⁴ Analytical Chemistry 25, 1656 (1953) Unicam SP 1800 Spectrophotometer

Tabelle 6

N	Klasse und Verfärbungs- Indizes	$\bar{x} \pm s$	Fe G/G %	η_{st}	η_{TB}
40	I <30	$\bar{x}$	31,14	8,71	6,99
		$\pm s$	2,48	7,53	4,40
117	II 31-60	$\bar{x}$	30,36	9,85	8,88
		$\pm s$	2,45	6,59	5,77
19	III 61-80	$\bar{x}$	28,22	17,23	12,37
		$\pm s$	1,95	10,92	6,99
5	IV >80	$\bar{x}$	26,88	15,17	11,44
		$\pm s$	1,06	3,01	2,13

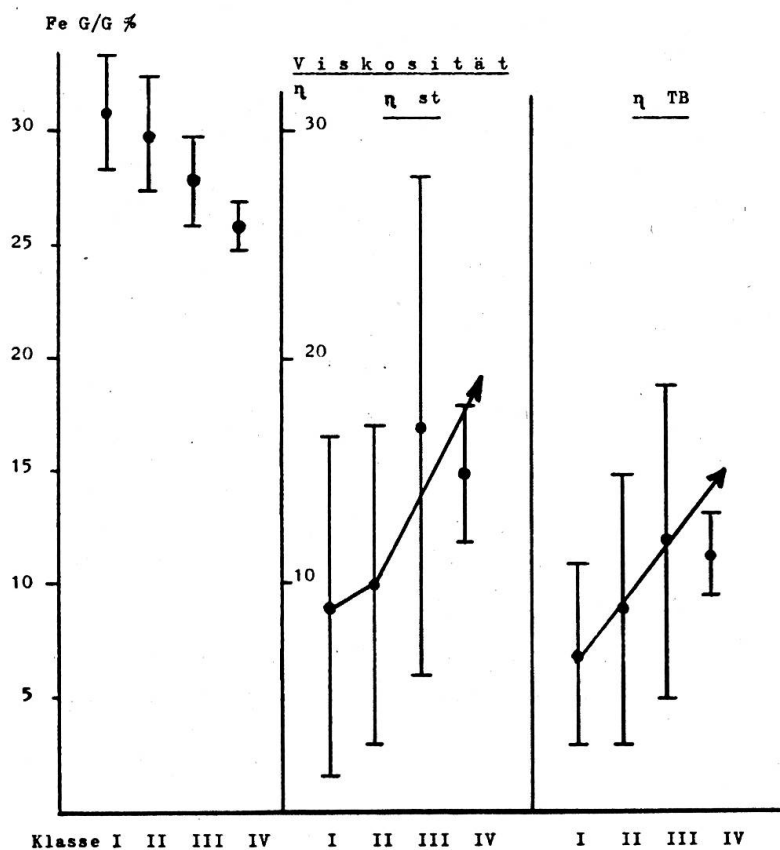


Abb. 17 Die Gruppen I und II sind von der Gruppe IV bezüglich Eisengehalt signifikant verschieden, wobei in Richtung auf die höheren Verfärbungsindizes eine Abnahme des Fe-Gehaltes verzeichnet wird, während die Viskositäten (η_{st} , η_{TB} sowie $\Delta \eta$) zunehmen.

Eine Relation zwischen gebundenem Ligand und Verfärbungsindex wird mit einer Zufallswahrscheinlichkeit von $< 5\%$ nachgewiesen, wobei schlechte Präparate einen niedrigen, gute Präparate einen hohen Gehalt an komplexgebundenem Ligand aufweisen.

lärer Applikation von Eisen-Dextran, Eisen-Dextrin und einem Handelspräparat (Eisen-Dextran) beim Saugferkel ansteigt und wie sich das Verhalten der Totalen Eisenbindungskapazität (TIBC) als Reaktion auf die Eisenapplikation ändert. Darüber hinaus wurde die therapeutische Wirksamkeit aufgrund der Parameter: Hämoglobin, Erythrozyten/mm³ und Hämatokrit beurteilt.

Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an 3–4 Tage alten anämischen Saugferkeln durchgeführt. Für Eisen-Dextran-Hausmann, Eisen-Dextrin-Hausmann sowie für das Handelspräparat (Eisen-Dextran) wurden jeweils 25 Tiere nach Splitten aus verschiedenen Würfen in den Versuch einbezogen. Verabreicht wurden 2 ml des jeweiligen Präparates entsprechend 200 mg Fe. Die Applikation erfolgte gemäss der beschriebenen Injektionstechnik. Die Blutentnahmen zur Bestimmung der angegebenen Parameter (Serumeisen, TIBC, Hb, Erythrozyten und Ht) erfolgte durch Punktion der Vena brachiocephalica. 1,5 bis 2 ml Blut müssen pro Tier entnommen werden, wenn alle Parameter bestimmt werden sollen. Wird hingegen nur Serumeisen und TIBC bestimmt, genügt die Entnahme von 1 ml Vollblut. Die Blutproben wurden direkt in den Versuchstierställen zentrifugiert, nachdem die entsprechenden Vollblutproben für die Bestimmung der Erythrozytenzahl sowie des Hb separiert worden waren. Der Ht wurde ebenfalls am Ort des Versuches mittels Mikrohämatokrit-Methode bestimmt. Das sofort abpipettierte Serum diente der Bestimmung des Serumeisens sowie der Totalen Eisenbindungskapazität.

Die einzelnen Parameter wurden nach folgenden Methoden bestimmt:

1. Serumeisen:	Photometrische Bestimmung mit Bathophenanthrolin (Millilitermethode mittels Roche Diagnostica-Test).
2. Totale Eisenbindungskapazität:	Photometrische Bestimmung mit Bathophenanthrolin nach Sättigung mit Eisen(III)-chlorid
3. Hämoglobin:	Methämoglobin-Cyanid-Methode
4. Hämatokrit:	Mikrohämatokrit-Methode
5. Erythrozytenzahl/mm ³ :	Coulter Counter Modell F (Doppelbestimmung)

Die Blutentnahme zur Bestimmung des Serumeisens erfolgte vor Versuchsbeginn sowie zur 2., 4., 6., 8., 24. und 48. Stunde nach der intramuskulären Injektion des jeweiligen Eisenpräparates. Die Blutentnahme zur Bestimmung

der übrigen Parameter erfolgte vor dem Versuch sowie 24 und 48 Stunden post injectionem. Des weiteren wurden alle Parameter 1, 2 und 3 Wochen nach der Injektion bestimmt.

Ergebnisse:

Die Abb. 18 zeigt, dass nach intramuskulärer Verabreichung von 200 mg Fe in Form von Eisen-Dextrin und 2 Eisen-Dextran-Präparaten, ausgehend von pathologischen Werten um $45 \mu\text{g}/100 \text{ ml Serum}$, 3 Stunden nach Applikation, bei allen Präparaten ein deutlicher Anstieg des Serumeisens erreicht wird. Dabei liegen die Maxima für die drei Eisen-Komplexe weit über $10\,000 \mu\text{g} \%$ Fe. Die Werte 2 bis 8 Stunden nach der Injektion wurden in Abb. 18 nicht eingezeichnet. Sie setzen sich aus dem Transferrineisen und zum weitaus grössten Teil aus Eisen der injizierten Eisen-Dextran- bzw. -Dextrin-Komplexe zusammen. Dies wurde dadurch belegt, indem das Eisen im Serum vor und nach Zusatz von Eisen-Dextran oder -Dextrin bestimmt wurde. Die Differenz entsprach zu ca. 80% den zugesetzten Eisenmengen. Die restlichen ca. 20% Eisen aus den zugesetzten Eisenpräparaten wurden wahrscheinlich unter den vorgeschriebenen Reaktionsbedingungen nicht ionisiert und folglich nicht erfasst. Wie zu ersehen ist, werden signifikante Unterschiede im Verhalten der Serum-Eisenspiegel nach i.m.-Applikation der hier untersuchten Eisenpräparate während der ganzen Versuchsdauer nicht festgestellt ($p < 0,05$). Nach Ablauf von einer Woche haben die Verlaufskurven aller drei Präparate Werte erreicht, die um $200 \mu\text{g Fe pro } 100 \text{ ml Serum}$ liegen. Auch nach 2 bzw. 3 Wochen werden übereinstimmende Werte um $100 \mu\text{g Fe}/100 \text{ ml Serum}$ gefunden. Unter Berücksichtigung des Befundes, dass die Serumeisen-Verlaufskurve nach intramuskulärer Applikation verschiedener Präparate für die effektiv aus dem Gewebe ins Blut gelangte Eisenmenge nicht repräsentativ sein muss, soll die Totale Eisenbindungs-Kapazität nach intramuskulärer Applikation der hier untersuchten Präparate berücksichtigt werden.

Ausgehend von TIBC-Werten um $525 \pm 82 \mu\text{g Fe}/100 \text{ ml Serum}$ wurde für alle hier untersuchten Präparate 1 Woche post applicationem ein Mittelwert von $515 \pm 86 \mu\text{g Fe}/100 \text{ ml Serum}$ gefunden. Die entsprechenden Werte nach 2 und 3 Wochen betrugen 485 ± 79 und $561 \pm 115 \mu\text{g} \%$. 2 Wochen post applicationem wurden also physiologische Werte erreicht. In der 3. Woche war für alle drei Präparate ein leichter TIBC-Anstieg zu verzeichnen. Diese Beobachtung deckt sich mit früheren Untersuchungsergebnissen (38, 39), aus denen hervorgeht, dass die 200 mg intramuskulär applizierten Eisens den Bedarf 3–4 Wochen decken und dass dadurch die ohne Behandlung drohende Ferkelanämie mit bis zu 30%igem Tierverlust verhindert wird, dass aber durch diese Therapie eine endgültige Deckung des Eisenbedarfs nicht erreicht wird.

Dies ist auch im Grunde nicht erforderlich, da zwischen der 3. und 4. Woche die Ferkel von der Muttermilch unabhängig werden und eisenhaltiges

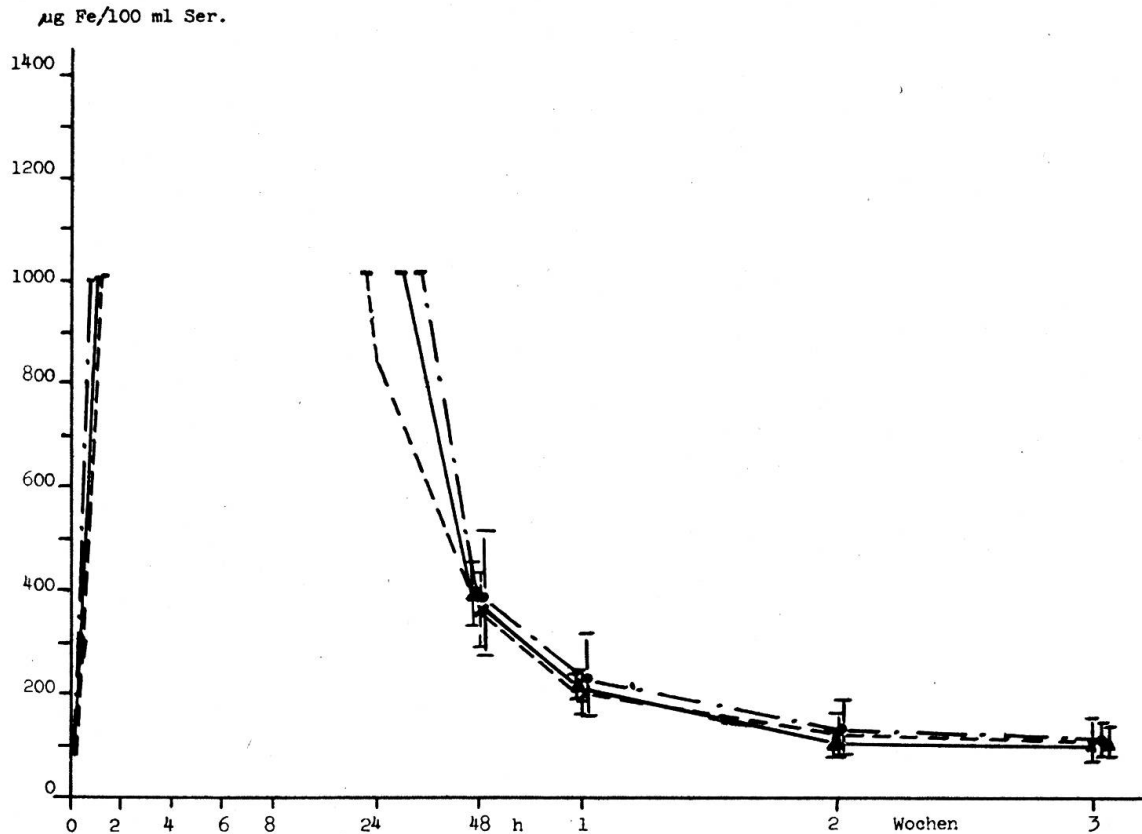


Abb. 18 Serumeisen

Normalfutter bekommen. Hinsichtlich des therapeutischen Effektes zeigen die in dieser Untersuchung geprüften Präparate keine signifikanten Unterschiede.

Die Abb. 19 demonstriert die Verlaufskurven des Hämoglobins, registriert bis zum Zeitpunkt 3 Wochen nach Injektion. Der Abfall des Hb zwischen der 0. und 24. Stunde ist einmal dadurch zu erklären, dass sich die Ferkel in der akuten Phase der Anämie-Entwicklung befinden, zum anderen aber durch die Tatsache, dass durch die Blutentnahmen ein zusätzlicher Blutverlust provoziert wird. Unabhängig davon wird jedoch spätestens nach einer Woche ein Hb-Anstieg erreicht, der sich bis zur 3. Woche mit Werten zwischen 11 und 13% Hb in Richtung des physiologischen Niveaus entwickelt. Auch hier werden hinsichtlich der untersuchten Präparate keine Unterschiede im therapeutischen Effekt festgestellt.

Konkordant zum Hb verhalten sich die Verlaufskurven für Erythrozyten (Abb. 20) und der Hämatokrit (Abb. 21). Während der Erythrozytenanstieg weniger eindrucksvoll erscheint (es erfolgt ein Anstieg von ca. 4 auf annähernd 6 Mio. Erythrozyten pro mm^3), zeigt der Ht ausgehend von der 24. Stunde post injectionem innerhalb der 1. Woche einen imposanten Anstieg, der sich bis zur 2. Woche fortsetzt. Die Erythrozytenzahl nimmt deshalb nicht so stark zu, da die primär vorhandenen Mikrozyten nun durch Normozyten ersetzt werden,

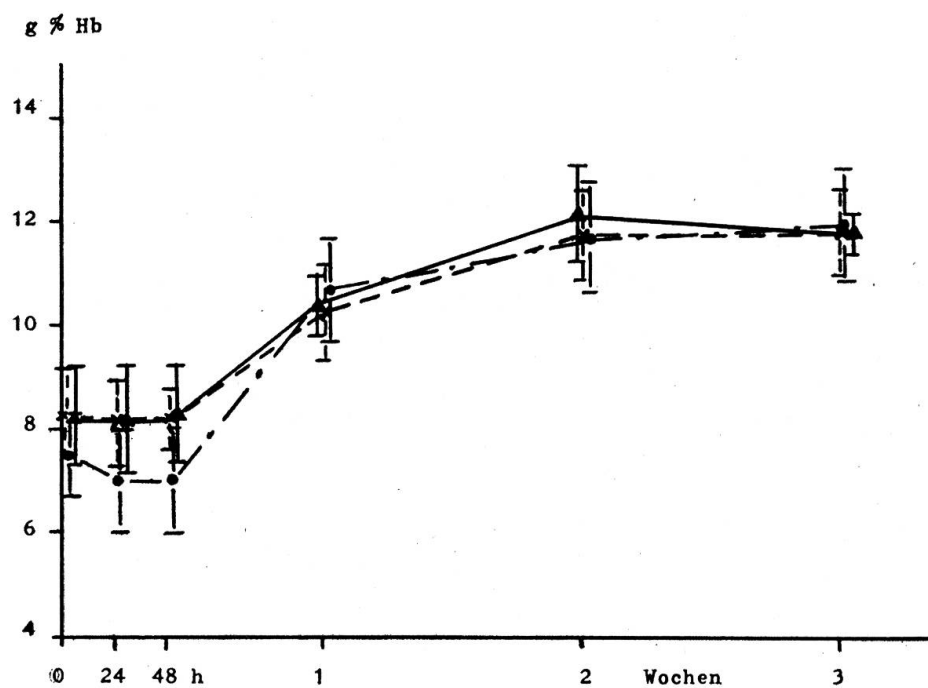


Abb. 19 Hämoglobin

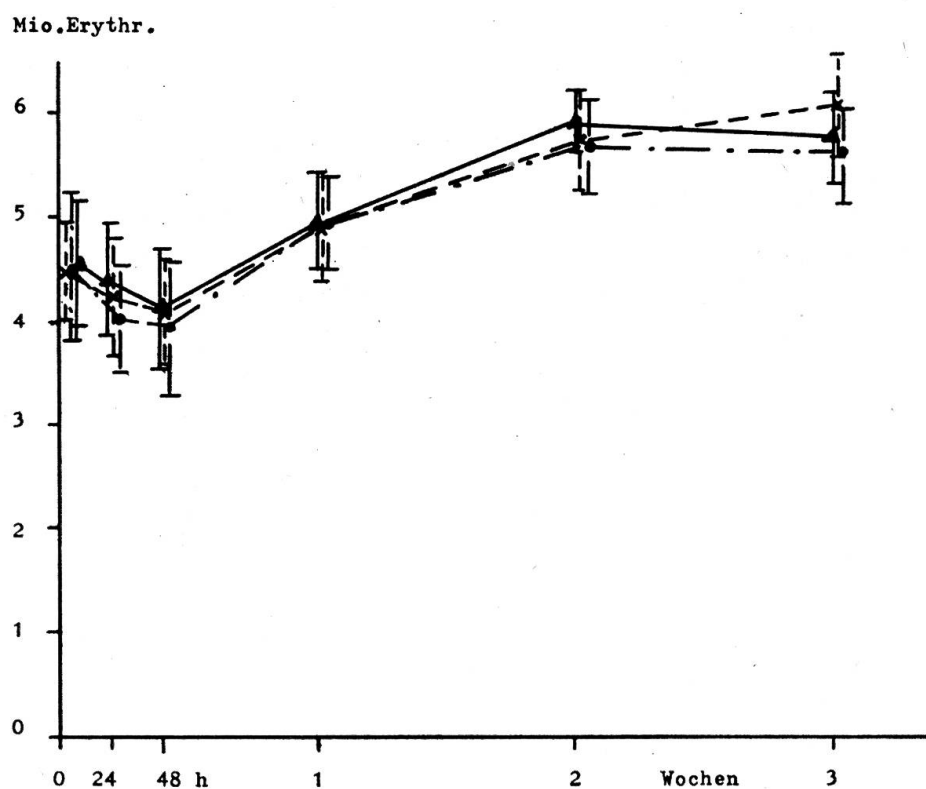


Abb. 20 Erythrozyten

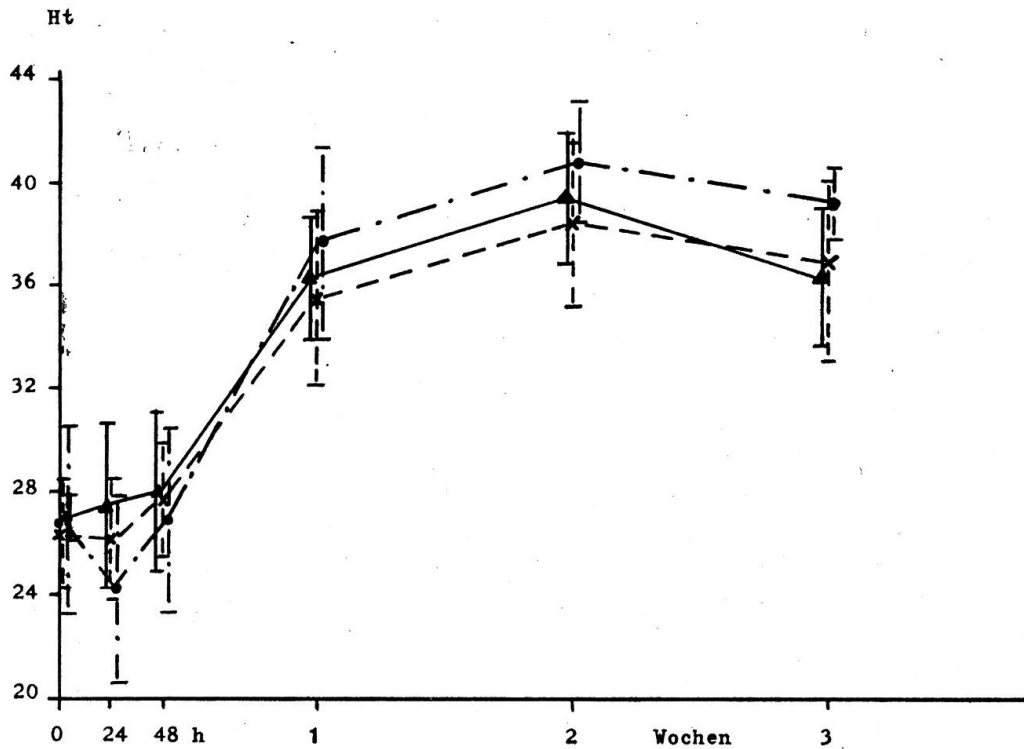


Abb. 21 Hämatokrit

Abb. 18-21

*Ferkelversuch**Präparate:*

× — — — × Eisen-Dextrin¹
 ● — — — ● Eisen-Dextran²
 ▲ — — — ▲ Eisen-Dextran (Handelspräparat)

Applikation: i.m.*Dosis:* 200 mg Fe (2 ml)/Tier*Ferkel:* 3-4 Tage alt*Anzahl:* N=25

was nicht zuerst zur Vermehrung der Zellzahl, sondern zur Verbesserung der Zellqualität führt. Der Ht als Index für das Gesamt-Erythrozytenvolumen zeigt einen steilen Anstieg, da die Mikrozyten durch Normozyten ersetzt werden, wobei zusätzlich ein Anstieg der absoluten Zellzahl verzeichnet wird.

Diskussion der Ergebnisse betreffend therapeutische Wirkung

Die nach intramuskulärer Applikation von 200 mg Fe in Form von Eisen-Dextrin-Hausmann, Eisen-Dextran-Hausmann und eines Vergleichspräparates

¹ Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplex der Laboratorien Hausmann AG

² Eisen(III)-Hydroxid-Polyisomaltose-Komplex der Laboratorien Hausmann AG

(Eisen-Dextran) erhobenen Befunde deuten darauf hin, dass hinsichtlich des Abtransports dieser Präparate aus dem Muskelgewebe sowie bezüglich des therapeutischen Effekts aller drei Präparate keine wesentlichen Differenzen bestehen. Hierbei erscheint besonders der Vergleich des Eisen(III)-Hydroxid-Polymaltose-Komplexes (Eisen-Dextrin) mit den Eisen-Dextran-Präparaten (Eisen(III)-Hydroxid-Polyisomaltose) interessant. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse deuten darauf hin, dass speziell zwischen diesen beiden, vom chemischen Standpunkt aus verschiedenen Präparate-Typen, bezogen auf ihre therapeutische Wirkung, kein Unterschied verzeichnet wird.

Zusammenfassung

Aufgrund vergleichender Untersuchungen an verschiedenen Tierspecies wird vorgeschlagen, den Eisenresorptionstest nach Brit. Pharmacopoe bzw. U.S.P. in der Weise zu modifizieren, dass statt des Kaninchens das sideropenische, 3–4 Tage alte Saugferkel als Versuchstier eingesetzt wird. Da die Schweinezucht heute weltweit als Hauptabnehmer für i.m. Eisenpräparate gilt, deckt sich das Prüfmodell überdies mit *dem* Tier, bei welchem Eisen vornehmlich therapeutisch eingesetzt wird.

Histologische und enzymhistochemische Untersuchungen des Muskel- und Bindegewebes nach intramuskulären Eiseninjektionen zeigten, dass der Grad möglicher Gewebsschädigungen von der Qualität der applizierten Eisenpräparate abhängt. Von qualitativ guten Präparaten herrührende morphologisch-strukturelle Veränderungen zeigen nach 2–3 Monaten post injectionem eine vollständige Restitutio ad integrum. 4–6 Monate nach i.m. Applikation qualitativ guter Präparate konnte auch histologisch Eisen im injizierten Gewebe nicht mehr nachgewiesen werden.

In weiteren Kapiteln wurden langjährige Erfahrungen über die Eisensubstitution in der heute praktizierten Schweinezucht dargestellt. Es wurden die Split-Litter-Anordnung, die heute empfohlene Injektionstechnik sowie die Beurteilungsmöglichkeit der Verfärbung und lokalen Verträglichkeit nach intramuskulärer Injektion von Eisenpräparaten am Ferkel beschrieben und die Abhängigkeit der unerwünschten Nebenwirkungen von «genetischen» Faktoren an 2286 Nachkommen von 16 Ebern untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die unterschiedlichen Verfärbungsgrade, 24, 48 und 72 Stunden post injectionem bestimmt, primär von der Präparatequalität und nicht von erbbiologischen bzw. genetischen Faktoren des Tiermaterials abhängig sind.

Im Langzeitversuch am Ferkel konnte gezeigt werden, dass die i.m. injizierten Präparate zum Zeitpunkt der Schlachtreife im Schinken keinerlei Veränderungen bzw. Eisenablagerungen verursachten.

Zweitinjektionen am 4 oder mehr Wochen alten Ferkel hingegen sind therapeutisch nutzlos und hatten fast immer Qualitätseinbussen im Sinne von Schinkenverfärbungen zur Folge.

Ein weiteres Kapitel handelt über Routineprüfungen von intramuskulären Eisenpräparaten hinsichtlich lokaler Verfärbung und Verträglichkeit am 3–4 Tage alten Ferkel sowie über deren Abhängigkeit von physikalisch-chemischen Parametern der applizierten Eisenkomplexe.

Zum Schluss wird in einer vergleichenden Studie mit drei Eisen(III)-Hydroxid-Kohlenhydratkomplexen die therapeutische Wirksamkeit an Ferkeln überprüft.

Résumé

Des essais comparés chez différentes espèces animales permettent de proposer une modification du test de la résorption du fer chez le lapin selon la Pharmacopée britan-

nique, respectivement des Etats-Unis, en remplaçant le lapin par un porcelet sidéropénique âgé de 3 à 4 jours comme animal de testage. Les éleveurs de porcs sont les principaux utilisateurs de préparations de fer par voie intra-musculaire, par conséquent notre modèle correspond à l'espèce animale pour laquelle le fer est appliqué à titre thérapeutique essentiellement.

Des examens histologiques, enzymatiques et histochimiques des tissus musculaire et conjonctif après une injection intra-musculaire de fer ont démontré que le degré d'une lésion tissulaire possible dépend de la qualité de la préparation de fer appliquée. Deux à trois mois après une injection on constate une restitution intégrale lorsque les modifications morphologiques et structurelles ont été provoquées par des préparations de bonne qualité. Quatre à six mois après l'application intra-musculaire de préparations de bonne qualité il n'a pas été possible de déceler histologiquement du fer dans le tissu inoculé.

D'autres chapitres sont consacrés aux expériences acquises de longue date sur la substitution du fer dans la pratique des élevages porcins actuels. Le procédé Split-Litter et la technique actuelle et recommandée de l'injection sont décrits ainsi que la possibilité de l'appréciation de la coloration et de la sensibilité locale après une injection intra-musculaire de fer chez le porcelet. La subordination à des facteurs génétiques d'effets non désirés a été étudiée chez 2286 descendants de 16 verrats. Il a ainsi pu être prouvé que les différents degrés de coloration constatés 24 heures, 48 heures et 72 heures après une injection dépendent en premier lieu de la qualité de la préparation et non pas de facteurs génétiques du matériel porcin.

Par ailleurs, il a été démontré au cours d'essais de longue durée chez le porcelet que les préparations injectées par voie intra-musculaire n'ont provoqué aucune modification ou dépôt de fer dans les jambons chez le porc de boucherie.

Du point de vue thérapeutique, une seconde injection chez les porcelets âgés de quatre semaines et plus est inutile, car elle provoque presque toujours un dommage de la qualité dans le sens d'une modification de la coloration du jambon.

Un autre chapitre se rapporte aux examens de routine des préparations de fer utilisées par injection intra-musculaire relatifs à la coloration locale et à la sensibilité des porcelets de trois à quatre jours, ainsi qu'à l'interdépendance des paramètres physiques et chimiques des combinaisons de fer. Pour terminer, une analyse comparée permet de vérifier l'efficacité thérapeutique des complexes des hydroxydes hydrocarbonés de fer trivalent chez le porcelet.

Riassunto

Sono state condotte ricerche comparative su varie specie animali per la determinazione dell'assorbimento del ferro dopo somministrazione intramuscolare. Viene proposta una modificazione per il test di assorbimento del ferro, secondo la Farmacopea Britannica e rispettivamente Statunitense (U.S.P.), cioè la sostituzione dei conigli con suinetti sideropenici di 3-4 giorni. Gli allevamenti di suini rappresentano i principali consumatori di preparati intramuscolari di ferro e pertanto il nostro test corrisponde alla specie animale trattata terapeuticamente con preparati intramuscolari di ferro. Le indagini istologiche, enzimatiche ed istochimiche sui muscoli e sul connettivo dopo iniezioni i.m. di ferro hanno dimostrato che il grado del possibile danno tissulare dipende dalla qualità del preparato di ferro somministrato. Le alterazioni morfo-strutturali determinate da preparati di ferro di buona qualità scompaiono completamente nel giro di 2-3 mesi dall'applicazione. Con preparati di buona qualità il ferro non è più evidenziabile istologicamente nei tessuti inoculati dopo 4-6 mesi dal trattamento.

In successivi capitoli vengono discusse le esperienze da lungo tempo acquisite sulla sostituzione del ferro nei moderni allevamenti suini. Sono descritti il test Split-Litter e la tecnica attualmente consigliata d'iniezione, così come la possibilità di apprezzamento della colorazione e della tolleranza locale dopo la somministrazione i.m. di ferro nei suinetti. La subordinazione di effetti indesiderati a fattori genetici è stata studiata su

2286 suinetti discendenti da 16 verri. È stato inoltre provato che i diversi gradi di colorazione constatati 24, 48 e 72 ore dopo un'iniezione dipendono in primo luogo dalla qualità del preparato di ferro e non da fattori genetici degli animali test. Con prove di lunga durata è stato dimostrato che i preparati inoculati per via intramuscolare non provocano alcuna modificazione o depositi di ferro nel prosciutto. Terapeuticamente è inutile una seconda inoculazione nei suinetti di 4 o più settimane in quanto provoca quasi sempre un danno qualitativo nel senso di una modificazione del colore del prosciutto.

Nell'ultimo capitolo sono descritte le prove di routine relative alla colorazione e alla tolleranza locale dopo inoculazione i.m. di ferro nei suinetti di 3-4 giorni così come l'interdipendenza dai parametri fisicochimici dei composti del ferro. In conclusione, un'analisi comparata permette di stabilire l'efficacia terapeutica di complessi di idrossi-idrocarbonati di ferro trivalente nei suinetti.

Summary

For the determination of the iron absorption following intramuscular application, comparative investigations on various animal species have been performed. A modification of the iron absorption test according to the Brit. Pharmacopoeia resp. U.S.P. is proposed, using sideropenic 3 to 4 days old piglets as test animals instead of rabbits. Since nowadays the pig industry is worldwide the main consumer for intramuscular iron preparations, the test model corresponds in addition to the animal therapeutically treated with intramuscular iron preparations.

Histological and enzyme-histochemical investigations of the muscle and connective tissue following i.m. iron injections revealed that the grade of possible tissue damages depends on the quality of the administered iron preparation. The morphological-structural alterations from high quality iron preparations are completely restored 2 to 3 months after application. Iron was not detectable histologically in the injected tissues 4-6 months following i.m. application of high quality preparations.

In further chapters, longtime experiences upon iron-substitution in modern pig breeding are treated. Split-Litter test, the recommended injection technique as well as the assessment of the local staining and tolerance after i.m. iron administration into piglets are described. The dependence of the grade of staining and local tolerance from genetic factors has been investigated in 2286 piglets descending from 16 boars. It could be demonstrated that the different grades of staining determined 24, 48 and 72 hours after injection depend primarily on the quality of the iron preparation and not on the genetic factors of the test animals.

In long run tests with piglets it has been shown, that the injected preparations at slaughter time did not provoke any alterations, respectively iron deposits, in the ham. A second injection into 4 weeks or older piglets is therapeutically useless and called nearly always for quality-losses through ham stainings.

In the last chapter the routine-tests for staining and local tolerance following i.m. iron application into 3-4 days old piglets are described. The dependence on physico-chemical parameters in connection with the unwanted side effects of the applied iron complexes has been investigated.

Literatur

- [1] Bannerman R. M. et al.: *Blood*, 20, 533 (1962). - [2] Hoglund S., Reizenstein P.: *Blood*, 34, (4), 488 (1969). - [3] Doctor W. et al.: *Munch. med. Wschr.*, 110, 2860 (1968). - [4] Beresford C.R. et al.: *Brit. J. Pharmacol.*, 12, 107 (1956). - [5] *British Pharmacopoeia*, 1973, 254 u. A 126; "Test for iron absorption". - [6] *United States Pharmacopoeia*, XVIII, 346; "absorption from injection site". - [7] Dunkenberger J.: *Mitt. d. Dtsch. Landwirtschafts-Ges.*, 84, 1528 (1969). - [8] Neuendorf et al.: *J. Clin. Nutr.*, 2, 161 (1954). - [9] Letterer E.: *Dtsch. med. Wschr.*, 78, 759 (1953). - [10] Letterer E.: *Handbuch d. allg. Path.*, Bd VII/ lpg. 497, Springer

- Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1956). – [11] Letterer E.: Regensburg. Jbch. ärztl. Fortbildg., 7, 1 (1958). – [12] Letterer E.: Allg. Path., Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1959). – [13] Letterer E.: Arch. klin. exp. Derm., 213, 277 (1961). – [14] Letterer E.: Verh. dtsch. Ges. Inn. Med., München, 65, 9 (1959). – [15] Altschuler C. H. et al., In: Connective Tissue in Health and Disease. Ed.: ASBOE-HAMSEN, G., Munksgaard, Copenhagen, 178 (1954). – [16] Angevine D. M., In: Inflammation and Disease of Connective Tissue. Ed.: MILLS/MOYER/SAUNDERS-COMPANY, Philadelphia u. London (1961). – [17] Buechner F.: Allg. Path., Urban u. Schwarzenberg, München/Berlin, 4. Aufl. (1962). – [18] Delaunay A., Bazin S., In: International Review of Connective Tissue, Res. Academic Press, New York a. London (1964). – [19] Duran-Reynals F., In: [10]. – [20] Lindner J., In: Der Rheumatismus, Bd. 37, Dr. D. Steinkopff-Verlag, Darmstadt, 90, 1966. – [21] Schallrock G.: Grundl. d. Silikoseforsch., 1, 203 (1956). – [22] Sprunt D. H., In: [10]. – [23] Hauss H. W.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med., 69, 554 (1963). – [24] Hauss H. W.: Verh. Dtsch. Ges. Kreislauf., 30. Tg. 153 (1964). – [25] Hauss H. W.: Jahrbuch 1965 des Landesamtes für Forschung des Landes Nordrhein-Westf. – [26] Hauss H. W., In: Hochdruckforsch. II., Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart (1965). – [27] Hauss H. W. et al.: Der Rheumatismus Bd. 36, Dr. D. Steinkopff-Verlag, Darmstadt (1965). – [28] Buddecke E.: Umschau in Wissenschaft u. Technik, 21, 668 (1963). – [29] Buddecke E.: Der Rheumatismus, Bd. 37, Dr. D. Steinkopff-Verlag, Darmstadt (1966). – [30] Frimmer M., Buddecke E.: Ztschr. f. Naturforsch., 19b, 789 (1964). – [31] Hauss H. W. et al.: Ztschr. f. Rheumaforsch., 22, 175 (1963). – [32] Junge-Huelsing G., Wirth W.: Die Entzündung, Urban u. Schwarzenberg-Verlag, München, 186 (1966). – [33] Frimmer M.: Dtsch. med. Wschr., 91, 33 (1966). – [34] Lindner J., In: Die Entzündung, Urban u. Schwarzenberg-Verlag, München, 12 (1966). – [35] Mueller A.: Arzneim.-Forsch. (Drug-Res.), 24, 880 (1974). – [36] Menkin V.: Science, 115, 382 (1952). – [37] Menkin V.: Biochemical Mechanism in Inflammation, 2. Aufl., Springfield, Ill. (1956). – [38] Schmitz H., Mueller A.: Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 21, 509 (1971). – [39] Schmitz H., Mueller A.: Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 22, 1031 (1972). – [40] Hillebrecht J.: Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 4, 607 (1954). – [41] Mount L. E., Ingram D. L.: "The pig as a Laboratory Animal", pag. 102–104 (1971), Acad. Press London a. New York. – [42] Bossaller W.: Blaue Hefte für den Tierarzt, 42, 28 (1970), Farbwerke Hoechst AG. – [43] Johansen H. H.: Medlemsbl. danske Dyrlægeforening 52, 467 (1969). – [44] Petersen G.H.: ibid., 53, 211 (1970). – [45] Hansen E. S.: Nord. Vet.-Med., 22, 30 (1970). – [46] Miller E. R. et al.: J.A.V.M.A., 146, 331 (1965). – [47] Miller E. R. et al.: J.A.V.M.A., 150, 735 (1967). – [48] Bollwahn W., Ueberschaer S.: Dtsch. tierärztl. Wschr., 76, 473 u. 537 (1969). – [49] Patterson D. S. P. et al.: The Veterinary Record, 80, 333 (1967). – [50] Gutschow K., Schmid A.: Naunyn-Schmiedeberg's Archiv f. Pharmakologie, Suppl. 270, 50 (1971).

LITERATURHINWEISE

Die umfangmässige Beschränkung des Archivs, aber ebenso die Schwierigkeit, kompetente Referenten zu finden, veranlassen uns, die traditionelle Einrichtung der Zeitschriftenreferate aufzugeben. Dagegen werden wir in zwangloser Folge und soweit freier Raum zur Verfügung steht, «Hinweise auf laufende Fachliteratur», vorwiegend aus dem englischen Sprachbereich, bringen. Es wird sich dabei oft nur um die Nennung der Titel – in Übersetzung – handeln, gruppiert nach Pferd (Pf), Wiederkäuer (Wk), Schwein (Schw) und Kleintiere (Kt). Die Buchstaben B und Z beim Zeitschriftentitel bedeuten, dass sie in den Fakultätsbibliotheken Bern und/oder Zürich aufliegt, wo Interessenten sie konsultieren oder zu den üblichen Ansätzen Fotokopien beziehen können.

Hinweise auf laufende Fachliteratur

Aus dem Veterinary Record (brit.) Band 98, 1976 (B, Z)

Heft 1, S. 5–9: (Wk) J. D. Whitehead: Beobachtungen mit wiederholter Behandlung des Viehbestandes (Rinder und Schafe) gegen Fasciolose auf einer Farm in Südwest-England.