

Influence of Route of Injection on Efficacy and Side Effects of Immunisation

P. P. A. Marlies Leenaars and Coenraad F. M. Hendriksen

National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), NL-Bilthoven

Summary

Immunisation experiments are performed on a large scale in laboratory animals e.g. for the production of antibodies. Depending on the immunisation protocol, severe discomfort may be induced. In several countries, guidelines for the immunisation of laboratory animals were drafted to refine immunisation protocols. One of the aspects that effects the immune response as well as the side effects is the route of injection. Careful selection of the route of injection is therefore crucial to refine immunisation protocols. In several papers the influence of the route of injection on the immune response is studied but generally the induced discomfort in the animals is not evaluated. In several comparative experiments we studied the influence of the route of injection on efficacy and side effects. The most widely used routes of injection were compared in rabbits (subcutaneous and intramuscular injection) and in mice (subcutaneous and intraperitoneal injection). After the injection of several adjuvant- (Freund's adjuvant, TiterMax, RIBI, Specol, or Montanide ISA50) and antigen- (synthetic peptide, glycolipid, or particulate antigen) combinations by different routes, we studied antibody production to evaluate efficacy of the injection and clinical-, physiological- and behavioural parameters and pathology (macroscopy/microscopy) to compare the induced side effects.

In both rabbits and mice minimal differences in antibody titers were found between the two routes under study. However, differences in the severity of the induced side effects did occur. In rabbits, no significant differences were found in clinical, physiological and behavioural parameters but severe pathological changes were found depending on the route of injection. In mice, the intraperitoneal injection induces significant discomfort as compared to subcutaneous injection as shown by the severity of the pathological changes in the peritoneum and by the decreased activity of the animals. Important disadvantages of intramuscular and intraperitoneal injections are that these injections are difficult to perform properly and that the injection site is hard to monitor. Since minimal differences in antibody production were found between the two routes of injection, we concluded that the subcutaneous route of injection is preferred for the induction of polyclonal antibodies in rabbits and mice when an adjuvant is applied.

Zusammenfassung: Einfluß der Injektionsroute auf Effizienz und Nebenwirkungen beim Immunisieren

Immunisierungsversuche werden in großem Maßstab an Laborieren vorgenommen, um Antikörper zu produzieren. Abhängig vom Immunisierungsschema können schwere Beeinträchtigungen des Wohlbefindens der Tiere eintreten. In einzelnen Ländern wurden Richtlinien aufgestellt, um die Immunisierungsschemata

einem Refinement zu unterziehen. Ein Faktor, der sowohl die Immunantwort wie auch die Nebenwirkungen beeinflusst, ist die Injektionsroute. Eine sorgfältige Auswahl der Injektionsroute ist deshalb entscheidend beim Refinement der Immunisierung. In verschiedensten Veröffentlichungen werden die Einflüsse der Injektionsroute beschrieben, doch auf die Belastung der Tiere wird dabei nicht eingegangen.

In mehreren vergleichenden Studien haben wir den Einfluß der Injektionsroute auf den Immunisierungserfolg und die Nebenwirkungen untersucht. Die verbreitetsten Routen wurden beim Kaninchen (subkutan und intramuskulär) und bei Mäusen (subkutan und intraperitoneal) miteinander verglichen. Nach der Injektion verschiedener Adjuvantien (Freunds Adjuvans, TiterMax, RIBI, Specol oder Montanide ISA50) und Antigene (synthetische Peptide, Glykolipid oder korpuskuläre Antigene) in Kombination mit verschiedenen Injektionsrouten, untersuchten wir die Antikörperproduktion zur Überprüfung der Effizienz der Immunisierung. Mit klinischen, physiologischen und Verhaltensparametern sowie makro- und mikroskopischen pathologischen Befunden wurden die Nebenwirkungen verglichen. Sowohl bei Kaninchen als auch bei Mäusen wurden zwischen den beiden jeweils untersuchten Injektionsrouten nur minimale Unterschiede gefunden. Es traten jedoch Unterschiede im Schweregrad der Nebenwirkungen auf. Bei den Kaninchen wurden mit klinischen, physiologischen und Verhaltensparametern keine signifikanten Unterschiede gefunden, dagegen schwere pathologische Veränderungen, abhängig von der Injektionsroute. Bei den Mäusen verursachte die intraperitoneale im Vergleich zur subkutanen Injektion signifikant höhere Belastungen. Dies wurde durch den Grad der pathologischen Veränderungen im Peritoneum und die verminderte Aktivität der Tiere belegt. Daß die intramuskulären und intraperitonealen Injektionen nur schwer einwandfrei durchgeführt und die Injektionsstellen kaum kontrolliert werden können, sind große Nachteile. Da zwischen beiden Injektionsrouten nur minimale Unterschiede festgestellt wurden, sollte bei der Verwendung von Adjuvantien zur Erzeugung polyklonaler Antikörper sowohl bei Kaninchen wie auch bei Mäusen die subkutane Injektion bevorzugt werden

Keywords: immunisation procedures, injection route, mice, rabbits

Correspondence address

Dr. P. P. A. Marlies Leenaars
National Institute of Public Health and the Environment (RIVM)
P. O. Box 1
NL-3720 BA Bilthoven