

G. Schulte und G. A. Müller

**Pharmakokinetik von niedermolekularem Heparin nach nadelfreier und
konventioneller subkutaner Injektion**

Abteilung für Nephrologie und Rheumatologie

Universitätsklinikum Göttingen

Zentrum Innere Medizin

Robert Koch Straße 40

D-37075 Göttingen

Kurzüberschrift: Nadelfreie / konventionelle subkutane Heparin-Injektion

Index-Wörter: needlefree, low molecular weight (LMW) Heparin, INJEX, Pharmakokinetik

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. med. Gerhard Anton Müller

Universitätsklinikum Göttingen /Zentrum Innere Medizin

Abteilung für Nephrologie und Rheumatologie

Robert Koch Straße 40

D-37075 Göttingen

Zusammenfassung

Einführung: Der Einsatz von nadellosen Injektoren zur subkutanen Applikation von Heparin wird seit einiger Zeit diskutiert. Neben der Eindämmung injektionsbedingter Ängste sollen diese im Gegensatz zu konventionellen Nadelsystemen eine einfachere und sicherere Verabreichung gewährleisten. Die Pharmakokinetik von niedermolekularem Heparin nach nadelloser Injektion ist bisher unzureichend untersucht.

Methode: In dieser Studie wurde die Resorption von niedermolekularem (LMW) Heparin 2500 IE (Fragmin[®]; Pharmacia) nach subkutaner Applikation mit dem nadelfreien Injektionssystem INJEX[™] im Vergleich zur Technik mit der Nadel-Einmalspritze bei 12 Probanden geprüft. Dazu erhielten die Probanden in der ersten Woche das LMW-Dalteparin-Natrium mittels konventioneller Einmalspritze, in der zweiten Woche wurde INJEX[™] verwendet. Nach s.c. Injektion in den Oberarm/bauch wurde über insgesamt 8 Stunden die gerinnungshemmende Wirkung von (LMW) Heparin nach beiden Injektionsformen in Bezug auf die Faktor-Xa-Aktivität ex vivo bestimmt.

Ergebnisse: Bei 11 von 12 Probanden zeigte der Verlauf der Faktor-Xa-Aktivität einen fast zeitgleichen Anstieg und Abfall im Vergleich beider Applikationssysteme, die Einzelwerte lagen jedoch unter Verwendung des INJEX[™]-Systems zu allen Messzeitpunkten im Mittel höher. Bei einem Probanden führte die nadellose Applikation in den Oberarm zu keinem Anstieg der Faktor-Xa-Aktivität.

Schlussfolgerung: Mit dem nadelfreien Injektionssystem INJEX™ lässt sich bei gleichzeitiger Schmerzreduktion eine zur herkömmlichen Nadelapplikation vergleichbare Resorption von LMW-Heparin erzielen. Die Selbstinjektion in den Oberarm ist jedoch nicht zu empfehlen, da es unter Umständen zu einer Unterversorgung mit LMW-Heparin kommen könnte. Hämatome traten sowohl bei Verwendung der Einmal-Nadelspritze als auch bei Verwendung des INJEX™-Systems auf. Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass mit dem INJEX™-System eine sichere Thromboseprophylaxe durchgeführt werden könnte. Die Initiierung einer Multicenter-Studie zur Überprüfung des INJEX™-Systemes hinsichtlich Praktikabilität und Kosteneinsparung bei der Thromboseprophylaxe ist empfehlenswert.

Einleitung

Die subkutane Verabreichung von Heparin hat sich sowohl in der operativen als auch in der konservativen Medizin zur Prophylaxe thromboembolischer Ereignisse durchgesetzt (Gallus et al.; Kakkar et al.; Schöndorf; Walow et al.). Die täglich mehrfach durchzuführenden Verabreichungen sind jedoch mit einem erheblichen zeitlichen und technischen Aufwand verbunden (Black et al.; Lancet).

Darüber hinaus geben bei ambulanten Patienten die selbst vorzunehmenden Injektionen nicht selten Anlass zu psychischen Widerständen und Ängsten, die eine regelmäßige Applikation und damit eine sichere Thromboseprophylaxe in Frage stellen.

Nach neuen, einfachen und sicheren Verabreichungsformen wird daher gesucht.

Daher sollte in dieser Studie die Resorption von niedermolekularem (LMW) Heparin nach subkutaner Applikation mit dem nadelfreien Injektionssystem INJEX™ im Vergleich zur Technik mit der Nadel-Einmalspritze geprüft werden. Dazu wurde 12 Probanden niedermolekulares (LMW) Heparin (Fragmin®) verabreicht.

Hierbei wurden die Unterschiede in der Pharmakokinetik von (LMW) Heparin durch Aufnahme der anti-Xa-Aktivität vor und nach der Verabreichung – entweder mit dem INJEX™-System oder mit einer Nadelspritze – bestimmt. Parallel wurden die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und die Prothrombinzeit (PT) gemessen.

Material und Methoden

Studienpopulation

An der vorliegenden klinischen Prüfung nahmen zwölf gesunde Probanden (Alter > 18 Jahre; Überprüfung der Normalblutwerte) nach vorheriger Aufklärung über den Ablauf und die Zielsetzung der Studie teil. Alle Probanden erklärten ihr schriftliches Einverständnis.

Studienprotokoll und Durchführung

Die Untersuchung wurde als unizentrische, randomisierte Studie mit cross-over Design durchgeführt. Alle Probanden waren an den Studientagen hospitalisiert.

Sie erhielten in der ersten Woche 0,1 ml (LMW) Heparin 2500 I.E. Dalteparin-Natrium (Fragmin® Multidose 4 ml) subkutan je einmal mit INJEX™ oder einer Nadel-Einmalspritze nach Randomisation.

Somit bekamen sechs Probanden zunächst eine nadelfreie Applikation und nach einer Woche eine Applikation per Nadel. Die anderen 6 Probanden erhielten zunächst das Medikament per Nadel und in der zweiten Woche per INJEX™.

	Proband 1-6 (Arm A)	Proband 7-12 (Arm B)
1. Woche, Tag 1	0,2ml Heparin mit Nadel	0,2ml Heparin nadelfrei
2. Woche, Tag 1	0,2ml Heparin nadelfrei	0,2ml Heparin mit Nadel

Im Rahmen dieser Studie musste auf jede weitere Gabe von Arzneimitteln verzichtet werden. Den Probanden wurde eine Katheter-Kanüle in die Armvene gelegt, so dass eine kontinuierliche Blutentnahme durchgeführt werden konnte. Und zwar wurden vor sowie 1, 2, 3, 4, 6 und 8 Stunden nach der Applikation des niedermolekularen Heparins Blutproben entnommen und dessen Effekt ex vivo auf die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Prothrombinzeit (PT), Thrombinzeit und Faktor-Xa-Aktivität gemessen.

Das in dieser Studie eingesetzte (LMW) Heparin (FRAGMIN® Pharmacia) ist in Deutschland zur Thromboseprophylaxe zugelassen. Die verwendeten Injektionshilfen, einschließlich des nadelfreien INJEX™-Systems, sind CE-zertifiziert.

Zur Überprüfung der Verträglichkeit wurde bei allen Applikationen sowohl das Auftreten von Hämatomen als auch das subjektive Schmerzempfinden durch Fragen an die Probanden erfasst.

Laborbestimmungen

Die aPTT, die Prothrombinzeit und die Thrombinzeit wurden mit Reagenzien der Behringwerke, Marburg, bestimmt (Worth et al.). Die quantitative Bestimmung von Heparin im Plasma wurde mit Hilfe der Heptest®-Bestimmungsmethode (Haemachem, St.Louis, USA) durchgeführt. Dabei konnte die Menge der Faktor Xa-Aktivität, die während einer vorgegeben Zeit neutralisiert wurde, direkt proportional zur Heparin-

rinkonzentration im Reaktionsgemisch gemessen werden. Die Resultate wurden direkt von der zuvor mit NHP erstellten Standard-Eichkurve abgelesen und in USP-Einheiten/ml Plasma angegeben.

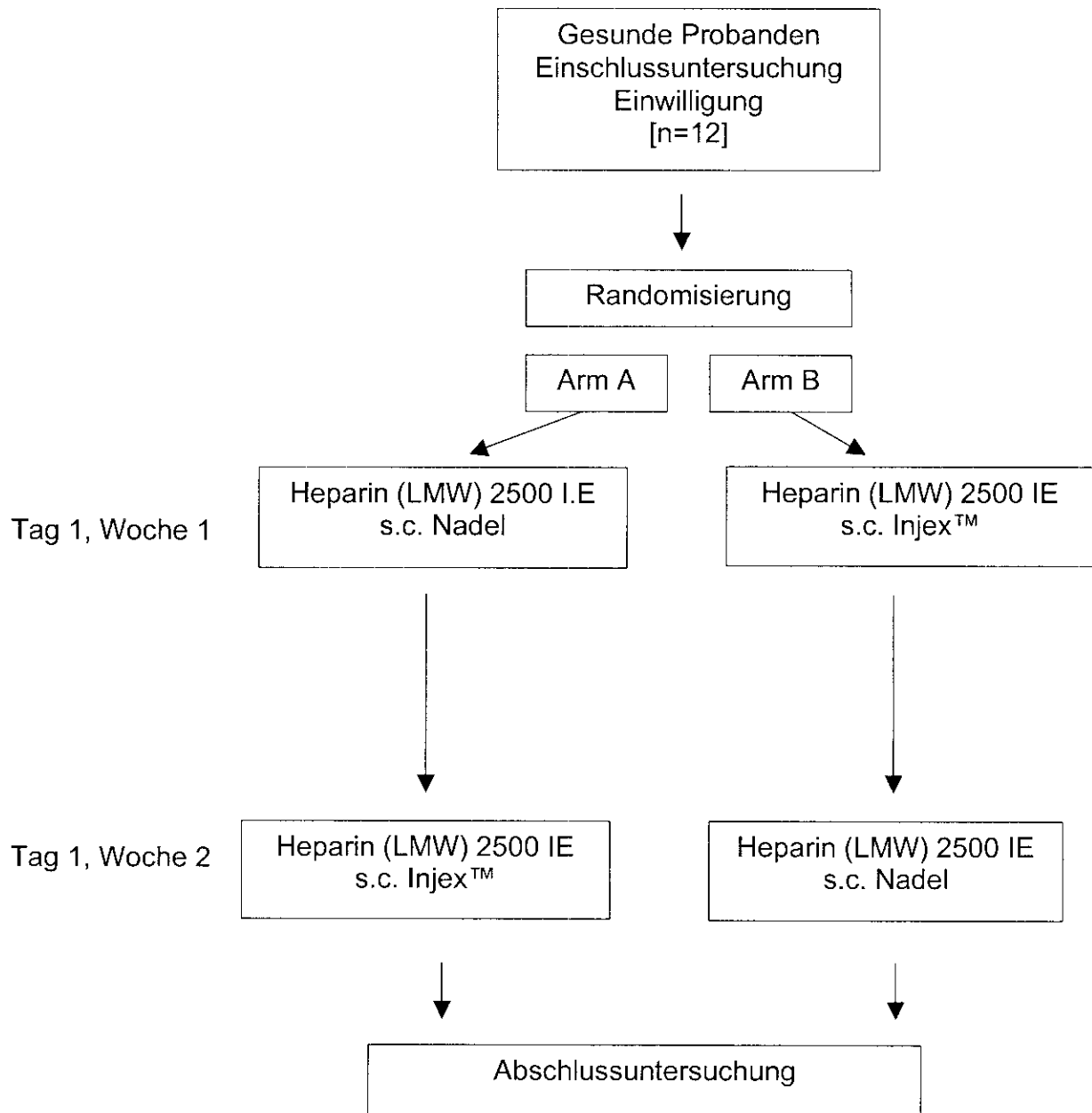
Alle gerinnungsdiagnostischen Untersuchungen wurden im Zentrallabor der Georg-August-Universität Göttingen, Abt. Klinische Chemie (Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Oellerich durchgeführt.

Statistik

Zur statistischen Auswertung wurden die erhaltenen pharmakokinetischen Daten über den zeitlichen Verlauf verglichen. Hierfür wurden zu jedem Messzeitpunkt die deskriptiven Statistiken angegeben und mit dem p-Wert des verbundenen t-Tests die Übereinstimmung der beiden Verfahren beschrieben. Je kleiner der p-Wert, desto geringer die Übereinstimmung. Für den Vergleich der beiden Injektionsverfahren im zeitlichen Verlauf wurde die Varianzanalyse mit Messwiederholungen eingesetzt (Cole et al.; Winer et al.).

Die Berechnungen wurden von Dr. H. Herrmann, Medizinische Hochschule Hannover, Abt. Biometrie, 30625 Hannover ausgeführt

Aufbau der Studie



Ergebnisse

Bevor die Probanden in die Studie aufgenommen und der Randomisierung zugeführt wurden, erfolgte eine Untersuchung ihrer Blutwerte. In Tabelle 1 sind die Mittelwerte der beiden Probandengruppen sowohl in der ersten als auch in der zweiten Behandlungswoche aufgeführt.

Analysierter Blutbestandteil	Gemessene Werte	Mittelwerte mit Nadel		Mittelwerte ohne Nadel	
		A1-A6	B1-B6	A1-A6	B1-B6
Hb (g/dl)	13,5-17,5	15,17	14,72	15,13	14,85
Hk (%)	39,0-51,0	44,50	43,75	44,53	44,42
Ery (Mio/ul)	4,4-5,9	4,91	5,07	4,92	5,16
MCV (fl)	80,0-95,0	90,67	86,33	90,67	86,00
MCH (pg)	26-32	30,95	29,00	30,83	28,72
Thromb. (Tsd/ul)	150-350	252,17	230,50	252,50	240,83
Leuko.(Tsd./ul)	4-11	7,38	5,87	7,38	6,38
Na (mmol/l)	136-145	140,17	140,67	140,83	142,00
K (mmol/l)	3,5-4,8	3,93	3,80	3,85	3,97
Ca (mg/dl)	8,8-10,6	9,80	9,80	9,68	9,82
Kreatinin (mg/dl)	0,6-1,1	0,88	0,88	0,87	0,88
Billirubin (mg/dl)	<1,2	0,70	0,52	0,77	0,50
AST (GOT) (U/l)	<18	10,67	12,50	11,67	13,17
ALT (GPT) U/l)	<22	9,17	23,33	10,33	19,67
AP (U/l)	60-180	106,50	113,00	107,67	115,17
Gamma-GT U/l)	<29	12,33	21,50	12,83	19,67
LDH (U/l)	90-200	155,17	152,83	159,50	170,20

Tab. 1: Blutwerte nach Applikation von niedermolekularen Heparin mit und ohne Nadel (12 von 12 Probanden)

Zwischen den Probandengruppen A und B bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der untersuchten Parameter.

Nach der Gabe von niedermolekularem Heparin - entweder nadelfrei oder konventionell mit Nadel verabreicht – veränderten sich die Gerinnungsparameter Quick-Wert, aPTT und Thrombinzeit nicht signifikant. In Tabelle 2 sind die Mittelwerte der jeweils über 8 Stunden erhobenen Gerinnungsparameter für beide Randomisierungsgruppen aufgelistet.

Tab. 2: Gerinnungsparameter nach Applikation von niedermolekularem Heparin mit und ohne Nadel (12 von 12 Probanden)

Gerinnungs-Parameter	Gemessene Werte	Mittelwerte mit Nadel		Mittelwerte ohne Nadel	
		A1-A6	B1-B6	A1-A6	B1-B6
Quick	99-130	114,75	116,50	115,75	107,25
aPTT (sec.)	30,0-42,0	31,93	35,73	33,38	34,33
Thrombinzeit (sec.)	15,0-22,0	18,88	19,53	19,20	19,43

Der Verlauf der anti-Xa-Aktivität war bei beiden Injektionsarten nahezu parallel. Bei 11 von 12 Probanden zeigte die Faktor-Xa-Aktivität einen fast zeitgleichen Anstieg und Abfall im Vergleich beider Applikationssysteme, die Einzelwerte lagen jedoch bei Verwendung des INJEX™-Systems zu allen Messzeitpunkten im Mittel höher (Abb. 1 und Tabelle 3).

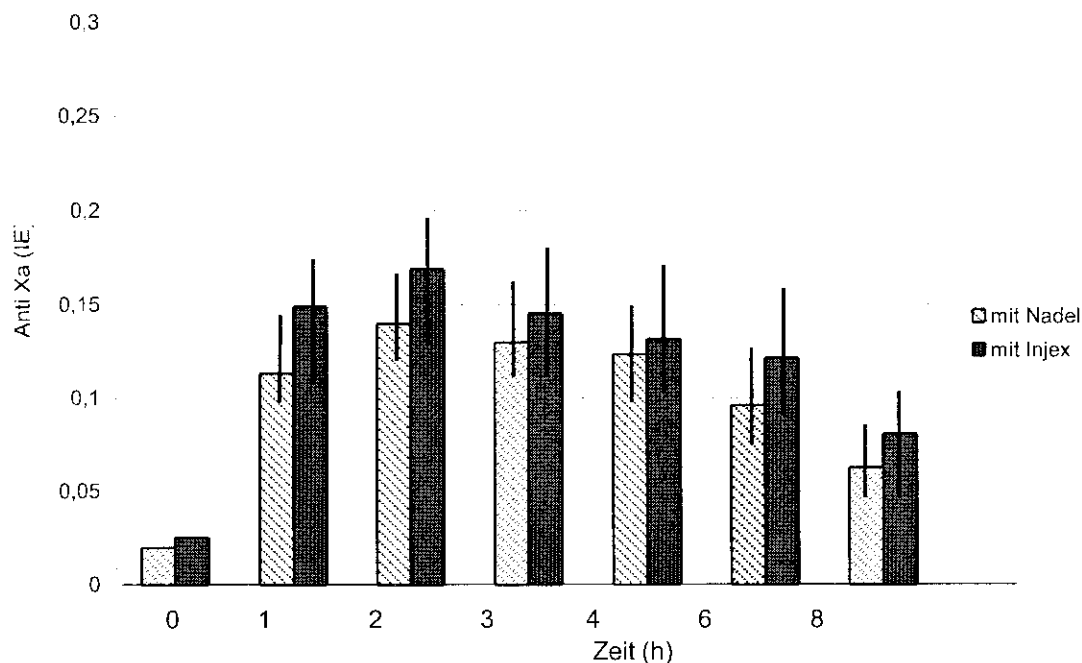


Abb. 1: Anti-Xa-Aktivität von niedermolekularem Heparin (Fragmin®) nach nadelfreier oder konventioneller Applikation (11 von 12 Probanden)

Um zu überprüfen, ob ein signifikanter Unterschied zu den jeweiligen Messzeitpunkten zwischen beiden Injektionsformen vorlag, wurden die erhaltenen Daten miteinander verglichen und mit dem p-Wert des verbundenen t-Tests überprüft. Je kleiner der p-Wert, desto geringer die Übereinstimmung (Tabelle 3). Es zeigte sich, dass zwischen INJEX™ und Nadel zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der gemessenen anti-Xa-Aktivität bestand ($p > 0,05$).

Bei 11 Probanden fielen zu allen Messzeitpunkten die anti-Xa-Werte bei INJEX™-Anwendung im Mittel geringfügig höher aus als nach Nadelinjektion (jeder der p-Werte ist größer als 0,05).

Zeitpunkt		Mittelwert	N	Standard-Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Sign. (2-seitig) p =
0 h	mit Nadel	0,0200	11	0,00633	0,00191	0,052
	ohne Nadel	0,0254	11	0,00522	0,00158	
1 h	mit Nadel	0,1136	11	0,04081	0,01230	0,132
	ohne Nadel	0,1491	11	0,07286	0,02197	
2 h	mit Nadel	0,1400	11	0,04074	0,01228	0,200
	ohne Nadel	0,1691	11	0,07661	0,02310	
3 h	mit Nadel	0,1300	11	0,04940	0,01489	0,277
	ohne Nadel	0,1455	11	0,07541	0,02274	
4 h	mit Nadel	0,1236	11	0,05390	0,01625	0,462
	ohne Nadel	0,1318	11	0,07481	0,02256	
6 h	mit Nadel	0,0964	11	0,05482	0,01653	0,052
	ohne Nadel	0,1218	11	0,07181	0,02165	
8 h	mit Nadel	0,0627	11	0,03690	0,01113	0,252
	ohne Nadel	0,0809	11	0,06534	0,01970	

Tab. 3: Mittelwerte der anti-Xa-Aktivität von niedermolekularem Heparin nach nadelfreier und konventioneller Applikation als gepaarte Stichproben zu 7 verschiedenen Zeitpunkten (11 von 12 Probanden)

Für den Vergleich der beiden Injektionsverfahren über den zeitlichen Verlauf wurde die Varianzanalyse mit Messwiederholungen eingesetzt (Cole et al.; Winer et al.) (Tabelle 4).

Es zeigte sich (Tab. 4), dass die Größe des Unterschiedes zwischen Nadel- und INJEX™-Anwendung nicht zeitabhängig ist, d.h. es sind keine Wechselwirkungen zwischen Injektionsverfahren und Zeitverlauf erkennbar ($p = 0,453$). Der über die Beobachtungszeit (8 h) gemessene Unterschied ist statistisch nicht signifikant ($p = 0,120$).

Effekt		Wert	F	Hypothese df	Fehler df	Signifikanz
Injektion	Pillai-Spur	0,224	2,882*	1,000	10,000	0,120
	Wilks-Lambda	0,776	2,882*	1,000	10,000	0,120
	Hotelling-Spur	0,288	2,882*	1,000	10,000	0,120
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	0,288	2,882*	1,000	10,000	0,120
	Zeit	Pillai-Spur	0,956	17,938*	6,000	5,000
Wilks-Lambda		0,044	17,938*	6,000	5,000	0,003
Hotelling-Spur		21,526	17,938*	6,000	5,000	0,003
Größte charakteristische Wurzel nach Roy		21,526	17,938*	6,000	5,000	0,003
Injektion x Zeit		Pillai-Spur	0,577	1,138*	6,000	5,000
	Wilks-Lambda	0,423	1,138*	6,000	5,000	0,453
	Hotelling-Spur	1,366	1,138*	6,000	5,000	0,453
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	1,366	1,138*	6,000	5,000	0,453

* Exakte Statistik

Tab. 4: Multivarianz-Test der anti-Xa-Aktivität von niedermolekularem Heparin nach nadelfreier und konventioneller Applikation als gepaarte Stichproben zu 7 verschiedenen Zeitpunkten (11 von 12 Probanden)

Bei einem Probanden konnte das Heparin mit INJEX™ nicht vollständig appliziert werden und ein Teil des Arzneimittels verblieb auf der Hautoberfläche ("Wet Shot"). Daher führte die nadellose Applikation in den Oberarm bei diesem Probanden zu keinem deutlichen Anstieg der Faktor-Xa-Aktivität (Abb. 2).

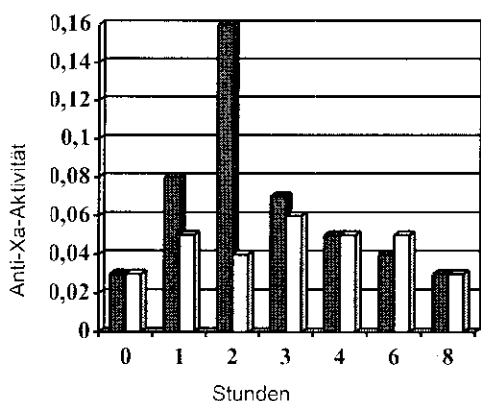


Abb. 2: Anti-Xa-Aktivität von niedermolekularem Heparin (Fragmin®) nach nadelfreier und konventioneller Applikation (1 von 12 Probanden)

Bezüglich der Verträglichkeit des INJEX™-Systems äußerten ca. die Hälfte der Probanden hinsichtlich des Schmerzempfindens keinen Unterschied zu einer Nadelinjektion, die andere Hälfte verspürte weniger Schmerzen als bei der Nadelinjektion. Hämatome traten bei jeweils zwei Probanden in beiden Gruppen auf.

Die Initiierung einer Multicenter-Studie zur Überprüfung des INJEX™-Systems hinsichtlich Praktikabilität und Kosteneinsparung bei der Thromboseprophylaxe ist empfehlenswert.

Diskussion

Zur Sicherung einer vollständigen Thromboseprophylaxe stellen nadelfreie Systeme zur Applikation von (LMW) Heparin zwecks Abbau psychischer Widerstände und Ängste eine innovative Alternative zu den bisher verfügbaren Injektionsmethoden dar. Zudem gewinnt die Applikation von niedermolekularem Heparin im ambulanten Bereich (häusliche postoperative Nachsorge) immer stärker an Bedeutung.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Resorption von (LMW) Heparin nach nadelfreier und konventioneller Applikation sehr ähnlich ist. Bei 11 von 12 Probanden zeigte der Verlauf der Faktor-Xa-Aktivität einen fast zeitgleichen Anstieg und Abfall im Vergleich beider Applikationssysteme. Die Einzelwerte lagen jedoch bei Verwendung des INJEX™-Systems zu allen Messzeitpunkten im Mittel höher, wobei die AUC nicht signifikant unterschiedlich war. Ähnliche Untersuchungsergebnisse fanden Harenberg et al.

Die Verträglichkeit der subkutanen Applikation mit dem nadelfreien Injektor (INJEX™) wird im allgemeinen als gut bezeichnet. Bei gleichzeitiger Schmerzreduktion lässt sich eine zur herkömmlichen Nadelapplikation vergleichbare Resorption von (LMW) Heparin erzielen. Die Selbstinjektion in den Oberarm ist jedoch nicht zu empfehlen, da es unter Umständen zu einer Unterversorgung mit (LMW) Heparin kommen könnte. Hämatome traten sowohl bei Verwendung der Einmal-Nadelspritze als auch bei Verwendung des INJEX™-Systems auf.

Literatur

Agno W. (1997) Treatment of venous thromboembolism. *Thromb. Res.* 2000 Jan. 1;97(1):V63-72

Baer C.L., Bennett W.M., Folwick D.A., Erickson R.S. (1996) Effectiveness of a jet injection system in administration morphine and heparin to healthy adults. *Am J Crit Care* 1996 Jan;5(1):42-8

Black, J., Nagle, C.J., Strachan, C.J. (1978) Prophylactic low-dose heparin by jet injection. *Brit. Med. J.*, 95.

Bruhn H.D., Albert J.P., Sachs L., Timme H. (1979) Does low-dosage heparin treatment require serial haematological controls? *Dtsch Med Wochenschr* 1979 Sep 21;104(38):1336-9

Cohn, M., Ronal, Ch., Hingson, R., Szulman, E., Trimmer, M. (1978) Use of jet insulin injektion in diabetes mellitus therapy. *Diabetes* 21, 39.

Cole, J. W. und Grizzle, J. E. (1966) Applications of Multivariate Analysis of Variance to Repeated Measures Experiments. *Biometrics*, 22, 810-828.

Ehren, M., Lieder, O., Engelbert, S., Schatz, H., Pfohl, M. (2001) Blutzucker- und Insulinkinetik bei nadelfreier Insulininjektion versus Peninjektion. *Diabetes und Stoffwechsel* 10, suppl.I 19-09

Gallus, A.S., Hirsh, J., Tuttle, R.J., Trebilcock, R., O'Brian, St.E., Carroll, J., Minden, H., Hudecki, St. M. (1973) Small subcutaneous doses of heparin in prevention of venous thrombosis. *New Engl. J. Med.* 288, 545.

Goodman & Gilman (1998) Pharmakologische Grundlagen der Arzneimitteltherapie. Frankfurt am Main: McGraw-Hill, 1998

Hadley S.A., Chang M., Rogers K. (1996) Effect of syringe size on bruising following subcutaneous heparin injection. *Am J Crit Care* 1996 Jul;5(4):271-6

Halle, J.-P., Lambert, J., Lindmayer, I., Menassa, K., Coutu, F., Moghrabi, A., Legendre, L., Legault, C. und Lalumière, G. (1986) Twice-daily mixed regular and NPH Insulin Injektions with new Jet Injector versus conventional Syringes. *Pharmacokinetics of insulin Absorption. Diabetes Care*, 9, 3.

Harenberg, J. et al (1981) Effekte verschiedener Heparinpräparationen auf das Gerinnungssystem. *Blut* 41, 126.

Harenberg, J., Arleth, D., Köppern, K., Marrhes, K. und Zimmermann, R. (1982) Subkutane Applikation von Heparin mit einem Injektor. *Dtsch. Med. Wschr.* 107, 3, 497-500.

Hingson, R.A., Davis, H.S., Rosen, M. (1963) The historical development of jet injection and envisioned uses in man. *Immunization and mass therapy based upon two decades experience. Milit. Med.* 28, 516.

Hull R.D., Raskob G.E., Brant R.F., Pineo G.F., Elliott G, Stein P.D., Gottschalk A., Valentine K.A., Mah A.F. (2000) Low-molecular-weight heparin vs heparin in the treatment of patients with pulmonary embolism. *American-Canadian Thrombosis Study Group. Arch Intern Med* 2000 Jan 24;160(2):229-36

Kakkar, V., Corrigan, T.P., Fossard, D.P. (1975) Prevention of fatal postoperative pulmonary embolism by low-doses of heparin. *Lancet*, 45.

Lancet (1980): Subcutaneous injections and absorption of insulin. Lancet 1980/I, 1005

Lockner, D. (1999) Standardheparin versus niedermolekulares Heparin. Wien. med. Wschr. 1999; 149:37-38.

Mutschler, E. et al (1996) Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie und Pathophysiologie; mit einführenden Kapiteln in die Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie. 7. Aufl., Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.

Raskob G.E. (1999) Heparin and low molecular weight heparin for treatment of acute pulmonary embolism. Curr Opin Pulm Med 1999 Jul;5(4):216-21

Rote Liste Service GmbH (1999) ROTE LISTE 1999, Frankfurt/Main

Sandhu H., Morley-Forster P., Spadafora S. (2000) Epidural hematoma following epidural analgesia in a patient receiving unfractionated heparin for thromboprophylaxis. Reg Anesth Pain Med 2000 Jan-Feb;25(1):72-5

Schöndorf, T.H. (1978) Thromboembolieprophylaxe mit Heparin bei elektiven Hüftgelenksoperationen. Dtsch. Med. Wschr. 103, 1877.

Warlow, Ch., Beattie, A.G., Terry, G., Ogston, D., Kenmure, A.C., Douglas, A.S. (1973) A double-blind trial of low doses of subcutaneous heparin in the prevention of deep-vein thrombosis after myocardial infarction. Lancet, 934.

Warren, J., Zihlerl, F.A., Kish, A.W., Zihlerl, L.A. (1955) Large-scale administration of vaccines by means of an automatic jet injection syringe. J. Amer. med. Ass. 157, 633.

Weiler, Ch., Linder, M. (1966) Jet injection of insulin vs the syringe- and needle method. J. Amer. Med. Ass, 195, 844.

Winer, B. J. (1971) Statistical Principles in Experimental Design. Second Edition, New York, McGraw-Hill Book Co.

Worth, R., Anderson, J., Taylor, R., Alberti, K.G. (1980) Jet injection of insulin. Comparison with conventional injection by syringe and needle. Brit. med. J. 281, 713.