Deelproject aanvraag

Projectnummer: -107
Ontvangst: 11-01-2010

I Project

Onderzoek

- *Aanvrager*

Naam	
Organisatie/Eenheid	
Onderafdeling	
Adres	
Postcode	
Plaats	
Telefoon	
E-mail	
Vergunninghouder	: [1] RUG

- *Algemeen*

Titel basisproject	: Ontwikkeling van GEM partikels als carrier en adjuvants voor vaccins tegen infectieziekten
Aanvang basisproject	: 01-03-2009
Gewenste duur	: 4 jaar
Voorgaande (deel)project(en)	:
Geldstroom	: [3] 3e geldstroom
Subsidiegever	:

- *Eind- of medeverantwoordelijke*

Titel en naam	:

- *Andere personen betrokken bij de handelingen aan proefdieren*

Naam	Functie

Deelproject

- *Algemeen*

Titel deelproject	: Een pilot experiment naar de serologie van intranasale influenza FluGEM vaccins in konijnen
Aanvang deelproject	: 01-03-2010
Gewenste duur	: 2 jaar

II Onderzoeksopzet

- *Behaalde resultaten*

GEM partikels worden ontwikkeld als een adjuvans voor humane influenza FluGEM vaccins (nasale toediening). De adjuvans werking is in muizen in studie: geëvalueerd. Deze studies hebben gegevens opgeleverd omtrent de verhouding GEM partikels – HA antigen en de werkzaamheid van GEM-HA formuleringen op basis van immunologische parameters. In de vaccine challenge studie: werd tevens vastgesteld dat GEM gemixed met HA bescherming geeft. In een volgende stap in het preclinische traject zal in twee dier modellen (rodent en niet-rodent) de veiligheid van het gebruik van FluGEM worden vastgesteld. Het rodent model wordt de muis. Als niet-rodent dier model gaat de voorkeur eerst uit naar het konijn gezien de ervaring met dit model in veiligheidsstudies. Voorwaarde voor het gebruik van dit dier model in veiligheidsstudies is dat het te testen product (FluGEM) een relevante immunologische reactie tegen influenza (uitgedrukt in HI titers) oproept in konijnen.

- *Vraagstelling van het deelproject*

In deze pilot wordt voor de eerste keer bepaald of de FluGEM formulering zoals toegepast gaat worden in de mens een relevante immunologische reactie tegen influenza (voldoen aan criteria zoals vastgelegd in article 3.1.a of CPMP/BWP/214/96 van de EMEA) kan oproepen in konijnen wanneer intranasaal toegediend.

- *Onderzoeksopzet*

Immunizatie experimenten zullen worden gedaan met als indeling:
1. GEM+HA met hogere GEM dosis, intranasaal, 3 toedieningen
2. GEM+HA, met lagere GEM dosis, intranasaal, 3 toedieningen
3. PBS, intranasaal, 3 toedieningen (negatieve controle)
4. HA, intramusculair, 3 toedieningen (positieve controle)

De antigeen dosis zal 15 µg HA per virus stam zijn voor de intranasale (i.n.) vaccins (45 µg HA in totaal). De hoeveelheid GEM die zal worden gebruikt is maximaal 8 maal hoger als getest in muizen (2.5 mg per dose). De PBS groep dient als negatieve controle. Vijf en veertig microgram HA zal intramusculair worden toegediend zonder adjuvans als positieve controle. Het is bekend dat het HA antigeen via deze route en in deze hoeveelheid, zonder adjuvans, een goede antistof respons laat zien. Aan alle groepen wordt het vaccin 3 maal toegediend. De groepen zullen bestaan uit 5 konijnen. Voor de experimenten zullen New Zealand White albino konijnen gebruikt worden omdat deze dieren in veiligheidsproeven worden gebruikt. Aangezien de veiligheidsproeven zowel in male als female konijnen wordt uitgevoerd zal elke groep bestaan uit respectievelijk 2 of 3 males en females.

- *Beschrijving van de uitvoering van de experimenten*

Zeven dagen na aankomst van de dieren zullen (i) een bloedmonster via het oor (max. 1 ml) worden afgenomen en (ii) de vaccinaties worden uitgevoerd. De intranasale vaccins worden toegediend door 50 µl per neusgat toe te dienen door de dieren het vrijwillig te laten inhaleren. Het intramusculaire vaccin worden geïnjecteerd in de dijbeenspier van de achterpoot (100 µl vaccin verdeeld over 2 achterpoten). De intramusculaire toedieningroute is de meest gangbare vaccinatie route voor vaccins, waaronder ook influenza. Eenentwintig en tweeenveertig dagen de 1e vaccinatie worden herhalingsvaccinaties uitgevoerd onder dezelfde condities met tevens een afname van een bloed monster op dezelfde wijze als bij de eerste vaccinatie. Veertien dagen na de laatste vaccinatie worden de konijnen onder injectie anesthesie verdoving geofferd, waarna bloed en mucosale washes (neus en long) worden gemonsterd

- *Ongerief voor dieren*

Handeling	Ongerief
* Individuele huisvesting	[2] gering/matig
Uit ervaring blijkt dat ook vrouwelijke konijnen van deze leeftijd (10 weken bij aankomst) niet gezamenlijk kunnen worden gehuisvest voor tijdsspanne van 9 weken zonder kans op serieuze agressie waarna de beesten alsnog individueel moeten worden gehuisvest. De mogelijke onderlinge agressie heeft grote consequenties voor een vaccine geïnduceerde immuun reactie.	
* Immunizaties intranasaal onder injectie anesthesie	[2] gering/matig
Een herhaalde intranasale (i.n.) toediening van vaccin zal worden uitgevoerd. Dit zal '2-gering/matig ongerief' veroorzaken. Na overleg met [redacted] is besloten dat de beste wijze van anesthesie samen met artikel 14 deskundige zal worden vast gesteld.	
* Immunizaties intramusculair onder injectie anesthesie	[2] gering/matig
Een herhaalde intramusculaire (i.m.) injectie van vaccin zal worden uitgevoerd. Dit zal '2-gering/matig ongerief' veroorzaken. Na overleg met [redacted] is besloten dat de beste wijze van anesthesie samen met artikel 14 deskundige zal worden vast gesteld.	
* Bloedafname via oor	[2] gering/matig
Bloed afname via oor onder injectie anesthesie zal worden gebruikt voor afname van bloed (doorgaans 1 ml) tbv serum antistofbepalingen. Dit zal '2-gering/matig ongerief' veroorzaken. Na overleg met [redacted] is besloten dat de beste wijze van anesthesie samen met artikel 14 deskundige zal worden vast gesteld.	
* Terminatie onder injectie anesthesie	[1] gering
Ten bate van het verkrijgen van bloed zullen de dieren aan het eind van het experiment onder narcose worden getermineerd. Dit zal "1-gering" ongerief veroorzaken. Na overleg met [redacted] is besloten dat de beste wijze van anesthesie samen met artikel 14 deskundige zal worden vast gesteld.	

Totaal ongerief deelproject

[2] gering/matig

Toelichting

Van de intranasale en intramusculaire toedieningen van de vaccins en de bloedafnames is bekend dat dit niet meer dan gering/matig ongerief tot gevolg heeft, vnl. veroorzaakt door hanteren/ontwaken uit narcose.

Verfijning van uitvoering

De bloedafname zal gecombineerd worden met de immunizaties zodat het aantal keren dat de dieren onder narcose gebracht moeten worden tot een minimum beperkt wordt.

- *Dieren: soort(en) en aantal(len) voor de periode van dit deelproject*

Diersoort	Stam	Inteelt	Aantal

Motivering aantal dieren

Voor een eerste pilot om vast te stellen of FluGEM intranasaal toegediend een relevante immunologische reactie tegen influenza oproept is 5 dieren per groep voldoende.

Diersoort: Konijn
Stam: New Zealand White albino
Aantal: 20
Inteet: Ja

Vermindering van aantallen

Het handelt hier om een pilot experiment met een zo klein mogelijk aantal dieren.

III Proefdierkundige gegevens

- *Dieren: herkomst en huisvesting*

Herkomst van dieren

[1] aankoop

Toelichting herkomst van dieren

Harlan

Dieren uit ander onderzoek

Nee, de dieren zullen gevaccineerd worden en moeten niet eerder blootgesteld zijn aan behandelingen die de immuunrespons kunnen beïnvloeden.

Afwijkende huisvesting

Locatie van de experimenten

Elders

- *Anesthesie en pijnbestrijding*

Anesthesie

[4] wordt toegepast

Welke of waarom niet

Na overleg met [redacted] is besloten dat de beste wijze van anesthesie samen met artikel 14 deskundige zal worden vast gesteld.

Pijnbestrijding (per- en) postoperatief

Zo ja: Welke

Diersoort	Medicament	Dosering (mg/kg)	Route	Interval (uur)

Eventuele andere pijnbestrijding

Toedieningsschema: frequentie en periode

- *Einde experiment*

Toestand dier na proef

[1] dood in kader van de proef

Indicaties humane eindpunten

Vroegtijdig einde van de proef wordt alleen verwacht in dieren die niet beschermd worden door het vaccin. Muizen verdragen op GEM-gebaseerde vaccins erg goed. Er is geen reden te veronderstellen dat konijnen GEM-gebaseerde vaccins niet zouden verdragen. Bij snel gewichtsverlies (> 15% over meerdere dagen of > 10% op 1 dag) of ernstige anafylactische reacties op de vaccins zullen de dieren getermineerd worden.

Wijze van termineren

Verbloeding onder injectie anesthesie.

IV Biotechnologie

Type	Nummer en specificatie