Deelproject aanvraag

Projectnummer: -141
Ontvangst: 21-10-2010

I Project

Onderzoek

- *Aanvrager*

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

- *Algemeen*

Titel basisproject	: Ontwikkeling van verbeterde virosomale vaccins.
Aanvang basisproject	: 01-06-2009
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	: Test van mucosale immuniteit na vaccinatie van konijnen met HIV virosomen
Aanvang deelproject	: 01-11-2010
Gewenste duur	: 1.5 jaar

II Onderzoeksopzet

- *Behaalde resultaten*

Dit project is een vervolg van [redacted] dat mucosale immuniteit in ratten testte, geinduceerd door virosomale HIV vaccins. In voorgaande projecten van onze vakgroep bleek dat intranasale vaccinatie met virosomen vaginale antistoffen induceerde, mits de virosomen een specifiek adjuvans bevatten. Intranasale plus intramusculaire vaccinatie induceerde zowel vaginaal IgA als ook systemisch IgG. Uit onderzoek door sponsor Mymetics in Lausanne, bleek intranasale vaccinatie met virosomen zonder adjuvans, die een HIV peptide bevatten, makaken te beschermen tegen meerdere intravaginale challenges met levend (S)HIV virus. Inmiddels is een Fase I clinical trial met dit materiaal afgesloten; bij 20 vrouwen is een duidelijke vaginale IgA immuunrespons gemeten, maar er wordt aan getwijfeld op dat deze titer voldoende bescherming zou bieden tegen HIV infectie. [redacted] om uit te zoeken, of een verbeterde samenstelling van de virosomen, met een adjuvans, tot hogere titers zou leiden. Er werden echter alleen serum IgG antistoffen gevonden, nauwelijks vaginale antistoffen. Twee groepen hadden wel veel hogere IgG titers. Bij vergelijking van alle resultaten van [redacted] bleek dat hun vaccin samenstelling geheel was gebaseerd op eerdere resultaten bij konijnen. Het is mogelijk dat het species verschil ratten-konijnen ons parten heeft gespeeld. Daarom worden in deze aanvrage de belangrijkste proeven [redacted] in konijnen herhaald.

- *Vraagstelling van het deelproject*

Kunnen influenza virosomen met het HIV peptide P1 zodanig geformuleerd worden dat zij betere vaginale antistoftiters induceren dan tot nu toe? Het uiteindelijke doel is de ontwikkeling van een HIV vaccin.

- *Onderzoeksopzet*

In dit onderzoek zullen drie groepen vergeleken worden, alle drie overeenkomend met een groep uit [redacted]
A Virosomen zoals gebruikt in de clinical trial
B Verbeterde virosomen gemaakt volgens het DCPC protocol ontwikkeld door de vakgroep (DCPC is een hulpstof bij het maken van de virosomen, niet aanwezig in het product)
C Als B maar met het adjuvans, MPLA, ingebouwd in de virosomen. Dit type adjuvans is toegelaten voor gebruik in mensen.
De groepen B en C gaven significant hogere titers IgG antistoffen [redacted], maar geen van deze groepen induceerde vaginale antistoffen in de ratten.
In alle gevallen gaat het om vaccins gemaakt van de membranen van griepvirus, waarin een HIV peptide is ingebouwd. Het peptide is weinig immunogeen, vandaar de herhaalde vaccinaties.

- *Beschrijving van de uitvoering van de experimenten*

T0: i.m prime met "lege" virosomen (alleen het influenza materiaal)plus 0 serum.

T4weken: vaccinatie 1, i.m + serum monster en 0 punt vaginale-was

T8weken: vaccinatie 2, i.m + serum monster

T12weken: vaccinatie 3, i.n + serum monster

T20weken: vaccinatie 4, i.n

T20+10dagen: Serum monster + vaginale-was

T20+14dagen: terminatie + serum monster + vaginale-was

De vaccinaties en bemonsteringen vinden plaats onder sedatie met dormitor.
De vaginale bemonstering vind plaats door inbrengen van een kinder-venen canule, en te spoelen met PBS.

- *Ongerief voor dieren*

Handeling	Ongerief
vaccinatie, al dan niet met adjuvantia, die voor menselijk gebruik zijn toegelaten	[2] gering/matig
De code of practice voor immunisatie maakt onderscheid tussen verschillende adjuvantia, en kent ongerief codes van 2 toe aan bekende adjuvantia, die in voor mensen bestemde vaccins voorkomen. Vaccinatie vindt plaats door middel van injectie, intramusculair, subcutaan, intraperitoneaal of door intranasale dan wel orale toediening, waarbij de maxima genoemd in de code of practice worden aangehouden.	
euthanasie onder verdoving Euthanasie door verbloeding onder isofluraan verdoving	[1] gering
* Bloedafname onder locale verdoving bloed afname uit een oor vene onder locale verdoving met lidocaïne zalf.	[2] gering/matig
* Intramusculaire vaccinatie door het toepassen van een sedatie zal het ongerief gering tot matig zijn.	[2] gering/matig
* Sedatie Door de konijnen te sederen doormiddel van een subcutane injectie met domitor zal het ongerief bij de andere handelingen beperkt blijven tot gering tot matig. het ongerief van de sedatie zelf is gering.	[1] gering
* Vaginale bemonstering Het afnemen van een vaginale wash onder sedatie geeft een gering tot matig ongerief voor het konijn.	[2] gering/matig
* Intranasale vaccinatie Het intranasaal toedienen van het vaccin zal een gering tot matig ongerief geven bij het konijn.	[2] gering/matig
* Terminatie het ongerief is hierbij gering. Na injectie van ketamine/dormitor zal er een terminale verbloeding plaatsvinden.	[1] gering

Totaal ongerief deelproject

[2] gering/matig

Toelichting

Het totale ongerief in het experiment zal gering tot matig zijn. Het gebruikte adjuvans is toegelaten bij mensen en wordt hier in veel lagere dosis gebruikt (50 x lager).

Verfijning van uitvoering

Door bloedafname onder locale verdoving van het oor te doen, zorgt dit voor een minimaal ongerief bij deze handeling. Verder worden handelingen gecombineerd zodat ze ook tijdens de sedatie gedaan worden zodat er zo min mogelijk stress is voor het konijn.

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

Diersoort	Stam	Inteelt	Aantal
Konijnen		Inteelt	15

Motivering aantal dieren

Bij het eerdere deelproject werden 5 ratten per groep gebruikt; de verschillen tussen de belangrijkste groepen waren significant; alleen deze groepen worden hier herhaald.

Vermindering van aantallen

Aantallen zitten aan de ondergrens

III Proefdierkundige gegevens

- *Dieren: herkomst en huisvesting*

Herkomst van dieren

[1] aankoop

Toelichting herkomst van dieren

Harlan

Dieren uit ander onderzoek

Kunnen alleen gebruikt worden indien er 3 groepen van 5 te maken zijn, en ze niet met enig ander materiaal geïmmuniseerd zijn.

Afwijkende huisvesting

Locatie van de experimenten

[5] CDL

Elders

- *Anesthesie en pijnbestrijding*

Anesthesie

[4] wordt toegepast

Welke of waarom niet

Sedatie: Dormitor 0,3 mg/kg sub cutaan.
anesthesie tijdens terminale verbloeding: Ketamine 15mg/kg +dormitor 0,25mg/kg.

Pijnbestrijding (per- en) postoperatief

[4] wordt wel toegepast

Zo ja: Welke

Diersoort	Medicament	Dosering (mg/kg)	Route	Interval (uur)
anders .nl	zie hieronder			

Eventuele andere pijnbestrijding

lidocaïne zalf om het oor lokaal te verdoven bij bloed afname.

Toedieningsschema: frequentie en periode

zalf paar minuten voor afname aanbrengen.

- *Einde experiment*

Toestand dier na proef

[1] dood in kader van de proef

Indicaties humane eindpunten

Optreden van niet te tolereren ontstekingen op de plaats van injectie, zoals niet-steriele onstekingen met huiddoorbraak en palpeerbare granulomen of andere tumoren vanaf een centimeter.
gewichts verlies van > 10%

Wijze van termineren

Terminale verbloeding onder anesthesie.

IV Biotechnologie

Type	Nummer en specificatie