

# Ansökan om etiskt godkännande av djurförsök

---

## Tidigare inskickade versioner av ansökan

Ansökans id 2695

*Ansökan har inte skickats in tidigare*

## Innehållsförteckning

<b>1 Grunduppgifter</b>	<b>3</b>
1.1 Försöksledare (Sökande)	3
1.2 Ansvarig veterinär	3
1.3 Tillstånd att använda försöksdjur	3
1.4 Etisk nämnd	5
1.5 Försökets titel	5
1.6 Övriga upplysningar	5
<b>2 Syfte m.m</b>	<b>6</b>
<b>3 Djurarter m.m</b>	<b>10</b>
3.1 Rhesusapa ( <i>Macaca mulatta</i> )	10
<b>4 Försökets genomförande</b>	<b>11</b>
4.1 Försöksgrupp: Studie av vaccin för kombinerat gulafeber och rabiesvaccin	12
4.1.1 Undergrupp: Vaccin 1 intramuskulär immunisering	12
4.1.2 Undergrupp: Vaccin 2 intramuskulär immunisering	15
4.1.3 Undergrupp: Vaccin 1 subkutan immunisering	16
4.1.4 Undergrupp: Vaccin 2 subkutan immunisering	17
4.1.5 Undergrupp: Kontrollgrupp Licensierade gulafebervaccinet Stamaril	18
4.1.6 Undergrupp: Kontrollgrupp Licensierade rabiesvaccinet Rabipur	19
4.2 Försöksgrupp: Studie av vaccin för RSV (respiratoriskt synsytievirus)	20
4.2.1 Undergrupp: Vaccin 1, dos 1, intradomal immunisering	20
4.2.2 Undergrupp: Vaccin 1, dos 2, intradomal immunisering	22
4.2.3 Undergrupp: Vaccin 2, dos 1, intramuskulär immunisering	23
4.2.4 Undergrupp: Vaccin 2, dos 2, intramuskulär immunisering	24
4.3 Försöksgrupp: Studie av vaccindistribution och immunsvär i vävnader	25
4.3.1 Undergrupp: Vaccin	25
4.3.2 Undergrupp: Vaccin biodistribution	26
<b>5 Undantag, sammanfattning</b>	<b>28</b>

# 1 Grunduppgifter

## 1.1 Försöksledare (Sökande)

**Namn:** [REDACTED]  
**Organisation:** Karolinska Institutet  
**Institution/avdelning:** Komparativ medicin  
**c/o:**  
**Adress:** Astrid Fagraeus Laboratorium, 17176 Stockholm  
**E-postadress:** [REDACTED]  
**Telefonnummer:** [REDACTED]  
**Mobilnummer:** [REDACTED]  
**Faxnummer:**

## 1.2 Ansvarig veterinär

**Namn:** [REDACTED]  
**c/o:**  
**Adress:** Astrid Fagraeus Laboratorium, 17176 Stockholm  
**E-postadress:** [REDACTED]@ki.se  
**Telefonnummer:** [REDACTED]  
**Mobilnummer:** [REDACTED]

## 1.3 Tillstånd att använda försöksdjur

Nedan visas uppgifter från tillståndet som det såg ut när denna sammanställning gjordes – eventuella ändringar som har gjorts i tillståndet efter det visas inte här.

<b>Diarienummer:</b>	5.2.18-3236/17
<b>Organisation:</b>	KAROLINSKA INSTITUTET, DEPARTMENT
<b>Institution:</b>	Avdelningen för komparativ medicin
<b>Slutdatum:</b>	2022-04-18
<b>Tillståndshavare:</b>	[REDACTED]
<b>Föreståndare:</b>	[REDACTED]
<b>Veterinär/expert:</b>	[REDACTED]
<b>Ändamål:</b>	Biomedicinsk forskning i syfte att förstå grundläggande livsfunktioner, sjukdomsmekanismer, utveckla nya/förbättra behandlingar av människans sjukdomar, samt utbildning och träning i LAS

**Djurarter:** Gerbil (Gerbillinae), Hamstrar (Cricetinae), Kanin (*Oryctolagus cuniculus*), Marsvin (*Cavia porcellus*), Mus (*Mus musculus*), Råtta (*Rattus norvegicus*), Signalkräftor (*Pacifastacus leniusculus*), Zebrafisk (*Danio rerio*), Spansk revbensalamander (*Pleurodeles waltl*), Afrikansk klogroda (*Xenopus laevis*), Mexikansk axolotl (*Ambystoma mexicanum*), Vattensalamander (*Notophthalmus viridescens*), Västafrikansk klogroda (*Xenopus tropicalis*), Nejonöga (*Lampetra fluviatilis*), Mindre skogsmus (*Apodemus sylvaticus*), Gräsand (*Anas platyrhynchos*), Iller (*Mustela putorius*), Krabbnak (*Macaca fascicularis*), Nordamerikansk näbbmus (*Cryptotis parva*), Rhesusapa (*Macaca mulatta*), Större skogsmus (*Apodemus flavicollis*), Sorkar (*Arvicolinae*), Tamsvin (*Sus scrofa domestica*)

**Specifika villkor:**

**Hållandesätt:** Försöksdjursanläggning

**Försöksdjursanläggningar:**

32-2748/91	Institutionen för farmakologi
34-5480/94	Gärtuna, byggnad 681R
35-6352/01	Karolinska Institutet, Fysiologiska Institutionen Hus 95:21
34-3590/94	95:3, södra delen, Karolinska institutionen
35-998/99	Astrid Fagreus laboratorium (hus 95:56)
35-765/01	Astrid Fagreus laboratorium (hus 95:56)
31-2487/10	Astrid Fagreus Lab
31-5159/10	Astrid Fagreus lab
31-3029/11	Berzelius väg 35, rum B-121
31-495/12	rum F224 och F230 och 231 i byggnad 95:33
5.2.18-2239/13	Wallenberg, Hus 95:17 med adress Von Eulers väg 5 och Berzelius väg 17, Stockholm.
35-1079/02	Byggnad 95:33, rum F 224 och F 230.
5.2.18-11066/13	Retziuslaboratoriet, byggnad 95:55, Retzius väg 8, Stockholm
5.2.18-8359/15	rum A1:01011/12 och A3:01038/39 i byggnad A1 och A3 samt rum R300B005 i MR center
5.2.18-11233/15	KM Wallenberg, hus 95:17 och 95:48
5.2.18-11254/15	rum 224 samt rum 231 i byggnad 95:33
5.2.18-12375/15	Berzelius väg 35, rum B-117a



## 1.4 Etisk nämnd

Stockholms djurförsöksetiska nämnd  
Stockholms tingsrätt Box 8307  
104 20 STOCKHOLM  
Telefon: 08 561 650 00  
Fax: 08-653 34 44  
stockholm@rdn.jordbruksverket.se

## 1.5 Försökets titel

Vaccin och immunologistudier i apa

## 1.6 Övriga upplysningar

### Tidigare försök

Försöket bygger helt eller delvis på ett tidigare försök med diarienummer N32/12, N2/15, N193/16, 2379-2017

### Motivering

Vi har under flera år jobbat med vaccinstudier och har byggt upp kompetens och erfarenhet inom vaccinforskning på apor. Denna ansökan gäller vårt planerade fortsatta arbete kring att utvärdera nya vaccin innan de testas i människa samt att förstå mekanismerna kring hur immunsvaret regleras med olika typer av nya vaccinkomponenter. Vår expertis ligger i att studera hur immunsystemet reagerar på vaccinering och vi har utvecklat flera nya analysmetoder som är i framkant när det gäller att grundligt undersöka kvaliteten på vaccinsvar. Dessa metoder är universella och kan användas att studera vaccin mot flera olika infektionssjukdomar. Vaccinen vi studerar är tillverkade av olika samarbetspartners som är experter på sina respektive vaccin. Vaccinen är kvalitetstestade och i sent utvecklingsstadium dvs de har förfinats i flera led och testats i andra modellsystem innan våra studier.

### Godkännandets giltighetstid

Försöket beräknas pågå till 2024-11-29

### Samråd

Samråd har skett enligt 3 kap. 4 § L 150.

### Personalens kompetens

De personer som är involverade i försöket har tillräcklig kompetens enligt 6 kap. L 150.

### Sekretess

Önskar sekretess för vissa uppgifter i ansökan.

### Betalning

<b>Betalningsmetod:</b>	Kort
<b>Ordernummer:</b>	94277
<b>Belopp:</b>	15 000 kr

## 2 Syfte m.m

### Syftet med försöket enligt Jordbruksverkets föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur

- 1 Grundforskning
- 2 Forskning om vilka effekter sjukdomar, ohälsa eller annat avvikande tillstånd har på människor, djur eller växter samt hur de ska undvikas, förebyggas, diagnosticeras eller behandlas
- 3 Forskning som innebär utvärdering, påvisande, reglering eller modifiering av fysiologiska tillstånd hos människor, djur eller växter
- 4 Forskning som syftar till förbättring av djurens välfärd
- 5 Utveckling, tillverkning eller testning av kvalitet, effekt och säkerhet av läkemedel, livsmedel, foder och andra ämnen eller produkter. Detta gäller endast i de syften som avses i 2-4
- 6 Forskning som syftar till artskydd
- 7 Skydd av den naturliga miljön för att bevara människors hälsa eller välfärd
- 8 Skydd av den naturliga miljön för att bevara djurs hälsa eller välfärd
- 9 Rättsmedicinska undersökningar
- 10 Användning i högskoleutbildning eller i utbildning som syftar till att förvärva, upprätthålla eller utveckla yrkesfärdigheter under förutsättning att användningen framgår av utbildningens kursplaner, och är nödvändig med hänsyn till syftet med utbildningen.
- 11 Framställning och upprätthållande av en genetiskt modifierad djurstam
- 12 Annat - gäller endast för försök som sannolikt inte orsakar lidande i lika stor eller större utsträckning än ett nålstick som utförts enligt god veterinärmedicinsk praxis

### Beskrivning av syftet

*Beskrivning av vad försöket syftar till att uppnå, ta reda på, fastställa eller framställa genom att utföra detta försök. Syftet bör vara specifikt för detta försök samt entydigt, realistiskt och genomförbart. Syftet ska inte förväxlas med nyttan med försöket, som angetts nedan.*

Syftet med forskningen är att använda makaker (apor) för att utveckla och utvärdera nya vaccin mot infektionssjukdomar. Specifika syftena är att studera a) hur säkert vaccinet är med avseende på eventuella biverkningar. b) vilken kvalitet och styrka vaccinsvaren har. c) hur långvariga vaccinsvaren är. d) vilka celler i immunsystemet som aktiveras och som bidrar till skyddande effekt för att förhindra infektion. e) huruvida olika administreringsätt, doser och antal immuniseringar av vaccin skiljer sig. f) om nya vaccin stimulerar bättre vaccinsvar jämfört med befintliga vaccin i kliniskt bruk i de fall det redan existerar ett godkänt vaccin.

### Svårhetsgrad

Måttlig

### Beskrivning av försökets slutpunkt

*Slutpunkten är det tillfälle då försöksledaren planerar att avsluta försöket och inte göra några fler observationer. Slutpunkten är den tidpunkt där försöksledaren utgår ifrån att ha uppnått syftet med försöket. Den kan anges som en viss tidsperiod (t.ex. djuren går i försöket över en viss tid) eller när något specifikt händer (t.ex. djuren utvecklar vissa symtom eller visar ett visst beteende). Slutpunkten ska inte förväxlas med avbrytningspunkten som är den i förväg satta gränsen för ett djurs lidande då djuret av djurskyddsskäl ska tas ur ett djurförsök oavsett om försökets slutpunkt har uppnåtts.*

En vaccinstudie är avslutad då tillräckligt med data har samlats för att kunna utvärdera styrkan och kvaliteten av de immunsvar som har inducerats av vaccinet. I de flesta fall är inte bara kvaliteten av vaccinsvaret när det är som högst (ofta ca 2-6 veckor efter vaccinering) av vikt utan även hur långvarigt det är. Därför pågår studierna ofta i 6-36 månader så man kan göra adekvata mätningar och beräkningar av hur snabbt vaccinsvaret går ner. Många vaccin ger inte ett fullgott skydd med bara en vaccinering utan påfyllnadsdoser måste ges vid ett eller ett par tillfällen. Därför är det också av vikt att studien får pågå under en längre tid. I vissa fall behöver den underliggande immunologin kring vaccinsvaret studeras mer i detalj och då analyseras hur vaccinsvaret är i olika vävnader i kroppen samt vaccinets spridning i kroppen. I dessa försök måste slutpunkten vara terminering av djuret för att kunna utföra obduktion, samlas och analysera många vävnader.



### Beskrivning av nyttan för människa, djur eller miljö

*Beskrivning av nyttan för människa, djur eller miljö. Det bör även angetts på vilket sätt resultaten väntas få betydelse för den medicinska eller biologiska utvecklingen. Om försöket innebär grundforskning bör det vara beskrivet vilka framsteg eller nya rön som kan förväntas på längre sikt. Om försöket innebär en fortsättning på eller en upprepning av ett tidigare försök bör det här vara beskrivet vilka tidigare resultat forskaren har kommit fram till samt motiverad varför det är nödvändigt att fortsätta eller upprepa försöket.*

Vaccination är en av de medicinska uppfinningar som räddat flest liv. Dock finns det flera dödliga infektionssjukdomar som det ännu ej finns vaccin för. Omkring 30 miljoner människor är Hiv-infekterade. Det är över 200 miljoner infektioner av malariaparasiter och omkring 500 000 dör i malaria varje år. Närmare 2 miljoner människor dör årligen i tuberkulos och det befintliga vaccinet ger inte ett fullgott skydd. Övre luftvägsinfektioner så som respiratoriskt syncytievirus (RSV) och influensa skördar tillsammans miljoner liv. Skyddande vaccin skulle ha enorma socioekonomiska konsekvenser.

Med de moderna tekniker som finns tillgängliga idag finns det möjlighet att exakt designa vaccinantigen som man vill ha dem, använda byggstenar som liknar det riktiga patogenet men är ofarliga, använda immunstimulerande adjuvans som specifikt stimulerar en receptor samt tillverka vaccin snabbare och mer kostnadseffektivt. Det finns också förutsättningar och förbättra flera befintliga vaccin med de nya typerna av vaccinkomponenter så att man tex skulle kunna ge lägre doser och/eller färre immuniseringar. Flera nya vaccinkomponenter som tex de som bygger på DNA eller RNA sekvenser skulle dessutom kunna massproduceras till ett billigare pris vilket skulle göra att till exempel vaccinet mot rabies skulle kunna finnas tillgängligt i områden där det behövs som mest men där det inte finns ekonomiska resurser att vaccinera. En annan viktig faktor är att flera av de nya vaccinkomponenterna utvecklas för att inte behöva en sk "cold-chain" dvs tillgång till kylskåp eller frysar under distribuering och förvaring.

Eftersom det är en stor utmaning att utveckla vaccin mot flera av de farligaste infektionerna har vikten av att förstå den underliggande immunologin kommit mer och mer i fokus. För att detta ska bli värdefullt krävs det att det immunologiska svaret efter vaccinering är så likt människans som möjligt. Vi delar så mycket som i snitt 94% av vårt DNA genom med apor och deras immunsystem är därför mycket mer fysiologiskt relevant för hur vårt ser ut än vad vi kan lära ifrån forskning på gnagare. Eftersom apor är större och har en längre livslängd än gnagare kan de också följas under långa perioder för att kunna se hur väl det skyddande immunsvaret upprätthålls. De flesta vacciner behöver påfyllningsdoser och det kan också utvärderas mycket mer exakt i apor. Apor spelar därför en unik roll i utvecklingen av nya vacciner. Vaccinforskningen på apor har resulterat i viktig information i utformningen av kliniska studier. Eftersom målgrupperna för vacciner vanligen består av friska människor däribland barn, måste vacciner bevisas vara mycket säkra samtidigt som de har förmågan att stimulera starka immunsvår. Detta gör att det finns en extra försiktighetsaspekt och nytta med att först testa i apor innan kliniska studier.

### Egen etisk avvägning

*Egen beskrivning hur sökande har resonerat när de har kommit fram till att nyttan med försöket överväger lidandet för djuren.*

Utvecklingen av vacciner är en svår och lång process. Utan djurmodeller skulle det vara omöjligt att förutsäga varken potential eller säkerhet och därmed i princip inte möjligt att utveckla nya vaccin mot svåra infektionssjukdomar. Som nämnt ovan, målgrupperna för vacciner består av friska människor däribland barn, och därför måste vacciner bevisas vara mycket säkra men ha förmågan att stimulera starka immunsvår. Den mänskliga kroppens komplexitet kan inte gestaltas med datorsimulering eller de cellkulturerna som finns tillgängliga i dagsläget. Apor används endast i de sena stadierna av vaccinutveckling och i samband med vaccin som gått igenom testning i flera andra system redan och visat sig vara exceptionellt lovande och när information behövs som inte kan förvärvas på annat sätt. Forskning på apor har varit avgörande för utveckling av flera vacciner. Lagarna rörande forskning på apor och deras djurhållning och välbefinnande är mycket strikta och är i många avseenden mer reglerade än forskning som involverar människor. I våra studier vaccineras djuren och prover tas för olika analyser av vaccinsvaret. Våra djur är i de flesta fall opåverkade av vaccineringen och provtagningen, de utvecklar inte sjukdom eller blir infekterade.



## Beskrivning av alternativa metoder

*Beskrivning av varför djur måste användas för att uppnå syftet med försöket, vilka eventuella alternativa metoder som kommer att användas, vilka metoder som har övervägits men som inte är möjliga att använda samt vilka databaser som har använts vid sökande efter alternativa metoder.*

Alternativa metoder saknas. Makaker är mycket värdefulla modellsystem för immunologiska studier pga av dess genetiska likhet till människa. Makakernas immunsystem är mycket likt människans, vilket skiljer sig i flera avseenden jämfört med gnagare. Kinetiken, nivåerna och funktionerna av immunceller och antikropssvar är mycket snarlika mellan människor och apor.

För att få en fullständig bild av interaktionerna mellan immunsystemet och vaccinet samt för att utvärdera om skyddande och bestående immunitet utvecklas är det nödvändigt att använda primater i forskningen. Möjligheten att testa relevanta vaccindoser och de anatomiska likheterna mellan apa och människa är en stor fördel när man ska utvärdera resultaten och dra slutsatser för att gå vidare i kliniska prövningar på människa. Intramuskulär administrering av vaccin, som är den i särklass vanligaste metoden att ge vaccin, kan till exempel inte utvärderas i möss.

Vi och våra samarbetspartners har i tidigare studier karaktäriserat immunsvaret i apa i detalj, både vad det gäller genetiska, fenotypiska och funktionella aspekter samt svar vid vaccinering. Detta bakgrundsarbete har varit viktigt för att förstå värdet av fortsatt forskning i apa ytterligare då vi nu kan jämföra flera aspekter av immunsvaret mellan apa och människa mer direkt.

## Beräkning av antalet djur

*Förklaring av principerna hur forskaren har kommit fram till det antalet djur som ska användas, t.ex. statistiska beräkningar samt hur det är säkerställt att så få djur som möjligt kommer att användas.*

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), totalt 120 apor under nästa 5 års period. En vaccinstudie har normalt ca 12-36 djur och löper under en längre period (6-36 månader). Eftersom djuren inte förväntas bli sjuka eller blir infekterade kan de med fördel återanvändas efter avslutad studie. Detta förutsatt att veterinär har bedömt att det är lämpligt. Detta är ett sätt att använda så få djur i forskningen som möjligt.

Eftersom apor används endast i de sena stadierna av vaccintveckling så är studierna komplexa och består av flera samarbetspartners (vaccintillverkare, immunologer, kliniker med expertis inom infektionssjukdomen, ev extern sponsor, jurister mfl) och då ingår även statistiker som hjälper till med beräkningar och studieupplägg. Apor är precis som människor med avseende på att olika individer ger olika svar och det är därför ofta mycket mer spridning på datapunkterna än i musstudier där alla djur har samma genetiska bakgrund. I våra studier använder vi oftast 6 djur per vaccingrupp. Detta antal djur kommer att ge ungefär 99% effekt för att detektera en 1,0 log-skillnad i antikroppsbindningstitrar mellan två vaccingrupper och 93% effekt för att detektera 0,5 log-skillnader, med tanke på den mest gynnsamma standardavvikelsen som observerats i flera tidigare vaccinstudier som mäter antikroppstitrar med 6 NHP / grupp (till exempel Francica et al, Blood Adv, 2017, Francica et al, Nature Comm 2015, Thompson et al JCI Insight 2018). Med de mest konservativa standardavvikelsema från dessa studier skulle vi fortfarande behålla en 54% effekt för att upptäcka en 1,0 log-skillnad och en 33% effekt för att upptäcka en skillnad på 0,5 log. Att använda färre än 6 djur skulle medföra en risk att förlora statistiska signifikanser på grund av variationer i gruppen; och att använda fler djur per grupp skulle vara att använda fler djur för försök än vad som är nödvändigt.

Det finns fall då färre djur kan användas för att kunna svara på en specifik fråga tex om ett vaccin i den dosen inducerar immunsvaret. Det kan då räcka med 2-3 djur. Dock kan inte skillnader mellan olika vaccingrupper säkerställas med ett så litet material. En annan situation där färre djur kan användas är då tex vetenskapliga frågor finns kring biodistribution av ett vaccin efter administration (dvs var det tar vägen i kroppen) och vilka celler vid injektionsstället som är målceller. Då kan 4 vaccinjektioner (en i varje arm och ben) i ett djur förekomma och då kan fler mätpunkter samlas från varje djur och därför färre djur användas.

## 3 Djurarter m.m

### 3.1 Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Antal:** 120

#### Motivering av valet av djurart

Den höga genetiska likheten mellan människor och makaker, i genomsnitt 94%, framgår inte bara på den anatomiska nivån, utan också vid jämförelse av celltyper och genomets övergripande organisation. Följaktligen kan många av de analysmetoder som används för att undersöka fysiologiska svar hos människor användas för att studera makaker och vice versa. Exempel där forskning i apor varit väsentlig är tex utveckling av läkemedel mot HIV, vissa cancerformer och flera neurologiska sjukdomar (Alzheimers, Parkinsons, epilepsi) och utveckling av flera vacciner. Arbetet med apor har också ökat vår förståelse för hur virus orsakar sjukdom tex hur Zika-viruset orsakar födelsedefekter, och även gett ovärderlig kunskap kring organtransplantation och kardiovaskulära tillstånd.

Som nämnt tidigare mer specifikt till våra studier är att vi kan undersöka relevanta immuniseringslätt (inklusive intramuskulärt), doser och intervall av immuniseringar likt hur vaccinering av människor sker. Studierna kan också pågå under en längre tid (6-36 mån) så att vaccinskyddets långvarighet kan utvärderas.

#### Hållandesätt

- Försöksdjursanläggning
  - 35-998/99 Astrid Fagraeus laboratorium (hus 95:56) - Djuren hålls vid Astrid Fagraeus Laboratorium, Komparativ Medicin, Karolinska Institutet. All aktivitet sker i enlighet med Jordbruksverkets regler och förordningar och med uppfyllande av alla villkor i de tillstånd för hållande av djur som utfärdats. Djuren kan hållas minst parvis med minsta golvyta för ett par apor på 2 m<sup>2</sup> och minsta burhöjd på 2 m men i de flesta fall kommer de hållas flera tillsammans i större gruppburar. Alla djur har tillgång till dagsljus i sina burar. Ensamhållning av apor kommer endast att ske om sjukdom eller onormal aggressivitet mellan aporna kräver detta. Djurens miljö är strukturellt berikad med särskild inriktning på att tillfredsställa djurens fysiologiska och beteendemässiga behov. Berikning och träningsprogram för djuren har utarbetats av en etolog i samarbete med veterinär och övrig personal.

## 4 Försökets genomförande

### Sammanställning av försöksgrupper och åtgärder inom dessa:

**Försöksgrupp:** Studie av vaccin för kombinerat gulafeber och rabiesvaccin

**Undergrupp:** Vaccin 1 intramuskulär immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccinering och provtagning

**Undergrupp:** Vaccin 2 intramuskulär immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Som ovan

**Undergrupp:** Vaccin 1 subkutan immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Som ovan

**Undergrupp:** Vaccin 2 subkutan immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Som ovan

**Undergrupp:** Kontrollgrupp Licensierade gulafebervaccinet Stamaril

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Som ovan

**Undergrupp:** Kontrollgrupp Licensierade rabiesvaccinet Rabipur

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Som ovan

**Försöksgrupp:** Studie av vaccin för RSV (respiratoriskt synsytiavirus)

**Undergrupp:** Vaccin 1, dos 1, intradomal immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccinering och provtagning

**Undergrupp:** Vaccin 1, dos 2, intradomal immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccination och provtagning

**Undergrupp:** Vaccin 2, dos 1, intramuskulär immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccinering och provtagning

**Undergrupp:** Vaccin 2, dos 2, intramuskulär immunisering

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccinering och provtagning



**Försöksgrupp:** Studie av vaccindistribution och immunsvaret i vävnader

**Undergrupp:** Vaccin

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccinering och provtagning

**Undergrupp:** Vaccin biodistribution

**Djurart:** Rhesusapa (*Macaca mulatta*)

**Åtgärd 1:** Vaccinering och provtagning

## 4.1 Försöksgrupp: Studie av vaccin för kombinerat gulafeber och rabiesvaccin

### 4.1.1 Undergrupp: Vaccin 1 intramuskulär immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

**Beskrivning av ras, stam och egenskaper som kan medföra lidande för djuren samt motivering av valet av djur med dessa egenskaper**

Tidigare beskrivet.

**Kön:** Både hanar och honor ämnas användas

**Ålder:** Minst 3 år dvs efter puberteten

#### 4.1.1.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

##### Åtgärd I: Vaccinering och provtagning

##### **Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas**

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Aporna kommer att vaccineras 1-3 gånger under 6-12 månader under ketaminsedering eller annan sövning rekommenderad av KIs veterinärer. All anestesi och analgesi kan komma att ändras efter veterinärs rekommendation vilket gäller genomgående i hela ansökan. Vaccinen, som består av icke-replikerande antigen (protein, protein inkorporerat i biologiskt nedbrytbara polymer nanopartiklar, DNA eller RNA-baserade) eller replikerande försvagade antigen (baserat på försvagade patogener, RNA eller DNA) som administreras intramuskulärt eller subkutant. Dessa kan komma att ges tillsammans med väl utprovade minimalt reaktogena adjuvans som redan är under klinisk användning alternativt under utvärdering för humana applikationer. Den totala injektionsvolymen hålls under 0,5 ml per inokuleringsställe för subkutana och intramuskulära injektioner samt 0,1 ml per inokuleringsställe för intradermala injektioner vilket följer KI veterinärernas rekommendationer. Ibland ges vaccindosen på upp till fyra injektionsställen tex en i högra och vänstra lårmuskeln samt i högra och vänstra armmuskeln per djur och per vaccinationstillfälle.

Blodprov tas före vaccination och upprepade gånger efter vaccinationsperioden för att mäta effekten av vaccinet. Under en ett årsperiod kommer maximalt 20 blodtapningar (oftast ca 1 ggn i månaden) att göras. Den maximala blodvolymen vid ett provtagningstillfälle kommer inte att överstiga 6 ml/kg under en 14 dagarsperiod. Detta är den rekommenderade maxvolymen för blodprov på makaker. Blodprov tas i ljumskvenen under lätt ketaminolsövning.

Benmärg (max 6 ml/tillfälle) från överarmen kommer också tas för analys. Aporna sövs med ketamin och medetomidin eller xylazin intramuskulärt, eller med annan narkos rekommenderad av KIs veterinär. Huden rakas och desinficeras med alkohol. En fin nål avsedd för ryggmärgsprovtagning på barn förs in vid det stora utskottet på överarmsbenet (tuberculum majus humeri). Med en 5 ml spruta dras 1-3 ml benmärg ut upprepade gånger med nålen kvar på plats i benet tills 5-6 ml erhållits. Sövningen kan till viss del reverseras med Atipamezol som ges intramuskulärt eller subkutant när djuren återlämnats i sina burar. Smärtlindring ges med Carprofen eller motsvarande efter rekommendation av KI veterinär.

Prov kommer att tas med minst 2 veckors mellanrum och totalt sett maximalt 6 ggr per djur under ett år. Normalt tas inte prov från samma arm två gånger i rad. Proceduren görs under strikt aseptiska förhållanden för undvikande av infektion genom provtagningstillfället. Benmärgsprovtagning enligt denna procedur har genomförts mer än 200 gånger på AFL utan komplikationer, men om infektion skulle diagnostiseras behandlas denna med antibiotika och smärtstillande medel.

### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som nämnt tidigare så följs vaccinsvaret under en längre för att mäta kvalitet, styrka och långvarighet. Därför behövs upprepade blodprov. För att förstå hur immunologiskt minne bildas och vilken specificitet det långlivade antikroppsvaret har studerar vi inte bara cirkulerande minnes-B celler i blod utan även terminalt differentierade plasmaceller som migrerat till benmärgen. Därför är benmärgsprovtagningarna mycket värdefulla och vi har börjat bygga upp en unik expertis på plasmaceller i makaker som ger oss möjligheter att ställa helt nya frågor. Vi har också etablerat metoder för att djupsekvensera antikropsrepertoier i både minnes-B celler och i plasmaceller genom att isolera RNA och omvandla detta till DNA för sekvensering. Det ger oss en mycket mer komplett bild av det vaccininducerade svaret och därmed nya möjligheter att förbättra existerande vaccinkandidater. Vi har även nyligen baserat på våra tidigare studier börjat producera antikroppar in vitro (klona antikroppar) från minnes-B cellerna vi renat fram från djuren. Detta ger möjlighet att ännu mer djupgående analysera antikropsvarets kvalitet och förstå var de binder på patogenerna. Detta ger även möjlighet att upptäcka antikroppar som skulle kunna användas terapeutiskt till infekterade människor.

### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Vaccinering, blodprovstagning och benmärgsprovtagning görs under sövning som beskrivet ovan eller med annan narkos som rekommenderas av AFLs veterinär. Smärtlindring ges vid benmärgsprovtagning. Försökens svårighetsgrad bedöms vara ringa men eftersom det är upprepade ingrepp så blir bedömningen måttlig svårighetsgrad.

Djuren kommer inte att infekteras i våra studier. Vi använder laboratorieanalyser in vitro för att undersöka förmågan av antikroppar att binda och neutralisera patogenerna. Detta ger en indikation på vilken grad av skydd djuren har uppnått. Våra data kommer jämföras med de välkarakteriserade och kända nivåer av immunsvär som behövs för skydd i de fall det finns. Flera av våra studier har även en grupp djur som får det vaccinet som är godkänt att ge till människor och det blir en viktigt jämförelse mot de nya vaccin som testas.

### Undantag

- Söker undantag från bestämmelserna om hållande och skötsel i L 150.

*Motivering:* För många av de nya vaccin vi testar kräver regelverket att djuren hålls i en högre skyddsnivå än skyddsnivå I som innefattar utevistelse. Detta kan gälla tex nya genmodifierade vaccinkomponenter eller replikerande DNA/RNA där alla mekanismer och potentiella risker inte är helt klarlagda. Det kan i vissa fall även finnas en risk att insektsbett på aporna under utevistelse leder till att insekterna sprider vidare till människor. En högre skyddsnivå kan gälla några av vaccinen i en studie men ej alla. AFLs etolog och djurpersonal har märkt att djuren mår bra att få sitta i stora harmoniska grupper i stora burar. Vi ansöker därför om tillstånd för undantag av kravet för utevistelse för att kunna få bibehålla djuren i en koloni tillsammans även om bara vissa djur får vaccin som kräver detta. Att splittra fungerande grupper är onödigt då aporna igen måste befästa en rangordning. Samtliga burar har tillgång till dagsljus och berikningen för djuren är den samma i skyddsnivåerna.

Detta gäller även då djuren anländer till faciliteten tillsammans och sitter i karantän i högre skyddsnivå tillsammans. Vi ansöker även om tillstånd att få hålla samtliga djur kvar där tillsammans då det är harmoni i gruppen och minskar stress att slippa flytta runt och vid provtagning.

#### 4.1.1.2 Svårighetsgrad och avbrytningspunkt

**Svårighetsgrad:** Måttlig



### Beskrivning av avbrytningspunkten

Försöket kommer avslutas om veterinär gör bedömningen att biverkningar av vaccin eller provtagning inte är acceptabelt. Skador och sjukdomar kan uppkomma i samband med hållning av primater, och dessa behandlas då enligt veterinärmedicinsk praxis. Veterinär finns alltid till hands för att kunna göra en bedömning av det enskilda djurets hälsotillstånd, och sätta in adekvat behandling. Om någon apa skulle uppvisa kliniska tecken på sjukdom eller skada som veterinären inte bedömer som behandlingsbar utan åsamkande av påtagligt lidande, kommer apan att avlivas.

#### 4.1.1.3 Efter försöket

##### **Avlivningsmetod: Överdosis av narkosmedel**

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Avlivning sker under anestesi med ketamin och medetomidin eller xylazin med en överdos pentobarbital.

##### **Bedövningsmetod**

Narkosmedel

##### **Beskrivning av bedövningsmetoden**

Ketamin 10-15 mg/kg im tillsammans med xylazin 0,5 mg/kg im eller tillsammans med medetomidin 0,05-0,1 mg/kg im.

##### **Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött**

- Kontroll att cirkulationen har upphört

##### **Beskrivning av kontrollmetoden**

Veterinär kontrollerar

##### **Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan**

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Eftersom djuren inte utvecklar sjukdom eller blir infekterade i våra försök så kan de med fördel ingå i en efterföljande studie för att minska antalet djur totalt i försök. Detta förutsatt att AFLs veterinär bedömer att det är lämpligt. Djuren som ingått i detta försök kan ingå i en ny studie som utvärderar vaccin mot andra infektionssjukdomar än gula febern och rabies eftersom de har utvecklat immunitet mot dessa. Vi ansöker därmed om att djuren i det fall då det är lämpligt kan få ingå i nya vaccinstudier mot andra infektionssjukdomar. Dessa vaccin innehåller vaccinkomponenter och ingreppen är de samma som är beskrivna i denna ansökan.

#### 4.1.2 Undergrupp: Vaccin 2 intramuskulär immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

##### 4.1.2.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

##### **Åtgärd 1: Som ovan**

##### **Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas**

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

**Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på**

Som ovan

**Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn**

Som ovan

**4.1.2.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt**

Svårhetsgrad: Måttlig

**Beskrivning av avbrytningspunkten**

Som ovan

**4.1.2.3 Efter försöket**

**Avlivningsmetod:** Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

**Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött**

- Kontroll att cirkulationen har upphört

**Beskrivning av kontrollmetoden**

Som ovan

**Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan**

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

**4.1.3 Undergrupp: Vaccin 1 subkutan immunisering**

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

**4.1.3.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för**

**Åtgärd 1:** Som ovan

**Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas**

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

**Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på**

Som ovan

**Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn**

Som ovan

#### 4.1.3.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

##### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan

#### 4.1.3.3 Efter försöket

##### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

#### 4.1.4 Undergrupp: Vaccin 2 subkutan immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

##### 4.1.4.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

###### Åtgärd 1: Som ovan

##### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

##### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som ovan

##### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Som ovan

#### 4.1.4.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

##### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan

#### 4.1.4.3 Efter försöket

##### Avlivningsmetod: Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

##### Bedövningsmetod

Narkosmedel

##### Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan



#### Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

#### Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

#### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

#### 4.1.5 Undergrupp: Kontrollgrupp Licensierade gulafebervaccinet Stamaril

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

##### 4.1.5.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

Åtgärd 1: Som ovan

#### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

#### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som ovan

#### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Som ovan

##### 4.1.5.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

#### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan

##### 4.1.5.3 Efter försöket

Avlivningsmetod: Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

#### Bedövningsmetod

Narkosmedel

#### Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan

#### Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

#### Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

#### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

#### 4.1.6 Undergrupp: Kontrollgrupp Licensierade rabiesvaccinet Rabipur

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

#### 4.1.6.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

**Åtgärd 1:** Som ovan

#### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

#### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som ovan

#### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Som ovan

#### 4.1.6.2 Svårhetsgrad och avbrytningsspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

#### Beskrivning av avbrytningsspunkten

Som ovan

#### 4.1.6.3 Efter försöket

**Avlivningsmetod:** Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

#### Bedövningsmetod

Narkosmedel

#### Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan

#### Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

#### Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

## 4.2 Försöksgrupp: Studie av vaccin för RSV (respiratoriskt synsytievirus)

### 4.2.1 Undergrupp: Vaccin 1, dos 1, intrademal immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

#### 4.2.1.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

Åtgärd 1: Vaccinering och provtagning
---------------------------------------

#### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Aporna kommer att vaccineras 1-3 gånger under 6-12 månader under ketaminsedering eller annan sövning rekommenderad av KIs veterinärer. Vaccinen, som består av icke-replikerande antigen (protein, protein inkorporerat i biologiskt nedbrytbara polymer nanopartiklar, DNA eller RNA-baserade) eller replikerande försvagade antigen (baserat på försvagade patogener, RNA eller DNA) som administreras intramuskulärt eller subkutant. Dessa kan komma att ges tillsammans med väl utprovade minimalt reaktogena adjuvans som redan är under klinisk användning alternativt under utvärdering för humana applikationer. Den totala injektionsvolymen hålls under 0,5 ml per inokuleringsställe för subkutana och intramuskulära injektioner samt 0,1 ml per inokuleringsställe för intradermala injektioner vilket följer KI veterinärernas rekommendationer. Ibland ges vaccindosen på upp till fyra injektionsställen tex en i högra och vänstra lårmuskeln samt i högra och vänstra armmuskeln per djur och per vaccinationstillfälle.

Blodprov tas före vaccination och upprepade gånger efter vaccinationsperioden för att mäta effekten av vaccinet. Under en ett årsperiod kommer maximalt 20 blodtappningar (oftast ca 1 ggn i månaden) att göras. Den maximala blodvolymen vid ett provtagningstillfälle kommer inte att överstiga 6 ml/kg under en 14 dagarsperiod. Detta är den rekommenderade maxvolymen för blodprov på makaker. Blodprov tas i ljumskvenen under lätt ketaminolsövning.

I vissa fall kommer även lymfkörtelbiopsier tas vid max två tillfällen under uppföljningen. En körtel belägen strax under huden i armhålan eller i ljumskan tas ut under sövning med Ketamin och xylazin eller medetomidin, eller annan narkos rekommenderad av KIs veterinär. Smärtlindring ges med carprofen 4 mg/kg im.

Därefter sys huden igen. I enstaka fall kan en ytlig hudbiopsi tas under liknande narkos som ovan.

När vaccin för tex patogener som infekterar luftvägarna kan det bli aktuellt att göra en nasopharynx sköljning av näshålan och/eller en bronkoalveolär sköljning (BAL) av lungan. För sköljningarna så sövs apan med ketamin och xylazin eller annan narkos rekommenderad av KIs veterinär. Ett bronkoskop för pediatrikt bruk med en provtagningskanal används till BAL sköljningen. Med hjälp av ett laryngoskop visualiseras struphuvudet, som lokalbedövas med Xylocain-spray innan bronkoskopet förs ner genom luftstrupen till en av lungans lober och förbi 2-3 bronkförgreningar. Där täpps bronken till och 25 ml fysiologisk koksaltlösning spolats ner i bronken, och suggs omedelbart upp igen. Atipamezol ges efter ingreppet. Proceduren upprepas 2-4 gånger, varefter bronkoskopet sakta dras ut igen. BAL sköljning sker maximalt 3 gånger under ett år.



### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som nämnt tidigare så följs vaccinsvaret under en längre för att mäta kvalitet, styrka och långvarighet. Därför behövs upprepade blodprov.

För att mäta huruvida vaccin-specifika effektor T celler finns spridda i kroppen och ffa i slemhinneassocierade vävnader gör vi då det är befogat en nasopharynx sköljning och/eller en BAL sköljning. Detta är ett vanligt och mindre invasivt sätt att studera T cellssvar i vävnad på och relevant med avseende på luftvägsinfektioner. Med detta material kan vi också mäta antikroppsmängden på de anatomiska målorgan där smitta och infektion sker.

Lymfkörtlar är essentiella för att starta immunsvaret och aktiviteten där bestämmer utfallet av vaccinsvaret. Detta kan då vara viktigt att studera för att förstå immunologin bakom vaccinsvaret.

### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Vaccinering och provtagning görs under sövning som beskrivet ovan. Försökens svårighetsgrad bedöms vara ringa men eftersom det är upprepade ingrepp så blir bedömningen måttlig svårighetsgrad.

Djuren sövs vid blodprovstagning, lymfkörtelbiopsi och vid BAL-sköljning och atipamezol ges vid BAL-sköljning för att förkorta uppvakningen. De får smärtlindring vid lymfkörtelbiopsi och lokalbedövning vid BAL-sköljning.

Djuren kommer inte att infekteras i våra studier. Vi använder laboratorieanalyser in vitro för att undersöka förmågan av antikroppar att binda och neutralisera patogenerna. Detta ger en indikation på vilken grad av skydd djuren har uppnått. Våra data kommer jämföras med de nivåer av immunsvaret som inducerats i andra studier. Det finns även en antikropp (Palivizumab) som används som terapi för RSV infektion och vi kommer jämföra kvaliteten på antikropparna inducerade i vår studie med denna antikropp.

### Undantag

- Söker undantag från bestämmelserna om hållande och skötsel i L 150.

*Motivering:* Som ovan

#### 4.2.1.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

**Svårhetsgrad:** Måttlig

#### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan.

#### 4.2.1.3 Efter försöket

**Avlivningsmetod:** Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

#### Bedövningsmetod

Narkosmedel

#### Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan

#### Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

#### Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

#### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Eftersom djuren inte utvecklar sjukdom eller blir infekterade i våra försök så kan de med fördel ingå i en efterföljande studie för att minska antalet djur totalt i försök. Detta förutsatt att KIs veterinär bedömer att det är lämpligt. Dessa djur kan ingå i en ny studie som utvärderar vaccin mot andra infektionssjukdomar än RSV eftersom de har utvecklat RSV-immunitet. Vi ansöker därmed om att djuren i det fall då det är lämpligt kan få ingå i nya vaccinstudier mot andra infektionssjukdomar. Dessa vacciner innehåller vaccinkomponenter och ingredienser som är beskrivna i denna ansökan.

#### 4.2.2 Undergrupp: Vaccin 1, dos 2, intrademal immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

##### 4.2.2.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

**Åtgärd 1:** Vaccination och provtagning

##### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

##### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som ovan

##### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Som ovan

##### 4.2.2.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

##### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan

##### 4.2.2.3 Efter försöket

**Avlivningsmetod:** Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

## Bedövningsmetod

Narkosmedel

## Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan

## Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

## Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

## 4.2.3 Undergrupp: Vaccin 2, dos 1, intramuskulär immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Föresöksdjursanläggning

### 4.2.3.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

#### Åtgärd 1: Vaccinering och provtagning

#### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

#### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som ovan

#### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Som ovan

### 4.2.3.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

#### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan

### 4.2.3.3 Efter försöket

#### Avlivningsmetod: Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan



#### Bedövningsmetod

Narkosmedel

#### Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan

#### Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

#### Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

#### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

#### 4.2.4 Undergrupp: Vaccin 2, dos 2, intramuskulär immunisering

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 6 st, Försöksdjursanläggning

##### 4.2.4.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

#### Åtgärd 1: Vaccinering och provtagning

#### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

#### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som ovan

#### Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn

Som ovan

##### 4.2.4.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

#### Beskrivning av avbrytningspunkten

Som ovan

##### 4.2.4.3 Efter försöket

#### Avlivningsmetod: Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

### Bedövningsmetod

Narkosmedel

### Beskrivning av bedövningsmetoden

Som ovan

### Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött

- Kontroll att cirkulationen har upphört

### Beskrivning av kontrollmetoden

Som ovan

### Djuren ingår i andra grupper i denna ansökan

*Beskrivning av vilken/vilka övriga grupper djuren kommer att ingå i.*

Som ovan

## 4.3 Försöksgrupp: Studie av vaccindistribution och immunsvår i vävnader

### 4.3.1 Undergrupp: Vaccin

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 3 st, Försöksdjursanläggning

#### 4.3.1.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

##### Åtgärd 1: Vaccinering och provtagning

#### Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuellt fysiskt och psykiskt lidande.*

Aporna kommer att vaccineras 1-3 gånger under 6-12 månader under ketaminolosedering eller annan sövning rekommenderad av KIs veterinärer. Vaccinen, som består av icke-replikerande antigen (protein, protein inkorporerat i biologiskt nedbrytbara polymer nanopartiklar, DNA eller RNA-baserade) eller replikerande försvagade antigen (baserat på försvagade patogener, RNA eller DNA) som administreras intramuskulärt eller subkutant. Dessa kan komma att ges tillsammans med väl utprovade minimalt reaktogena adjuvans som redan är under klinisk användning alternativt under utvärdering för humana applikationer. Den totala injektionsvolymen hålls under 0,5 ml per inokuleringsställe för subkutana och intramuskulära injektioner samt 0,1 ml per inokuleringsställe för intradermala injektioner vilket följer KI veterinärernas rekommendationer. Ibland ges vaccindosen på upp till fyra injektionsställen tex en i högra och vänstra lårmuskeln samt i högra och vänstra armmuskeln per djur och per vaccinationstillfälle.

Blodprov tas före vaccination och upprepade gånger efter vaccinationsperioden för att mäta effekten av vaccinet enligt ovan. Benmärg (max 6 ml/tillfälle) från överarmen kan också tas för analys enligt ovan. För att undersöka vaccinet och vaccinsvarets spridning till olika organ i kroppen avlivas djuret och ett flertal organ tas till analys. Vid avlivning tas ofta biopsier från vaccininjeceringsställena, dränerande och icke-dränerande lymfkörtlar, mjälte, lever, slemhinnor etc.

#### Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på

Som nämnt tidigare så följs vaccinsvaret under en period och därför behövs upprepade blodprov. För att mäta huruvida vaccin-specifika effektor T celler samt minnes-B cells finns spridda i olika organ

samt om förekomst av vaccin kan hittas i olika organs gör vi då det är befogat en extensiv undersökning av flera organ vilket kräver avlivning av djuret. Detta är viktigt att kunna studera ingående både säkerhetsaspekter med vaccinet men också att förstå immunologin bakom vaccinsvaret och den skyddande effekten.

#### **Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn**

Vaccinering och provtagning görs under sövning som beskrivet ovan. Försökens svårighetsgrad bedöms vara ringa men eftersom det är upprepade ingrepp så blir bedömningen måttlig svårighetsgrad.

Djuren kommer inte att infekteras i våra studier. Vi använder laboratorieanalyser in vitro för att undersöka förmågan av antikroppar att binda och neutralisera patogenerna. Detta ger en indikation på vilken grad av skydd djuren har uppnått.

#### **Undantag**

- Söker undantag från bestämmelserna om hållande och skötsel i L 150.

*Motivering:* Som ovan

#### **4.3.1.2 Svårighetsgrad och avbrytningspunkt**

Svårighetsgrad: Måttlig

#### **Beskrivning av avbrytningspunkten**

Som ovan

#### **4.3.1.3 Efter försöket**

**Avlivningsmetod:** Överdosis av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

#### **Bedövningsmetod**

Narkosmedel

#### **Beskrivning av bedövningsmetoden**

Som ovan

#### **Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött**

- Kontroll att cirkulationen har upphört

#### **Beskrivning av kontrollmetoden**

Som ovan

#### **4.3.2 Undergrupp: Vaccin biodistribution**

Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 3 st, Försöksdjursanläggning



#### 4.3.2.1 Beskrivning av de åtgärder/ingrepp djuren kommer att utsättas för

##### Åtgärd 1: Vaccinering och provtagning

##### **Ingående beskrivning av åtgärden och hur djuret kommer att påverkas**

*Vad djuret kommer att utsättas för inklusive försöksperiodens längd för det enskilda djuret.*

*Beskrivning av hur djuret kommer att påverkas – eventuell fysiskt och psykiskt lidande.*

Som ovan

##### **Motivering av åtgärden – varför den behöver göras och varför beskrivet sätt är det bästa sättet att utföra åtgärden på**

Som ovan

##### **Beskrivning av vad som ska göras för att minska djurets lidande – både farmakologisk lindring och övriga insatser liksom ökad tillsyn**

Som ovan

#### 4.3.2.2 Svårhetsgrad och avbrytningspunkt

Svårhetsgrad: Måttlig

##### **Beskrivning av avbrytningspunkten**

Som ovan

#### 4.3.2.3 Efter försöket

##### Avlivningsmetod: Överdos av narkosmedel

*Om metoden inte gäller alla djur ska de djur anges som ska avlivas på detta sätt.*

Som ovan

##### **Bedövningsmetod**

Narkosmedel

##### **Beskrivning av bedövningsmetoden**

Som ovan

##### **Kontrollmetod för att säkerställa att djuret är dött**

- Kontroll att cirkulationen har upphört

##### **Beskrivning av kontrollmetoden**

Som ovan

## 5 Undantag, sammanfattning

### Söker undantag från Jordbruksverkets föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur (L150)

- Söker undantag från bestämmelserna om hållande och skötsel i L 150.

# Populärvetenskaplig sammanfattning

## Titel

Vaccinforskning på apor

## Sökord

vaccin, immunsvär, adjuvans, B celler, T celler

## Varaktighet

Försöket beräknas pågå till 2024-11-29

## Använda djurarter

- Rhesusapa (*Macaca mulatta*), 120 st

## Syfte med försöket

- 1 Grundforskning
- 2 Forskning om vilka effekter sjukdomar, ohälsa eller annat avvikande tillstånd har på människor, djur eller växter samt hur de ska undvikas, förebyggas, diagnosticeras eller behandlas
- 3 Forskning som innebär utvärdering, påvisande, reglering eller modifiering av fysiologiska tillstånd hos människor, djur eller växter
- 4 Forskning som syftar till förbättring av djurens välfärd
- 5 Utveckling, tillverkning eller testning av kvalitet, effekt och säkerhet av läkemedel, livsmedel, foder och andra ämnen eller produkter. Detta gäller endast i de syften som avses i 2-4
- 6 Forskning som syftar till artskydd
- 7 Skydd av den naturliga miljön för att bevara människors hälsa eller välfärd
- 8 Skydd av den naturliga miljön för att bevara djurs hälsa eller välfärd
- 9 Rättsmedicinska undersökningar
- 10 Användning i högskoleutbildning eller i utbildning som syftar till att förvärva, upprätthålla eller utveckla yrkesfärdigheter under förutsättning att användningen framgår av utbildningens kursplaner, och är nödvändig med hänsyn till syftet med utbildningen.
- 11 Framställning och upprätthållande av en genetiskt modifierad djurstam
- 12 Annat - gäller endast för försök som sannolikt inte orsakar lidande i lika stor eller större utsträckning än ett nålstick som utförts enligt god veterinärmedicinsk praxis



## Beskrivning av syftet med försöket

*Beskrivning av vad forskaren syftar till att uppnå, ta reda på, fastställa eller framställa genom att utföra detta försök.*

Syftet med forskningen är att använda makaker (apor) för att utveckla och utvärdera nya vaccin mot infektionssjukdomar. Specifika syften är att studera a) hur säkert vaccinet är med avseende på eventuella biverkningar. b) vilken kvalitet och styrka vaccinsvaren har. c) hur långvariga vaccinsvaren är. d) vilka celler i immunsystemet som aktiveras och som bidrar till skyddande effekt för att förhindra infektion. e) huruvida olika administreringssätt, doser och antal immuniseringar av vaccin skiljer sig. f) om nya vaccin stimulerar bättre vaccinsvar jämfört med befintliga vaccin i kliniskt bruk i de fall det redan existerar ett godkänt vaccin.

## Beskrivning av nyttan av försöket

*Beskrivning av nyttan för människa, djur eller miljö. Hur resultaten väntas få betydelse för den medicinska eller biologiska utvecklingen och när det gäller grundforskning vilka framsteg eller nya rön som kan förväntas på längre sikt.*

Vaccination är en av de medicinska uppfinningar som räddat flest liv. Dock finns det flera dödliga infektionssjukdomar som det ännu ej finns vaccin för. Omkring 30 miljoner människor är Hiv-infekterade. Det är över 200 miljoner infektioner av malariaparasiter och omkring 500 000 dör i malaria varje år. Närmare 2 miljoner människor dör årligen i tuberkulos och det befintliga vaccinet ger inte ett fullgott skydd. Övre luftvägsinfektioner så som respiratoriskt syncytievirus (RSV) och influensa skördar tillsammans miljoner liv. Skyddande vaccin skulle ha enorma socioekonomiska konsekvenser.

Med de moderna tekniker som finns tillgängliga idag finns det möjlighet att exakt designa vaccinantigen som man vill ha dem, använda byggstenar som liknar det riktiga patogenet men är ofarliga, använda immunstimulerande adjuvans som specifikt stimulerar en receptor samt tillverka vaccin snabbare och mer kostnadseffektivt. Det finns också förutsättningar och förbättra flera befintliga vaccin med de nya typerna av vaccinkomponenter så att man tex skulle kunna ge lägre doser och/eller färre immuniseringar. Flera nya vaccinkomponenter som tex de som bygger på DNA eller RNA sekvenser skulle dessutom kunna massproduceras till ett billigare pris vilket skulle göra att till exempel vaccinet mot rabies skulle kunna finnas tillgängligt i områden där det behövs som mest men där det inte finns ekonomiska resurser att vaccinera. En annan viktig faktor är att flera av de nya vaccinkomponenterna utvecklas för att inte behöva en sk "cold-chain" dvs tillgång till kylskåp eller frysar under distribuering och förvaring.

Eftersom det är en stor utmaning att utveckla vaccin mot flera av de farligaste infektionerna har vikten av att förstå den underliggande immunologin kommit mer och mer i fokus. För att detta ska bli värdefullt krävs det att det immunologiska svaret efter vaccinering är så likt människans som möjligt. Vi delar så mycket som i snitt 94% av vårt DNA genom med apor och deras immunsystem är därför mycket mer fysiologiskt relevant för hur vårt ser ut än vad vi kan lära ifrån forskning på gnagare. Eftersom apor är större och har en längre livslängd än gnagare kan de också följas under långa perioder för att kunna se hur väl det skyddande immunsvaret upprätthålls. De flesta vacciner behöver påfyllnadsdoser och det kan också utvärderas mycket mer exakt i apor. Apor spelar därför en unik roll i utvecklingen av nya vacciner. Vaccinforskningen på apor har resulterat i viktig information i utformningen av kliniska studier. Eftersom målgrupperna för vacciner vanligen består av friska människor däribland barn, måste vacciner bevisas vara mycket säkra samtidigt som de har förmågan att stimulera starka immunsvår. Detta gör att det finns en extra försiktighetsaspekt och nytta med att först testa i apor innan kliniska studier.

## Beskrivning av vilken påverkan försöket förväntas ha på djuren

*Beskrivning av vilka negativa effekter försöket förväntas ha på djuren och vad som ska hända med djuren efter försöket.*

Samtliga moment i försöket utförs under narkos och är av ringa svårighetsgrad, t ex blodprovstagning, benmärgsprovtagning och lymfkörtelprovtagning men på grund av upprepade provtagningar anges svårighetsgraden som måttlig. Skador och sjukdomar kan uppkomma i samband med hållning av primater, och dessa behandlas då enligt veterinärmedicinsk praxis. Vid våra försök finns alltid en veterinär till hands för att göra en bedömning av det enskilda djurets hälsotillstånd, och sätta in adekvat behandling om så skulle behövas.

### 3R - Ersätta (Replace)

*Varför djur måste användas och varför djurfria alternativ inte går att använda.*

3R principen genomsyrar alla våra försök. För forskning som rör vaccnutveckling finns begränsade alternativa djurmodeller då endast apor har samma likhet genetiskt och anatomiskt som människa och vaccinsvar utvecklar sig och går ner på snarlikt sätt. Vi kan därför inte ersätta apor med en annan djurmodell. Målgrupperna för vacciner består av friska människor däribland barn, och därför måste vacciner bevisas vara mycket säkra men ha förmågan att stimulera starka immunsvar.

### 3R - Begränsa (Reduce)

*Vad forskaren har gjort för att försäkra sig om att de använder det minsta möjliga antalet djur.*

Vi strävar alltid efter att begränsa antalet djur som sätts i försök och vi applicerar möjligheten att återanvända djur i efterföljande studier. Vi undersöker alltför parametrar för att vidare förfina studierna för maximal mängd information från så få djur som möjligt. För i stort sett alla våra frågeställningar kan vi använda nedfrysade celler och serum vilket gör att vi kan fortsätta utföra detaljerad forskning om immunsystemets genetik och funktion långt efter att djuren inte längre finns kvar.

### 3R - Förfina (Refine)

*Förklaring till valet av djurart och varför de metoder som används är de mest skonsamma med hänsyn till att uppnå syftet med försöket. Beskrivning vad forskaren gör för att minimera djurens eventuella lidande.*

Vaccinering och provtagning görs under sedering eller sövning. Djuren får smärtlindring benmärgsprovtagning och lymfkörtelbiopsi samt lokalbedövning vid lungsköljning. Djuren kommer inte att infekteras i våra studier. Vi använder laboratorieanalyser in vitro för att undersöka förmågan av antikroppar att binda och neutralisera patogenerna. Detta ger en indikation på vilken grad av skydd djuren har uppnått. Vi har under den senaste försöksperioden karakteriserat immunsvaret i apa i stor detalj, både vad det gäller genetiska, fenotypiska och funktionella aspekter samt svar på vaccinering. Detta bakgrundsarbete har gett förfinade analysmetoder så att mer information kan tillskannans vid varje försök så att färre försök kan utföras på sikt.