Universiteit Leiden
The Netherlands

Replacing the needle and syringe for vaccine administration

Hirschberg, H.J.H.B.

Citation
Hirschberg, H. J. H. B. (2015, April 1). *Replacing the needle and syringe for vaccine administration*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/32637

Version:	Corrected Publisher's Version
License:	Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/32637

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

Leiden University Repository

The handle http://hdl.handle.net/1887/32637 holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Hirschberg, Hoang JHB
Title: Replacing the needle and syringe for vaccine administration
Issue Date: 2015-04-01

Appendix

Nederlandse Samenvatting
List of Abbreviations
List of Publications
Curriculum Vitae

Nederlandse Samenvatting

De meeste humane vaccinaties worden d.m.v. de traditionele naaldinjectie toegediend in de spier (intramusculair) of onder de huid (subcutaan). Van alle 25 a 30 geregistreerde vaccins zijn er slechts enkele die via een andere route worden toegediend:

- Tegen polio, typhus, rotavirus en cholera bestaat een oraal (via de mond) vaccin
- Tegen BCG (bacillus Calmette-Guerin), pokken en rabiës bestaat een intradermaal (in de huid) vaccin.
- Tegen influenza (griep) bestaat zowel een intradermaal als een nasaal (via de neus) vaccin.

Naaldinjecties worden veel toegepast. De WHO rapporteerde in 2004 16 miljard uitgevoerde naaldinjecties waarvan 800 miljoen vaccinaties. Aan traditionele naaldinjecties kleven echter nadelen:

- Het hergebruik van naalden (vooral in ontwikkelingslanden) en prikongelukken zorgen voor besmettingsgevaar waardoor zowel patiënten als hulpverleners besmet kunnen raken met infectieziekten zoals hepatitis b en hiv. Per jaar worden circa 2 miljoen infecties, die te wijten zijn aan naaldincidenten, gerapporteerd bij gezondheidswerkers.
- Voor naaldinjecties is geschoold en getraind personeel nodig. Dit is niet altijd voorhanden in ontwikkelingslanden en brengt hoge kosten met zich mee.
- Mensen zijn bang voor naalden. Dit psychisch aspect bij kinderen en ouders is een mogelijke reden om zich niet te laten vaccineren.

In de toekomst zullen nieuwe vaccins geïntroduceerd worden. Om het aantal injecties in te perken kunnen meerdere vaccins in een cocktail gemengd worden. Dit noemen we combinatievaccins. In het Nederlandse Rijksvaccinatieprogramma (RVP) wordt bv het DKTP-Hib-Hep (difterie, kinkhoest, tetanus, polio, haemophilus influenzae type B, hepatitis B) vaccin gebruikt. Hiermee kunnen kinderen met slechts 1prik gevaccineerd worden tegen 6 ziekten. Combinatie vaccins zijn echter moeilijk te ontwikkelen doordat bv de verschillende vaccin componenten en toevoegingen invloed op elkaar kunnen hebben. Voordat een

combinatievaccin geregistreerd wordt zijn uitgebreide klinische studies nodig. Deze aspecten maken het ontwikkeltraject voor combinatievaccins duur, wat economisch niet altijd aantrekkelijk is voor vaccinproducenten.
Om het aantal prikken te reduceren kunnen vaccins ook toegediend worden via alternatieve (naaldloze) toedieningswijzen. De ideale toedieningswijze voor vaccins is effectief, veilig, snel en pijnloos. Voorbeelden van alternatieve toedieningswijzen voor vaccinaties die momenteel in ontwikkeling zijn, zijn bv pleisters, tatoeages, implantaten, naaldloze vloeistof- of poeder injecties, pulmonale (via de longen)-, orale-, sublinguale (via de tong) toedieningen.
Het ontwikkeltraject voor een nieuwe toedieningsvorm van een bestaand vaccin kan soms even lang duren als de ontwikkeling van een heel nieuw vaccin omdat nieuwe vaccinformuleringen (= samenstellingen) ontwikkeld moeten worden. Deze ontwikkeltrajecten zijn vaak duur en samenwerking met de industrie is hierbij cruciaal.

Focus van dit proefschrift

In dit proefschrift is onderzoek gedaan naar een aantal alternatieve toedieningswijzen via de huid:

1) elastische vesikels gecombineerd met micronaalden
2) Bionaalden
3) vloeistof jet injecties.

Nieuwe vaccinformuleringen zijn ontworpen, gekarakteriseerd en vervolgens getest op werkzaamheid in muizen of varkens. Hierbij is de nieuwe toedieningsvorm steeds vergeleken met de vloeibare vaccinformulering die via de traditionele route (intramusculaire) wordt toegediend middels naaldinjecties.

Samenvatting Proefschrift

Het proefschrift begint met een algemene inleiding **(hoofdstuk 1)** over alternatieve toedieningsvormen via of door de huid. De huid bestaat uit drie lagen: de buitenste hoornlaag (het stratum corneum*)*, de vitale epidermis en de dermis. Vaccins kunnen op de huid worden aangebracht. Deze route noemen we “topicaal”. Een voorbeeld hiervan is een voorbehandeling van de huid met

hele kleine naaldjes, gevolgd door een pleister met het vaccin. Het vaccin kan ook dieper in de huid toegediend worden, in de vitale epidermis of de dermis. Dit wordt een intradermale toediening genoemd. Voorbeelden hiervan zijn vloeistofinjecties of hele kleine naaldjes die net lang genoeg zijn om tot in de vitale epidermis of dermis te prikken. Bij topicale en intradermale toedieningen wordt de huid getriggered en initieert een immunologische reactie. De huid is het grootste orgaan in de mens en bevat veel immuuncellen. Dit maakt de huid aantrekkelijk voor vaccinaties. Anderzijds zorgt de huid (met name het stratum corneum) voor fysieke bescherming tegen pathogenen en andere lichaamsvreemde stoffen. De uitdaging bij topicale vaccinatie is daarom het effectief passeren van het stratum corneum. Hiervoor kan de huid voorbehandeld worden met bijvoorbeeld micronaalden, of speciaal schuurpapier.
Het vaccin kan ook door de huid heen worden toegediend, in de vetlaag onder de huid (subcutaan) of nog dieper, in de spier (intramusculair). Voorbeelden voor alternatieve toedieningsvormen via de subcutane en intramusculaire routes zijn implantaten en vloeistof-of poeder injecties die onder hoge druk gegeven worden.
De nadelen van traditionele naaldinjecties, het groeiend aantal vaccinaties in de toekomst en de behoefte voor effectieve, veilige, snelle en pijnloze toedieningen, zijn aanleiding tot de vele onderzoeken naar alternatieve toedieningsvormen.

Hoofdstuk 2 is een review artikel over de verschillen en gelijkenissen tussen diermodellen die gebruikt worden bij topicale en intradermale vaccinaties in relatie tot de mens. In de ontwikkeling van een nieuw vaccin of nieuwe toedieningsvorm worden altijd dierstudies gedaan (preklinische studies) naar veiligheid en effectiviteit, voordat deze in mensen worden getest (klinische studies). Dierexperimenten zijn niet altijd voorspellend voor humane studies. Het diermodel, de proefopzet en condities worden bij voorkeur zo gekozen dat het dierexperiment zoveel mogelijk de condities in de mens nabootst. De meeste dierexperimenten met vaccins worden uitgevoerd met muizen hoewel het varken in veel opzichten meer overeenkomsten heeft met de mens. Experimenten met varkens zijn echter minder praktisch en veel duurder.
Bij vaccinatie via de huid zijn de anatomische verschillen van dierenhuid en humane huid een extra aandachtsgebied. Voor topicale toedieningen zal vooral de dikte van de stratum corneum een belangrijke rol spelen. Deze laag beschermt

het lichaam tegen het indringen van lichaamsvreemde stoffen. De dikte van het stratum corneum verschilt niet alleen in de verschillende species, maar ook in eenzelfde species afhankelijk van de locatie. Muizenhuid is meer doorlaatbaar dan varkenshuid en mensenhuid. Dit is voornamelijk te wijten aan het verschil in het aantal cellagen in het stratum corneum. Het verschil in doorlaatbaarheid zou ook verklaard kunnen worden door het verschil in de dichtheid van de haarzakjes. Varkens hebben een lagere haarzakjesdichtheid dan muizen en bootsen in dat opzicht de situatie in mensen beter na dan muizen doen. In muizen wordt o.a om deze reden regelmatig gebruik gemaakt van het oor als immunisatieplek, waar de haargroeidichtheid lager is dan op andere locaties in de muizenhuid.
Bij intradermale toedieningen spelen verschillen in elasticiteit van de huid en de dikte van de levende epidermis en de dermis een rol. De uitdaging bij intradermale toedieningen is om niet te diep toe te dienen waardoor (een gedeelte) van het vaccin subcutaan toegediend wordt.
Naast de anatomische verschillen, zullen verschillen in immuuncellen tussen mens en dier ook invloed hebben op de voorspelbaarheid van dierstudies voor humane studies. In de literatuur is veel gepubliceerd over de immuuncellen in muizen- en mensenhuid. De overeenkomsten en verschillen zijn door de vele, soms tegenstrijdige, studies moeilijk aan te wijzen.

Hoewel het stratum corneum een barrière functie heeft, lukt het bepaalde bacteriële enterotoxinen (vaccin tegen reizigers diarrhee) wel om zonder ‘hulpmiddelen’ door de huid te dringen. Over het algemeen zullen ‘hulpmiddelen’ gebruikt moeten worden om het stratum corneum te passeren zodat voldoende vaccin in de huid terecht komt om een immuunrespons op te wekken. Voorbeelden hiervan zijn elastische vesikels en micronaalden (**hoofdstuk 3**). Vesikels zijn kleine bolvormige deeltjes bestaande uit een membraan. In deze deeltjes kan het vaccin ingebouwd worden. Door de samenstelling van de vesikels te variëren kan het deeltje elastisch worden. De elasticiteit zorgt ervoor dat het deeltje beter in staat is het vaccin via het stratum corneum in de vitale epidermis te brengen, waar zich de immuuncellen bevinden.
Een andere manier om de toegang tot de vitale epidermis te verbeteren is het voorbehandelen van de huid met micronaalden. Dit zijn hele kleine naaldjes die niet verder prikken dan de vitale epidermis of bovenste gedeelte van de dermis. Hier bevinden zich geen zenuwen (zenuwuiteinden bevinden zich dieper in de

dermis) waardoor deze behandeling geen pijn doet. Via de geprikte gaatjes kan de vaccinformulering in de huid opgenomen worden.
In hoofdstuk 3 zijn studies beschreven waarin twee soorten (verschillende samenstelling) elastische vesikels met hepatitis B antigeen gemaakt en gekarakteriseerd zijn (deeltjesgrootte, deeltjes lading, mate van elasticiteit en vaccin inbouw). Muizen zijn vervolgens geïmmuniseerd met deze elastische vaccinformuleringen waarbij de invloed van cholera toxine als adjuvans (hulpmiddel voor een effectiever immuunrespons) en de voorbehandeling van de huid met micronaalden zijn onderzocht. Uit het onderzoek bleek dat alleen een immuunrespons opgewekt kon worden met elastische vesikels als de huid voorbehandeld werd met micronaalden. Deze immuunrespons kon verbeterd worden door het gebruik van cholera toxine als adjuvans. De immuunrespons was echter aanzienlijk minder goed dan de immuunrespons verkregen via de intramusculaire injectie met de traditionele naald en spuit en met het klassieke adjuvant aluminium hydroxide.

In **hoofdstuk 4** zijn studies beschreven die uitgevoerd zijn met Bionaalden. Bionaalden zijn holle naaldjes (~1.5 cm lang) gemaakt van zetmeel, die gevuld worden met vaccin. De Bionaald wordt vervolgens gevriesdroogd en kan subcutaan toegediend worden dmv luchtdruk. De Bionaald lost op en het vaccin komt vrij. Een groot voordeel van deze toedieningswijze is dat geen dure ‘koude keten’ nodig is voor transport en opslag omdat het niet nodig is om deze vaste toedieningsvorm gekoeld te bewaren. Dit in tegenstelling tot vloeibare vaccins die bij 4 °C bewaard moeten worden. Voor ontwikkelingslanden, met vaak een slechte infrastructuur en waar vaak hoge temperaturen heersen, is het handhaven van de koude keten een groot probleem. Bionaalden zouden hiervoor een goede oplossing bieden. Een ander voordeel van Bionaalden is de snelheid waarmee toegediend kan worden. Bij bijvoorbeeld massavaccinatie campagnes zouden in dezelfde tijd meer mensen gevaccineerd kunnen worden dan met de traditionele naald en spuit omdat geen spuiten gevuld, leeggedrukt of opgeruimd hoeven te worden. Doordat de Bionaald niet zichtbaar is tijdens toedienen, zal deze toedieningswijze bij de gevaccineerde naar verwachting minder angst opwekken dan de spuit en naald.
In hoofdstuk 4 zijn Bionaalden beschreven die gevuld zijn met of alleen tetanus toxoïd of met tetanus toxoïd en het adjuvans aluminium fosfaat.

In stabiliteitsstudies, waarbij Bionaald formuleringen en vloeibare vaccin formuleringen blootgesteld zijn aan hoge temperaturen, is aangetoond dat Bionaald formuleringen met tetanus toxoïd bij 60°C stabieler zijn dan reguliere vloeibare vaccin formuleringen.
In dierexperimenten met muizen werden met Bionaald formuleringen met tetanus toxoïd en aluminium fosfaat vergelijkbare immuunresponsen opgewekt als met de conventionele vloeibare vaccin formuleringen (tetanus toxoïd en aluminium fosfaat). Bovendien kon met Bionaald formuleringen, in vergelijking tot reguliere injecties, 4 keer minder antigeen (actieve stof in een vaccin, in dit geval tetanus toxoid) gebruikt worden om eenzelfde immuunrespons op te wekken. Met deze studies is aangetoond dat, voor tetanus toxoïd, de Bionaald een goed alternatief is voor injecties met naald en spuit.

In **hoofdstuk 5** wordt het onderzoek met Bionaalden, gevuld met hepatititis B antigeen (HepB), beschreven. In dit onderzoek werden twee verschillende adjuvans gebruikt: aluminium hydroxide en lpxL1. In *in vitro* stabiliteit studies bleken Bionaalden met alleen HepB of met HepB en het adjuvans lpxL1, bij hogere temperaturen stabieler te zijn dan vloeibare formuleringen. De Bionaalden met lpxL1 waren hierbij het meest stabiel en vertoonden na 3 weken bij 50 °C geen verlies in activiteit.
Muizen zijn vervolgens geïmmuniseerd met HepB Bionaalden (met en zonder adjuvans) en met vloeibare formuleringen die toegediend werden met een spuit en naald. Alleen met Bionaalden waarin zich zowel HepB en lpxL1 bevonden werden even hoge immuunresponsen opgewekt als met de vloeibare formuleringen. Met deze studies is aangetoond dat HepB, in de aanwezigheid van lpxL1, goed gevriesdroogd kan worden in Bionaalden, en dat deze formuleringen vergelijkbare immuunresponsen in muizen opwekken als het traditionele vaccin, ingespoten met een naald.

In een klinische studie (studie in mensen) zijn lege Bionaalden getest in een groep van 18 vrijwilligers (**hoofdstuk 6**). Hierbij is onderzoek gedaan naar de veiligheid van het Bionaald materiaal waarbij gekeken is naar interne weefselschade, bijwerkingen (o.a algehele malaise, hoofdpijn, allergische reacties, huidirritaties), de snelheid waarmee de Bionaald oplost na toedienen en de pijnsensatie. Studies op biopten hebben aangetoond dat het zetmeel, waaruit de Bionaald

is gemaakt, geen ernstige weefselschade veroorzaakt. Het Bionaald materiaal is binnen enkele uren verdwenen van de plek van toediening. De gerapporteerde bijwerkingen konden niet gerelateerd worden aan het Bionaald materiaal. De toediening zelf werd als niet pijnlijk ervaren, ongeacht de dikte van de geteste naalden. De resultaten van deze studie zijn een eerste aanwijzing dat Bionaalden veilig gebruikt kunnen worden in de mens.

In **hoofdstuk 7** is het onderzoek beschreven met de PharmaJet vloeistof injector (PJ-injector). Met dit apparaat kan een vloeistof onder hoge druk intradermaal, subcutaan of intramusculair toegediend worden. Het voordeel van deze naaldloze toedieningswijze is dat dezelfde vloeibare vaccin formulering gebruikt kan worden als in een spuit en naald. Er is dus geen extra onderzoek nodig naar de samenstelling van het vaccin. In experimenten met muizen bleek de druk waarmee de vloeistof toegediend wordt te hoog. Daarom is onderzoek gedaan naar een groter diermodel, het mini-varken. In hoofdstuk 7 is beschreven hoe de intradermale toediening van hepatitis B met een PJ-injector en met een conventionele naald wordt uitgevoerd. De intradermale toediening met de PJ-injector veroorzaakte minder stress bij varkens dan de intradermale toediening met een conventionele naald. De immuunrespons met de 2 injectie methoden was na 2 vaccinaties even hoog. Het experiment is met een zeer kleine groep varkens uitgevoerd (9 dieren) waardoor nog geen harde conclusies getrokken kunnen worden. Het experiment is wel een aanwijzing dat het varken een geschikt diermodel is voor de intradermale toediening, al dan niet met de PJ-injector.

Conclusie

De studies beschreven in dit proefschrift laten zien dat er alternatieven bestaan voor naaldinjecties. Ieder alternatief heeft zijn voordelen en nadelen. Elastische vesikels gecombineerd met het voorprikken van micronaalden zijn pijnvrij en veilig, maar moeilijk toepasbaar. De ontworpen formuleringen bleken instabiel. Bionaalden zijn stabiele formuleringen, gemakkelijk en snel toe te dienen en veilig omdat geen besmettingsgevaar mogelijk is voor andere gevaccineerden of voor de vaccin-toediener. Het vriesdroogproces is echter moeilijk en duur. Vloeistof jet injecties zijn gemakkelijk, veilig en snel toe te dienen en er is weinig

onderzoek nodig naar de samenstelling van het vaccin omdat dezelfde vloeibare formulering gebruikt kan worden als in de spuit en naald. De dure koude-keten blijft echter nodig om de vloeibare formulering koel te bewaren en de toedieningsvorm is niet helemaal pijnvrij.
De ultieme toedieningsvorm is veilig, effectief, goedkoop, gemakkelijk en snel toe te dienen, pijnvrij en naaldloos. Sommige alternatieven, zoals vloeistof jet injectoren worden op kleine schaal inmiddels routinematig gebruikt. Dankzij de vele nieuwe technologieën en de brede kennis op dit gebied zullen in de toekomst naar verwachting steeds betere en meer alternatieven voor de naaldinjectie beschikbaar komen.