

## Advies [REDACTED]

### A. Algemene gegevens over de procedure

1. **Aanvraagnummer:** AVD 50100 2021 15431
2. **Titel van het project:** Toxicology of chemical threat agents; efficacy and adverse effects of medical countermeasures against these threats
3. **Titel van de NTS:** Dreiging van zeer giftige stoffen, effectiviteit en bijwerkingen van medische tegenmaatregelen
4. **Type aanvraag:**
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. **Contactgegevens DEC:**
  - **naam DEC:** [REDACTED]
  - **telefoonnummer contactpersoon:** [REDACTED]
  - **e-mailadres contactpersoon:** [REDACTED]
6. **Adviestraject (data dd-mm-jjjj):**
  - **ontvangen door DEC:** 5/10/21
  - **aanvraag compleet:** 5/10/21
  - **in vergadering besproken:** 19/10/21
  - **anderszins behandeld:** n.v.t.
  - **termijnonderbreking(en)** van 26/10/21 tot 6/12/21
  - **besluit CCD tot verlenging adviestermijn met max. 15 werkdagen:** n.v.t.
  - **aanpassing aanvraag:** 6/12/21
  - **advies aan CCD:** 13/12/21
7. **Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.** De aanvraag is afgestemd met, en heeft instemming van de IvD.
8. **Eventueel horen van aanvrager:** N.v.t.
  - **Datum:**
  - **Plaats:**
  - **Aantal aanwezige DEC-leden:**
  - **Aanwezige (namens) aanvrager:**
  - **Gestelde vraag/vragen:**
  - **Verstrekt(e) antwoord(en):**
  - **Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag**
9. **Correspondentie met de aanvrager**
  - **Datum:** 26/10/21
  - **Gestelde vraag/vragen:** zie beneden
  - **Datum antwoord:** 6/12/21
  - **Verstrekt(e) antwoord(en):** zie beneden
  - **De antwoorden hebben wel geleid tot aanpassing van de aanvraag**

**Gestelde vragen:**

## Project proposal

1. Bij 3.1 Background. Dit is een vervolg van een lopend project met verplichte tussentijdse evaluaties. Kunt u op grond daarvan toelichten wat er in de evaluaties is vastgesteld, wat de studies en de resultaten globaal inhielden, hoeveel dieren er zijn gebruikt en hoe het ongerief is uitgevallen? Wat hebt u hiervan geleerd en hoe heeft u die kennis toegepast in dit vervolg?

### *Aantallen en ongerief*

Dit nieuwe project is het vervolg op AVD50102016583 'Exposure to chemical threats: Medical interventions, Toxicology, and Safety'. Tot op heden zijn er op dat project circa 450 ratten en 950 cavia's ingezet. Het ongerief voor dieren geïncubeerd van 2017 tot en met 2020 (lees, exclusief 2021), bedroeg: 1) 3% terminaal, 2) 1% licht, 3) 92% matig, en 4) 4% ernstig. We verwachten dat deze trend zich doorzet in 2021. Ten opzichte van de originele projectaanvraag van 5 jaar geleden is in de praktijk met name het ernstig ongerief lager uitgevallen en het matig ongerief iets hoger. Dit komt doordat studies waarbij ernstig ongerief inherent onderdeel was van de studieopzet (lees: ernstig ongerief door blootstelling aan toxische stoffen) minder zijn uitgevoerd dan voorzien. We verwachten dat deze ontwikkeling de komende jaren doorzet en zijn daarom op basis van het lopende project en om beter aan te sluiten bij de actuele cijfers gekomen tot de in de aanvraag vermelde inschatting van het ongerief.

### *Terugblik op uitgevoerde studies*

Globaal zijn binnen het lopende project studies uitgevoerd om effectiviteit van nieuwe medicijnen of medicijn combinaties te evalueren en nieuwe modellen op te zetten voor toekomstige effectiviteit studies. Zo is er bijvoorbeeld een model opgezet voor behandeling van een besmetting met het zenuwgas VX in een civiel incident. In tegenstelling tot een militair incident waarbij slachtoffers en hun kameraden een antidotum bij zich dragen voor directe behandeling, zal bij civiele incidenten de behandeling op zich laten wachten. Om te zorgen dat behandeling in deze scenario's optimaal is, is een model ontwikkeld dat een civiel scenario nabootst met vertraagde behandeling [2]. Resultaten van deze studies dienen als input voor overheidsinstanties om te onderzoeken welke medicijnen geschikt zijn voor civiele bescherming tegen chemische dreigingen. Van deze studies hebben we geleerd wat de overeenkomsten dan wel verschillen zijn tussen militaire en civiele scenario's en wat de consequenties zijn voor het vinden van de meest optimale behandelstrategieën.

Een ander voorbeeld is een studie naar de farmacokinetiek en effectiviteit van een nieuwe formulatie van atropine en een oxime (de twee belangrijkste antidota tegen zenuwgas vergiftigingen). De combinatie behandeling zelf is al bewezen effectief als antidotum, maar voor het klinisch beschikbaar komen van een nieuwe toedieningsmethode was het noodzakelijk de farmacokinetiek van de combinatie in kaart te brengen en bevestigen dat dit niet afweek van oude toedieningsmethoden [3,4]. Dit was een wetenschappelijk gat in de literatuur waar de autoriteit voor medicijnregistratie antwoord op wilde alvorens het medicijn op de markt toe te kunnen laten.

Een belangrijk aspect van ons project is het ontwikkelen van effectieve combinatie therapieën. In het nog lopende project zijn verschillende combinatie therapieën succesvol getest voor verschillende soorten vergiftigingen, waarvan enkele in de openbare literatuur zijn beschreven [6, 7]. Omdat het dreigingsveld breder wordt en het lastig is om voor elke nieuwe dreiging een nieuw medicijn te ontwikkelen, zal het testen van nieuwe combinaties met bestaande medicijnen voor andere indicaties een belangrijke rol spelen in de toekomst. Naast inhoudelijke voortgang op het gebied van epilepsie-onderdrukking, brachten deze studies ook belangrijke kennis over de beste generieke wetenschappelijke systematiek om dergelijke combinaties in de toekomst te kunnen evalueren.

Er is een aantal studies uitgevoerd om een model op te zetten voor acute vergiftiging met zeer hoge hoeveelheden opioïden. Ondanks dat er in de wetenschappelijke wereld veel onderzoek is gedaan naar synthetische opioïden in de context van pijnstillers en verslaving, zijn er weinig studies over acute vergiftiging na blootstelling aan zeer hoge hoeveelheden in personen zonder tolerantie. Het gevolg is dat bestaande antidota voor opioïden overdoses primair ontwikkeld zijn op basis van opioïden die populair zijn bij verslaafden. Het is niet zeker of huidige behandelingen ook effectief zijn voor nieuwere, potentere, synthetische opioïden. Om dit gat te dichten wordt een model ontwikkeld dat de effectiviteit van bestaande therapieën (zoals naloxon) en nieuwe (combinatie) therapieën kan testen bij verschillende soorten opioïden. Naast inhoudelijke voortgang op het gebied van medicijnontwikkeling voor opioïden vergiftigingen hebben deze studies ook bijgedragen aan het ontwikkelen van systematiek in het opzetten van diermodellen, wat we verwachten in te zetten in het vervolgproject voor andere dreigingen. Tijdens deze studies hebben we nieuwe statistische methodes (zoals bijvoorbeeld de Up-and-Down Procedure) geïntroduceerd waardoor we minder dieren nodig hebben gehad. Ook hebben we nieuwe methodes voor bloedcollectie zoals de 'Access Button' geïntroduceerd waardoor er minder stress en ongerief bij de dieren is tijdens de bloedafnames. Deze kennis hebben we meegenomen bij het opzetten van deze nieuwe projectaanvraag. Er zijn voor dit antwoord geen tekstuele wijzigingen aangebracht in de aanvraag.

2. In relatie tot vraag 1: waarom zijn er nu meer dieren nodig, ook in het licht van verwachte ontwikkelingen?

De kern van dit project is de capaciteit om actuele dreigingen te onderzoeken en daar adequaat op te kunnen reageren als de maatschappij daar om vraagt. Voor langer lopende onderzoeken, zoals het opzetten van een opioïdenmodel en het optimaliseren van combinatie therapieën voor zenuwgasvergiftigingen, kunnen we onze schatting baseren op het lopende project. Omdat het dreigingsbeeld breder wordt, verwachten we in de komende 5 jaar meer verschillende klassen stoffen te onderzoeken, waarvoor meer modelontwikkeling zal plaatsvinden dan de afgelopen jaren. Daarnaast kunnen acute nieuwe dreigingen vragen om een acute en intensieve(re) inzet, waar wij te allen tijde op voorbereid moeten zijn. De huidige schatting (1500 cavia's en 1000 ratten) is gebaseerd op de ingezette aantallen op de lopende vergunning met oog op de capaciteit van het lab, de te onderzoeken dreigingen, de verwachting voor de verdeling tussen cavia's en ratten, de verbreding van het dreigingsbeeld voor de toekomst en eventuele inzet voor zeer acute dreigingen. Er zijn voor dit antwoord geen tekstuele wijzigingen aangebracht in de aanvraag.

3. In relatie tot vraag 1 en meer uit interesse van de DEC dan als verduidelijkende vraag: waarom gebruikt u geen muizen en varkens meer?

In het verleden zijn muizen voornamelijk gebruikt in projecten waarin antilichamen werden opgewekt. Dergelijke studies zijn in de afgelopen periode niet voorgekomen en worden ook niet voorzien voor de komende jaren. Een varken model hebben we niet zelf in huis. Voor studies met varkens hadden we een overeenkomst met een organisatie in Nederland, maar deze heeft haar dierproefactiviteiten gestaakt. Er zijn wel gesprekken gevoerd met buitenlandse partijen, maar deze hebben nog niet tot concrete afspraken geleid. Vooralsnog willen we het varken niet opnemen in de nieuwe vergunning. Er zijn voor dit antwoord geen tekstuele wijzigingen aangebracht in de aanvraag.

4. Bij 2.A, Experimental design. Hoe gaat het meten van de longfunctie in zijn werk, met welke plethysmograaf precies?

Wij gebruiken hiervoor een 'whole-body plethysmography chamber' (producent was voorheen BUXCO, welke nu valt onder Data Sciences International). Deze techniek heeft als voordeel (ten opzichte van de head-out methode) dat dieren niet vastgeklemd hoeven te zijn voor de metingen en dus minder stress ervaren. Uit het signaal kan een groot aantal parameters afgeleid worden, zoals de ademhalingsfrequentie en het minuutvolume. Daarnaast kan de morfologie van het signaal aanwijzingen geven over zaken als bronchoconstrictie en optreden van apneu.

Voor dit antwoord zijn geen wijzigingen aangebracht in de appendix.

5. Bij 2.A, Experimental design. Hoe vaak ernstig ongerief voorkomt lijkt de DEC op het eerste gezicht laag ingeschat. Neemt u mee dat kort ernstig ongerief vlak voor bewusteloosheid of overlijden ook als ernstig ongerief meetelt? Is dit afgestemd met de IvD?

Bij deze inschatting is meegenomen dat deze studies meestal van korte duur zijn (~4 uur). Zeker bij stoffen die bedwelmend van aard zijn (zoals de beschreven opioïden en andere narcotica) is de periode vlak voor bewusteloosheid kort en gaat deze niet gepaard met ernstig ongerief. Gezien de lastige aard van de inschatting, voeren we dit altijd uit in goed overleg met de IvD.

Voor dit antwoord zijn geen wijzigingen aangebracht in de appendix.

6. Bij 2.A, Experimental design. Kunt u aangeven hoeveel verschillende procedures en omstandigheden dieren zullen ondergaan? (Dit in het licht van cumulatief ongerief.)

Dieren zullen eenmaal een operatie ondergaan, waarbij er gebruikelijk zowel elektroden tbv van EEG en ECG (resultierend in 2 sets van 2 elektroden) geplaatst worden alsmede een veneuze en/of arteriële katheter. Het combineren van deze modaliteiten zorgt ervoor dat we na slechts één operatieve ingreep een grote hoeveelheid data per dier vergaren (en dit maakt farmacokinetiek-farmacodynamiek modellering mogelijk); deze ingreep wordt goed getolereerd door de dieren. Het cumulatieve ongerief van deze ingreep is in overleg met de IvD als 'moderate' aangemerkt voor de gehele ingreep, voornamelijk door het ongerief van het ondergaan van anesthesie. De exacte combinatie van modaliteiten is daarvoor minder bepalend. In de originele aanvraag stond in de tabel bij 2.F per chirurgische ingreep overal het ongerief 'moderate' tussen haakjes bij, waardoor de indruk gewekt zou kunnen worden dat het combineren van ingrepen cumulatief meer ongerief te weeg zou brengen. Echter, de intentie van die tabel was om aan te geven dat ook een enkele chirurgische ingreep per definitie is aangemerkt als 'moderate' vanwege de anesthesie. Dit is in de herziene aanvraag gewijzigd; er staat nu alleen moderate ongerief tussen haakjes bij het kopje 'preparatory surgery'.

Na een geschikte herstelperiode zullen de dieren een toxisch agens toegediend krijgen, al dan niet in combinatie met een behandeling, of alleen een behandeling. Dit wordt gevolgd door een monitoringsperiode. Wanneer alleen een behandeling gegeven is, kan het dier, na een herstelperiode, nog maximaal tweemaal een behandeling krijgen op aparte dagen, met bijbehorende monitoringsperiode. Dit geldt alleen als het ingeschatte ongerief geassocieerd met deze behandeling mild van aard is.

Een extra passage is toegevoegd aan sectie 2.A om dit te verduidelijken:

"The procedures described above are summarized in the following table. The animals will undergo a single surgical procedure, during which they are equipped with (a combination of) electrodes and/or catheters. Though different combinations of telemetry and catheters could be made, recovery of the animals is fast and the cumulative discomfort is similar for all animals due to the discomfort of anesthesia (moderate). Following an appropriate recovery period, animals will be exposed to a chemical threat agent and/or receive treatment, after which animals are monitored. In case of an exposure (or exposure+treatment), monitoring will be limited to a single occurrence. In case only treatment is administered, this may be repeated up to a maximum of two times, only if each occurrence is associated with 'mild' discomfort. In these cases, the monitoring period will not exceed 14 days and the cumulative discomfort will not exceed 'moderate', as described in section F."

In sectie 2.F is de volgende toevoeging gedaan om het cumulatieve ongerief bij meerdere therapeutische toedieningen toe te lichten:

" For studies in which the effects of therapeutics are studied in healthy animals, administration may occur on a maximum of three days, with three injections per day. Each of the administrations separately will not be associated with more than 'mild' discomfort, in such a manner that the cumulative discomfort does not exceed 'moderate'."

Wanneer de behandeling tot matig ongerief leidt of er een toxisch agens toegediend is, blijft de experimentele fase beperkt tot een eenmalige monitoringsfase. De leidraad hierbij zal uiteraard zijn dat het cumulatieve ongerief niet hoger uitvalt dan is opgegeven. Eén van de IvD-leden neemt deel aan de werkgroep 'Cumulatief ongerief', die op initiatief van het NCad is opgericht. Dit IvD-lid is betrokken bij de opzet van deze studies.

7. Bij 2.B, The animals. Kunt u de berekening van de aantallen dieren zo toelichten dat de berekening voor de DEC navolgbaar is?

In sectie A is een voorbeeldberekening van een typische studie uiteengezet. Deze studie behelst een pilot-deel om de juiste blootstellingsdosis te vinden (24 dieren), gevolgd door een efficacy-deel om de behandeling te testen bij verscheidene niveaus (47 dieren) . In totaal zijn dit 71 dieren voor 1 studie. Op basis van onze huidige capaciteit verwachten we jaarlijks 5 tot 7 van dergelijke studies uit te voeren. Over de gehele vergunningsperiode van 5 jaar resulteert dit in een totaal van  $71 \cdot 5 \cdot 5 = 1775$  tot  $71 \cdot 7 \cdot 5 = 2485$  dieren. Het aangevraagde aantal van 2500 is op basis van het maximaal voorziene aantal van 7 studies.

Voor dit antwoord zijn geen wijzigingen aangebracht in de appendix.

8. Bij 2.B, The animals. Streeft u naar gelijk gebruik van beide geslachten per diersoort om overtolligheid van dieren te beperken? Kunt u toelichten hoe?

Veel van onze gebruikte modellen zijn opgezet in mannelijke dieren, die aansluiten bij gepubliceerde studies waarbij voornamelijk met dit geslacht gewerkt is. Onze studies richten zich voornamelijk op principes van (relatieve) werkzaamheid en intoxicatie. Om deze reden voeren we studies slechts met een enkel geslacht uit om variabiliteit te minimaliseren. Studies waarin het geslacht minder of geen rol speelt, zoals het *in vivo* evalueren van de effectiviteit van huidontsmetting, zullen met vrouwelijke dieren worden uitgevoerd.

Bij toekomstige studies waarbij een nieuw model opgezet dient te worden, zullen we wel de kans aangrijpen om het geslacht bewust te kiezen, zodat we over de hele linie een meer gebalanceerd gebruik van geslachten hebben.

Onderstaande zin is toegevoegd aan 2.B in de appendix:

"Historically, males have been used more frequently. The broadening of the scope of threat agents requires more frequent development of new models. This will allow us to select females as a species of choice more often, thereby balancing the ratio of males/females in the total use of animals. "

9. Bij 2.B, The animals. Hoe borgt u het welzijn van de dieren wat betreft bewegingsruimte? Hoe voorkomt u problemen met implantaten?

Voor onze gehuisveste ratten en cavia's gebruiken we Makrolon type IV kooien met standaard kooiverrijking en een oppervlak van 1857 cm<sup>2</sup>. De transmitters implanteren wij niet. We creëren een 'headstage' op het schedeldak, waarop wij de transmitters bevestigen op de experimentele dag. Het voordeel hiervan is dat we geen invasieve implantatie in de buikholte hoeven uit te voeren en veel minder risico op infecties hebben. In overleg met de IvD, de dierenarts en experts in het veld blijven we bij met ontwikkelingen wat betreft gebruik van antibiotica. Voor dit antwoord zijn geen wijzigingen aangebracht in de appendix.

10. Bij 2.C, Accomodation and care. U spreekt elders van (soms) individuele huisvesting. Dat betekent dat er niet altijd sprake is van huisvesting volgens Annex III. Kunt u dit verduidelijken in de bijlage?

Bedankt voor de opmerking, dit was inderdaad niet correct ingevuld. We hebben nu 'No' aangevinkt en onderstaande korte beschrijving toegevoegd aan de bijlage.

"Whenever possible, housing conditions used will be in concordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU. However, in some cases, short-term solitary housing will be used for the post-operative recovery period, which is generally 7-14 days. This is only done in cases where certain surgical areas (wounds or catheter access ports) could potentially be damaged by other animals."

11. Bij 2.D, Pain... U vermeldt elders dat u soms gebruik kunt maken van anesthesie, soms niet. Hoewel de vraag naar de letter correct is beantwoord, missen we hier de opmerking dat anesthesie niet altijd wordt toegepast.

Het antwoord besloeg alleen de perioperatieve periode en was dus inderdaad onvolledig. Een korte toevoeging is gedaan om het gebrek aan pijnbestrijding, alsmede de reden daarvan, tijdens het experiment zelf te benoemen.

"Anesthesia/ Pain relief can generally not be applied during the toxicological/pharmacological part of the study, as this would substantially affect the responses elicited by the chemical compounds administered and cloud the experimental outcomes."

12. Bij 2.E, Humane endpoints. U schrijft: "... a failure from the animals to recover from surgery (...) might be...". Hier is de term "might" naar de mening van de DEC wat vaag. Kunt u dit toelichten?

Dit is inderdaad onduidelijk verwoord. Wanneer een dier niet goed herstelt van de ingreep, gaat dit gepaard met teveel ongerief (evenals minder-repliceerbare data) en zal het dier uit de proef genomen worden. Wat dit begrip precies inhoudt is in de laatste alinea beschreven. Hier is een kleine toevoeging gedaan voor meer nuance.

De tekst is nu als volgt:

"In earlier phases, a failure from the animals to recover from surgery (i.e. when the animal has not returned to its initial body weight at the day of exposure after surgery) is an indication for exclusion from the experiment. A short body weight dip of around 10% after surgery is expected, but after 1-2 day(s) they typically start to gain weight and return to their pre-operative weight within a 1-5 day recovery period. Adequate recovery is assessed by means of the following scores."

13. Bij 2.E, Humane endpoints. Onduidelijk is waarom u het (ernstige) ongerief in sommige gevallen nog enkele uren laat duren, en niet onmiddellijk tot euthanasie over gaat.

Het is niet te voorkomen dat dieren (ernstig) ongerief ondervinden in onderzoek naar de toxicologie van acute vergiftigingen en het onderzoeken van kandidaat medicijnen: Veel van de onderzoeksvragen die wij behandelen hebben betrekking tot ernstige vergiftigingen en de eerste levensreddende behandeling daarvan. Dit tijdsframe is namelijk cruciaal om het mogelijk te maken slachtoffers met een goede prognose over te brengen naar verdere (ondersteunende) zorg. Het ongerief is in deze gevallen dus inherent aan het ziektebeeld dat hoort bij dergelijke vergiftigingen met hoog toxische stoffen. In deze gevallen kan het zo zijn dat een behandeling pas na enkele uren het volledige effect uitoefent, wat niet te voorspellen is.

Wel wordt getracht het ongerief zo veel mogelijk te beperken. Zo worden waar mogelijk humane eindpunten gedefinieerd als bekend is dat deze een voorspellende waarde hebben voor het verdere verloop van de ziekte. Door gebruik van dergelijke voorspellende humane eindpunten, of biomarkers, kunnen dieren eerder uit de proef worden gehaald en wordt de duur van het ongerief of progressief ongerief beperkt/voorkomen. Bijvoorbeeld een bepaalde daling in de hartslag: Als voor een bepaalde vergiftiging bekend is dat een daling in hartslag tot onder een bepaalde waarde of voor een bepaalde duur altijd samenhangt met een vaste uitkomst, dan wordt bij het bereiken van dit punt de studie gestopt. Echter, dit is niet mogelijk voor alle vergiftigingen omdat of het ziektebeeld onvoorspelbaar verloopt of het verloop van de ziekte of behandeling nog niet bekend is. Het is nodig deze dieren in het experiment te houden tot de dieren een bepaalde mate van progressie dan wel herstel laten zien die als uitleesparameters wordt gebruikt voor het bepalen van de effectiviteit van behandelingen.

Verder kan het voorkomen dat belangrijk is om eventuele restschade vast te stellen in deze dieren, bijvoorbeeld middels immunohistochemische analyse. Bij de neurotoxische agentia wordt dit vaak teweeggebracht door ontstekingsprocessen in de hersenen, die vaak pas op 24 uur duidelijk aantoonbaar zijn.

Om onnodig ongerief te voorkomen voor alle dieren in het experiment wordt bovendien bij elke studie een bewuste afweging gemaakt tussen de maximale duur van de proef en de te beantwoorden studievragen. Als bijvoorbeeld bekend is dat overleving of een bepaalde mate van symptomen in de eerste 4 uur voorspellend is voor overleving of ziekteprogressie op 24 uur, dan wordt de proef niet langer dan 4 uur doorgezet.

Er zijn voor dit antwoord geen tekstuele wijzigingen aangebracht in de appendix.

14. Bij 2.E, Humane endpoints. Onduidelijk is welke verschijnselen samen het eindpunt vormen. Er kunnen immers meerdere verschijnselen voorkomen die elk misschien wel tot mild ongerief leiden, maar cumulatief toch matig of ernstig ongerief teweeg brengen. Kunt u deze passage verduidelijken en eventueel relateren aan vraag 1, uw eerdere ervaringen? Is uw inschatting van het cumulatieve ongerief afgestemd met de IvD?

Voor de postoperatieve herstelperiode hanteren we onderstaand score systeem waarbij de verschillende fases elkaar opvolgen. Ter verduidelijking is 'prior to a

...chemical challenge' toegevoegd om aan te geven dat ongerief als gevolg van de chemical challenge hier buiten valt. Verder zijn er enkele zinnen aangepast (passage is hier in cursief overgenomen en gewijzigde delen zijn gemarkeerd). Ook hebben we het humaan eindpunt beter gedefinieerd. Er is toegevoegd dat een score '3' niet vaker dan tweemaal voor mag komen bij een dier. Als dit wel gebeurt, wordt dit gezien als cumulatief ernstig ongerief en dus als een humaan eindpunt. Tijdens een experiment (chemical challenge) worden proefspecifieke humane eindpunten gedefinieerd als dat mogelijk is, zoals beschreven bij vraag 13. Het postoperatieve score systeem is opgesteld in overleg met de IvD en de proefspecifieke humane eindpunten worden altijd per individueel protocol met de IvD overlegd.

"Scoring for overall condition after surgery and prior to a chemical challenge:

0: No clinical signs, normal weight gain, smooth fur

1: Normal effects of surgery, normal feeding and drinking, stable weight, no weight gain

2: Slightly decreased eating and drinking, bad appearance of fur, slight weight decrease (<20%), recovering weight)

3: Bad appearance of fur, weight decrease >20%, lethargy, poor coordination, no eating and drinking

4: No eating, drinking, weight decrease >20%, progressive weight loss >2 days, Painful, hunched posture, or worse

Conditions 0-2 are expected to recover, progression to 3 could occur for a maximum of 1 day, but should return to 2 the next day. During the entire recovery process, a single occurrence of score 4, or more than two occurrences of score 3 indicates a poor recovery and a cumulative discomfort that is considered to be severe; in these cases, a humane endpoint is reached and animals will be euthanized. This list of criteria is not exhaustive: In the event that specific signs are observed that do not fall in any of the categories, this may be considered a humane endpoint, in consultation with the AWB."

15. Bij 2.G, Replacement. Zou het mogelijk zijn een voorscreening te doen op een *in vitro* celsysteem? Onderzoekt u mogelijkheden hiertoe?

In het projectvoorstel bij onderdeel 3.4 'Strategy' staat een schema waarin wordt uitgelegd aan welke voorwaarden een onderzoeksvraag moet voldoen voordat *in vivo* experimenten noodzakelijk en ethisch verantwoord worden geacht. Zo is een voorwaarde voor *in vivo* onderzoek dat het mechanisme van toxiciteit bekend moet zijn. Als dit niet het geval is, zal dit eerst *in vitro* onderzocht moeten worden. Hetzelfde geldt voor werkingsmechanisme van de kandidaat medicijnen, ook dit moet bekend zijn. Deze informatie kan bestaan uit *in vivo* data van onderzoeken van andere onderzoeksgroepen of kan *in vitro* worden bepaald. Dat betekent niet dat wij dit allemaal zelf doen; vaak is de informatie al beschikbaar via wetenschappelijke literatuur of voeren andere labs met een specialisatie in *in vitro* toxiciteit delen van voorgaande studies uit. Zelf werken wij ook aan een *in vitro* toxiciteitscreening die is toegespitst op toxiciteitsvragen relevant voor onze dreigingsstoffen, met als doel om inderdaad meer *in vitro* kennis op te bouwen en de slagingskans van studies naar kandidaat medicijnen te vergroten.

Voor dit antwoord is onderstaande zin toegevoegd aan 2.G, replacement:

"In the context of replacement, strict selection criteria are used to determine if *in vivo* research is warranted, including prior *in vitro* research on the mechanism of toxicity, drug target and therapeutic mechanism. Knowledge on these topics could be derived either from scientific literature, studies performed by other labs or inhouse studies."

16. Bij 2.G, Refinement. Hier mist de DEC als verfijning de (on)mogelijkheden van het toepassen van anesthesie en eventuele andere vormen van pijnstilling.

Zie antwoorden op vragen 11 en 18 voor verduidelijking. Onderstaande tekst is toegevoegd aan onderdeel 2.G, refinement:

“For each study, application of species appropriate anesthesia and sedatives as refinement for a chemical challenge will be considered if they do not affect the toxicology of the chemical threat agent under study.”

17. Bij 2.G, Refinement. Kun u bij geïnstrumenteerde dieren nog verder verfijnen, bijvoorbeeld door het gebruik van telemetrie, swivels, etc.?

Wij proberen dergelijke technieken zeker toe te passen waar mogelijk. In onze huidige opzet passen we telemetrie toe voor onze fysiologische (ECG/EEG/EMG) metingen. De whole-body plethysmografen zijn ook een vorm van verfijning voor het meten van de ademhaling. Wij hebben recentelijk ook Vascular Access Buttons geïmplementeerd bij één van de studies waarbij we katheters in de *vena jugularis* en *arteria carotis* ingebracht hebben. Swivels gebruiken wij ook in de situaties waar het kan, bijvoorbeeld bij microdialyse; de plethysmografen zijn gesloten en daardoor niet compatibel met swivels.

Er zijn voor dit antwoord geen tekstuele wijzigingen aangebracht in de appendix.

18. Bij 2.G, Refinement. Zou het in uw visie mogelijk en passend zijn om ernstig ongerief te vermijden door vooronderzoek te doen onder anesthesie, en vervolgens met de opgedane kennis verder te gaan met minder ongerief? (Ofwel: kiezen voor verfijning boven vermindering, want er zijn dan wel meer dieren nodig.) Wat zijn dan hierbij uw afwegingen?

Voorafgaand aan elke proef maken we inderdaad de afweging of middels anesthesie en/of pijnstilling het ongerief van de dieren zo veel mogelijk kan worden beperkt. Er is in het verleden veel onderzoek gedaan naar vergiftigingen (met name organofosfaat – zenuwgas- vergiftigingen) onder anesthesie. Dit kan betekenen dat we in een voorstadium onder anesthesie kijken bij welke dosis we de ernstig toxische effecten waarnemen, enerzijds om zodoende gericht de dosis te kunnen bepalen voor vervolgstudies en zoveel mogelijk ernstig ongerief te voorkomen en anderzijds om deze respons vergelijken met die in wakkere dieren en zo mogelijk (delen van) de vraagstellingen te beantwoorden met geanestheerde dieren. In dit geval zullen we dus meer dieren nodig hebben, maar kunnen we mogelijk wel voorkomen dat er in het vervolg van het experiment dieren aan ernstig ongerief worden blootgesteld. Deze afweging zal gemaakt worden op basis van de beschikbare literatuur en/of ervaringen van collega-instituten. Daarna zullen er vaak ook nog experimenten zonder anesthesie noodzakelijk zijn om de gevonden effecten te kunnen iken aan wat gerapporteerd is in de literatuur.

Er is in het verleden veel onderzoek gedaan naar vergiftigingen (met name organofosfaat – zenuwgas- vergiftigingen) onder anesthesie. Er is gebleken dat veel anesthetica een interactie hebben op belangrijke toxicologische parameters; ze kunnen zowel invloed hebben op het toxicologische beeld behorende bij een bepaalde dreigingsstof, als ook het effect van medicatie op behandeling van een vergiftiging beïnvloeden. Dit heeft er in het verleden toe geleid dat voor verschillende dreigingsstoffen een incompleet of incorrect beeld ontstond van de toxicologie van een stof of dat de effectiviteit van een behandeling werd over- of onderschat. Veel van de huidige moderne dreigingen vallen bovendien in de categorie neuroactieve stoffen, waardoor de overlap met anesthetica alleen maar groter is geworden. Anesthesie tijdens een vergiftiging wordt daarom vandaag de dag nog beperkt toegepast, en eventueel vooronderzoek zou alleen mogelijk zijn als bijvoorbeeld bepaalde handelingen of nieuwe technieken als pilot-experiment worden geëvalueerd. Echter, voor elk type dreigingsstof wordt voorafgaand aan de studie beoordeeld of en hoe anesthesie en/of pijnstilling kan worden toegepast om het ongerief van de dieren te beperken.

Voor dit antwoord is onderstaande toevoeging gedaan aan 2.G, refinement:

“For each study, application of species appropriate anesthesia and sedatives as refinement for a chemical challenge will be considered if they do not affect the toxicology of the chemical threat agent under study.”

19. Bij 2.H, Re-use. Kunt u ook hier kort ingaan op het cumulatieve ongerief van het dier per experiment? In hoeverre speelt dat een rol bij het bepalen wanneer hergebruik mogelijk is? De DEC verzoekt u af te stemmen met de IvD wat het maximale aantal keren is dat een dier kan worden hergebruikt voordat er sprake kan zijn van cumulatief ernstig ongerief gedurende het leven van het dier.

Dieren worden alleen hergebruikt binnen dezelfde studie na behandeling met kandidaat therapeutica (dus zonder blootstelling aan toxische dreigingsstoffen) waarbij het ongerief van voorgaande experimentele dagen maximaal mild is en de dieren tussendoor snel herstellen. Om de fysiologie van de dieren zo vergelijkbaar mogelijk te houden tussen verschillende experimentele dagen worden dieren doorgaans na 4/5 dagen opnieuw ingezet met een maximum van 3 experimentele dagen en alleen als de dieren in goede gezondheid zijn. Vanzelfsprekend wordt deze opzet, met alle handelingen, altijd ter goedkeuring voorgelegd aan de IvD. Als blijkt dat blootstelling aan kandidaat therapeutica op dag 1 gepaard ging met meer dan licht ongerief, wordt afgewogen of inzet op een tweede dag mogelijk is, op basis van zowel het cumulatieve ongerief als de experimentele validiteit. Een dier dat op dag 1 onverwacht meer dan licht ongerief ondervindt van het experiment zal worden geëuthanaseerd aan het einde van die experimentele dag omdat niet kan worden gegarandeerd dat het dier snel en volledig hersteld. Omdat 'gezonde' inzet op experimentele dagen sterk samenhangt met het ongerief dat een dier ervaart tijdens experimentele dagen en tussen gelegen perioden, zal het extra ongerief van een extra experimentele dag altijd laag moeten zijn. Het (cumulatieve) ongerief dat gepaard gaat met hergebruik wordt altijd in overleg met de IvD beoordeeld.

Onderstaande tekst bevat het aangepaste antwoord voor 2.H met in rood de wijzigingen:

“In case multiple therapeutic treatment groups are included in a study (for example: vehicle, treatment A, treatment B, and combi treatment A+B) which do not all require a toxic challenge exposure, **a maximum of three treatments** can be tested in one animal, provided the total burden of the treatments **prior to the final experimental day is mild. In case the discomfort of a treatment is higher than mild, the animal will be excluded from re-use and will be euthanized at the end of the experimental day.** This approach applies only to treatments with therapeutics that allow full recovery in between and animals are never exposed to chemical threat agents more than once. **As full recovery between repeated experimental days within one animal is essential, extra discomfort due to re-use will be limited. For each study with planned re-use, cumulative discomfort as a consequence of re-use will be discussed with the animal welfare body.**”

#### NTS

20. Bij 'Reasons planned fate animals at end procedure': hier ontbreekt onderbouwing van het geplande lot van de dieren ('provide reasons').

Onderstaande zin is toegevoegd aan de NTS bij 'Reasons planned fate animals at end of procedure':

“Dieren worden geëuthanaseerd voor het verzamelen van bloed en weefsels aan het einde van de proef en/of om ongerief als gevolg van een blootstelling te beperken.”

#### **10.Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): N.v.t.**

- **Aard expertise**
- **Deskundigheid expert**
- **Datum verzoek**
- **Strekking van het verzoek**
- **Datum expert advies**
- **Advies expert**

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. **Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is. Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.** Het project is vergunningplichtig. Het gaat om dierproeven in de zin der wet.
2. **De aanvraag betreft** een nieuwe aanvraag.
3. **Is de DEC competent om hierover te adviseren?** De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. **Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.** Er zijn geen DEC-leden uitgesloten van behandeling van de aanvraag. Wel is een selectie gemaakt uit het totale aantal leden op grond van de wettelijk en ethisch benodigde expertises voor een goede afweging. Deze werkwijze (een extra brede DEC met een selectie van leden per dossier) is afgestemd met de CCD.

## **C. Beoordeling (inhoud)**

1. **Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.** De aanvraag is voldoende toetsbaar en volgt voorbeeld 1 uit de handreiking definitie project. Het beschrijft het onderzoek naar de blootstelling van militairen en burgers aan chemische en microbiologische wapens, de gevolgen van blootstelling en de mogelijke preventieve / therapeutische interventies daarop. De DEC heeft aanvullende vragen gesteld, welke verhelderend en naar tevredenheid zijn beantwoord.
2. **Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming).** Er is geen sprake van tegenstrijdige wetgeving.
3. **Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.** De aangekruiste categorie sluit aan bij de hoofddoelstelling van deze aanvraag. Het betreft het onderzoek naar potentiële gevaren van chemische/microbiologische wapens en de mogelijke maatregelen voor blootgestelde militairen en burgers. Dit is translationeel.

*Belangen en waarden*

4. **Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.**

Het directe doel is het onderzoek van de dreiging van zeer giftige stoffen, de effectiviteit en bijwerkingen van medische tegenmaatregelen in het kader van chemische/microbiologische oorlogsvoering/terrorisme. Het indirecte doel is de ontwikkeling van de benodigde modellen om de risico's te kunnen inschatten en mogelijke interventies ter voorkoming van schade te kunnen bepalen. Het uiteindelijke doel is om een overzicht te hebben van potentiële gevaarlijke chemicaliën / micro-organismen en een bijbehorend behandelplan beschikbaar te hebben om militairen en burgers te kunnen beschermen tegen deze aanvallen.

5. **Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden.**

Wij geven hierbij een overzicht van de belangen in willekeurige volgorde, nog zonder prioritering of weging.

Morele waarden >	Welzijn	Autonomie	Rechtvaardigheid
Belanghebbenden V			
Nederlandse staat, Ministerie van Defensie		Kunnen opereren	Defensiepositie t.o.v. andere landen
Krijgsmacht en haar leden	Geen pijn Geen stress Gezondheid Veiligheid	Kunnen opereren	Positie t.o.v. van andere krijgsmachten Behandelingsopties
Potentiële burgerslachtoffers	Geen pijn Geen stress Gezondheid Veiligheid	Zelfstandig leven Bewegingsvrijheid	Behandelingsopties
Proefdieren	Geen pijn Geen stress Gezondheid Geluk	Natuurlijk gedrag Bewegingsvrijheid	Intrinsieke waarde Integriteit Geen instrument zijn
Vergunninghouder en onderzoekers	Economisch belang	Onderzoek doen	Concurrentiepositie
Samenleving	Veiligheid	Bewegingsvrijheid (geen onderdrukking)	Democratie
Wetenschappelijke en medische wereld		Kennis om op voort te bouwen	
Farmaceutische industrie	Economisch belang	Kennis om op voort te bouwen	Concurrentiepositie

6. **Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken?** De aanvragers geven aan geen effecten op het milieu te verwachten en de DEC heeft geen reden hieraan te twijfelen.

*Proefopzet en haalbaarheid*

7. **Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. De kennis en kunde is voldoende gewaarborgd.** De aanvragers hebben ruime ervaring in onderzoek op het gebied van defensie, niet alleen in Nederland. Onderzoekers hebben samenwerkingen in Europa en Canada, en de vergunninghouder is betrokken bij de organisatie voor 'the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW)'. De aanvrager heeft tientallen jaren ervaring (dus sinds de jaren

1950) met deze soorten wapens en werkt met gekwalificeerd personeel om dierproeven veilig uit te voeren binnen de high-tox laboratoriumfaciliteiten.

8. **Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe.** De projectaanvraag is goed opgezet en beschrijft de stapsgewijze aanpak van het onderzoek met heldere flowcharts. Voor elke onderzoeksvraag wordt het meest geschikte diermodel gekozen. In het domein van de chemische verdediging kunnen de meeste onderzoeksvragen worden beantwoord met ratten of cavia's als model.

#### *Welzijn dieren*

9. **Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe.**  
N.v.t.

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV-richtlijn (13c, lid 3)

10. **Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.** Waar mogelijk zullen de gebruikte huisvestingsomstandigheden in overeenstemming zijn met bijlage III bij Richtlijn 2010/63/EU. In sommige gevallen zal echter kortdurende solitaire huisvesting worden gebruikt voor de postoperatieve herstelperiode, die over het algemeen 7-14 dagen is. Dit wordt alleen gedaan in gevallen waarin bepaalde chirurgische gebieden (wonden of kathetertoegangspporten) mogelijk kunnen worden beschadigd door andere dieren.

11. **Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe.** Het cumulatieve ongerief is naar het oordeel van de DEC correct ingeschat en gebaseerd op de opgewekte ziekteverschijnselen, de effecten van de interventies en de toegepaste therapeutische behandelingen. De DEC heeft vragen gesteld over de potentiële effecten van de behandelingen in gezonde dieren en heeft de onderzoekers verzocht dieper in te gaan op het cumulatieve ongerief. Deze vragen zijn duidelijk beantwoord.

12. **Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake**

**is van aantasting van integriteit. De integriteit van de proefdieren in aangetast in die zin dat zij als proefdieren worden gehouden en gebruikt.** De dieren worden bewust ziek gemaakt met middelen waarvan de effecten onderzocht moeten worden, alsmede de toepassing van therapeutica die potentiële bijwerkingen zullen hebben. Dieren zullen chirurgische ingrepen moeten ondergaan. Daarnaast worden biologische monsters afgenomen. In bepaalde gevallen kunnen neurologische aandoeningen optreden (bv epileptische aandoeningen) welke het gedrag en functioneren kunnen aantasten.

13. **Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe.** De humane eindpunten zijn goed gedefinieerd nadat zij op verzoek van de DEC zijn verduidelijkt. In bepaalde experimenten zullen de humane eindpunten gebruikt worden als eindpunt van het experiment (bij lethale en sublethale challenges).

3V's

14. **Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe.** Het beschreven onderzoek in proefdieren wordt voorafgegaan door *in vitro*-onderzoek op weefsels, enzymsystemen of receptoren. Bij zeer giftige stoffen waarvan geen tot nauwelijks informatie beschikbaar is wordt via softwaremodellen (*in silico*) voorspeld hoe giftig de stof is en wat het werkingsmechanisme is. Op basis van bovenstaande onderzoek wordt besloten of onderzoek in intacte dieren noodzakelijk is en, zo ja, welk diermodel het meest vertaalbaar is naar de mens voor deze stof. Vergiftiging is een complex proces waarbij de binnenkomst, verdeling en verwijdering uit het lichaam een belangrijke rol spelen. Bovengenoemde *in vitro* en *in silico* benaderingen kunnen slechts ten dele inzicht verschaffen in het vergiftigingsproces. Bij het evalueren van de effectiviteit van medische maatregelen gaat het in vele gevallen om overleving van de vergiftiging, hetgeen onderzoek in een intact dier onvermijdelijk maakt.

15. **Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe.** De beschreven *in vitro* en *in silico* studies geven richting aan de dierproeven die noodzakelijk zijn om de onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden, hetgeen bijdraagt aan vermindering van het aantal proefdieren en dierproeven. Statistische methoden worden gebruikt om het aantal experimentele groepen en het aantal dieren per groep te optimaliseren, hetgeen niet per definitie leidt tot minder dieren, maar wel tot zinvolle uitkomsten van de studie. Studies worden waar mogelijk gefaseerd uitgevoerd met kleine aantallen dieren per fase, waarbij het onderzoek kan worden afgebroken indien in een fase blijkt dat er geen betekenisvolle resultaten kunnen worden verkregen. Voorts wordt gestreefd naar het verkrijgen van zoveel mogelijk informatie uit een proefdier, o.a. door meerdere uitleesparameters te verzamelen.

16. **Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe.** Als dieren moeten worden geopereerd (bijvoorbeeld voor het plaatsen van katheter in ader of slagader voor het kunnen toedienen van stoffen of afnemen van bloedmonsters, voor het aanbrengen van elektroden voor meting van de hersenactiviteit, etc.) zal dit plaatsvinden onder volledige verdoving en met aanvullende pijnbestrijding. Na de operatie krijgen de dieren medicatie om post-operatieve pijn te bestrijden. De dieren worden pas in een proef gebruikt wanneer ze

zijn hersteld van de operatie. In de dagen na de operatie wordt het welzijn van de dieren meerdere malen per dag gecontroleerd, met betrekking tot het gedrag, het uiterlijk van de vacht, en of de dieren voldoende eten en drinken. Waar mogelijk worden alagesia /sedativa toegepast om de effecten van een *challenge* te verminderen voor het proefdier.

17. **Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.** N.v.t.

*Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef*

18. **Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd.** Waar mogelijk worden beide geslachten gebruikt, historisch werden vaak mannetjes gebruikt. Maar voor het opzetten van nieuwe modellen zal ook de toepassing van vrouwtjes onderzocht worden om het gebruik van de geslachten meer in evenwicht te brengen en zo min mogelijk dieren te verspillen. Zie ook DEC-vraag 8.

19. **Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd.** De dieren worden in het kader van het onderzoek gedood voor verder toxicologisch onderzoek van uitgenomen organen.

20. **Indien dieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.** N.v.t.

*NTS*

21. **Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?** De NTS is een evenwichtige weergave van het project en is begrijpelijk geformuleerd. Met vraag 20 heeft de DEC de aanvrager geattendeerd op een omissie, die daarna is ingevuld.

## D. Ethische afweging

1. **Benoem de centrale morele vraag. De centrale morele vraag is:** rechtvaardigt het onderzoek naar de dreiging van zeer giftige stoffen, de effectiviteit en bijwerkingen van medische tegenmaatregelen de aantasting van het welzijn en de integriteit van 1.000 ratten en 1.500 cavia's?
2. **Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoetgekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de**

**belangrijkste waarden die in het geding zijn waardereren. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende.**

Er vindt een aanzienlijke aantasting van welzijn en integriteit van de ratten en cavia's proefdieren plaats, met minimaal, mild, matig en ernstig ongerief, hetgeen een substantieel belang van de dieren is, van grote waarde voor hen.

Daar staan tegenover de belangen van militairen en burgers die slachtoffer kunnen worden terroristische aanvallen of oorlogsvoering met chemische of microbiologische wapens, waarvoor waarbij mogelijk geen adequate behandeling beschikbaar zou zijn. Dit kan bedriegend zijn voor de hele democratische samenleving. De belangen van het Ministerie van Defensie en de Nederlandse staat gaan hiermee gelijk op, maar in die zin dat hun belangen de veiligheid van militairen en burgers en het voortbestaan van de democratie dienen. De DEC weegt dit complex van waarden als essentieel.

Daarnaast kunnen de onderzoekers hun wetenschappelijke expertise uitbouwen en kan in het internationale onderzoeksveld beschikt worden over data om hun onderzoek op voort te zetten hetgeen als een reële waarde wordt gerekend die uiteindelijk ook de samenleving ten goed zal komen. Indien de doelstellingen behaald worden, zal dit project ertoe bijdragen dat militairen en burgers beter beschermd kunnen worden tegen deze dreigingen en in een vrije omgeving kunnen leven.

Het is aannemelijk dat de translationele doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk. De onderzoekers doen daarbij al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken.

- 3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende morele relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel.**

Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het onderzoek naar de middelen die gebruikt zouden kunnen worden als inzet van terrorisme en of oorlogsvoering een essentieel belang vertegenwoordigt en dat dit essentiële belang opweegt tegen de deels aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd. Niettemin vind de DEC het, gezien het ongerief van de dieren, een zwaar besluit.

## E. Advies

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden

Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

- De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
- De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
- De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies is unaniem tot stand gekomen.
3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project.