

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:
2. Titel van het project: Exposure to chemical threats: Medical interventions, toxicology and safety.
3. Titel van de NTS: Blootstelling aan zeer giftige stoffen: Medische tegenmaatregelen, toxicologie en veiligheid.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam **DEC-TNO (Animal Ethics Committee TNO)**
 - telefoonnummer contactpersoon: 0888666071
 - mailadres contactpersoon: organisatie-kvl-dec@tno.nl
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC 7-4-2016
 - aanvraag compleet NVT
 - in vergadering besproken op 14-4-2016 en 12-5-2016
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van 21-4-2016 tot 3-5-2016; 17-5-2016 tot 19-5-2016
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen NVT
 - aanpassing aanvraag versie nummer 3
 - advies aan CCD 26-05-2016
7. Eventueel horen van aanvrager
 - Datum nvt
 - Plaats **nvt**
 - Aantal aanwezige DEC-leden **nvt**
 - Aanwezige (namens) aanvrager **nvt**
 - Strekking van de vraag / vragen:

Advies DEC-TNO

- Strekking van het (de) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
nvt

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum **21-4-2016 en 17-5-2016**
- Strekking van de vraag / vragen

These questions have been posed to the applicant by email. Answers where given by email and changes were made to the proposal. The scope of the questions and the scope of the answers:

1. Het doel voor deze aanvraag is de DEC niet helemaal helder Niet geheel duidelijk is, of de reikwijdte van de aanvraag ook het toegepaste onderzoek met betrekking tot chemische strijdmiddelen beslaat.
We have included the general applied research questions more explicitly now
 2. Betreft het onderzoek alleen de volgende 2 situaties: onopzettelijke en opzettelijke calamiteiten.
Yes, in low and high exposure levels.
 3. Worden bij CBRN bestaande modellen opnieuw gevalideerd zodat er onder GLP gewerkt kan worden? Wie bepaalt de criteria voor een gevalideerd model?
No. The term validation is unclear, we have changed it to "qualified"; as this better reflects what is intended. GLP is a well-established and relevant system for ensuring data quality and integrity. In high containment facilities, that might be required in certain parts of the project, GLP conduct is an example for verification of quality and integrity of the data.
 4. kunt u ons inzicht geven in hoe de keuze voor een te testen stof (zowel 'challenge' als tegenmaatregel) tot stand komt? Benoem hierbij ook wanneer informatie een hoge mate van geheimhouding betreft en hoe geborgd wordt dat de noodzakelijkheid van een dierproef ook in die gevallen goed navolgbaar is.
The applicant has added information to the proposal.
 5. Het ongerief bij de dieren is voor de DEC niet helder Bij het afwegen is het voor de DEC essentieel om inzicht te hebben in de mate van ongerief. De te kiezen species is daarbij belangrijk. We verwachten meer inzicht in de keuze van Species.
The strategy to choose any animal model will be described in line with question 4.
- Alle bijlagen:**
6. Wordt het meten van de temperatuur van de dieren ook in overweging genomen? Zou dit bruikbaar kunnen zijn om de humane eindpunten scherp te stellen?
Temperature could be a parameter when using telemetry (or using an alternate subcutaneous small implant), but the other telemetrical parameters EEG and ECG are much more sensitive to determine humane endpoints.
 7. Om meer inzicht te hebben in het ongerief heeft de DEC informatie nodig over welke handelingen op welke dieren worden uitgevoerd. Doet u bijvoorbeeld alle operaties ook in de minipig (terminaal, survival) en wordt ook de cavia in de morris water maze getest?
This is now included in line with q. 6 in this part.
 8. Om inzicht te kunnen krijgen in de achtergronden van de aantallen dieren zou de DEC een overzichtelijker en completer beeld willen krijgen van de beoogde statistische methoden, zoals: a) wat zijn belangrijke parameters en wat moet de grootte van het effect zijn dat statistisch onderscheiden moet kunnen worden, b) hoe worden groepen vergeleken en c) hoe worden dieraantallen geschat voor een dose range finding studie.

The numbers between species in principle do not differ, in line with the response to q.5 in the previous part, in which discomfort is not different between species. There could be a difference between animal numbers between species, if methodological differences or parameters are different.

9. De DEC vraagt zich af om inzicht te krijgen in het ongerief: worden er diersoorten gebruikt die een fenotype hebben dat inherent ongerief veroorzaakt?

No.

10. Onderbouwing van sexe.

The use of one or both sexes will be part of the reasoning as described for q. 4.

11. Om inzicht te hebben in het geheel aan ongerief aan de dieren heeft de DEC behoefte aan een volledige opsomming van alle mogelijke handelingen en gebeurtenissen aan dieren met het daarbij ingeschatte ongerief.

Tables have been included per appendix, in line with q.2 of this part.

Appendix 1

12. Hoe verschilt dit onderzoek van acuut regulatorisch onderzoek

This research is not regulatory.

13. Bij gebruik van grote diersoorten in deze fase: is er uitsluitend sprake van regulatorisch onderzoek voor grote diersoorten?

No, no regulatory Tox research will be conducted in this project. It has been completely removed.

Appendix 2

14. Het is niet geheel duidelijk of er alleen sprake is van regulatorische PK studies

No regulatory studies will be employed in this project. Toxicity of a drug to be tested should already be known, only pharmacokinetic and pharmacodynamic data is of interest here.

15. Er staat wettelijk verplichte informatie genoemd in onderdeel F.

This information has been removed, and specific information on deviations from standards are described.

16. Het is de DEC niet duidelijk of het trainen van personeel ook onder deze koepel valt. (Onderdeel I) indien dit het geval is dan helder beschrijven, zo niet dan verwijzen naar een andere vergunning of DEC goedkeuring.

Training of personnel is covered in a separate project. This has been added to the general project.

Appendix 3

17. In deze appendix lijken de 'challenge' en toedieningsroutes niet in overeenkomst met de modelvalidatie in appendix 1. Kunt u uitleggen wat daar de rationale achter is?

Intramuscular is added in this appendix to align both appendices.

18. De DEC krijgt een goed beeld van de proeven met het voorbeeld en begrijpt dat deze indeling van groepen en aantallen dieren slechts een voorbeeld is. Toch een vraag bij deze opzet. Waarom is groep 5 nodig? Is het niet logischer om een groep mee te nemen die niet 'gechallenged' wordt, maar wel een behandeling (bijv. hoogste dosis) krijgt? Dit aangezien we verwachten dat per dier nul metingen gedaan kunnen worden van de fysiologische parameters.

Such a group would be covered in experiments pertaining appendix 2. Furthermore, group 5 is included because when measuring physiology, it is valuable to address to what extent sham handling affects for example heart rate or respiration.

19. U beschrijft dat in het kader van de animal rule, fase III klinische studies worden vervangen door het gebruik van een gekwalificeerd diermodel. Hoe streeft u in de laatste fase van de dierstudies, de fase waarna de drugs worden goedgekeurd, naar het werken met modellen (sexe, maar ook leeftijd, species) waarbij translatie zo nauwkeurig mogelijk geborgd is.

In case a drug will have proceeded to Phase III, but no human studies can be conducted, much data is already available from a large body of animal studies, human clinical safety studies, and in vitro data, providing multiple species information that can be used for translation, for example from PK/PD and TK/TD profiles (information that is required to

qualify a model). An important aspect here is that although PK can vary among species, ultimately the plasma levels of a drug or chemical agent determine whether an effect (dynamic) is observed. Such information is required before entering a drug approval phase. A similar plasma level should induce a similar effect, and not as such the dose. This is also the cases for gender- and age differences, where the differences in this field of study, and then in particular for the drugs, the PK can differ.

- Datum antwoord **3-5-2016 en 19-5 2016**
- Strekking van het (de) antwoord(en)
See blue text above.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag **Yes**

20. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **NVT**

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Expert advies

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren **Ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering.

All members that have taken part in the advice were impartial and independent concerning this project

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

Advies DEC-TNO

- X uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
 - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
 - uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
 - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en)
 3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een essentieel belang.

The purpose of this project application is the research on chemical countermeasures for exposure to chemical threats. This research leads to medical interventions, toxicological information and safety information. The unauthorized use of chemicals (classic warfare agents and toxic industrial chemicals) as a weapon is perceived by the DEC TNO as realistic. The scenario of a catastrophic incident in a chemical plant or production setting seems realistic as well and DEC TNO subscribes the need for information of the effects of such exposures. This research is necessary because such information is not included in general safety legislation for the production of chemicals. The actual possibility of a chemical threat leads us to conclude that the importance of this project application is essential. There is an essential need for animal models for studies on the development and qualification of chemical countermeasures. The DEC TNO has asked the investigator to more prominently clarify the goal (questions 1, 2, 12-16) and the DEC TNO has asked questions on the development of accepted animal models in the project application (question 3). The answers and the modification of the project application clarified the purpose to DEC TNO.

DEC TNO has had extensive discussions on the interests and values involved. The beneficiary parties for this research and the trials described are primarily forensic staff, safety personnel and medical staff

(soldiers, civilians and doctors in charge of cleaning a site and handling casualties and bodies after an exposure). However, also (professional) soldiers, product plant workers and civilians might be subject to a chemical threat and in need of suitable countermeasures. The weight of their interest lays in their health and survival. The DEC TNO subscribed the essential importance of the aim described in this application.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project `

The investigators have given ample information on the strategy concerning the experimental approach how to reach their goals within this application. This information is depicted in schemes and text (questions 4, 5, 19). To the DEC's opinion the researchers have extensive expertise and the essential facilities to achieve the project objectives with the strategy/ approach as described. At this stage precise research questions cannot be given. However the DEC TNO is convinced by the scheme now added in 3.4.2 that the applicant will take the right decisions concerning the animal experiments within this project. Additionally the scheme will enable the Animal Welfare Body to check each step per experiment. The DEC has estimated, based on the project application, that the body of work concerning the research on chemical countermeasures will entail multiple years. To achieve translatable information based on the FDA Animal Rule the five year period which has been applied for seems appropriate. The DEC TNO has extensively discussed the strategy concerning the choice of animal species, sex, age and other specifications and finds that this strategy is well described in appendix 1.

5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd

No

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd

The DEC TNO has extensively discussed the discomfort of the animals included in the studies (questions 7,9,11). The discomfort of the animals is in most cases cumulative and consists of the effects of procedures, of countermeasures and of the agents used as a chemical threat. Although the experiments concerning of chemical threat agents seem all to induce severe discomfort, the DEC TNO wants to add nuance to this impression. We know by first hand and on the basis of the advice of the Animal Welfare Body, that lethal doses of these agents will lead often to a quick state of unconsciousness in the animals. Severe discomfort will thus be the result of sub lethal or not directly lethal exposures of agents or the result of not totally effective countermeasures on the short or long term.

The discomfort levels range from mild discomfort to severe discomfort. Additionally some of the animals will undergo a non-recovery experiment. As estimated by the investigator most animals will experience moderate discomfort (~70%). Since this work is not new for this committee we support the estimates of the researcher. The different tables in the appendices helped us in getting insight in the discomfort per procedure, the cumulative discomfort and the discomfort divided per animal species.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. **No**

Members of the committee have discussed the setting of these animal experiments. Within the strategy the choice for a certain animal

model is based on the fact that the information cannot be gained using non-animal alternatives. Additionally, one of the main objectives of this project application is to qualify animal models for the development and testing of medical countermeasures. Taking this even further these animal models, once qualified, replace phase III clinical testing as described by the FDA Animal Rule. In that case they are an accepted alternative to the testing on humans. Because these types of experiments cannot be done in humans.

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.

The DEC TNO has discussed the numbers of animals as applied for by the investigators. Divided over 4 appendices the researchers apply for 230 mice, 1100 rats, 780 guinea pigs and 260 minipigs. To get more insight in the statistical strategies, the DEC has asked for clarification on strategy in question 8 and explanation by adding an example setup in question 18. With this information and the additional information as presented in the schemes and strategy, the DEC TNO is led to the conclusion that the researchers have cautiously calculated the numbers of animals needed per study. Using the number of animals applied for, the experiments lead to the maximum of information using the minimal number of animals. Additionally, the sensible combination of state of the art techniques enables researchers to combine research questions in order to get as much information as possible from the animals. The number of studies as depicted in the NTS reflects the strategy and seems realistic. Finally the DEC TNO also took into account that animals will only be used when there are specific and detailed research questions from the

field. Knowing this, the numbers reflect an absolute maximum scenario.

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten

The DEC TNO is of the opinion that the project application complies with the requirements for the refinement of animal experimentation. We paid attention to the Humane Endpoints and asked the researchers to elaborate on one detail (question 8). On the basis of this answer and of the use of consensus documents on good practice of animal testing within this project application, the DEC TNO concludes that this project meets the requirements for maximum refinement.

10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd

The NTS is a good representation of the project.

D. Ethische afweging

De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van dieren (niet), de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij dit aantal dieren wordt (niet) gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Het is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. Op termijn kan het project (geen) voordelen opleveren voor mens, dier of milieu

The DEC TNO acknowledges the sensitive character of the combination of chemical warfare and animal experiments in the public debate. For the DEC TNO it is crucial that this project does not cover the

development of such weapons, but only the development of (medical) countermeasures and protection against such weapons. With regret the DEC TNO acknowledges that the threat of chemical weapons is real and medical countermeasures are of essential interest to possible victims. Moreover, the population may also be exposed to these substances outside the context of weapons, for example in chemical accidents.

On the basis of the above stated considerations and those in part C of this advice the DEC TNO members unanimously subscribe the objective to work towards new medical countermeasures using the described strategy. The quality of the research is assured by the well-defined strategies, the extensive application of the three R's and achievability of the goals within the stated time and means. The opinion of the DEC TNO is that the described goal of the experiment outweighs the described discomfort of the animals. All this brings the DEC TNO to the conclusion that the use of 2370 animals in this project is justified.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - De vaststelling dat het project niet vergunning plichtig is
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag
- 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 een ministeriële ontheffing vereist
- Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden

The DEC TNO advises the CCD to ask for a yearly feedback (in line with the registration) on this project in order to monitor the number and type of animals used, the discomfort and to get more insight into the actual specific research goals of the experiments under this project.

Additionally the DEC TNO suggests the CCD to ask the Animal Welfare Body to make sure that the investigators use of the adequate species, breed, type, gender and age of animals for each specific research question. Thereby taking mechanisms of toxicity, the outcome parameters needed and the drug mechanism into account. However also taking into account that depending on the phase of the project the suitable animals will be used. Using a very unified group of animals for the early phases to reduce variation and using a broader spectrum of animals in the translation and the phase III trials.

X De DEC adviseert de vergunning te verlenen

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheidsminderheidsstandpunt

The advice of the DEC TNO is unanimous.