

PREPARE well, ARRIVE better:

in het belang van goede wetenschap en met respect voor de dieren die daarvoor worden ingezet.

Ivo Tiebosch

Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht, contact: i.a.c.w.tiebosch@uu.nl

Het zorgvuldig plannen en uitvoeren van een studie met dieren is complex. Daarom zijn er allerlei richtlijnen, die je juist kunnen helpen in een goede voorbereiding én het maken van de juiste keuzes. Twee daarvan hebben hierin een meer centrale rol gekregen. De PREPARE- en de ARRIVE-richtlijnen. Deze twee documenten zijn nu ook beschikbaar in het Nederlands. Dit is gedaan omdat de richtlijnen toegankelijk moeten zijn voor ieder die betrokken is in onderzoek waarbij dieren worden ingezet. Goed onderzoek doe je samen en in een functionele 'culture of care' is er goed overleg tussen alle betrokkenen over het onderzoek noodzakelijk. Daarbij is het belangrijk om te letten op de zorg voor de dieren, maar ook op de kwaliteit van het onderzoek waar ze voor worden ingezet. In dit artikel wordt uitgelegd hoe PREPARE en ARRIVE je kunnen helpen deze kwaliteit te borgen vanuit iedere rol in de proefdierketen.

Wat is de bedoeling van PREPARE?

PREPARE staat voor 'Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence', of wel het plannen van onderzoek en experimentele procedures op dieren, aanbevelingen voor kwaliteit, afgekort tot PREPARE, in het Nederlands 'voorbereiding'. Dat is wat PREPARE-richtlijnen willen doen, je helpen met het voorbereiden. De PREPARE-richtlijnen vormen in principe een checklist die je voorafgaand aan een studiestart kunt doornemen om je goed voor te bereiden op de dierstudie en alles goed op orde te hebben. Het zijn vijftien punten die opgedeeld zijn in drie hoofddelen:

- A. Formulering van het onderzoek;
- B. Dialoog tussen wetenschappers en de dierfaciliteit;
- C. Kwaliteitscontrole van de verschillende onderzoekselementen.

Als onderzoeker zou je deze checklist parallel kunnen doen aan het doen van een aanvraag middels een werkprotocol of proefplan (WP). Veel zaken in PREPARE worden al uitgevraagd in een gemiddelde WP-aanvraag in Nederland, zoals de formulering van het onderzoek, en bijvoorbeeld de proefopzet en statistische analyse (uit punt 4 van de richtlijn; een belangrijk thema in deze Biotechniek). Maar ook bij de kwaliteitscontrole (C), staan veel punten die in de meeste WP-aanvragen terugkomen, zoals een beschrijving van alle te gebruiken stoffen en bijbehorende risico-analyses, de dieren, gezondheidsbewaking, experimentele procedures, het humaan doden (dan wel adoptie) en eventuele autopsie. Waar PREPARE voornamelijk op stuur is een goede planning in samenspraak met de faciliteit waar de proeven worden uitgevoerd. Je hoort nog vaak in verschillende faciliteiten dat diervverzorgers en biotechnici die met de dieren moeten werken pas meegenomen worden in de planning en de studie als de dieren al besteld zijn. En zelfs als ze al van te voren worden meegenomen betekent dit niet altijd dat er sprake is van een gezamenlijke planning of dat de onderzoeker goed naar de fysieke mogelijkheden en beperkingen van de huisvesting heeft gekeken, of heeft gevraagd wie alle handelingen bekwaam en op welke momenten kan uitvoeren. Gevolg is dat er veel ad-hoc-beslissingen gemaakt worden in onderzoek, die de kwaliteit van de data kunnen beïnvloeden. Door juiste voorbereiding kan dat voorkomen worden. Het is daarom voor de onderzoeker, de betrokkenen bij een dierfaciliteit en voor de dieren van belang dat je jezelf stapsgewijs voorbereidt [1].

om mogelijke risico's op interpretatiefouten op te merken. In de periode na de eerste implementatie zijn de ARRIVE-richtlijnen op basis van terugkoppelingen van onderzoekers herzien en in 2020 opnieuw uitgebracht in de ARRIVE 2.0-versie, die ook vertaald is naar het Nederlands. In deze versie zijn er wederom twintig vergelijkbare onderwerpen aangegeven voor rapportage, maar is er onderscheid gemaakt naar het belang. Je hebt: A. 10 essentiële punten, die je zou moeten rapporteren; B. 10 aanbevolen punten, die je waar mogelijk meeneemt in je rapportage [3]. Wat je daarvoor nodig hebt is in de toelichting [4] uitgewerkt.

Is het verstandig ARRIVE af te vinken?

Ja, het is de bedoeling dat je een (concept)publicatie tijdens en na het schrijven naloop op alle onderdelen uit de ARRIVE-richtlijnen. Daarvoor staan op de website speciale vinklijsten voor auteurs en reviewers [6]. Dat betekent dat je ook als biotechnicus of dierverzorger die lijst er bij kan pakken, als je gevraagd wordt mee te lezen in een publicatie van jouw groep of van een experiment waar je aan hebt meegewerkt. Hoewel je niet primair verantwoordelijk bent zou het zo maar kunnen dat je aantekeningen maakt om essentiële of aanbevolen punten in te voegen, zoals bijvoorbeeld de redenen tot exclusie van dieren, of de huisvestingsgegevens en merkgegevens (inclusief batchnummer) van de gegeven voeding. Dan draag je samen bij aan onderzoek waarbij elk dier op een juiste wijze meetelt.

De 10 essentiële punten van ARRIVE		De aanbevolen set	
<p>Deze onderwerpen moeten minimaal worden genoemd in een manuscript. Zonder deze informatie kunnen lezers en beoordelaars de betrouwbaarheid van de bevindingen niet beoordelen.</p>		<p>Deze punten vullen de 10 essentiële punten aan en geven een belangrijke context bij de studie. Rapporteren volgens beide sets is de beste werkwijze.</p>	
Studie-opzet	<p>1. Geef in het kort details van de studie-opzet van elk experiment met daarin:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. De groepen die worden vergeleken, inclusief controlegroepen. Als er geen controlegroepen zijn gebruikt, geef dan de reden. b. De experimentele strategie bij een diep gereïst of niet-geïst met dieren. 	Samenvatting	<p>11. Geef een accurate samenvatting van de onderzoeksvragen, de opzet, de belangrijkste bevindingen en algemene conclusies.</p>
Streekgrootte	<p>2. Vermeld het exacte aantal experimentele eenheden (dieren of proef) en de totale aantal dieren per experiment. Vermeld het totale aantal dieren dat is gebruikt.</p> <p>3. Geef aan hoe de groepen worden zijn herleid. Geef details van de stratificatie/afwijking van de groepen. Indien hier sprake van is.</p>	Achtergrond	<p>12. a. Voeg voldoende wetenschappelijke achtergrond toe om de onderbouwing en context van de studie te begrijpen en de studie te positioneren toe. b. Verklaar hoe met dit gekozen diermodel het gekozen model de wetenschappelijke doelen bereikt kunnen worden en, waar van toepassing, de relevantie daarvan voor de mens.</p>
In- en exclusiecriteria	<p>3. Geef de criteria voor het in- of uitsluiten van dieren bij experimentele eenheden gedurende het experiment, en voor meetbare parameters die worden geanalyseerd. Geef aan of deze criteria vooraf zijn bepaald. Zo niet, vermeld dit expliciet.</p> <p>4. Geef voor elke experimentele groep aan welke dieren, experimentele eenheden of datapunten niet zijn meegenomen in de analyse en leg uit waarom. Meld het als er geen exclusie heeft plaatsgevonden.</p> <p>5. Vermeld van elke analyse de exacte waarde van n in elke experimentele groep.</p>	Doelen	<p>13. Beschrijf op welke wijze de onderzoeksvraag, de onderzoeksvragen en waar van toepassing, de specifieke hypothesen die worden getoetst.</p>
Randvoorwaarden	<p>4. Geef aan of randvoorwaarden te beschrijven zijn experimentele eenheden toe te wijzen aan controlegroepen of behandeld groepen. Indien uitgesloten, vermeld de methode die is gebruikt om een randvoorwaarde uit te wijzen.</p> <p>5. Beschrijf de strategie die is gebruikt om potentiële confounding variabele in te perken. Geef de strategie van herleidings- en stratificatie, of de wijze van toewijzing in de reeks. Als bepaalde variabele niet onder controle zijn gebracht, geef dit dan expliciet aan.</p>	Ethische verklaring	<p>14. Geef de naam van de ethische beoordelingscommissie of vergelijkbare organisatie die het gebruik van dieren voor deze studie heeft goedgekeurd, en voeg informatie over protocollering toe (indien van toepassing). Indien er geen ethische goedkeuring is gevraagd of verleend, geef hiervoor de reden.</p>
Blinden	<p>5. Beschrijf wat bekend was met de groepen/individuele factoren van het experiment. (Specificeer de indeling, de uitvoering van het experiment, de meting van uitkomstparameters en data-analyse)</p>	Huisvesting en verzorging	<p>15. Geef de details van de huisvesting en verzorging, inclusief de omgevingsverrijking die is aangeboden.</p>
Uitkomstparameters	<p>6. Beschrijf de primaire uitkomstparameters (bijv. overleving, immunologische markers of gedragsveranderingen).</p> <p>7. Beschrijf hoe de statistische methoden die gebruikt zijn voor de analyse, inclusief de gebruikte software.</p>	Dierwelzijn en welzijnbewaking	<p>16. a. Geef aan welke procedures of stappen in het werkprotocol zijn opgenomen voor het monitoren van pijn, lijden en stress. b. Rapporteer elk verwacht en onverwacht ongeval. c. Beschrijf de vooraf vastgestelde humane eindpunten, de strategie vooraf vastgesteld waar te voorkomen en de handreikingen van de controle. Indien in de studie geen humane eindpunten waren opgenomen, geef dit aan.</p>
Statistische methoden	<p>7. Beschrijf de methoden die zijn gebruikt om vast te stellen of de data overeenkomen met de nulhypothese van de statistische analyse, en wat gedaan is als dit niet het geval was.</p> <p>8. Geef aan welke statistische methoden, inclusief soort, statistische test en software, gebruikt zijn om de nulhypothese te testen en welke resultaten zijn bereikt.</p>	Conclusie / wetenschappelijke implicaties	<p>17. a. Interpretatie de resultaten in het licht van de onderzoeksvragen en hypothesen, inclusief de resultaten en andere relevante publicaties in het veld. b. Bespreek de beperkingen van de studie, inclusief mogelijke bronnen van systematische fouten (bias), beperkingen van het diermodel en mogelijk storende factoren (bijv. tijd op resultaten).</p>
Experimentele dieren	<p>8. Geef details van de informatie over de herkomst van de dieren, gebruiksvrijheid, of een vergelijkbare status, genetische modificatie, genotype en alle conclusies die aan dit voortgang van het experiment mogelijk heeft ondergaan.</p>	Generaliseerbaarheid / vertaalbaardheid	<p>18. Bespreek of en hoe de bevindingen van deze studie te vertalen zijn naar andere soorten experimentele condities, inclusief naar van toepassing de relevantie voor de mens.</p>
Experimentele procedures	<p>9. Beschrijf de procedures in voldoende detail voor elke experimentele groep (inclusief de controlegroep), zodat anderen deze kunnen herhalen, inclusief:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Wat er is gebruikt, hoe dit is gebruikt en wat er is gebruikt. b. Wanneer en hoe vaak. c. Waar (inclusief details over de gewenningssituatie). d. Wanneer (bijvoorbeeld) de gekozen procedures. 	Prerogatie	<p>19. Verklaar of het protocol (inclusief de onderzoeksopzet, belangrijke kenmerken van het ontwerp) en het analyseredder vóór de studie is beschreven, of het vanaf is gerevisieerd, of al was.</p>
Resultaten	<p>10. Rapporteer voor elk uitgevoerd experiment, inclusief onderhevige representatie:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. De belangrijkste bevindingen (inclusief de belangrijkste resultaten) met een korte samenvatting van de resultaten van de analyse (bijvoorbeeld de standaardafwijking of mediane en interkwartielafwijking). b. Indien van toepassing, de effectgrootte met een betrouwbaarheidsinterval. 	Openheid van data	<p>20. Verklaar of data beschikbaar zijn gemaakt en waar:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Bespreek mogelijke beperkingen van de openheid van data met een disclaimer. Vermeld het ook als het niet is mogelijk. b. Bespreek alle financiële bronnen (inclusief relevantie van de rol van de financier in het ontwerp, de analyse en de rapportage van de studie).

Abbeelding 2. De ARRIVE 2.0-richtlijnen [3] zoals die in het Nederlands te verkrijgen zijn bij de organisatie NC3Rs. De ARRIVE-richtlijnen [3], de Nederlandse checklist, de Engelse checklist en een Webinar waar ARRIVE geheel wordt uitgelegd:



Nederlands:
<https://arriveguidelines.org/sites/arrive/files/documents/ARRIVE%20guidelines%202.0%20-%20Dutch.pdf>



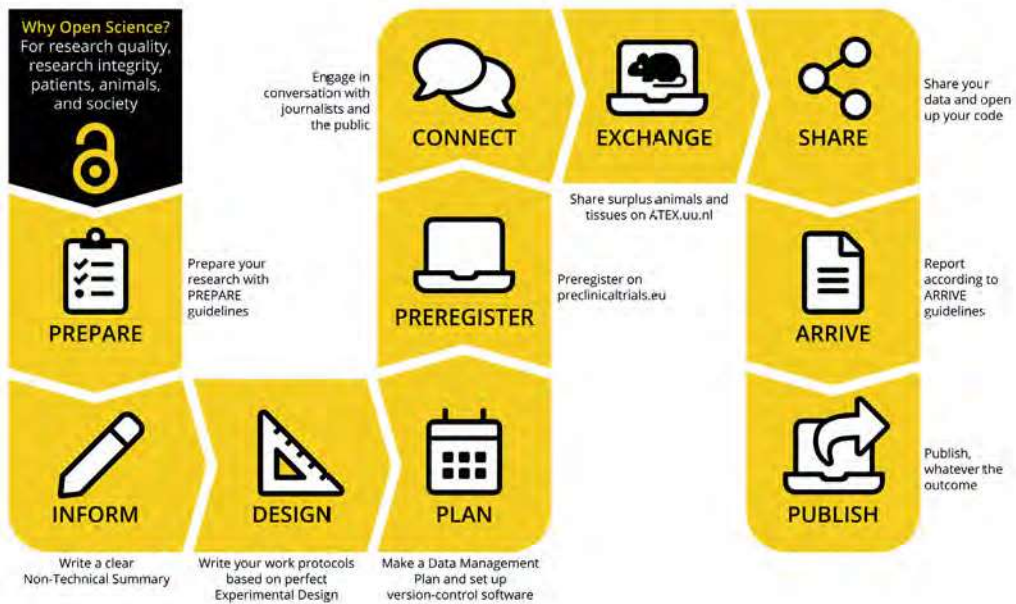
Engels:
<https://arriveguidelines.org/sites/arrive/files/documents/ARRIVE%20guidelines%202.0%20-%20English.pdf>



Een webinar waar ARRIVE wordt uitgelegd:
<https://arriveguidelines.org/resources/webinar>

Plek van PREPARE en ARRIVE in een open wetenschapscultuur

Dierexperimenteel onderzoek heeft de laatste vijftien jaar veel onder vuur gelegen vanwege de ontdekkingen van de lage reproduceerbaarheid en vertaalbaarheid. Helaas kennen ook wij individuele verhalen van gedegen onderzoekers die zijn afgehaakt omdat ze studies niet konden doorzetten, doordat ze niet in staat waren studies van 'hoge impact' te reproduceren, mede omdat deze niet correct waren uitgevoerd met bijvoorbeeld het ontbreken van blinding en randomisatie. Daar begint nu gelukkig verbetering in te komen. Kwaliteit komt steeds hoger in het vaandel te staan. Studies van hoge wetenschappelijke kwaliteit die geen wenselijke resultaten opleveren, worden steeds vaker openbaar door preregistratie [5], het openlijk delen van data of door publicatie van negatieve resultaten. Ook wordt het podium voor studies die niet optimaal zijn uitgevoerd kleiner. Steeds meer tijdschriften onderschrijven de ARRIVE-richtlijnen. ZonMw heeft voor een aantal van haar subsidieprogramma's als voorwaarde gesteld dat onderzoekers die een subsidie krijgen hun resultaten conform de ARRIVE-richtlijnen publiceren. Wanneer mensen ondersteund door ZonMw een systematische review uitvoeren, worden in deze review op basis van bijvoorbeeld het 'risk-of-bias assessment tool' [7] de studies van mindere kwaliteit of transparantie uitgesloten. Daar zit een keerzijde aan. De dieren die zijn ingezet tellen dan ook niet meer mee en de waarde van hun inzet neemt af. Dat is in mijn ogen niet ethisch, dus het is de taak van eenieder die aan deze studies meewerkt om samen bij opzet en publicatie ervoor te zorgen dat elk dier telt door open wetenschap te bedrijven. Dat wil zeggen maak optimaal en objectief gebruik van beschikbare onderzoeksdata om te komen tot een verantwoorde proefopzet. Zorg er vervolgens voor dat de informatie over de proefopzet en de resultaten van de proef maximaal beschikbaar komen. In Utrecht hebben we daarvoor een Open Science infographic ontwikkeld, waarin zowel PREPARE- als ARRIVE-richtlijnen een plek krijgen in de keten van transparante uitvoering van wetenschap. Ook andere onderdelen van de keten zijn in de logo weergegeven (Afb. 3.)



Afbeelding 3. Infographic van de Universiteit over het doen van gedegen en open wetenschap met daarin PREPARE en ARRIVE als respectievelijk de opening als het sluiting van een goede wetenschapscyclus.

Wat kun jij doen en op welk moment?

Iedereen betrokken in dierexperimenten kan zich verantwoordelijk voelen voor de kwaliteit van onderzoek en zijn eigen rol spelen. Je kunt daarmee beginnen door in een startgesprek over een onderzoek na te gaan of eenieder zich bewust is van de PREPARE- en ARRIVE-richtlijnen en deze wil doorlopen. Je doet dit wanneer je deze als onderzoeker een onderzoek aan het uitdenken bent, of wanneer jij juist benaderd wordt in je rol van biotechnicus, verzorger, mede-onderzoeker of IvD-lid. Houdt PREPARE er bij als je een studie plant om geen onderdelen te vergeten vóórdat je start. Niet alle details hoeven klaar en afgerond te zijn voor je een WP indient, maar wel voor je dieren bestelt of behandelt. Loop ook de ARRIVE-richtlijnen vervolgens alvast stapsgewijs door als onderdeel van de voorbereiding om te zorgen dat je alle gegevens kunt verzamelen die je later in de publicatie moet opnemen. Als een publicatie dan zover is kun je ook hiervan een versie sturen naar je collega's binnen het onderzoeksteam en samen de benodigde details aanvullen. Indien je niet zeker weet hoe je een onderdeel moet aanvliegen of daarover meer informatie wilt, dan staat elk punt op de website uitgewerkt met internetlinks naar bronnen bij zowel PREPARE [2] en ARRIVE [5].

Tot slot kun je kijken of je als IvD, of samen met de IvD, de PREPARE en ARRIVE niet meer onder de aandacht kan brengen en openlijk kan ondersteunen. In het laatste geval kun je tevens worden opgenomen in de lijst van instituten die dit al doen op respectievelijk de 'endorsements' [8] en 'supporters' [9] -site. Zo help je mee aan de bewustwording dat er wel degelijk goede hulpmiddelen zijn voor het plannen van dierexperimenten.

Met hulp van deze documenten zorgen we dan samen voor een open wetenschapscultuur waarin geldt:

PREPARE well, ARRIVE better:

in het belang van goede wetenschap en met respect voor de dieren die daarvoor worden ingezet.

Bronnen:

1. Smith AJ, Clutton RE, Lilley E, Hansen KEA, Brattelid T. PREPARE: guidelines for planning animal research and testing. *Laboratory Animals*. 2018;52(2):135-141. doi:10.1177/0023677217724823
2. <https://norecopa.no/prepare/prepare-checklist>
3. Percie du Sert N, Hurst V, et al. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. doi: 10.1371/journal.pbio.3000410
4. Percie du Sert N, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS Biol*. 2020 Jul 14;18(7):e3000411. doi: 10.1371/journal.pbio.3000411.
5. <https://arriveguidelines.org/arrive-guidelines>
6. <https://arriveguidelines.org/resources/author-checklists>, checklist voor (co-)auteurs
7. Hooijmans CR, Rovers MM, et al. MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 2014 Mar 26;14:43. doi: 10.1186/1471-2288-14-43.
8. <https://norecopa.no/PREPARE/endorsements>
9. <https://arriveguidelines.org/supporters>