



# Geblindeerd je experiment uitvoeren

Afbeelding 2. Wilhelm von Osten laat het publiek zien dat zijn paard Kluger Hans kan rekenen, omstreeks 1900 (Publiek domein/wiki).

Nelleke Verhave  
IvD Leiden, contact: p.s.verhave@lumc.nl

Eerder lasen we al in Biotechniek dat blinderen een belangrijke voorwaarde is bij het uitvoeren van goed onderzoek [1]. Het blinderen van onderzoek betekent: niet op de hoogte zijn van bepaalde onderdelen van het onderzoek. Deze onderdelen zijn onder andere het voorbereiden van te injecteren oplossingen of andere behandelingen tijdens de uitvoer van een experiment, tot het nemen van monsters of het doen van metingen, maar ook het analyseren van de data (Afb. 3). Het blinderen van deze stappen doen we om niet onbewust het experiment te beïnvloeden met ons gedrag of conclusies te trekken op basis van dingen die we willen zien. Dit beïnvloeden van het experiment kan namelijk leiden tot systematische fouten in het experiment en het kan op die manier de uitkomsten beïnvloeden. Het is dus ook belangrijk om in je werkprotocol en later in je materiaal en methoden van de uiteindelijke publicatie het toepassen van blinderen expliciet te vermelden [2].

## Onbewuste beïnvloeding

In de geschiedenis zijn veel voorbeelden van onderzoek te vinden waarvan achteraf is gebleken dat het niet goed blinderen de oorzaak is geweest van het feit dat er verkeerde conclusies zijn getrokken. Dit betreft experimenten met dieren maar ook met ogenschijnlijk niet te beïnvloeden metingen met elektronische apparatuur. Een mooi voorbeeld was de ontdekking van de N-straling, vlak na de ontdekking van de röntgenstraling. De Franse onderzoeker René Blondlot had een apparaat gevonden waarmee hij deze N-straling kon opvangen op fotopapier via een prisma van glas. Deze N-straling, onder andere afkomstig van de zon, zou geblokkeerd worden door wolken, maar kon wel dwars door papier of hout gaan. De straling bleek een spannende ontdekking en Auguste Charpentier reproduceerde de meting en beschreef dat zelfs dieren deze N-stralen produceerden. Andere onderzoekers konden de straling echter helemaal niet reproduceren en er ontstond discussie onder wetenschappers. Zo kwam het dat Robert Wood afreisde naar het lab van Blondlot. Daar demonstreerde Blondlot de N-straling met de spectroscopie aan Wood in een donkere kamer. Vervolgens vroeg Wood aan Blondlot om het nog eens te laten zien, maar zonder dat Blondlot het wist, haalde hij het prisma weg. Alsnog resulteerde het experiment in de meting van N-stralen op het fotopapier dat Blondlot gebruikte. Het bleek dat Blondlot – onbewust – de duur van de bloot-

stelling aan licht aanpaste en dacht dat door deze handeling de N-stralen te meten waren op het fotopapier. De wetenschapper schaamde zich uiteraard diep toen hij zijn fout onderkende [3]. Maar er zijn ook veel recentere voorbeelden. In 2019 opende Microsoft met veel bombarie het Quantum lab Delft. Prof. Leo Kouwenhoven en zijn groep hadden Majorana-deeltjes kunnen aantonen en dit gepubliceerd in Nature. Deze deeltjes waren de basis op weg naar de revolutionaire en supersnelle Quantum-computer. Microsoft heeft de prestigieuze samenwerking in maart dit jaar afgebroken (Afb. 1). Dit heeft alles te maken met het feit dat de onderzoekers de Nature-publicatie hebben teruggetrokken vanwege het feit dat ze ongeblindeerd de data hadden geanalyseerd. Daarmee hadden ze -onbewust - bewijs gezien voor de Majorana-deeltjes, daar waar het er helemaal niet was [4].



Afbeelding 1. Onbewuste beïnvloeding als reden voor het herzien van een spannende ontdekking.

### Onbewust waarnemen bij dieren

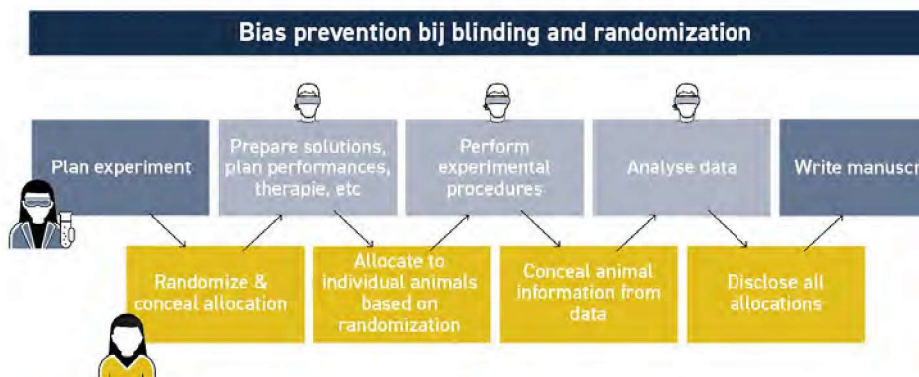
Onbewust is het sleutelwoord in het blinderen van je experiment. Het gaat erom dat je jezelf behoedt voor de invloed van je eigen onbewuste handelen en observeren. Dat is bij dierproeven extra belangrijk. Met ons onbewust handelen kunnen we ook nog eens de dieren beïnvloeden. Een mooi voorbeeld hiervan is het paard Kluger Hans. Dit paard was wereldberoemd vanwege zijn vaardigheden in het rekenen. Hij tikte met zijn hoef het antwoord op bijna iedere som. Een fenomeen dat veel publiek trok in Berlijn en omstreken, aan het eind van de 19e eeuw (Afb.2).

Maar uiteindelijk bleek na een drie jaar lang en nauwkeurig onderzoek van Oskar Pfungst dat het dier geheel onbewust werd aangestuurd door zijn eigenaar Wilhelm von Osten met kleine bewegingen in zijn gezicht. Hierdoor had het paard alle sommen goed, zolang Von Osten het antwoord zelf ook maar wist. Het rekenvermogen van het paard was nu ontkracht, maar Kluger Hans heeft met zijn eigenaar Wilhem von Osten alsnog veel opgetreden voor publiek [5]. Zoals eerder in Biotechniek gepresenteerd zijn ook ratten gevoelig voor onze onbewuste aanwijzingen [1]

Een prachtige video [6] hierover zie je hier:

Want to make a lab rat smarter? Treat it like a smarter lab rat





Afbeelding 3. Experimentele stappen die je moet blinderen om te borgen dat je niet onbewust je experiment beïnvloed (Subsoda in opdracht van My Animal Experiment, Experimental Design, Universiteit Utrecht & UMC Utrecht).

### Tips voor het geblindeerd uitvoeren van een studie

Het is niet voor niets dat blinderen expliciet is opgenomen in de PREPARE- en ARRIVE-richtlijnen (zie ook het artikel hierover in deze uitgave). Maar het is helemaal niet zo gemakkelijk om een studie geblindeerd uit te voeren en de data geblindeerd te genereren en analyseren. Dit komt onder andere door de vele stappen die idealiter geblindeerd uitgevoerd zouden moeten worden (Afb. 3). Daarom voor jullie deze lijst met tips bij problemen bij het blinderen. Het zijn tips die hulp kunnen bieden bij mogelijke problemen en zijn weergegeven in Tabel 1 (zie pagina 24). Ze zijn uitgedacht en beschreven met de hulp van biotechnici en onderzoekers uit Leiden.

### Blinderen opnemen in je publicatie

Zoals in de voorbeelden naar voren kwam is het van groot belang om in de beschrijving van je materiaal en methoden ook het blinderen op te nemen. Maak het blinderen zo onderdeel van het ontwerp van je experiment. Het vergt toewijding van het hele team en vertrouwen in elkaars nauwgezetheid. Deel daarom de video [6] en dit artikel met collega's, zodat in ieder geval de noodzaak helder wordt. Maar ook met de lijst met tips is blinderen niet opeens altijd mogelijk. Begin in dat geval met het erkennen en het publiceren van de onderdelen waar het nog niet lukt om te blinderen.

Heb je zelf nog tips of nieuwe unieke problemen mail deze dan naar [ivd-Leiden@lumc.nl](mailto:ivd-Leiden@lumc.nl) dan denken we mee over een oplossing.

### Bronnen

1. Tiebosch en van Eenige (2020) Het belang van blinderen en randomiseren in dierexperimenteel onderzoek. *Biotechniek* 59-3
2. Hirst et al., (2014) The Need for Randomization in Animal Trials: An Overview of Systematic Reviews *Plos one* 9-6
3. Fantastically Wrong: The Imaginary Radiation That Shocked Science and Ruined Its 'Discoverer' | WIRED <https://www.wired.com/2014/09/fantastically-wrong-n-rays/>
4. Zhang, H., Liu, CX., Gazibegovic, S. et al. Retraction Note: Quantized Majorana conductance. *Nature* 591, E30 (2021).
5. Slimme Hans, het paard dat kon rekenen | Historiek <https://historiek.net/slimme-kluger-hans-paard-rekenen/147294/>
6. Video: Want to make a lab rat smarter? Treat it like a smarter lab rat by Francesca Cattaneo (AEON.co), <https://aeon.co/videos/want-to-make-a-lab-rat-smarter-treat-it-like-a-smarter-lab-rat>.
7. The Experimental Design Assistant - EDA | NC3Rs <https://www.nc3rs.org.uk/our-portfolio/experimental-design-assistant-eda>.

Tabel 1. Tips bij problemen bij het blinderen, samengesteld door de IvD Leiden in samenwerking met biotechnici en onderzoekers.

Tips voor het blinderen van je studie	
Opleider	Tip
“Mijn welzijnsdagboek is helemaal compleet en dus zie ik direct de conditie van mijn dieren”	1. Refereer in het welzijnsdagboek naar de individuele diernummers en nooit naar de groep, bij voorkeur ook niet naar groep A, B, C. Voeg de groeperingen toe nadat de data is verkregen en ontsluit de daadwerkelijke conditie na de data-analyse.
“Ik ben alleen in het lab”	1. Blinderen kun je alleen met een team doen: vraag je collega/vriend/secretaresse etc. om je te helpen. Dit kan dus ook een collega zijn die zelf geen dierwerk doet. 2. Laat een collega je oplossingen en injectievloeistoffen maken en in ruil doe jij dat voor hem/haar. 3. Vraag je collega om je dieren opnieuw te coderen en bewaar de sleutel voor ontcijfering in een dichte envelop in je labjournaal. 4. Bespreek dit met je begeleider of de IvD.
“Mijn experimentele injectievloeistof heeft een andere kleur dan de vehicle-oplossing.”	1. Laat een collega je oplossingen en injectievloeistoffen maken en vraag hem of haar om de injectieaalden met tape of folie te bedekken.
“Ik moet vloeistof toedienen op basis van gewicht dus ik moet de schaalverdeling zien.	1. Weeg de dieren, (laat dan) de spuitjes voorbereiden, injecteer op basis van diernummer.
“Het genotype is onderdeel van het experiment en staat op het label aan de kooi”	1. Laat een collega die niets weet van de genotypering het experiment uitvoeren. 2. Vraag aan de onderzoeker om het genotype van een bepaald diermodel nooit te delen met jou als biotechnicus. 3. Plak een stuk gekleurd papier over dat stuk van het label.
“Mijn dieren ontvangen een speciaal dieet”	1. Vlak voor het uitvoeren van de meting of handeling haalt een collega het voer uit alle ruiven.
“Ik zie snel een patroon in mijn groepen zelfs als ik geblindeerd ben”	1. Verdeel de dieren gerandomiseerd over de kooien (meerdere behandelingen per kooi). 2. Codeer de groepen niet, maar werk altijd alleen met de individuele diernummers.
“In mijn experiment zie ik juist dat de dieren uit een groep altijd uitvallen.”	1. Verdeel de dieren gerandomiseerd over de kooien (meerdere behandelingen per kooi). 2. Codeer de groepen niet, maar werk altijd alleen met de individuele diernummers. 3. Zorg dat in de humane eindpunten in je onderzoeksplan is opgenomen bij welke onverwacht grote uitval van de dieren het experiment moet worden herzien. En beschrijf in je onderzoeksplan hoe dit moet gebeuren. 4. Wanneer er meerdere dieren gaan uitvallen door humane eindpunten, zorg dan dat degene met de sleutel van je blinding deze controleert en zorg dat de studie op het juiste moment wordt bijgesteld of stilgelegd.
“Mijn dieren hebben een heel herkenbaar fenotype”	1. Vraag aan de onderzoeker om de specifieke eigenschappen van een bepaald diermodel nooit te delen met jou als biotechnicus. 2. Laat een collega die niets weet van het fenotype het experiment uitvoeren. 3. Zoek een manier om je data geautomatiseerd te vergaren. 4. Codeer de video's, foto's of data na het vergaren van de data.
Mijn behandeling heeft effect op het uiterlijk van mijn dieren (bijvoorbeeld Veet onttharingcrème als adjuvantia)	1. Zoek een manier om je data geautomatiseerd te vergaren. 2. Codeer de video's, foto's of data na het vergaren van de data. 3. Vraag aan de onderzoeker om de behandelingen te doen en zorg dat jij de metingen doet. 4. Laat een collega die niets weet van de effecten van de behandeling de metingen uitvoeren.
“Hoe weet ik dat mijn collega geen fouten maakt?”	1. Werk aan het team en aan vertrouwen. Dierwerk is per definitie teamwerk. 2. Schrijf een heel specifieke SOP met betrekking tot het blinderen. 3. Vraag een derde persoon om de blinding te controleren. 4. Gebruik een geautomatiseerd blindingsschema, zie bijvoorbeeld [7]. The Experimental Design Assistant - EDA   NC3RS