

# Formulering statistisch analyseplan in een projectvoorstel

---

**Voor de beoordeling van een projectvoorstel is niet alleen het onderzoeksdesign nodig, maar ook een globale opzet van het statistisch analyseplan en daarmee een betrouwbare inschatting van het maximaal benodigde aantal dieren. Dit geeft inzicht in hoe er gestreefd is naar een minimaal te gebruiken aantal dieren, de V van vermindering.**

Bij het opzetten van wetenschappelijk onderzoek is het gebruikelijk om niet alleen te denken aan de opzet van het onderzoek, maar ook al te bedenken hoe de uiteindelijke gegevens zullen worden geanalyseerd. Het statistisch analyseplan is ook een van de pijlers voor het bepalen van het minimaal benodigde aantal dieren. Samen met het design van het onderzoek vormt het een drie-eenheid met de onderzoeksvragen.

In de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' van de CCD wordt gesproken over het statistische analysestrategie, waarbij bedoeld wordt op de statistische analyse en de bepaling van het maximaal benodigde aantal dieren. De CCD geeft daarbij aan dat het vooral gaat om de strategie en niet om de volledige uitwerking van alle details.

## Het statistisch analyseplan

Het statistisch analyseplan bevat als het ware de grote lijnen van de analyses. Wordt er bijvoorbeeld gewerkt met parametrische toetsen of non-parametrische toetsen? Ook wordt in het plan vastgelegd of de analyse bestaat uit het vergelijken van de gemiddelden van de experimentele groepen (met welke eventuele posthoc-toetsen), het kijken naar de samenhang tussen continue of categorale variabelen of een ander soort analyse.

Enig inzicht in hoe de data uiteindelijk worden geanalyseerd is dus van belang om te kunnen controleren of de onderzoeksopzet antwoord geeft op de onderzoeksvragen. Tevens is de statistische analyse de basis voor de bepaling van de minimale steekproefgrootte. De minimale steekproefgrootte wordt, indien mogelijk, bepaald met behulp van een inschatting van de minimaal relevante effectgrootte, de gewenste power en de spreiding van de data.

Uiteraard kan een plan afwijken van de uiteindelijke analyse. Zo kan bijvoorbeeld uitgegaan zijn van parametrische toetsen in het plan, terwijl bij de uiteindelijke analyse op basis van de data kan blijken dat beter gekozen kan worden voor een non-parametrische toets.

## Bepaling van de steekproefgrootte

Een belangrijk onderdeel van het onderzoeksdesign is het minimaal benodigde aantal proefdieren. Het doel is om een optimum te vinden: niet meer dieren dan noodzakelijk, maar ook weer niet te weinig dieren (voorspellende waarde waarborgen, te weinig power). Met behulp van de poweranalyse kan je voor parametrische toetsen dit optimum bepalen.

Voor de bepaling van het minimaal benodigde aantal dieren (de steekproefgrootte ( $n$ )) heb je de volgende gegevens nodig in de poweranalyse

- 1) welke statistische analyse wordt uitgevoerd (m.a.w. wat is het design);
- 2) één- of tweezijdige toetsen;
- 3) kans op een type I-fout ( $\alpha$ );
- 4) gewenste power ( $\Pi$ );
- 5) minimaal relevante of te verwachten effect ( $\delta$ ) en te verwachten spreiding c.q. standaarddeviatie ( $\sigma$ ).

Het grootste probleem is vaak het vaststellen van het minimaal relevante of te verwachten effect en de te verwachten spreiding. Voor het bepalen van het minimaal relevante effect kan gedacht worden aan de grens waarbij een effect niet meer praktisch interessant of relevant is (klinische relevantie). Om een indicatie te krijgen over de verwachte spreiding kan gekeken worden naar een pilotstudie, literatuurstudie of algemene kennis.

Soms is het niet mogelijk om de grootte van het minimaal relevante effect of de te verwachten spreiding aan te geven. In dat geval kan er nog geen definitieve bepaling van het minimaal aantal benodigde dieren plaatsvinden. In dat geval zou kunnen worden volstaan om uit te gaan van Cohen's effect size (ratio van effectgrootte en spreiding) om een realistische inschatting te maken van het aantal benodigde dieren. Het is echter aan te bevelen om ernaar te streven toch een realistische inschatting te maken van het gewenste effect en de spreiding.

Bij het gebruik van een poweranalyse wordt uitgegaan van normaal verdeelde continue data. Indien je van te voren weet dat je data hier niet aan zullen voldoen, moet je op een andere manier de benodigde aantallen dieren inschatten.

Het is verstandig om bij de inschatting van het maximaal benodigde aantal dieren ook rekening te houden met pilotstudies, het trainen van medewerkers, het valideren van technieken en/of de mogelijke uitval van dieren. Bij een pilotstudie is het in principe niet nodig om een steekproefgroottebepaling uit te voeren, maar is het wel van belang om voldoende waarnemingen uit te voeren, zodat betrouwbare informatie wordt verkregen. De Cohen's effect size zou eventueel daarbij ook gebruikt kunnen worden maar is geen standaard praktijk.

## CCD en het statistisch analyseplan

In de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' wordt op twee plaatsen gevraagd om strategie:

1. *In de Niet-technische samenvatting, Paragraaf 4.2 Vermindering:* 'Geef aan op welke wijze ervoor wordt gezorgd dat niet meer dieren worden gebruikt dan nodig zijn voor het verkrijgen van betekenisvolle resultaten. Het volstaat aan te geven welke algemene strategie hiertoe gevolgd gaat worden (bijv. statistische analyse). Ga niet nadrukkelijk in op de details van de analyse zelf.'
2. *In de bijlage dierproeven, Paragraaf A- Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters:* 'Bij de onderbouwing van het maximum aantal benodigde dieren kunnen zowel statistische als niet-statistische overwegingen een rol spelen. Wanneer statistische onderbouwingen niet mogelijk zijn, geef dan aan waarom niet en welke andere overwegingen maatgevend zijn voor het bepalen van het aantal te gebruiken dieren. Het gaat hier dus primair om de vraag naar strategieën en niet om de vraag naar bijvoorbeeld poweranalyses voor individuele experimenten.'

De CCD geeft dus aan dat je wel een plan voor je statistische analyse moet hebben, maar dat dat globaal mag zijn. Het statistische analyseplan moet zo duidelijk zijn dat bij de nadere uitwerking van het onderzoeksplan er geen discussie meer mogelijk kan zijn over het soort analyse zelf. De discussie kan bijvoorbeeld nog wel gaan over welke groepen precies worden gedefinieerd, ook kan de discussie bij de nadere uitwerking gaan over de vraag of de toets parametrisch of non-parametrisch wordt.

Op basis van de voorlopige inschatting van het minimaal benodigde aantal dieren, het aantal benodigde dieren voor de eventuele pilotstudie, het verwachte percentage van mogelijke uitval van dieren en andere factoren, kan een betrouwbare schatting gemaakt worden voor het uiteindelijk maximaal benodigde aantal dieren. Na goedkeuring door de CCD wordt het onderzoeksvorstel in het werkprotocol eventueel in samenwerking met de Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht verder uitgewerkt.

## Elementen die nodig zijn voor het beoordelen van je aanvraag

Om je statistische analyse plan goed te kunnen beoordelen zijn dus de volgende onderdelen van belang in je aanvraag:

1. Wat zijn de onderzoeksvragen? Maak daarbij onderscheid tussen primaire en secundaire onderzoeksvragen.
2. Wat is de opzet van de dierproef? Bedenk daarbij wat ga je meten, hoe ga je het meten, welke dieren je nodig hebt, of het een gepaard of ongepaard design wordt, hoe je de randomisatie en blinding organiseert, hoe je later de data wilt analyseren, welke praktische zaken vereist zijn, etc.
3. Hoe worden de meetgegevens geanalyseerd? Oftewel: wat is het statistisch analyseplan? Bedenk welke resultaten je wilt gaan beschrijven, toetsen of modeleren, welke hypothesen je wilt gaan toetsen, welke statistische analyses je wilt toepassen, of je één- of tweezijdig gaat toetsen, etc.
4. Hoeveel dieren heb je minimaal nodig? Bepaal dat op basis van het design en het statistisch analyseplan. Bedenk of de bepaalde steekproefgrootte leidt tot praktische problemen. Pas zo nodig het design, het statistisch analyseplan of de poweranalyse aan.

IvD Utrecht en Dr. Paul Westers (statisticus)

## Websites

Over de bovenstaande onderwerpen kun je veel lezen op de volgende website: [www.3Rs-reduction.co.uk](http://www.3Rs-reduction.co.uk). Hier kun je je kennis ook toetsen met een zelftest.

## Literatuur

*Van Zutphen, L.F.M. et al., (2012) Handboek proefdierkunde, proefdieren, dierproeven, alternatieven en ethiek, Springer Media B.V.*

In dit boek vind je basis informatie over het opzetten van een dierproef.

*Bate, S.T., Clarke, R.A., (2014) The design and statistical analysis of animal experiments.*

In dit boek vind je basis informatie over het opzetten van een dierproef en informatie over de statistiek die je kunt gebruiken voor de analyses.

*Lara-Pezzi, E et al., (2015) Guidelines for Translational Research in Heart Failure. J. of Cardiovasc. Trans. Res. 8(1)*

Een artikel met daarin vooral de focus op de translatie van modellen voor hartfalen in dieren en effectieve suggesties voor het ontwerpen van dergelijke studies. De focus is op hartfalen, maar de informatie is ook geschikt voor andere vakgebieden.

*Steward, O., Balice-Gordon, R. (2014) Rigor or mortis: best practices for preclinical research in neuroscience. Neuron. 84(3)*

In dit artikel worden best practices op het gebied van experimental design en statistiek in preklinische studies op het gebied van de neurologische en psychiatrische aandoeningen besproken. Ook is er aandacht voor datamanagement. De focus van het artikel is op neurologische en psychiatrische aandoeningen, maar de informatie is ook geschikt voor andere vakgebieden.

*Festing, M. F. W., Altman, D.G., (2002) Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. ILAR 43(4)*

Dit artikel helpt je stap voor stap om je vraagstelling te kunnen beantwoorden met verschillende typen experimenten. Het biedt manieren om fouten te voorkomen en zinvolle data te verkrijgen. Het is speciaal geschreven voor het gebruik van dieren in onderzoek en legt daarbij de nadruk op de 3V's en goede statistische analyse.

*Aban, I.B., George, B., (2015) Statistical considerations for preclinical studies, Exp. Neurol. 270*

Dit artikel bespreekt statistische begrippen met als doel een betere kwaliteit van dierstudies. Dit artikel is speciaal geschreven voor het gebruik van dieren in preklinische studies zodat de data geschikt is als voorbereiding op de klinische fase van onderzoek.

*Tweel, I. van der (2006) Sample size determination. Intern Report nr 4*

[http://portal.juliuscentrum.nl/Portals/2/Disciplines/Biostatistics/SAMPLE%20SIZE%20DETERMINATION\\_electronic%20version.pdf](http://portal.juliuscentrum.nl/Portals/2/Disciplines/Biostatistics/SAMPLE%20SIZE%20DETERMINATION_electronic%20version.pdf)

In dit report wordt uitleg gegeven over de meest simpele steekproefgrootte berekening.