



Criteria e contenuti nella valutazione scientifica dei progetti di ricerca (ai sensi del Dlvo 26/2014

**Laura Ricceri (e Flavia Chiarotti, Augusto Vitale e Nadia Francia)
Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze
Istituto Superiore di Sanità, Roma**

Art. 31 Autorizzazione dei progetti:

Valutazione scientifica

- a) Preventiva valutazione sugli scopi del progetto che giustificano l'uso dell'animale;
- c) Analisi dei danni e dei benefici derivanti dal progetto per comprendere se il danno arrecato agli animali (sofferenza dolore distress o danno prolungato) è giustificato dal risultato atteso in termini di benefici per gli esseri umani, gli animali e per l'ambiente;
- e) Effettiva necessità della ricerca in quanto non costituisce una inutile duplicazione di ricerche precedenti;
- f) Giustificazione del progetto unitamente alle procedure previste da un punto di vista scientifico o educativo;
- h) Motivazioni poste alla base dell'utilizzo di una determinata specie;
- i) Minor numero di animali per il raggiungimento delle finalità del progetto.



Istituto Superiore di Sanità

TITOLO DEL PROGETTO:
 RESPONSABILE:
 DGSFAF/XXXXXX
 PROT SSA/XXXX/2015 (I.S.S.-B.C.N. BCN XX/XX/2015-0000000)

Valutazione Scientifica (40 punti)	Presente si/no	Punteggio
a) scopi del progetto che giustificano l'uso dell'animale; 15 punti		
c) analisi dei danni e dei benefici derivanti dal progetto; 5 punti		
e) effettiva necessità della ricerca in quanto non costituisce una inutile duplicazione di ricerche precedenti; 5 punti		
f) giustificazione del progetto unitamente alle procedure ivi previste da un punto di vista scientifico o educativo o, comunque, previsto per legge; 5 punti		
h) motivazioni poste alla base dell'utilizzo di una determinata specie, allevata o meno per essere impiegata nelle procedure; 5 punti		
i) minor numero di animali per il raggiungimento delle finalità del progetto; 5 punti		
TOTALE SEZIONE VALUTAZIONE SCIENTIFICA		
Commenti e limitazioni		

Roma,

ESPERTO:

Reperto di Neuroscienze comportamentali
 Dipartimento di Biologia cellulare e Neuroscienze
 ISS-SEDE

Valutazione della necessità, innovatività e rilevanza del progetto nell'ambito della letteratura scientifica attuale

Rispetto del principio di sostituzione (Replacement)

Valutazione del piano sperimentale

(numero di esperimenti, di gruppi sperimentali e di animali)

Rispetto del principio di riduzione (Reduction)

Valutazione del danno

[sofferenze indotte dalle singole procedure (inclusa la generazione di animali con modificazioni genetiche), misure previste per la riduzione della sofferenza e dello stress]

Rispetto del principio di affinamento (Refinement)



Altri aspetti generali nella revisione:

- **Chiarezza, precisione, concisione, completezza dell'elaborato;**

- google traduttore: come nella valutazione di qualunque altro testo scientifico grosse "sviste" indicano che il testo non è stato neppure riletto con attenzione;
- reticenza sui trattamenti utilizzati (e.g. antiossidanti di origine naturale);
- mancata descrizione del fenotipo di una linea (murina) geneticamente modificata

- **Curriculum del gruppo proponente**

- **Finanziamenti (Punto 34 dell'Allegato VI)**



ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
a) scopi del progetto che giustificano l'uso dell'animale	Sezione 16 Obiettivi Sezione 17 Razionale
c) analisi dei danni e dei benefici derivanti dal progetto	Sezione 20 d) Danno/beneficio Sezione 20 e) Affinamento Sezione 24 Effetti avversi
e) effettiva necessità della ricerca in quanto non costituisce una inutile duplicazione di ricerche precedenti	Sezione 17.2 Originalità Sezione 19 Studio di replicazione
f) giustificazione del progetto unitamente alle procedure ivi previste da un punto di vista scientifico o educativo o, comunque, previsto per legge	Sezione 17 Razionale Sezione 21 Metodologia e Tecnica
h) motivazione poste alla base dell'utilizzo di una determinata specie, allevata o meno per essere impiegata nelle procedure	Sezione 20 a) Sostituzione Sezione 21.1 Criteri di selezione
i) minor numero di animali per il raggiungimento delle finalità del progetto	Sezione 10 Numero animali Sezione 11 Numero animali Sezione 20 b) Riduzione Sezione 21.2 Cons. Statistiche Sez. 32 Riutilizzo



ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
a) scopi del progetto che giustificano l'uso dell'animale	Sezione 16 Obiettivi Sezione 17 Razionale

16. Obiettivi del progetto di ricerca

Scopo del progetto: specifico, non ambiguo, fattibile

17. Razionale dello studio

17.1 Stato delle conoscenze (giustificare lo studio con adeguati riferimenti bibliografici)

17.2 Originalità e/o interesse dello studio (valore scientifico)

17.3 Eventuali ricadute nell'ambito della salute pubblica umana e/o animale (valore sociale)

17.4 Eventuale impatto nel settore economico-industriale (valore economico)

17.5 Eventuali ricadute nell'ambito della formazione (valore didattico)



ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
c) analisi dei danni e dei benefici derivanti dal progetto	Sezione 20d) Danno/beneficio Sezione 20c) Affinamento Sezione 24 Effetti avversi

20.d Rapporto danno/beneficio

• Descrizione del danno, dei benefici e stima complessiva delle due componenti

20.c Affinamento (*Ottimizzazione della metodica per ridurre la sofferenza imposta all'animale durante l'esecuzione delle procedure*)

24. Effetti avversi e misure per ridurre, evitare ed attenuare qualsiasi forma di sofferenza per l'animale, dalla nascita alla morte

Descrivere i potenziali effetti negativi che la procedura può determinare sull'animale (per esempio dolore, stress, perdita di peso, febbre, anemia, deficit neurologici, comportamenti anomali o altri sintomi clinici di stress acuto o cronico o deficienze nutrizionali). Indicare se questi effetti possono essere ridotti e/o annullati con la somministrazione di analgesici o altri farmaci e, in caso contrario, indicare perché ciò non è possibile

ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
e) effettiva necessità della ricerca in quanto non costituisce una inutile duplicazione di ricerche precedenti	Sezione 17.2 Originalità Sezione 19 Studio di replicazione

17. Razionale dello studio

17.2 Originalità e/o interesse dello studio (valore scientifico)

19. La ricerca che si intende attuare è già stata effettuata?

(Se la ricerca è già stata attuata, spiegare perché è scientificamente necessario ripetere l'esperimento)



ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
f) giustificazione del progetto unitamente alle <u>procedure</u> ivi previste da un punto di vista scientifico o educativo o, comunque, previsto per legge	Sezione 17 Razionale Sezione 21 Metodologia e Tecnica

21. Metodologia e tecnica dell'esperimento

(va spiegato dettagliatamente il protocollo sperimentale, con particolare riferimento alle fasi che prevedono la manipolazione degli animali, frequenza, tipo di trattamenti, prelievi, ecc.)

- Quali dati sono necessari a raggiungere lo scopo del progetto?
- Come verranno generati?

21.1 Criteri di selezione del campione *(indicare le modalità di selezione del campione, specificando i criteri di inclusione e l'eventuale suddivisione dell'unità campionaria in gruppi)*

- **Il disegno sperimentale:** quali e quanti sono i gruppi sperimentali e il loro razionale. Molto consigliato l'uso delle tabelle.

ARTICOLO 31

ALLEGATO VI

f) giustificazione del progetto unitamente alle procedure ivi previste da un punto di vista scientifico o educativo o, comunque, previsto per legge

Sezione 17 Razionale
Sezione 21 Metodologia e Tecnica

21.1 Criteri di selezione del campione (*indicare le modalità di selezione del campione, specificando i criteri di inclusione e l'eventuale suddivisione dell'unità campionaria in gruppi*)

• Il disegno sperimentale: esempi di tabelle.

Animali /gruppo	Trattamento			
	A	B	C	D
8	+	-	-	-
8	+	+	-	-
8	-	-	+	-
8	-	-	-	+
8	-	-	+	+
8	-	+	+	-
Totale: 48 animali/esperimento				

Via di somministrazione, dosaggi, e tempi di trattamento per composto (durata max 6 settimane)			
A	B	C	D
IP, 50 µg/kg, bisettimanale	IP, 1 mg/kg, bisettimanale	IP, 10 mg/kg, bisettimanale	IP, 50 mg/kg, bisettimanale

ARTICOLO 31

ALLEGATO VI

h) motivazione poste alla base dell'utilizzo di una determinata specie, allevata o meno per essere impiegata nelle procedure

Sezione 20 a) Sostituzione
Sezione 21.1 Criteri di selezione

20. Dichiarazioni riferite all'Articolo 13, comma 2.

a. **Sostituzione** (Dichiarazione che la specie animale di cui si farà uso sono quelle a più basso sviluppo neurologico, nonché della mancanza di metodi alternativi, compatibili con l'obiettivo del progetto di ricerca)

21.1 Criteri di selezione del campione (*indicare le modalità di selezione del campione, specificando i criteri di inclusione e l'eventuale suddivisione dell'unità campionaria in gruppi*)

• Razionale scientifico per la scelta della specie



ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
i) minor numero di animali per il raggiungimento delle finalità del progetto	Sezione 10 Numero animali Sezione 11 Numero animali Sezione 20 b) Riduzione Sezione 21.2 Cons. Statistiche Sez. 32 Riutilizzo

10. Si prevede di utilizzare il seguente numero complessivo di animali (specificare se animali geneticamente modificati)

Specie Animale	Ceppo	Numero / anno

11. Specificare se Animali Geneticamente modificati ed eventuali numeri parziali riferiti a diverse specie e/o ceppi animali

Specie Animale	Ceppo	Numero / anno



ARTICOLO 31	ALLEGATO VI
i) minor numero di animali per il raggiungimento delle finalità del progetto	Sezione 10 Numero animali Sezione 11 Numero animali Sezione 20 b) Riduzione Sezione 21.2 Cons. Statistiche Sez. 32 Riutilizzo

20. Dichiarazioni riferite all'Articolo 13, comma 2.

a. **Riduzione** (Massima riduzione del numero di animali utilizzati, compatibile con gli obiettivi del progetto di ricerca)

21. Metodologia e tecnica dell'esperimento

21.2 Considerazioni statistiche (*descrivere come è stato determinato il numero di animali necessari per lo studio*)

• Studio di dimensionamento. Come si è giunti all' "N" dei singoli esperimenti.

NB "20 a" non concide con "21.2"

Le 3 principali criticità nella revisione scientifica:

- 1) analisi **d**anni-benefici
- 2) **d**isegno sperimentale
- 3) **d**imensionamento



1) **d**anno-beneficio

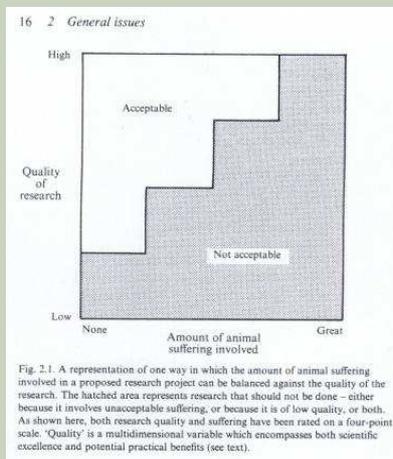
- **Essere consapevoli del danno:** descrizione accurata dell'impatto delle procedure sulle condizioni di benessere dell'animale. Nel caso di linee geneticamente modificate descrizione accurata del fenotipo noto.

- **E' più difficile misurare i benefici rispetto ai danni.** Anche a livello europeo si considerano i fattori grado di sofferenza, certezza di beneficio bio-medico, qualità della ricerca (il "vecchio cubo di Patrick Bateson del 1986).
 "...Se gli uomini persistono nel disprezzare tutti gli esperimenti a eccezione di quelli che danno loro un utile e un raccolto immediato, tanto vale che se la prendano con la Provvidenza divina perché non ha fatto in modo che tutte le stagioni dell'anno fossero tempo di mietitura, di raccolto e di vendemmia"

(Thomas Sprat The History of the Royal Society of London for the improving of natural knowledge 1667)

- **E' utile suddividere il testo in due paragrafi (danno e beneficio)**

1) danno-beneficio



Martin and Bateson, 1993

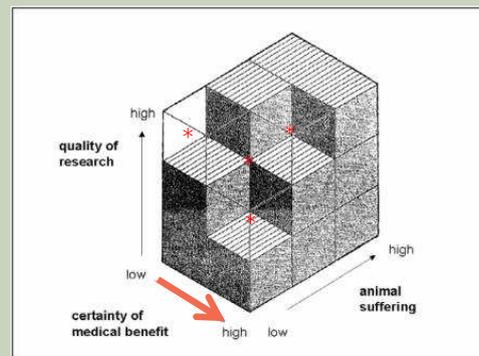


Fig. 4: Graph according to Bateson (1986). Quality of research, certainty of benefit and animal suffering should be in a balanced relation. When a research proposal falls into the opaque part of the cube, the experimental work should not be done

3rd dimension: Certainty of medical benefit

1) danno-beneficio: un esempio (-)

d. Rapporto danno/beneficio:

Il sacrificio degli animali utilizzati in questi esperimenti porterà un importante beneficio nel campo dello studio e della ricerca dell'anorexia nervosa. Infatti, i risultati ottenuti da questo progetto aumenteranno la conoscenza dei meccanismi patogenetici dell'anorexia nervosa, ancora largamente sconosciuti, e porteranno all'individuazione di nuovi bersagli farmacologici per prevenire o ridurre la gravità della patologia stessa. Tali studi valuteranno anche se un approccio di tipo non farmacologico, come l'utilizzo di un ambiente arricchito, possa prevenire o ridurre la gravità della patologia stessa.

Come la comunità scientifica ha affrontato il modello:

*“Activity based anorexia (ABA) is an animal model of AN in which rats are allowed free access to running wheels (RW) but restricted to 2 h food access per day. Rats exposed to this way display symptoms similar to those seen in anorexic women. These include **paradoxical hyperactivity, hypophagia, extreme weight loss and estrous cycle disruption**. Conversely, rodents given either restricted food access or running wheels maintain their body weight.*

*Pre-weighed quantity of food pellets (30 g) was placed daily for restricted period of only 2 h and thereafter food was removed from the cage hopper. Food intake was monitored (g) manually by weighing the leftover food immediately after 2 h. Animals were maintained on this restricted scheduled feeding between 1700–1900 h for 10 days. Body weight of all animals was measured daily just prior to drug administration. For ethical reasons, **it was decided that rats were to be removed from the experiment when they lost more than 25% of their initial body weight (drop-out value)**”.*

1) danno-beneficio: un esempio (+)

Benefici: *La perdita di massa muscolare conseguente all'invecchiamento, a lunghi periodi di o ad altre condizioni patologiche determina una progressiva perdita di mobilità che riduce la qualità della vita e ha importanti conseguenze economiche e sociali. Ad esempio, la cachessia neoplastica è una sindrome multifattoriale che spesso complica la gestione dei pazienti oncologici. E' caratterizzata da perdita di peso corporeo, deplezione sia delle proteine del muscolo scheletrico che delle riserve lipidiche, anoressia e perturbazioni dell'omeostasi metabolica. La cachessia è causa prima di circa il 25% delle morti per cancro, complica la gestione dei pazienti oncologici (interferisce con le terapie) ed è ampiamente riconosciuta come uno dei maggiori problemi in oncologia clinica. Le alterazioni metaboliche proprie della cachessia neoplastica sono un evento precoce, con un forte impatto sullo stato di benessere del paziente, e si associa a deplezione delle proteine del muscolo scheletrico. Questo progetto mira a individuare strumenti molecolari e/o farmacologici che permettano di bloccare/rallentare la perdita di massa e di forza muscolare che avviene naturalmente durante la vecchiaia o come conseguenza di alcune gravi patologie acquisite e/o genetiche.*

Danni: *In tutti i gruppi sperimentali sono stati descritti i danni potenziali agli animal che verranno monitorati quotidianamente nella fase postchirurgica mediante apposite scale di valutazione per il riconoscimento di stati di dolore dell'animale e degli humane endpoints. Su un totale di 11 procedure sperimentali che andremo a descrivere al punto 21, 3 presentano procedure classificabili come "grave" in base all'allegato 7 del D.Lgs.26/2014.*

1) danno-beneficio: qualche esempio (+)

24. EFFETTI AVVERSI E MISURE PER RIDURRE, EVITARE ED ATTENUARE QUALSIASI FORMA DI SOFFERENZA PER L'ANIMALE

Gli animali verranno seguiti per tutta la durata della sperimentazione. Verrà utilizzata l'anestesia in tutti i gruppi che la prevedono. Non sono attesi stadi di sofferenza oltre quelli descritti al punto 21. Inoltre gli animali saranno pesati prima e dopo la sperimentazione. Nella procedura X porremo particolare attenzione alla pesata prima dell'inoculo tumorale e gli animali verranno pesati giornalmente in modo tale da riconoscere immediatamente l'endpoint del gruppo (15% di diminuzione di peso). Nella procedura Y al fine di evitare difficoltà a procacciarsi il cibo dalla griglia, verrà posto del cibo bagnato sulla lettiera per il primo giorno. La procedura Z (treadmill) prevede la costante presenza di un ricercatore per tutta la durata della sperimentazione trattandosi di un'osservazione continua comportamentale.

2) disegno sperimentale

-Allegato VI 15. Durata del progetto di ricerca [**massimo (non obbligatoriamente)** 60 mesi];

Pianificare 5 anni di esperimenti può essere complesso: 3 + 2? Spesso i numeri possono diventare più realistici (si eliminano opzioni (e.g trattamenti, dosi che si sono rivelate non utili));

-Il revisore fa “anche” **i conti** dei gruppi sperimentali per ogni esperimento previsto con relativa numerosità, se il disegno sperimentale non è chiaro valutare la congruità della richiesta non è possibile.

--Il disegno sperimentale ha anche a che vedere con la **R di Riduzione del numero di soggetti** (e.g. campioni appaiati quando possibile invece di campioni indipendenti)



Quando possibile
TABELLE



3) dimensionamento

Per calcolare la minima dimensione campionaria necessaria a valutare l'ipotesi in studio occorre precisare:

- 1) α = il **livello di significatività** accettato per rifiutare H_0 (a 1 o 2 code) **valore prestabilito**
- 2) $1-\beta$ = la **potenza del test**, cioè la probabilità di evidenziare una differenza significativa **valore prestabilito**
- 3) δ = la **minima differenza** che si vuole essere in grado di evidenziare tra i gruppi a confronto, perchè **clinicamente/biologicamente rilevante**
- 4) σ = la **variabilità delle misure** che si confrontano

3) dimensionamento

Dove possiamo ricavare le informazioni necessarie al dimensionamento?

α , $1-\beta$: valori standard

$\alpha \leq 0.05$ (0.05, 0.01; usualmente a 2 code)

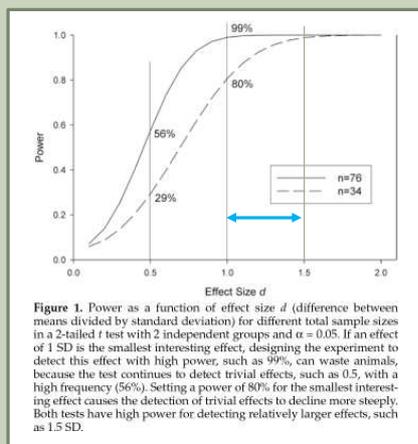
$1-\beta \geq 0.80$ (0.80, 0.85, 0.90)

δ : sulla base di ipotesi di lavoro (cliniche, di rilevanza biologica)

σ : dalla letteratura, da studi precedenti del proponente o da appositi studi (studio pilota o di fattibilità)

3) dimensionamento

Valori di potenza del test $1-\beta > 80$ possono condurre a uno spreco di animali



Suppose for the sake of this example that the difference the investigator hopes to find is quite large, greater than 1.5SD, and that the smallest difference between the means that would be interesting is about 1 SD. To set a 99% chance of detecting the smallest interesting difference, 76 total subjects would be needed in the 2 groups combined, based on a sample-size calculator.⁷ Note that power remains high (Figure 1), well below an effect size of 1.0, and the probability of detecting an effect of only 0.5 SD is still 56%, indicating that so many animals have been used that this trivial difference will still be detected more than half the time. If instead a criterion of 80% power is used to detect the smallest interesting difference, 34 total subjects would be used, and the power falls off rapidly at effect sizes smaller than 1 SD. Both strategies yield excellent power in the range where the investigator actually hopes to find a difference, that is, 1.5 SD and greater. As noted previously, the P value does not discriminate between meaningful and trivial differences.²⁴ Animal experiments that are designed to be so powerful that they can detect even trivial differences are wasteful in terms of animal use.

from: **Fitts, DA**, Ethics and animal numbers: informal analyses, uncertain sample sizes, inefficient replications and type I errors, Journal of American Association for Laboratory Animal Sciences, 2011. vol 50(4) 445-453.

3) dimensionamento

Nota bene: a parità di altre condizioni, la dimensione campionaria è legata a α , $1-\beta$, δ , σ

In particolare, n aumenta:

- al diminuire di α ($\alpha \downarrow$ \Rightarrow $n \uparrow$)
- all'aumentare di $(1-\beta)$ ($1-\beta \uparrow$ \Rightarrow $n \uparrow$)
- al diminuire di δ ($\delta \downarrow$ \Rightarrow $n \uparrow$)
- all'aumentare di σ ($\sigma \uparrow$ \Rightarrow $n \uparrow$)

3) dimensionamento

In assenza di ipotesi specifiche, possiamo scegliere δ in funzione di σ . Cohen * propone per la differenza fra medie

effetto piccolo: $\delta = 0.2 \times \text{SD attesa}$

effetto medio: $\delta = 0.5 \times \text{SD attesa}$

effetto grande: $\delta = 0.8 \times \text{SD attesa}$

NB: minore è la dimensione dell'effetto che si vuole essere in grado di individuare, maggiore è la dimensione campionaria necessaria

* J. Cohen Statistical power analysis for the behavioral sciences 2nd ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates 1988

3) dimensionamento

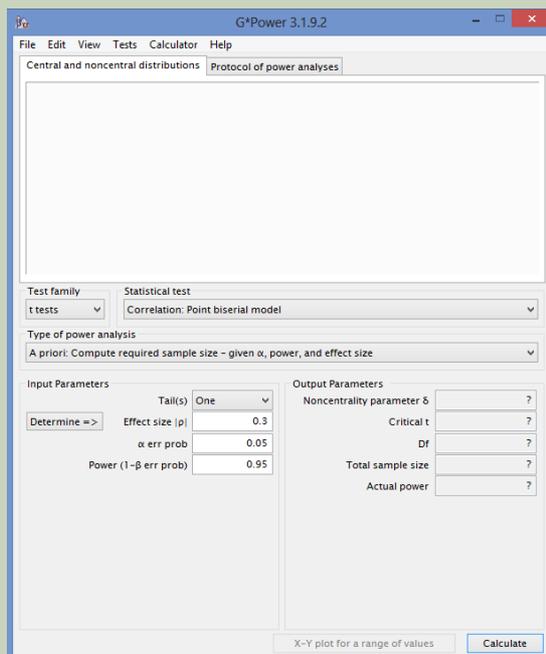
G*Power

software gratuito per:

- il dimensionamento del campione
- l'analisi di potenza

<http://www.psych.uni-duesseldorf.de/abteilungen/aap/gpower3/>

3) dimensionamento



G*Power

Schermata di apertura

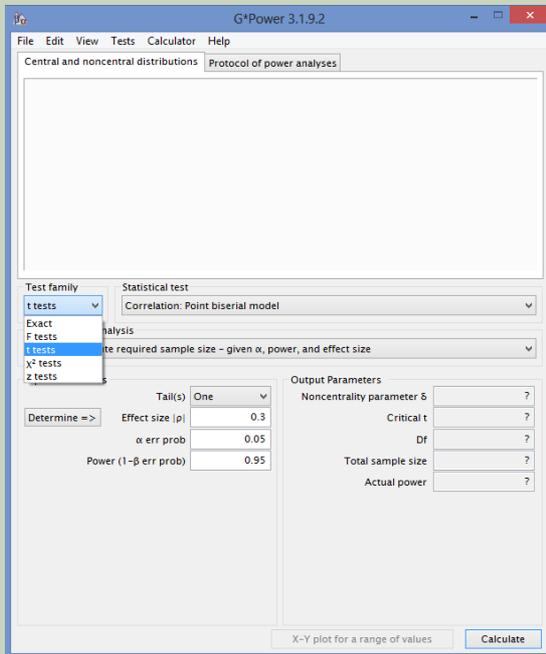
Bisogna scegliere:

- Il tipo di presentazione
- La famiglia dei test
- Il test statistico dentro la famiglia
- Il tipo di analisi di potenza

Bisogna inserire:

- Code
- Dimensione dell'effetto
- Probabilità dell'errore di I tipo
- Potenza del test
- Rapporto tra le dimensioni dei campioni

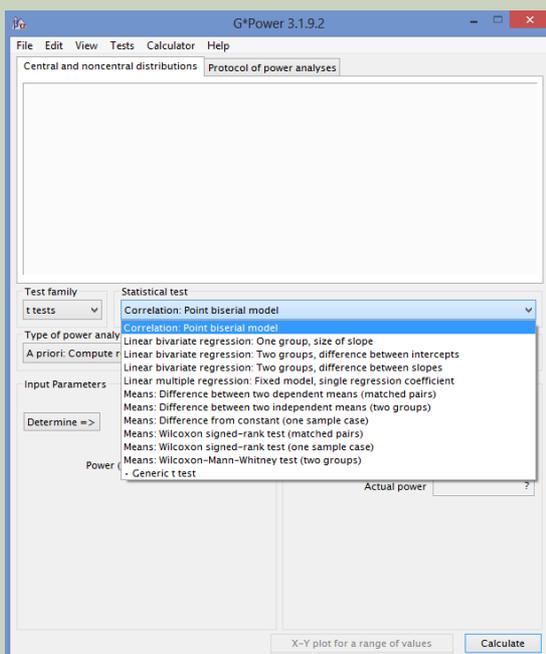
3) dimensionamento



G*Power

Scegliamo la famiglia di test

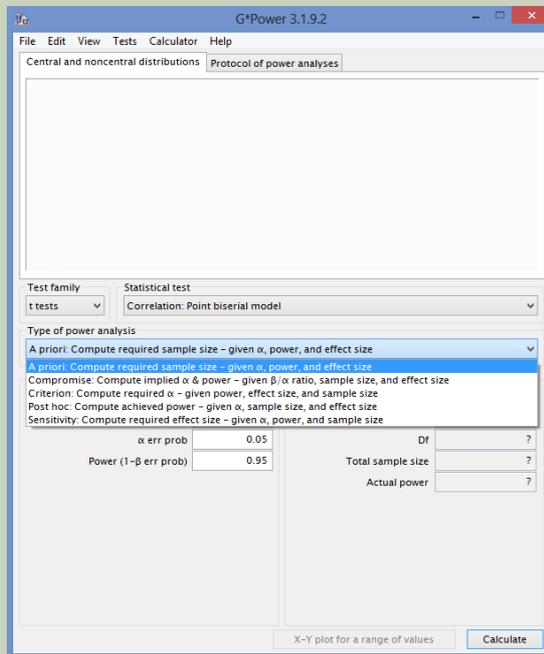
3) dimensionamento



G*Power

Scegliamo il test dentro la famiglia

3) dimensionamento

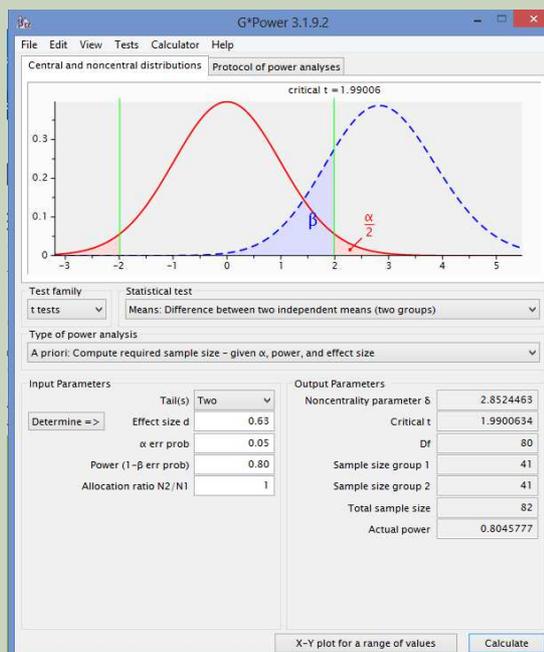


G*Power

Scegliamo il tipo di power analysis

NB: siamo interessati a calcolare la dimensione campionaria

3) dimensionamento

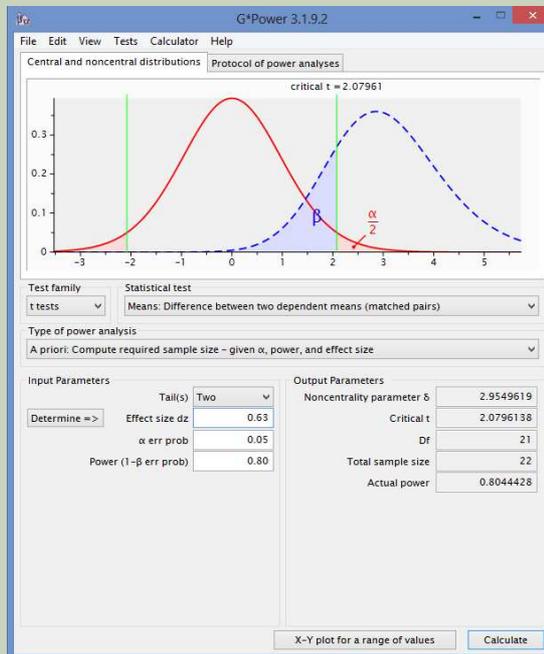


G*Power

t test per gruppi indipendenti

Inseriamo i dati richiesti per il calcolo della dimensione campionaria

3) dimensionamento



G*Power

t test per gruppi **appaiati**

Inseriamo i dati richiesti per il calcolo della dimensione campionaria

3) dimensionamento

Concludendo:

- a) È possibile e utile effettuare uno studio di dimensionamento;
- b) Se opportuno, un disegno sperimentale che preveda l'appaiamento tra le misure (consanguinei, soggetto controllo di se stesso) determina una riduzione della dimensione campionaria.

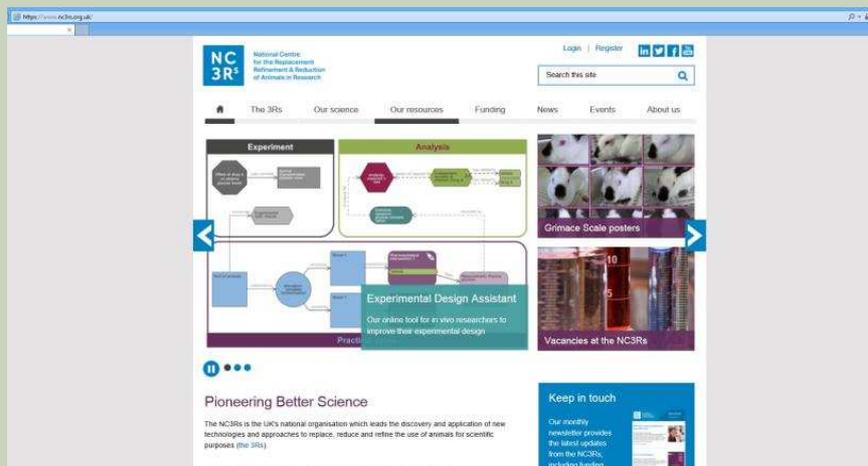
Un ultimo suggerimento per “convincere” il proponente:

La pubblicazione delle ARRIVE GUIDELINES

ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines are intended to improve the reporting of research using animals – maximising information published and minimising unnecessary studies.

The ARRIVE guidelines, originally published in [PLOS Biology](#), were developed in consultation with the scientific community as part of an NC3Rs initiative to improve the standard of reporting of research using animals.

<https://www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines>



The ARRIVE Guidelines

Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments

The ARRIVE (Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) guidelines were developed as part of an NC3Rs initiative to improve the design, analysis and reporting of research using animals – maximising information published and minimising unnecessary studies. The guidelines were published in the online journal *PLOS Biology* in June 2010 and are currently endorsed by scientific journals, major funding bodies and learned societies.

Carol Kilkenny¹, William J Browne², Innee O'Connell³, Michael Emerson⁴ and Douglas G Altman⁵

¹The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, London, UK, ²School of Veterinary Science, University of Bristol, Bristol, UK, ³School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol, UK, ⁴National Heart and Lung Institute, Imperial College London, UK, ⁵Centre for Statistics in Medicine, University of Oxford, Oxford, UK

The guidelines are intended to:

- Improve reporting of research using animals.
- Guide authors as to the essential information to include in a manuscript, and not be absolutely prescriptive.
- Be flexible to accommodate reporting a wide range of research areas and experimental protocols.
- Promote reproducible, transparent, accurate, comprehensive, concise, logically ordered, well written manuscripts.
- Improve the communication of the research findings to the broader scientific community.

The guidelines are NOT intended to:

- Promote uniformity, stifle creativity, or encourage authors to adhere rigidly to all items in the checklist. Some of the items may not apply to all studies, and some items can be presented as tables/figure legends or flow diagrams (e.g. the numbers of animals treated, assessed and analysed).
- Be a guide for study design and conduct. However, some items on the checklist, such as randomisation, blinding and using comparator groups, may be useful when planning experiments as their use will reduce the risk of bias and increase the robustness of the research.

Who are the guidelines aimed at?

- Novice and experienced authors
- Journal editors
- Peer reviewers
- Funding bodies

What kind of research areas do the guidelines apply to?

- The guidelines will be most appropriate for comparative studies, where two or more groups of experimental animals are being compared, often one or more of the groups may be considered as a control. They apply also to studies comparing different drug doses, or, for example, where a single animal is used as its own control (within-subject experiment).
- Most of the recommendations also apply to studies that do not have a control group.
- The guidelines are suitable for any area of bioscience research where animals are used.

How might these guidelines be used?

The guidelines provide a checklist for those preparing or reviewing a manuscript intended for publication.

References

- Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLOS Biol* 8(6): e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412
- Schulz KF, Altman DG, Moher D, the CONSORT Group (2010) CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* 340:c332.

Funding

The reporting guidelines project was funded by the National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs).

<https://www.nc3rs.org.uk/arrive-animal-research-reporting-vivo-experiments>

Housing and husbandry	9	Provide details of: <ol style="list-style-type: none"> Housing (type of facility e.g. specific pathogen free [SPF]; type of cage or housing; bedding material; number of cage companions; tank shape and material etc. for fish). Husbandry conditions (e.g. breeding programme, light/dark cycle, temperature, quality of water etc for fish, type of food, access to food and water, environmental enrichment). Welfare-related assessments and interventions that were carried out prior to, during, or after the experiment.
Sample size	10	<ol style="list-style-type: none"> Specify the total number of animals used in each experiment, and the number of animals in each experimental group. Explain how the number of animals was arrived at. Provide details of any sample size calculation used. Indicate the number of independent replications of each experiment, if relevant.
Allocating animals to experimental groups	11	<ol style="list-style-type: none"> Give full details of how animals were allocated to experimental groups, including randomisation or matching if done. Describe the order in which the animals in the different experimental groups were treated and assessed.
Experimental outcomes	12	Clearly define the primary and secondary experimental outcomes assessed (e.g. cell death, molecular markers, behavioural changes).
Statistical methods	13	<ol style="list-style-type: none"> Provide details of the statistical methods used for each analysis. Specify the unit of analysis for each dataset (e.g. single animal, group of animals, single neuron). Describe any methods used to assess whether the data met the assumptions of the statistical approach.



<https://www.nc3rs.org.uk/arrive-animal-research-reporting-vivo-experiments>

Journals endorsing the ARRIVE guidelines:

[A](#)[B](#)[C](#)[D](#)[E](#)[F](#)[G](#)[H](#)[I](#)[J](#)[K](#)[L](#)[M](#)[N](#)[O](#)[P](#)[Q](#)
[R](#)[S](#)[T](#)[U](#)[V](#)[W](#)[X](#)[Y](#)[Z](#)

N

[NanoWorld Journal](#)

[Nature](#)

[Nature Biotechnology](#)

[Nature Cell Biology](#)

[Nature Chemical Biology](#)

[Nature Chemistry](#)

[Nature Communications](#)

[Nature Genetics](#)

[Nature Immunology](#)

[Nature Materials](#)

[Nature Medicine](#)

[Nature Methods](#)

[Nature Nanotechnology](#)

[Nature Neuroscience](#)

[Nature Protocols](#)

[Nature Structural and Molecular Biology](#)

[Neural Development](#)

[Neurogastroenterology and Motility](#)

[Neuron](#)

[Neuropharmacology](#)

[Neurotoxicology](#)

[Nuclear Receptor Signalling](#)

[Nutrition & Diabetes](#)

[Psychology & Neuroscience](#)

