

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș  
Disciplina de Informatică Medicală

**Marius Mărușteri**

**Biostatistică**

- note de curs pentru studenții Școlii Doctorale -

- 2005 -

Copyright (c) 2005 Marius Ștefan Mărușteri.

Permission is granted to copy, distribute and/or modify this document under the terms of the GNU Free Documentation License, Version 1.2 or any later version published by the Free Software Foundation; with no Invariant Sections, no Front-Cover Texts, and no Back-Cover Texts. A copy of the license can be seen at <http://www.gnu.org/licenses/fdl.txt>

## NOȚIUNI DE CALCUL STATISTIC

### I. INTRODUCERE

Statistica matematică este știința care urmărește explicarea fenomenelor de masă printr-un număr relativ redus de observații. Ea folosește metode inductive de cercetare, plecând de la particular la general. Desigur, concluziile rezultate în urma prelucrării statistice a datelor experimentale nu sunt legități absolut sigure, însă gradul de incertitudine poate fi calculat. Cunoscând gradul de incertitudine al concluziilor trase, metoda statistică de cercetare poate fi considerată o metodă matematică exactă.

Pentru a putea studia procesul biologic dorit, datele experimentale trebuie sistematizate prin grafice și tabele, întocmite prin luare în considerare fie a numărului total de date, fie a unui număr eșantion extras din acestea. Din acest punct de vedere, statistica matematică operează cu două noțiuni de bază:

1. *Populația sau colectivitatea statistică;*
2. *Proba (eșantionul) extras din populația aflată în studiu.*

### POPULAȚIA STATISTICĂ ȘI PROBELE STATISTICE

O *populație statistică* poate fi definită prin totalitatea fenomenelor sau a obiectelor calitativ omogene având una sau mai multe caracteristici comune; de exemplu 100 de cobai cărora le-a fost injectat intraperitoneal o anumită substanță activă pentru a studia un anumit efect farmacologic al acesteia reprezintă un exemplu de *populație statistică*.

Trebuie făcută o deosebire între o populație statistică *finită, infinită și ipotetică*. Exemplul de mai sus reprezintă o populație statistică finită, în timp de urmărirea frecvenței de apariție a unui anumit efect secundar pentru un medicament dat la nivelul unei clinici pe o durată nedefinită de timp (ce poate continua luni sau ani) reprezintă un exemplu de populație statistică infinită. Drept exemplu de colectivitate statistică ipotetică se pot menționa parametrii farmacocinetici ai unui model farmacocinetic stimulat pe calculator care va urma să fie verificat și experimental.

Pentru cunoașterea proprietăților unei populații statistice este necesar să se cunoască proprietatea elementelor din care este compusă. Practic este însă imposibil să se determine compoziția inițială a populației statistice studiate, deoarece ea ar fi distrusă, fie ar fi necesare

un număr foarte mare de determinări, imposibil de efectuat. Din aceste motive se apreciază proprietatea populației statistice numai pe baza unei părți finite din populație numită **probă**, care trebuie să îndeplinească o condiție sine qua non: trebuie ca ea să fie luată din populația statistică în așa fel încât fiecare element din populație să aibă aceeași probabilitate de a face parte din probă. Probele care satisfac acest deziderat se numesc **probe reprezentative**.

Înainte de a trece în revistă diferiți *parametri statistici* trebuie menționată variabilitatea ce există în cadrul populațiilor studiate și importanța ei pentru obținerea unor rezultate corecte în urma experimentelor efectuate.

## VARIABILITATE BIOLOGICĂ

Așa cum am menționat, procedeele statistice dau cercetătorului posibilitatea de a preciza variabilitatea existentă în sânul unei colectivități. Măsura acestei variabilități dă indicații cu consecințe practice, în special în domeniul biologiei unde se spune că „variabilitatea este singura realitate, media fiind o ficțiune”. În fața proceselor biologice, atât de complexe, cum s-ar putea cunoaște valorile normalului și limitele lui de variație? Fiind dat un anumit experiment, cu o împrăștiere mare a rezultatelor, cum se poate trage o concluzie justă în aprecierea fenomenului cercetat? Cum putem ști dacă am efectuat un număr suficient de experiențe pentru a atrage o concluzie valabilă? Când putem spune, suficient de exact, că o diferență între două măsurători este semnificativă?

Fără sprijinul statisticii matematice aceste întrebări nu și-ar găsi niciodată răspunsul. Mai mult, interpretarea rezultatelor simplist este neconcludentă, empirică, putând duce la erori grave de interpretare, ceea ce, în cazul farmacologiei poate pune vieți în pericol.

Cercetarea biologică se bazează pe rezultate obținute pe un număr limitat de observații din multiplele posibile, este deci o *cercetare de eșantion*. Se pune problema dacă putem generaliza observațiile obținute pe un număr limitat de cazuri, la întreaga colectivitate studiată, obținând astfel legi cu aplicare generală. Generalizarea este posibilă doar dacă ținem cont de variabilitatea cifrelor obținute, iar statistica matematică dă posibilitatea aprecierii acestei variabilități.

Astfel, dacă eșantionul este *reduc ca număr*, rezultatele obținute în cercetările biologice pot fi diferite, chiar dacă contrarii adevărului, ceea ce se cheamă *fluctuație de eșantionaj*. Dacă eșantionul este *numeros*, rezultatul va fi evident mai apropiat de adevăr, media rezultatelor putând fi generalizată la întreaga populație. Un alt aspect deosebit de important este cel al *împrăștierii rezultatelor*; cu cât împrăștierea va fi mai mare, cu atât

rezultatele se vor îndepărta mai mult de cele obținute când se examinează întreaga obiectivitate (deci de valoarea reală).

În concluzie, generalizarea, în scopul ajungerii la concluzii valabile, depinde, din punct de vedere statistic, de două caracteristici ale datelor analitice:

1. *Numărul observațiilor efectuate ( $n$ );*
2. *Împrăștierea (dispersia) acestora ( $\sigma$ ).*

Statistica matematică dă posibilitatea aprecierii lor și, de aici putem deduce că ea este cea care acordă valoarea unei anumite cercetări ce dorește desprinderea unor concluzii cu caracter generalizator.

## FACTORI DE EROARE

Este cunoscut faptul că aceeași substanță activă, experimentată prin aceeași metodă, poate da rezultate diferite, nu numai în laboratoare diferite, ci chiar și în același laborator. De aceea cunoașterea de către cercetător a factorilor care determină această variabilitate, precum și a tipurilor de erori ce pot să apară este o necesitate.

În general variabilitatea rezultatelor unui experiment farmacologic este determinată de următorii factori:

### ***I. Factori care țin de animalul de experiență:***

- A. Factori interni:*** greutate, sex, vârstă, rasă, origine, sănătate.
- B. Factori externi:*** condiții de întreținere (alimentație, temperatură ambiantă), condiții sezoniere.
- C. Factori care țin de individualitatea animalului,*** proprii fiecărui individ și care caracterizează reactivitatea acestuia (amintim aici, de exemplu, mare variabilitate întâlnită la metabolizarea alcoolului etilic în cazul indivizilor speciei umane, în funcție de cantitatea de ADH disponibilă în cazul fiecărui individ).

***II. Factori care țin de mediul geografic și climateric.*** Se pot obține rezultate diferite în diverse părți ale globului investigând aceeași probă și urmând chiar aceeași tehnică de lucru, organismul animal fiind o entitate biologică a cărei reactivitate individuală depinde de mediul înconjurător, de factorii micro- și macroclimatici înconjurători.

**III. Factori care țin de tehnicile întrebuințate.** Fiecare tehnică de lucru poate da un rezultat care poate fi chiar discordanță cu cel obținut printr-o altă tehnică, de aceea cele două rezultate nu pot fi obiectul unei comparații realizate științific.

Data fiind multitudinea factorilor de eroare, cercetarea biologică ar fi insuficientă sau neconcludentă dacă nu s-ar ține seama de anumite norme științifice în experimentare. Aceste norme se referă, în primul rând la înlăturarea factorilor care determină variabilitatea răspunsurilor biologice. Câteva măsuri importante vor fi menționate mai jos:

- ⇒ selecția riguroasă a animalelor;
- ⇒ întocmirea loturilor dintr-un număr suficient de indivizi, siguri din punct de vedere statistic (sănătoși, de vârstă apropiată, etc.);
- ⇒ asigurarea omogenității unui lot precum și între loturile luate într-o anumită experiență prin măsurile mai sus menționate se înlătură factorii de eroare ce depind de animalul de experiență;
- ⇒ determinare comparativă prin folosirea standardurilor sau a unor substanțe de referință, contribuie hotărâtor la înlăturarea factorilor de eroare care țin de tehnicile întrebuințate.

Existența variabilității biologice ne determină să admitem că între valoarea răspunsului biologic, obținut de noi în urma unui experiment, și valoarea reală poate exista o anumită diferență. Când datele obținute de către noi se abat de la valoarea reală putem spune că au fost comise *erori*, ce se datorează factorilor mai sus menționați. Prin termenul de *eroare* se înțelege diferența numerică dintre valoarea găsită de către experimentator și valoarea reală a unei mărimi.

$$E = |M - A| \quad (1.1.1)$$

Unde  $E$  – eroarea absolută

$M$  – valoarea măsurată

$A$  – valoare adevărată

Această valoare  $A$  a unui sistem nu poate fi cunoscută exact. În cursul experimentului se obțin valori mai mult sau mai puțin apropiate de  $A$ , problema care se pune este însă care sunt valorile ce pot fi acceptate. Pentru că  $A$  nu poate fi cu certitudine cunoscută se urmărește ca o valoare acceptată să se găsească într-un anumit domeniu de valori, în sarcina statisticii matematice căzând stabilirea întinderii acestui domeniu și, deci, a validării rezultatelor unui experiment.

Factorii de eroare care pot fi înlăturați alcătuiesc așa numitele *erori sistematice* și ele afectează *exactitatea* rezultatului. Factorii care țin de reactivitatea individuală, de exemplu, nu

pot fi înlăturați, ei determinând ceea ce numim *erori aleatoare (întâmplătoare)*, care afectează atât *exactitatea* cât și *precizia* rezultatelor experimentale. Cu toate că acești factori de eroare nu pot fi înlăturați în totalitate, variațiile pe care ei le provoacă în cadrul unui experiment dat pot fi apreciate și acestor variații li se adresează calculele de eroare. Deoarece aceste variații aleatoare se supun legilor de distribuție normală a frecvenței (despre care vom vorbi în detaliu ceva mai târziu), valoarea lor poate fi calculată. Odată acest lucru fiind realizat, precizia cercetărilor biologice poate fi confirmată științific.

**Exactitatea** – reprezintă apropierea valorii numerice determinate experimental de valoarea adevărată. Aceasta reprezintă de fapt *eroarea absolută*. Raportul

$$E_r \% = \frac{M - A}{M} \cdot 100 \quad (1.1.2.)$$

reprezintă *eroarea relativă*, exprimată uzual în procente.

Evident, cu cât rezultatul obținut se apropie mai mult de rezultatul real, cu atât determinarea este mai exactă.

**Precizia** unei determinări este dată de concordanța valorilor obținute în urma determinărilor efectuate. Se spune despre o metodă că este precisă când rezultatele determinărilor sunt reproductibile, adică sunt mai apropiate ca valoare în experimente farmacologice repetate. Concordanța între rezultate nu trebuie judecată numai prin prisma diferenței reale dintre ele ci ținând cont și de mărimea, în valoare absolută, a acestora. De exemplu, să presupunem că, în cazul urmăririi perioadei de latență a inducerii somnului, pentru două hipnotice  $S_1$  și  $S_2$ , la șoareci, s-au obținut următoarele:

	<i>Șoarecele I</i>	<i>Șoarecele II</i>
<i>Substanța <math>S_1</math></i>	<i>32 secunde</i>	<i>33 secunde</i>
<i>Substanța <math>S_2</math></i>	<i>6 secunde</i>	<i>5 secunde</i>

Se observă că, în ambele cazuri, diferența între rezultate este de o secundă, însă concordanța între rezultate este mult mai bună în primul caz.

Deoarece valoarea reală nu poate fi cunoscută cu precizie se folosește în locul acesteia, în special în cazul distribuție normale de frecvență, media aritmetică a tuturor rezultatelor individuale:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad (1.1.3.) \quad \text{unde} \quad \bar{x} \text{ media aritmetică a rezultatelor individuale}$$

$n = \text{numărul determinărilor efectuate}$

Pentru a putea aprecia *împrăștierea* rezultatelor unui experiment a fost definită **abaterea** (s):

$$s = x - \bar{x} \quad (1.1.4.) \quad \text{unde} \quad x - \text{rezultatul individual}$$

$$\bar{x} = \text{media aritmetică a rezultatelor individuale}$$

s este valoarea abaterii rezultatelor individuale de la valoarea medie, și arată precizia determinărilor.

În concluzie, când *împrăștierea* rezultatelor individuale față de medie este mică, iar media rezultatelor este apropiată de valoarea reală, eroarea determinării va fi mică, deci vom avea atât exactitate cât și precizie bună. Erori mari survin atunci când rezultatele sunt mult dispersate față de valoarea medie (precizie slabă), iar media rezultatelor se îndepărtează mult față de valoarea reală (exactitate scăzută a metodei). Pot surveni și situații paradoxale, când, de exemplu, rezultatele individuale să fie mult dispersate față de medie (precizie redusă), dar media lor să fie totuși apropiată de valoarea reală (exactitatea metodei este bună).

## II. DISTRIBUȚII DE FRECVENȚĂ

Repartizarea datelor calitative și a celor numerice dintr-o colectivitate statistică se poate efectua după frecvența de apariție a caracteristicilor lor, obținându-se structura colectivității. De exemplu, o mulțime de date experimentale poate fi repartizată după calitatea efectelor, cu efect sau fără, sau cu efect gradat în funcție de doză. Prin această repartiție se obține o *distribuție de frecvență* a colectivității respective. Se pot obține distribuții de frecvență *homograde* (cum este cazul diagramelor), cu o singură scară de comparație în sistemul cartezian, sau *distribuții heterograde*.

Pentru a fi mai expliciti, să luăm un exemplu:

Fie o serie de 33 de date numerice obținute experimental: 18, 12, 11, 20, 14, 21, 20, 19, 15, 17, 14, 13, 15, 17, 16, 12, 16, 14, 16, 17, 18, 16, 15, 13, 16, 18, 19, 16, 17, 17, 15, 15, 13. Suma lor este 524.

Cu această serie se poate alcătui o *diagramă*, deci o distribuție homogradă, așezând datele, în ordinea frecvenței, pe o singură scară a graficului cartezian (fig. 2.1.):



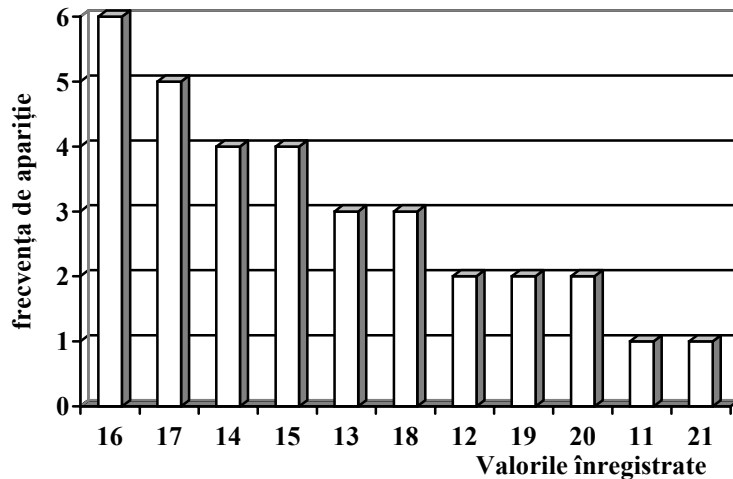


Fig. 2.1. Distribuția homogradă

În felul acesta se obține structura acestei colectivități și se poate constata frecvența de apariție a unor rezultate (de exemplu câte numere 11 se găsesc în respectiva colectivitate statistică).

Căutând și ale modalități de caracterizare a colectivității, se poate stabili o distribuție de frecvență *heterogradă*, pe două scări ale sistemului cartezian, înșiruiind pe abscisă numerele, în ordine crescătoare sau descrescătoare și notând, în același timp, intervalele de clasă, iar pe ordonată punând frecvențele de apariție. Se obține astfel o *histogramă*. Prin unirea ordonatelor care trec prin mijlocul intervalelor de clasă se obține poligonul de frecvență (fig.2.2.):

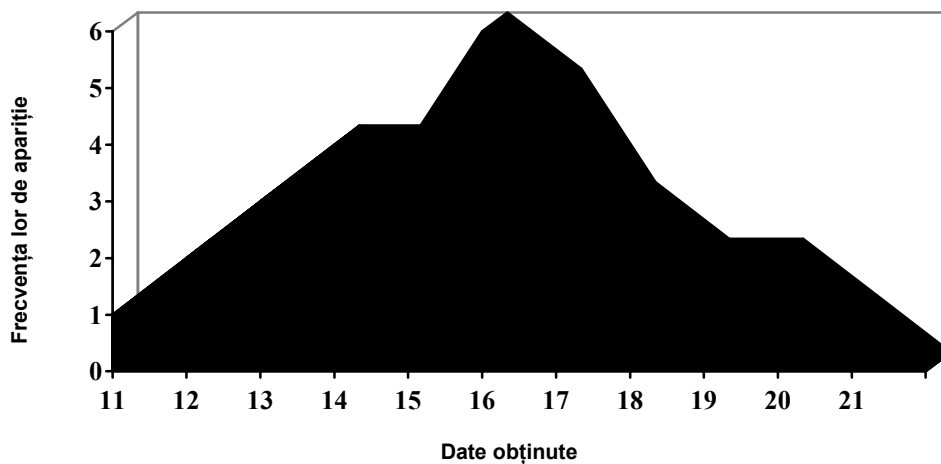


Fig. 2.2. Distribuție heterogradă

Distribuția de frecvență permite determinarea și a celorlalte caracteristici: *tendința centrală* (cu alte cuvinte, *media*), *mediana*, *forma distribuției*, *variabilitatea din interiorul ei*. În figura de mai sus se poate constata că forma distribuției se apropie destul de mult de distribuția normală Laplace-Gauss. În acest caz, valoarea medie reprezintă în cele mai bune condiții tendința centrală (pentru cazul studiat, media = 15,87).

### CURBA DE DISTRIBUȚIE NORMALĂ

Van Vijnngaarden (1926) a arătat pentru prima dată că variația rezultatelor biologice se datorează sensibilității individuale a animalelor (care generează, astfel, erorile întâmplătoare) și că ele se supun legii de distribuție normală a frecvenței stabilită, în 1820, de Laplace și Gauss.

*Curba de distribuție normală a frecvenței* reprezintă frecvența cu care revine același rezultat în mai multe determinări succesive. Ea se poate obține așezând pe *abscisa* unui grafic diferențele, obținute în mai multe determinări, între media rezultatelor și rezultatele individuale, iar pe ordonată frecvențele de apariție a răspunsului pentru fiecare diferență. Graficul are forma unui clopot (fig. 2.3.):

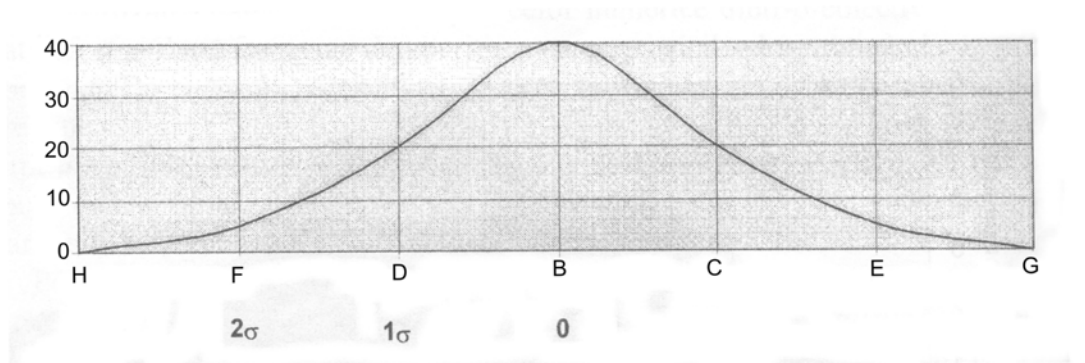


Fig. 2.3. Graficul de distribuție normală a frecvenței

Media rezultatelor individuale, care se repetă cel mai des (are cea mai mare frecvență de apariție), este punctul cel mai înal al curbei. Valoarea medie este notată pe abscisă cu 0, deoarece diferența sa față de medie este, evident zero. De o parte și de alta a punctului culminant, se desfășoară simetric frecvențele corespunzătoare diferențelor dintre rezultatul mediu și rezultatele individuale, care se găsesc pe abscisă; cele negative (mai mici decât media) în partea stângă, cele pozitive (deci mai mari decât media) în partea dreaptă a valorii medii.

Distanța BD sau BC (0-1 sau 0+1) reprezintă convențional o unitate denumită *abatere standard* și notată cu  $\sigma$  (sigma). Perpendiculara pe valoarea medie este axul de simetrie al suprafeței acoperită de curbă. Perpendicularele în punctele de pe abscisă care corespund valorii medii plus abaterea standard și valorii medii minus abaterea standard, închid două treimi din suprafața acoperită de curbă (66%). Perpendicularele care corespund valorii medii plus sau minus  $2\sigma$  închid 95,5% din suprafața acoperită de curbă. Suprafețele terminale ocupă numai 5,6% din suprafața totală.

Pentru a demonstra că sensibilitatea animalelor de laborator față de o substanță activă se supune legilor de distribuție normală a frecvenței, Van Vijnngaarden a determinat doza minimă letală prin perfuzie lentă, cu aceeași soluție digitală, lucrând pe 573 de pisici. Efectuând calculele necesare, a obținut un grafic în formă de scară, asemănător curbei în formă de clopot a lui Gauss (distribuția normală a frecvenței) și care se supune aceluiași legi. S-a demonstrat astfel că variația sensibilității animalelor de experiență față de diferite substanțe medicamentoase studiate, se încadrează în teoria distribuției normale a frecvenței, stabilită de Gauss.

Cunoscând această lege, putem efectua experiențe și dozări biologice suficient de precise, din care să fie eliminate erorile determinate de reactivitatea individuală a animalelor de experiență.

Tot din această lege de distribuție normală a frecvenței reiese, însă, că valoarea științifică a unui singur rezultat obținut pe un animal sau a unor experimentări ce folosesc puține animale este mică, rezultate precise fiind cele obținute pe un număr mare de animale, prin stabilirea valorii medii a determinărilor și efectuarea unor prelucrări statistice ulterioare. Numărul mare de rezultate duce la obținerea unei curbe de frecvențe mai înaltă, micșorând, totodată, distanța dintre capetele curbei.

### *Caracteristicile distribuțiilor de frecvență*

Distribuțiile se caracterizează prin medie, mod (dominantă) și mediană.

*Media* – reprezintă tendința centrală a unei distribuții (vom studia mai târziu modul ei de calcul).

*Dominanta* – reprezintă valoarea cea mai frecventă a unei distribuții, care se confundă, de fapt, cu vârful poligonului de frecvență.

*Mediana* – corespunde valorii care se găsește la punctul care împarte seria statisticii în două grupuri egale.

O altă caracteristică a distribuțiilor, care uneori este foarte folositoare, este *forma curbei de frecvență*. Ea poate fi:

1. *simetrică*

2. *asimetrică*: - *pozitivă*, caz în care „coada lungă” a distribuției este de partea valorilor pozitive.

- *negativă*, caz în care „coada lungă” a distribuției este de partea valorilor negative.

Două curbe cu aceeași medie, dominantă și aceeași mediană se pot deosebi după bază și înălțime: mai îngustă și mai înaltă sau mai largă și mai joasă. Întinderea bazei poate da o măsură a variabilității. Deschiderea este cu atât mai mare cu cât participarea factorilor întâmplători este mai mare (în figura 2.3) se pot observa diferențele între două curbe cu aceeași medie). Calculul precis la împrăștierea rezultatelor se face cu ajutorul *abaterei standard*.

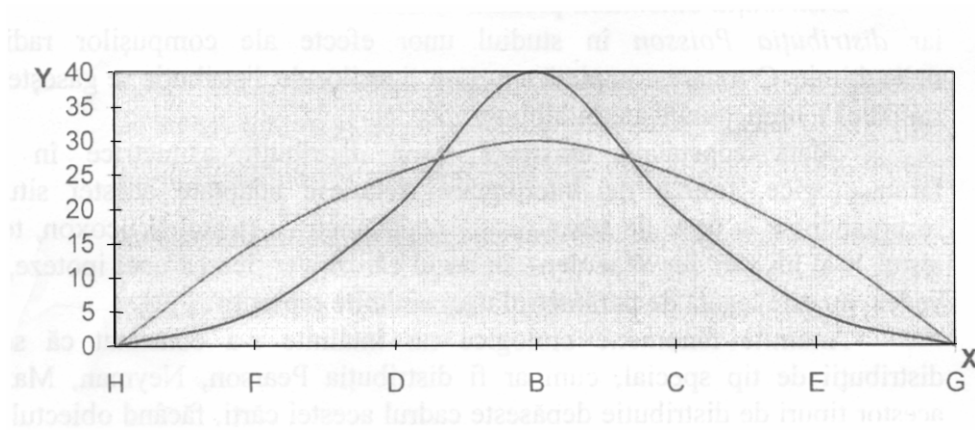


Fig. 2.3. Două curbe cu aceeași medie și dominantă, dar cu împrăștieri diferite ale rezultatelor

În cazul distribuțiilor simetrice și unimodale există egalitate între media aritmetică, mod și mediană (este vorba despre curba normală de distribuție a frecvenței Laplace-Gauss).

### ***Distribuții anormale***

Se cunosc, în afara distribuției normale unimodale și distribuții purimodale sau asimetrice (fig. 2.4):

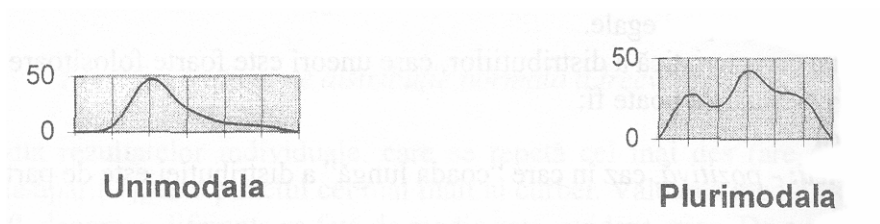


Fig. 2.4. Distribuții anormale

Distribuțiile anormale pot arăta o lipsă de omogenitate a afectelor farmacodinamice. Unele distribuții pot lua forma literei U, unde importantă este valoarea minimă (de exemplu, în cazul acțiunii hipoglicemiante a unor substanțe active).

Există cazuri, însă, când fenomenele studiate se supun unei distribuții asimetrice. Asemenea distribuții, mai des întâlnite, au fost descrise de Bernouli (*distribuția binomială*) și de Poisson (*distribuția evenimentelor rare*).

*Distribuția binomială* prezintă interes mai ales în studiul fenomenelor eredității, iar *distribuția Poisson* în studiul unor efecte ale compușilor radioactivi și în radiochimie. O tratare completă a tuturor tipurilor de distribuție se găsește în tratatele de statistică teoretică indicate în bibliografie.

Odată constatată existența unor distribuții asimetrice în experimentele farmacologice, testele de interpretare trebuiesc adaptate acestei situații, eventual recurgându-se la teste de semnificație neparametrice (testul Wilcoxon, testul Smirnov, testul X al lui van der Waerden), în cazul cărora verificarea unei ipoteze, așa cum vom vedea, nu este legată de parametrul unei anumite repartiții.

Anumite fenomene biologice rar întâlnite s-a constatat că se supun unor distribuții de tip special, cum ar fi distribuția Pearson, Nezman, Maxwell. Studiul acestor tipuri de distribuție depășește cadrul acestei cărți, făcând obiectul unor manuale de specialitate.

În funcție de particularitățile distribuțiilor găsite, se pot alege procedeele matematice cele mai indicate pentru calculul statistic și interpretarea rezultatelor.

În cazul experimentării în domeniul farmacodinamic, rezultatelor unei cercetări, odată reprezentate grafic dau distribuții empirice sau experimentale. Compararea acestor distribuții cu distribuțiile teoretice poate fi de un real folos pentru o interpretare justă a fenomenelor observate.

Trebuie menționat că majoritatea distribuțiilor obținute în farmacodinamie sau farmacocinetică se supun legilor normale de repartiție a frecvenței, de aceea calculele și tehnicile de lucru prezentate în această carte se referă, în mod special, la această ipoteză.

### III. NOȚIUNI DE STATISTICĂ GENERALĂ

#### III.1.MEDII

Valoarea medie definește cel mai bine tendința centrală a unei distribuții de frecvență. Totuși trebuie menționat că valoarea medie nivelează variațiile valorilor prin obținerea unei valori mijlocii, care dă impresia unei stabilități a fenomenelor, care nu este reală în biologie, de aceea pentru un studiu complet al unei compatibilități statistice, sunt necesare metode statistice care stabilesc variațiile rezultatelor obținute și care, pentru o bună interpretare, trebuie să însoțească valoarea medie.

Cea mai uzuală în statistică este media aritmetică care corespunde formulei de mai jos:

$$M_a = \bar{x}_a = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3.1.1)$$

Media aritmetică poate fi calculată în mai multe feluri:

$$\bar{x}_a = \frac{524}{33} = 15,87$$

#### ***Media aritmetică simplă***

Calculată după formula de mai sus. Pentru exemplul din capitolul II, unde suma celor 33 de rezultate individuale era 524, media aritmetică simplă este:

#### ***Media aritmetică ponderată***

Dacă, pentru exemplul din capitolul II, se iau în considerare frecvențele cu care vin numerele, se observă că ele au însemnătate inegală, numerele 11 și 21 revin numai o singură dată, în timp ce 14 sau 15 revin de patru ori în șirul de date exprimatele studiat. În acest caz, se spune că valorile nu au pondere egală, iar numărul (frecvența) care arată de câte ori se repetă fiecare valoare va fi ponderea valorii respective. Se poate calcula media, ținând seama de aceste ponderi, după formula:

$$\bar{x}_a = \frac{\sum_{i=1}^n p_i x_i}{\sum_{i=1}^n p_i} \quad (3.1.2)$$

Se face, deci, suma produselor dintre fiecare valoare și ponderea sa și se împarte la suma ponderilor.

Există un procedeu matematic pentru a determina media care ușurează calculul atunci când avem de-a face cu serii statistice alcătuite din numere mari. De exemplu, dacă variabilele studiate sunt reprezentate de masa corporală a șoarecilor unei biobaze, iar frecvența lor fiind reprezentată de familii de șoareci, să calculăm greutatea medie a șoarecilor pe familie:

Procedeul se realizează prin alegerea unei medii arbitrare, notată cu  $a$  (frecvența cea mai mare), în timp ce cu  $x$  notăm abaterile fiecărei valori de la originea arbitrară (-1, +1 etc). Frecvența o notăm cu  $f$ .

Formula de calcul a mediei, în acest caz, este:

$$\bar{x}_a = a \pm \frac{\sum f \cdot x}{\sum f} \quad (3.1.3)$$

Se face astfel produsul dintre fiecare valoare  $x$  și fiecare frecvență  $f$  și, deoarece se obțin numere pozitive și negative, se face suma lor algebrică, care se împarte la suma frecvențelor. În final, valoarea obținută se va scădea din  $a$ .

### III.2.ABATEREA STANDARD

Unitatea de abatere individuală față de medie a fost denumită *abaterea standard* și a fost notată cu  $S$  ( $\sigma$  se utilizează numai în cazul curbei ideale). Ea reprezintă o măsură a preciziei determinărilor sau, cu alte cuvinte, o măsură a împrăstierii rezultatelor individuale față de medie.

Abaterea standard poate fi calculat după următoarea formulă:

$$S = \frac{\sum (x_i - \bar{x})}{n} \quad (3.1.4) \text{ unde } x_i - \bar{x} = \text{abaterea valorilor individuale}$$

Față de valoare medie (indiferent de semn) se notează cu  $d$  (diferența).

Deoarece cercetarea biologică se bazează pe eșantionaj, abaterea standard se calculează în acest caz după formula:

$$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \quad (3.1.5)$$

Făcând patratul diferenței, se evită, posibilitatea ca aceste diferențe în plus sau în minus să se anuleze, obținând numere absolute. Aceasta obligă, însă să se extragă rădăcina pătrată pentru a obține rezultatul. Se calculează, prin urmare, pătratul fiecărei diferențe față de medie și se face suma acestor pătrate, care se împarte la numărul determinărilor minus 1. Rădăcina

pătrată a acestei valori este abaterea standard  $S$ . Cunoscând abaterea standard, adică răspândirea răspunsurilor individuale față de medie, se cunoaște precizia determinărilor. Totodată, deoarece pentru curba lui Gauss, dublul abaterii standard este reprezentat de suprafața închisă de perpendicularele care trec prin punctele BF și BE și care acoperă 95,5% din suprafața totală, va trebui să ținem cont de aceasta, luând  $2S$  ca și interval de încredere (vezi figura 2.3.). Aceasta ne va certifica faptul că 95,5% din rezultatele noastre experimentale se vor încadra în limitele calculate și numai 4,5% din ele se vor găsi în afara acestor limite.

### III.3. EROAREA STANDARD

Este cunoscut faptul că determinările biologice sunt supuse influenței a două tipuri de erori: cele care influențează *precizia* determinării și cele care influențează *exactitatea* determinării. Pentru a afla exactitatea cu care s-a făcut o determinare trebuie să se calculeze *abaterea medie a valorilor medii obținute* sau, altfel spus, media erorilor ce se pot comite într-o determinare.

Această abatere a fost denumită *eroare standard*, notată cu  $E$ . Calcularea ei se face cu ajutorul formulei:

$$E^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)} \quad (3.1.6)$$

Știind că, în cazul distribuției normale gaussiene, împrăștierea în jurul mediei colectivității a unei medii de șantion este  $\sqrt{n}$  ori mai mică decât împrăștierea rezultatelor individuale, eroarea standard este dată și de formula:

$$E = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (3.1.7)$$

Ea reprezintă formula clasică a erorii standard.

Rezultatele experimentărilor biologice trebuie să fie însoțite întotdeauna de eroarea standard sau de abaterea standard, utilizându-se formulări de tipul  $M \pm S$  sau  $M \pm E$ , pentru a permite o justă interpretare a lor.



### III.4. EROAREA PROCENT

După cum știm, majoritatea efectelor farmacodinamice se pot încadra în două categorii: efecte gradate și, respectiv, efecte cuantale. De multe ori acestea din urmă sunt reprezentate sub formă de procente. Atunci când eșantionul este mare, putem spune că procentele ( $p_e$ ) sunt distribuite normal în jurul mediei cu o abatere standard egală cu

$$S = \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}} \quad (3.1.8) \quad \text{unde } p = \text{procentajul de răspuns pozitiv}$$

$q = \text{procentajul de acțiune negativ}$

$n = \text{numărul cazurilor}$

evident,  $q = 100 - p$

Putem spune deci că abaterea standard a unui procent de acțiune calculat cu această formulă reprezintă limitele probabile, în plus sau în minus, ale procentajului de acțiune pentru o doză dată de substanță activă.

### III.5. GRADE DE LIBERTATE

Din cele discutate până acum am văzut cum, plecând de la un eșantion al unei colectivități, am înlocuit abaterea standard teoretică ( $\sigma$ ) prin abaterea standard de eșantionaj ( $S$ ). De asemenea, ca factor de corecție s-a folosit pătratul diferențelor individuale ( $d^2$ ) și s-a calculat  $S^2$ . În aceeași ordine de idei, pentru a putea apropia pe  $S$  de  $s$  (abaterea teoretică) am diminuat numărul cazurilor din experiment cu o unitate, în locul efectivului total „ $n$ ” punând „ $n-1$ ”.

Practic formula de calcul a abaterii standard a devenit

$$S = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}} \quad (3.1.9)$$

Spunem că „ $n-1$ ” este *numărul gradelor de libertate*.

**Gradele de libertate** reprezintă, în cazul determinărilor (biologice) numărul mărimilor independente (animale, determinări, observații) folosite în experimentarea respectivă, din care se scade o unitate. Ținând seama de cele afirmate mai sus, în calculele de determinare a erorii va interveni un factor de corecție „ $f$ ”, care depinde de numărul gradelor de libertate ( **$tn-1$** ). Cantitatea „ $t$ ” se găsește în tabele (vezi Anexa 1), calculată pentru diferite probabilități, în

funcție de numărul de grade de libertate folosit (în general vom lucra cu  $p=0,05$ ). Valoarea lui „t” scade cu cât crește numărul observațiilor, deci cu cât este mai mare numărul gradelor de libertate.

În cazul determinărilor comparative maritor/probă sau a mai multor doze (loturi) se scade din efectivul total câte o unitate pentru fiecare lot. (de exemplu numărul gradelor de libertate pentru două loturi, în cazul mai sus menționat va fi  $(n_1+n_2-2)$ ).

### III.6.LIMITE FIDUCIALE (INTERVAL DE ÎNCREDERE)

Am văzut până acum că principalii parametri care descriu o populație statistică sunt media și abaterea standard. În practică parametrii unei populații se estimează pe baza determinărilor efectuate pe eșantioane luate din respectiva populație statistică. Evident parametrii probelor extrase nu sunt perfect identici cu cei ai populației studiate; există însă posibilitatea de a calcula intervalul în care se pot încadra acești parametrii, acordând acestui interval o anumită „încredere” (probabilitate), aleasă în funcție de exactitatea dorită (de obicei se alege un nivel de probabilitate de 95% sau 99%). Aceasta înseamnă că, dacă vom lua un număr mare de probe din aceeași populație, 95% respectiv 99% din probe vor avea parametrii care se încadrează în intervalul calculat și va exista riscul ca 5% respectiv 1% din proces să se găsească în afara intervalului calculat.

*Limitele fiduciale*, denumite și limite de eroare sau de securitate, reprezintă intervalul în care se poate prevedea că se găsește valoarea unei medii (atât în cazul efectelor gradate cât și a celor cuantale). Intervalul respectiv se mai numește și *interval de încredere*.

Limitele de eroare sunt, în general, proporționale cu valoarea mediei și pot fi convențional exprimate ca procente ale acestei medii. De regulă, în determinări biologice calculăm limitele de eroare la o probabilitate  $p = 0,05$ .

În calculul limitelor de eroare se folosește factorul de corecție „t”, despre care știm că depinde de numărul gradelor de libertate.

Pentru o interpretare corectă, rezultatele experimentărilor biologice trebuie exprimate după relația de mai jos:

$$M \pm tS \quad (3.10) \quad \text{unde} \quad \begin{array}{l} M - \text{media determinărilor} \\ t - \text{factorul de corecție pentru probabilitatea dorită} \\ S - \text{abaterea standard} \end{array}$$

Dacă abaterea standard (S) este exprimată în procente limitele de eroare sunt  $100 \pm tS$  la sută.

Dacă folosim calculul logaritmic pentru calcularea abaterii standard în anumite experimente farmacologice, limitele de eroare sunt date de *antilogaritmul lui  $2 \pm tS$* .

Să presupunem că la testarea unui anumit analgezic, în urma experimentării prin testul plăcii încălzite, timpul de latență al reacției nociceptive a fost de  $100 \pm 20$  secunde, la o probabilitate  $p = 0,05$ . Limitele fiduciale sunt deci cuprinse între 80-120 secunde. Aceasta înseamnă că în 95 de determinări din 100 rezultatul găsit va fi superior timpului de 80 secunde și inferior timpului de 120 secunde, oscilând în jurul valorii celei mai probabile (media  $M=100$  secunde). Cu alte cuvinte, dacă se repetă determinarea în aceleași condiții, rezultatul se va găsi în 95% din cazuri între aceste limite și numai în 5% din cazuri valoarea experimentală va fi în afara acestor limite.

#### IV. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Odată obținute rezultatele experimentale, ele trebuie prelucrate, prezentate, realizate și, mai ales sintetizate, pentru a putea desprinde legalitatea urmărită. Trebuie acordată o importanță deosebită interpretării rezultatelor experimentale obținute, deoarece o interpretare prea simplistă sau, dimpotrivă, prea pretențioasă poate duce la o scădere a valorii cercetării efectuate.

Sprijinul hotărâtor în interpretarea corectă a rezultatelor și în afirmarea concluziilor îl aduce statistica matematică. Concluziile unui anumit experiment trebuie verificate, datele experimentale trebuie să fie reproductibile, concluziile trase trebuie să fie științific întemeiate, acest lucru nefiind posibil fără o prelucrare statistică adecvată a datelor.

Se evidențiază astfel două categorii de teste folosite cu succes în interpretarea rezultatelor unui experiment științific:

- *teste de valabilitate*
- *teste de semnificație*

##### IV.1. TESTE DE VALABILITATE

**Definiție:** Prin *teste de valabilitate* se înțeleg testele care permit aflarea valorii unei experimentări în funcție de probabilitățile apariției variației în natură. Cu alte cuvinte, prin aceste teste putem preciza dacă un anumit rezultat experimental poate fi considerat ca fiind

datorat variabilității biologice normale și care nu va îndepărta semnificativ rezultatul final al experimentului de valoarea adevărată, sau este un rezultat aberant care se datorește unor factori accidental apăruiți (animale bolnave, tarate etc).

### 1.1. REZULTATE ABERANTE

De foarte multe ori într-un lot de rezultate experimentale apar cazuri foarte îndepărtate față de celelalte. Problema care se pune este dacă aceste rezultate pot sau nu pot fi luate în considerare, având în vedere faptul că influențează semnificativ valoarea finală a mediei. Există tendința de a elimina din start aceste rezultate, care par întâmplătoare, deoarece se consideră că ele deviază media într-un sens care poate fi întâmplătoare, deoarece se consideră că ele deviază media într-un sens care poate fi foarte departe de valoarea reală. Acest fel simplist de a raționa

Majoritatea pune la dispoziție un criteriu de apreciere a acestei situații și de eliminare a valorilor care se abat foarte mult de la medie (așa numitele *rezultate aberante*).

Criteriul de eliminare a lui Chauvenet se bazează pe considerentul că orice valoare a cărei probabilitate de apariție este mai mică decât o valoare limită care depinde de numărul „n” de rezultate, trebuie eliminate. (*Farmacopeea Română ediția a X-a*).

Pentru aplicarea acestui criteriu la eliminarea unor rezultate aberante trebuie urmați pașii de mai jos:

- se calculează abaterea standard (s) a șirului de valori, conform formulei anterior menționate;
- din tabelul A, se obține valoarea raportului  $x/s$ , în funcție de numărul „n” de rezultate;
- se înmulțește valoarea acestui raport cu valoarea abaterii standard (s), obținându-se astfel valoarea  $x$ , care reprezintă valoarea absolută maximă pe care o poate avea  $d_i$  (unde  $d_i$  – abaterea față de medie,  $d_i = x_i - \bar{x}$ ), pentru ca valoarea experimentală respectivă să nu fie eliminată. Orice valoare care îi corespunde o abatere față de medie, în mărime absolută, mai mare decât  $x$  ( $|d_i| > x$ ), trebuie eliminată.

Dacă printre valorile rămase după aplicarea de eliminare se consideră, că mai există o valoare ce ar trebui eliminată, se aplică criteriul încă o dată. În general, se repetă aplicarea criteriului de eliminare de câte ori este necesar.

Tabelul IV.1. Valoarea raportului x/s folosit pentru criteriul de eliminare

n	x/s	n	x/s	n	x/s
5	1,68	14	2,10	30	2,39
6	1,73	16	2,16	40	2,50
7	1,79	18	2,20	50	2,58
8	1,86	20	2,24	100	2,80
9	1,92	22	2,28	200	3,02
10	1,96	24	2,31	500	3,29
12	2,03	26	2,35		

Vom exemplifica aplicarea criteriului de eliminare în cazul unor valori ( $x_i$ ) ale timpului de latență a instalării efectului hipnotic în cazul amobarbitalului:

Tabelul IV.2 Prima aplicare a criteriului de eliminare

Nr. Crt.	$x_i$ (secunde)	$d_i$	$d_i^2$	
1	16,1	3,6	12,96	$s = \sqrt{\frac{212,56}{9}} = 4,86$ $x/s = 1,96$ $x = 1,96 \times 4,86 = 9,53$
2	15,5	3,0	9,00	
3	13,4	0,9	0,81	
4	22,8	10,3	106,09	
5	12,1	-0,4	0,16	
6	11,3	-1,2	1,44	
7	11,6	-0,9	0,81	
8	6,3	-6,2	38,44	
9	8,8	-3,7	13,69	
10	7,1	-5,4	29,16	
$\sum x_i = 125,00$ $\bar{x} = 12,5$ (media aritmetica a rezultatelor)		$\sum d_i^2 = 212,56$		

După cum rezultă din tabel, diferența  $d_i = 10,3$ , corespondența valorii de 22,8 secunde depășește valoarea maximă admisă ( $x = 9,53$ ); prin urmare, valoarea respectivă va trebui să fie eliminată din datele supuse prelucrării.

Tabelul IV.3. A doua aplicare a criteriului de eliminare

Nr. crt.	$x_i$ (secunde)	$d_i$	$d_i^2$	
1	16,1	4,7	22,09	$s = \sqrt{\frac{94,7}{8}} = 3,4$
2	15,5	4,1	16,81	

3	13,4	2,0	4,00	$x/s = 1,92$
4	12,1	0,7	0,49	
5	11,3	-0,1	0,01	$x = 1,92 \times 3,4 = 6,5$
6	11,6	0,2	0,04	
7	6,3	-5,1	26,01	
8	8,8	-2,6	6,76	
9	7,1	-4,3	18,49	
$\sum x_i = 102,2$		$\sum d_i^2 = 94,70$		
$\bar{x} = 11,4$ (media aritmetica a rezultatelor)				

Aplicarea criteriului de eliminare a doua oară conduce la o valoare maximă admisă ( $x = 6,5$ ) superioară oricărui  $d_i$ , deci nu va mai fi necesară eliminarea nici unei valori.

Efectuarea unei analize, folosind un eșantion adecvat, nu poate conduce însă, de cele mai multe ori la determinarea mediei adevărate a mulțimii de bază din care face acel eșantion. În schimb se pot găsi, cu o anumită probabilitate, limitele între care se află valoarea medie adevărată. În acest scop se calculează mai întâi abaterea standard a medie eșantionului ( $s_x$ ), conform formulei de mai jos:

$$S\bar{x} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (4.1.1)$$

În continuare, intervalul de încredere al mediei ( $J$ ) se stabilește pentru o probabilitate de eroare dorită, de obicei 5% (altfel spus  $p = 0,05$ ) folosind valoarea „ $t$ ” Student, a cărei valori corespunzătoare gradelor de libertate ale determinării, pentru  $p = 0,05$ , sunt date în tabelul din Anexa 1:

Se aplică formula:

$$J = \bar{x} \pm t S \bar{x} \quad (4.1.2)$$

*Gradele de libertate* sunt reprezentate de numărul mărimilor independente ale determinării. În cazul de față, gradele de libertate se calculează scăzând din numărul total de valori ( $x_i$ ) cifra 1 (numărul de loturi).

## 1.2. TESTE DE CORELARE

Statistica matematică pune la dispoziție un test cu ajutorul căruia putem verifica dacă există o legătură funcțională între două caractere cantitative în cadrul efectelor gradate. Practic întreaga activitate de cercetare farmacologică poate fi rezumată la stabilirea unor legături funcționale între două caractere măsurabile ( $x, y$ ), de exemplu relația doză/efect sau

activitatea unei substanțe de cercetat față de o substanță martor ori o proprietate fizico-chimică a unei anumite substanțe de cercetat față de o anumite activitate biologică.

În cazul existenței unei corelații între două caractere (legătura funcțională) rezultatele experimentale se așează în graficul cartezian de-a lungul unei drepte; pentru fiecare valoare a lui  $x$  există o valoare a lui  $y$ , iar în final, obținem dreapta de regresie care exprimă legătura dintre cele două caractere. În acest caz, cele două drepte de regresie (a lui  $x$ , respectiv a lui  $y$ ) se suprapun. Există însă în practică numeroase variații care fac ca cele două drepte să nu se suprapună, pantele lor să difere semnificativ, iar existența unei corelații să fie incertă. Pentru a stabili gradul acestei corelații funcționale, cercetătorii au la dispoziție testul coeficientului de corelație.

**Coeficientul de corlație liniară.** Bravais și Pearson au propus un coeficient bazat pe variabilitățile lui  $x$  și  $y$  și pe principiul celor mai mici pătrate, care să indice existența (ipoteza nulă) a unei corelații între două variabile  $x$  și respectiv  $y$ .

Formulele de calcul ale coeficientului de corelație „ $r$ ” diferă, după notațiile diferiților autori. În practică vom folosi formula de mai jos, care se poate aplica la eșantioane reduse ( $n < 50$ ):

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (4.1.3.)$$

Unde  $x$  și  $y$  sunt caracteristici: proprietăți ale unor compuși chimici, efecte obținute cu două substanțe (substanța de cercetat și cea standard), produs și respectiv nesubstituit la o anumită grupare chimică etc.

$\bar{x}$  și, respectiv  $\bar{y}$  reprezintă valorile medii ale lui  $x$  și  $y$  calculat după formulele:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (4.1.4), \text{ respectiv } \bar{y} = \frac{\sum y_i}{n} \quad (4.1.5)$$

Unde  $n$  = numărul cuplurilor cercetate -2 (prin cupluri înțelegând perechi de date experimentale),  $n$  reprezentând de fapt numărul gradelor de libertate.

Valoarea lui „ $r$ ” este întotdeauna cuprinsă între -1 și +1.

1. Dacă proprietățile  $x$  și  $y$  nu sunt corelate,  $r = 0$ .
2. Dacă  $r > 0$ , înseamnă că există o legătură funcțională directă între cele două variabile. Cu cât  $r$  este mai aproape de 1 cu atât corelația este mai bună.

Reprezentarea grafică a corelațiilor poate urma situațiile din figura de mai jos:

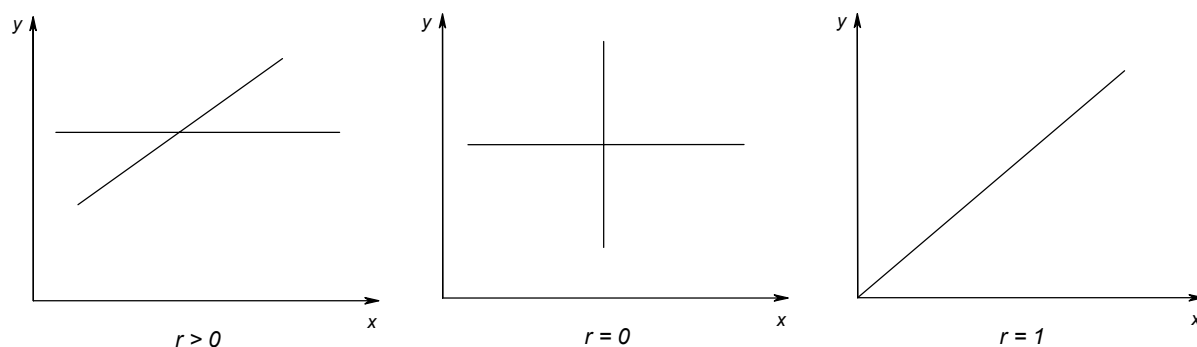


Fig. IV.1. Reprezentarea grafică a corelațiilor

Astfel:

- ⇒ Pentru  $r = 0$  dreptele sunt perpendiculare una pe cealaltă;
- ⇒ Când  $r > 0$ , cele două drepte formează între ele un unghi care este cu atât mai ascuțit cu cât  $r$  se apropie de 1.
- ⇒ Când  $r = 1$ , cele două drepte se suprapun, astfel că nu apare decât o singură dreaptă, aceasta este dreapta de regresie teoretică.
- ⇒ Când  $r < 0$ , există o legătură funcțională de sens invers, cu alte cuvinte, când valorile unei variabile cresc, valorile celeilalte scad.

Coeficientul de corelație „ $r$ ” este frecvent folosit în farmacologie. Cu ajutorul lui se poate stabili efectul cantitativ al unui medicament în funcție de doză. În acest caz vom vorbi despre un test de regresie (regresia efectului în funcție de doză).

Testul este folositor pentru stabilirea unor legături funcționale între două variabile, a stării de dependență sau de independență între cele două variabile  $x$  și  $y$ .

Astfel se poate stabili relația dintre un efect farmacodinamic și o anumită structură sau proprietate, dintre efectele a două substanțe (una derivând din cealaltă prin substituție chimică) etc.

Coeficientul de corelație este și el afectat de o eroare standard ( $\sigma$ ):

$$\sigma_r = \frac{1-r^2}{\sqrt{n-1}} \quad (4.1.6)$$

Va fi valabil numai acel coeficient de corelație care este mai mare decât dublul erorii sale.

Coeficienții de corelație minimi sunt tabelati, în funcție de numărul de perechi de observații (deci de numărul de grade de libertate), după cum putem observa în tabelul de mai jos:



<i>n grade de libertate</i>	<i>R</i>
<i>3</i>	<i>0,99</i>
<i>5</i>	<i>0,98</i>
<i>7</i>	<i>0,75</i>
<i>10</i>	<i>0,63</i>
<i>15</i>	<i>0,51</i>
<i>20</i>	<i>0,44</i>
<i>30</i>	<i>0,36</i>
<i>40</i>	<i>0,30</i>
<i>50</i>	<i>0,27</i>
<i>100</i>	<i>0,19</i>

***Coefficienți de corelație minimă la  $p = 0,05$***

În cazul unor eșantioane mici se poate întâmpla ca „r” să nu mai urmeze legea de distribuție normală și trebuie, în vederea stabilirii corelației, apelat la metode mai complicate. De ceea trebuie stabilită inițial aspectul distribuției și abia apoi reprezentate grafic rezultatele pentru a observa dacă rezultatele se grupează de-a lungul unei drepte. În caz că acest lucru are loc se va efectua calculul corelației.

Trebuie menționat faptul că existența unei corelații între două fenomene nu arată neapărat o legătură de la cauză la efect între ele. Existența unei corelații este numai informativă, rămânând ca cercetătorul să stabilească legătura cauzală în funcție de cunoștințele sale în domeniul respectiv.

**IV.2. TESTE DE SEMNIFICAȚIE**

Adesea, după calcularea rezultatelor unei determinări biologice este necesar să se decidă dacă diferențele obținute între eșantioanele analizate sunt datorate numai întâmplării (variabilității biologice) sunt reale (cu alte cuvinte dacă cele două eșantioane fac parte din aceeași populație statistică sau aparțin unor populații statistice diferite).

Întâlnim, în principal, două situații, pe care le vom aborda diferit:

1. *Dacă rezultatele se încadrează într-o distribuție normală și dacă cele două eșantioane nu există altă diferență semnificativă (diferențe de vârstă, sex, masă corporală etc.) în afară de tratamentul aplicat se consideră că abaterile standard ale*

celor două loturi nu diferă semnificativ. În acest caz se poate testa semnificația diferenței mediilor cu ajutorul mai multor teste dintre care cel mai folosit este *testul „t” Student*.

2. *Dacă rezultatele nu se încadrează într-o distribuție normală* sau poate fi testată normalitatea distribuției datelor experimentale datorită numărului mic de date (existența unor eșantioane cu volum redus) este indicat să se aplice un test neparametric, cel mai folosit fiind *testul Wilcoxon*.

#### IV.2.1. TESTE DE SEMNIFICAȚIE PARAMETRICE

Este cunoscut faptul că majoritatea efectelor farmacodinamice obținute prin administrarea substanțelor active se pot încadra în următoarele două categorii:

- i. **Efecte gradate**, care variază în funcție de doză sau, altfel spus, unde relația dintre doză și efect este gradată. Aceste efecte nu se mai numesc *cantitative*.
- ii. **Efecte unice (cuantale)** exprimate printr-un quantum (proces) sau efecte cu răspuns unic, de tipul „tot sau nimic”. Se mai numesc și efecte calitative.

Testele de semnificație se împart datorită acestui fapt în:

- A. *Teste de semnificație pentru efecte gradate* (de exemplu testul „t”, testul „F”, testul „U”).
- B. *Teste de semnificație pentru efecte cuantale* (de exemplu testul  $X^2$ ).

##### **A. Teste de semnificație pentru efecte gradate**

Testele de semnificație aplicate între două medii, stabilesc valoare mediilor în funcție de posibilitățile de eroare. Mai precis ele stabilesc care este probabilitatea ca diferența dintre două efecte sau două medii să fie reală sau, eventual, să se datoreze unei fluctuații de eșantionaj. De fapt se testează ipoteza nulă: că nu există nici o diferență între cele două medii. Dacă această afirmație nu se verifică, înseamnă că diferența între cele două medii este semnificativă statistic, putându-se deci susține existența unui rezultat diferit de cel datorat întâmplării, cu alte cuvinte, existența unui efect biologic al substanței cercetate.

Calculul se efectuează de obicei la o probabilitate  $p=0,05$ , ce acoperă deci 95% din cazuri, după legile distribuției normale. Dacă este necesar se poate lucra și cu un prag mai mic de semnificație (de exemplu  $p=0,01$ , adică 99%), fapt care permite o asigurare statistică mai bună.

### A.1.1. Testul „t” Student

A fost propusă de Gosset în cazul în care eșantioanele sunt mici. El ține cont, în calculul diferenței semnificative, de măsura variabilității și de ponderea observațiilor în funcție de numărul acestora (grade de libertate).

Pentru eșantioane mici există diferențe între testul „t” și celelalte teste de semnificație parametrică, dar începând de la  $n > 15$  cifrele testului „t” se apropie de 2, ceea ce arată o coincidență cu distribuție normală.

Formulele de calcul a diferenței semnificative, în cazul testului „t” sunt următoarele:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_d} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad (4.2.1.) \text{ unde } \bar{x}_1, \bar{x}_2 = \text{media rezultatelor eșantionului 1, respectiv 2}$$

$n_1, n_2$  = numărul de animale din eșantionul 1, respectiv 2.

$s_d$  = eroarea standard a diferenței, care se calculează conform formulei:

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum d_1^2 + \sum d_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (4.2.2)$$

unde:

$$\sum d_1^2, \sum d_2^2 = \sum (x_i - \bar{x})^2 \text{ în eșantioanele 1, respectiv 2.}$$

$x_i$  + valorile individuale în eșantioanele 1 și 2.

Dacă înlocuim în formula (4.2.1) valoarea erorii standard conform formulei (4.2.2), obținem:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sum d_1^2 + \sum d_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad (4.2.3.)$$

Se consideră o diferență semnificativă, cu o probabilitate de eroare de 5% ( $p=0,05$ ) dacă „t” calculat este superior celui din tabelul A, pentru gradele de libertate corespunzătoare.

În cazul în care cele două eșantioane sunt egale numeric ( $n_1=n_2$ ), putem reprezenta acest număr egal de cazuri prin  $n$  ( $n=n_1=n_2$ ) și formula (4.2.3) devine:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sum d_1^2 + \sum d_2^2}{n(n-1)}}} \quad (4.2.4)$$

Același test se poate folosi și în cazul în care condițiile experimentale permit administrarea concomitentă a ambelor tratamente la același animal. În această situație putem admite că răspunsurile obținute la același animal sunt rezultatul exclusiv al diferențelor între acțiunea substanțelor testate, restul condițiilor fiind identice. Aceasta ne permite să scădem unul din altul cele două rezultate, obținute la același animal și să testăm semnificația diferențelor ( $d_i$ ) astfel calculate (metoda poartă numele de *metoda cuplurilor*); aplică formula:

$$t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{\frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{n(n-1)}}} \quad (4.2.5)$$

unde:  $d_i$  = valorile individuale ale diferențelor fiecărui cuplu

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i}{n} \quad (4.2.6)$$

Pentru o mai bună înțelegere vom lua un exemplu. Să presupunem că în tabelul de mai jos se găsesc rezultatele obținute la același animal după administrarea standardului (s) și a probei (p), precum și diferența dintre aceste rezultate ( $d_i = p-s$ ):

Tabelul IV.5. **Rezultate experimentale**

Nr.crt.	s	p	$d_i$	$d_i - \bar{d}$	$(d_i - \bar{d})^2$
1.	24	35	11	2	4
2.	20	10	-10	-19	361
3.	18	36	18	9	81
4.	45	50	5	-4	16
5.	60	74	14	5	25
6.	72	65	-7	-16	256
7.	65	70	5	-4	16
8.	54	90	36	27	729
$\sum d_i = 72$		$\sum (d_i - \bar{d})^2 = 1488$		$\bar{d}_1 = 9$	

$$t = \frac{9}{\sqrt{\frac{1488}{7 \cdot 8}}} = 1.74$$

Aplicînd formula (4.2.5.) se obține un  $t = 1,74$ , mai mic decît valoarea „ $t$ ” = 2,37 care este dată în tabele pentru 7 grade de libertate și o probabilitate de eroare de 5% ( $p = 0,05$ ). Aceasta arată că proba analizată nu diferă semnificativ față de standard.

### A.1.2. TESTUL „F” FISCHER - SNEDECOR

Testul propus de Snedecor ia în considerare varianțele de eșantionaj. Pentru a transforma varianțele în mărimi apte de a fi comparate, de exemplu, două forme farmaceutice conținând aceeași substanță activă. Un instrument statistic eficient în acest caz este testul „F”.

Formulele practice de calcul, obținute prin transformări algebrice, sunt următoarele:

$$S_1^2 = \frac{\sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n_1}}{n_1 - 1} \quad (4.2.7) \quad S_2^2 = \frac{\sum x_2^2 - \frac{(\sum x_2)^2}{n_2}}{n_2 - 1} \quad (4.2.8)$$

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (4.2.9) \text{ unde } S_1^2 > S_2^2$$

Exemplu: Vom încerca să aflăm, folosind testul „F”, dacă există o diferență semnificativă între două medii  $\bar{x}_1$  și provenite dintr-o determinare comparativă a două produse A și B. Rezultatele obținute sunt trecute în tabelul de mai jos:

Efect A	$x_1^2$	Efecte B	$x_2^2$
6	36	15	225
4	16	4	16
3	9	10	100
7	49	10	100
6	36	5	25
4	16	11	121
		9	81

$n_1=6$

$n_2=7$

$$\sum x_1 = 30$$

$$\sum x_2 = 64$$

$$\bar{x}_1 = 5,0$$

$$\bar{x}_2 = 9,1$$

$$\sum x_1^2 = 162$$

$$\sum x_2^2 = 668$$

$$S_1^2 = \frac{162 - (30)^2 / 6}{6 - 1} = \frac{162 - 150}{5} = 2,4$$

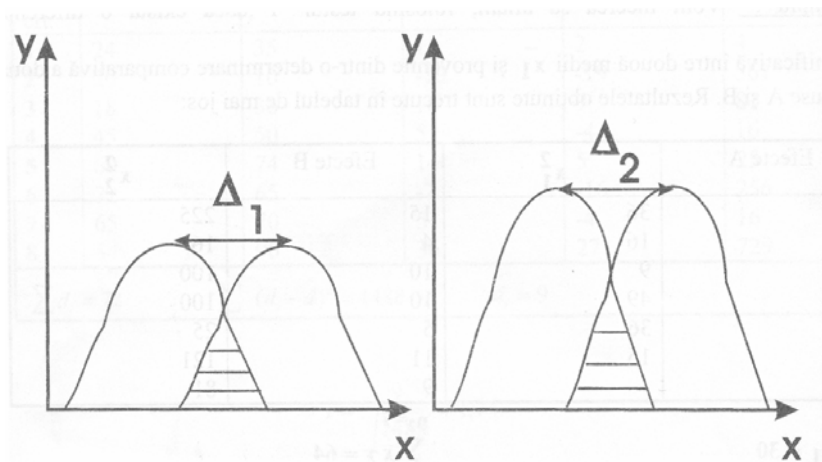
$$S_2^2 = \frac{668 - (64)^2 / 7}{7 - 1} = \frac{668 - 585}{6} = 13,8 \text{ deci } F = \frac{S_1^2}{S_2^2} = \frac{2,4}{13,8} = 0,174$$

Comparăm valoare obținută de noi cu cea din tabelul Anexei 2, ținând cont de gradele de libertate. Pentru  $p = 0,05$  găsim valoare 4,95. Deoarece valoarea găsită de noi este mai mare decât cea teoretică, înseamnă că există o diferență semnificativă între cele două medii experimentale.

### A.1.3. Testul „U”

După cum se știe testele de semnificație, aplicate între două medii, stabilesc valoarea mediilor în funcție de probabilitatea de a se înșela. Aceste teste stabilesc care este probabilitatea ca diferența dintre două efecte sau medii să fie reală sau să fie datorată unei fluctuații de eșantionaj.

Cele două medii ( $\bar{x}_1$ , respectiv  $\bar{x}_2$ ) reprezintă din punct de vedere geometric două distribuții (curbe sub formă de clopot) care pot lua diferite poziții una față de alta, de obicei intersectându-se, așa cum se poate vedea în figura de mai jos:



Intersecția lor determină apariția unei arii comune celor două curbe (aria hașurată): Indicele de semnificație depinde de mărimea acestei arii; cu cât această arie este mai mare cu cât cele două curbe se apropie, mergând până la identificare. Se poate constata că mărimea ariei comune depinde de mărimea distanței dintre vârfuri  $\Delta = \bar{x}_2 - \bar{x}_1$ , dar și deschiderea curbelor, adică de  $\sigma$ .

Calculul lui U, după formula:

$$U = \frac{\Delta}{ES_{\Delta}} \quad (4.2.10) \quad (\text{unde } ES_{\Delta} - \text{eroarea unei diferențe între două numere, ea fiind în}$$

general, mai mare decât eroarea, ES, a fiecărui număr luat în parte) permite aflarea diferenței semnificative între două medii, sau, cu alte cuvinte, dacă diferența  $\Delta$  între cele două medii se datorește întâmplării (fluctuației de eșantionaj mai precis) sau etse reală, o consecință a existenței unui anumit efect, a unei acțiuni farmacologice.

Din cele afirmate mai sus obținem relația:

$$ES_{\Delta} = \sqrt{ES_1^2 + ES_2^2} \quad (4.2.11) \quad \text{și formula lui U devine:}$$

$$U = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{\sqrt{ES_1^2 + ES_2^2}} \quad (4.2.12)$$

**Exemplu.** Fie două medii:

$$\bar{x}_1 = 1,35 \pm 0,03 (ES_1)$$

$$\bar{x}_2 = 1,02 \pm 0,08 (ES_2)$$

$$\text{Aplicând formula 4.2.12., rezultă } U = \frac{1,35 - 1,02}{\sqrt{0,03^2 + 0,08^2}} = \frac{0,33}{0,085} = 3,8$$

În tabelul de mai jos vom găsi probabilitățile corespunzătoare pentru diferite valori calculate a lui U:

<i>Valoarea calculată a lui U</i>	<i>Probabilitatea</i>
1,00	0,32
1,50	0,13
2,00	0,05
2,50	0,01
3,00	0,003
3,50	0,001

Pentru exemplul dat,  $U = 3,8$ , ceea ce arată o diferență semnificativă între cele două medii, corespunzătoare la o probabilitate mai mare chiar decât 0,001.

Testul U are însă și câteva dezavantaje: o metodologie de lucru lipsită de rigurozitate, ce nu ține seama de numărul gradelor de libertate.

## **B. Teste de semnificație pentru efecte cuantale**

### **B.1.1. Testul $\chi^2$**

În cazul determinărilor cuantale comparative, pentru a calcula diferența semnificativă între două activități (probe) exprimate în procente, sau pentru a stabili dacă există o anumită concordanță sau discordanță între frecvențele așteptate (teoretice) și cele observate (experimentale, empirice) sau, alte cuvinte legătura existentă sau inexistentă între o repartiție teoretică și o repartiție experimentală se folosește indicele  $\chi^2$ , propus pentru prima dată de Helmer și Pearson.

Testul  $\chi^2$ , spre deosebire de alte teste aplicate în cazul răspunsurilor biologice cuantale, ia în considerare și alți factori decât abaterea standard a procentelor, și anume numărul cazurilor, gradele de libertate, frecvențele teoretice și frecvențele experimentale.

Legătura funcțională este definită de concordanța sau neconcordanța dintre ipoteza de lucru (efecte teoretice) și rezultatele experimentale (empirice), gradul de legătură putându-se măsura prin stabilirea frecvenței asociației în comparație cu numărul cazurilor examinate, lucru care se poate exprima matematic prin raportul asociației Muster:

$$R_m = \frac{\text{Nr. cazurilor de asociere}}{\text{Nr. indivizilor examinați}}$$

Legătura funcțională dintre rezultatele teoretice (așteptate) și rezultatele experimentale ar putea fi aflată din însumarea diferențelor între frecvențele teoretice și cele experimentale. Relația care exprimă matematic acest lucru este următoarea:

$$\sum d_i = \sum (f_{\text{teor.}} - f_{\text{exp.}}) \quad (4.2.14)$$

Frecvența teoretică totală poate fi egală cu frecvența empirică totală, iar diferențele pozitive se pot compensa cu cele negative, de aceea în calcul vom folosi pătratele acestor diferențe, ceea ce duce la relația:

$$\chi^2 = \frac{(f_{\text{teor.}} - f_{\text{exp.}})^2}{f_{\text{teor.}}} \quad (4.2.15)$$

În cazul concordanței perfecte între teorie și observație  $\chi^2 = 0$ . Practic formula de calcul a lui  $\chi^2$  este cea de mai jos:

$$\chi^2 = \frac{e_e - e_t}{e_t} \quad (4.2.16) \text{ unde } e_e = \text{efectul observat experimental}$$

$e_t = \text{efectul teoretic (așteptat)}$



Testul  $\chi^2$  se aplică:

- frecvențelor absolute (numere, efecte de diverse categorii)
- frecvențelor relative (procentaje)

Trebuie menționat însă faptul că nu putem folosi acest test decât dacă efectele calculate depășesc 10 frecvențe.

În determinările biologice testul  $\chi^2$  poate fi folosit ca test de semnificație în cazul răspunsurilor unice, cu ajutorul lui putându-se aprecia dacă există o diferență semnificativă între două distribuții (una teoretică și alta experimentală).

Pentru a compara o repartiție observată față de o repartiție teoretică a unui caracter calitativ cu N clase, aplicăm formula de mai sus și căutăm probabilitatea corespunzătoare la N-1.

Testul este cu atât mai semnificativ cu cât probabilitatea găsită este mai mică și  $\chi^2$  calculat mai mare.

Să luăm un exemplu:

Administrând o doză egală cu DL<sub>50</sub> la 40 de șoareci, se obține un efect de 30 de animale moarte și 10 animale supraviețuitoare. Am obținut deci un procent de mortalitate de 75% față de 50% cât era de așteptat. Dorim să aflăm dacă acest rezultat experimental diferă semnificativ de cel teoretic (50% mortalitate) sau se datorește doar unei fluctuații de eșantionaj. Vom aplica formula de mai sus. În cazul nostru  $e_t = 20$ . În urma experimentului au murit 30 de șoareci, deci  $e_e = 30$ . Rezultatele experimentului se trec, de obicei într-un tabel de forma:

	<b>Morți</b>	<b>Supraviețuitori</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>Teoretic (<math>e_t</math>)</b>	20	20	40	50
<b>Experimental (<math>e_e</math>)</b>	30	10	40	75
<b><math>e_e - e_t</math></b>	10	-10	-	-

Introducând datele în formula de calcul obținem:

$$\chi^2 = \frac{(30 - 20)^2}{20} + \frac{(10 - 20)^2}{20} = \frac{10^2}{20} + \frac{(-10)^2}{20} = 5 + 5 = 10,0$$

În cadrul experimentului există două posibilități de evoluție, animale moarte sau supraviețuitoare, deci N=2, iar N-1=1. deci numărul de grade de libertate pentru care vom căuta în tabelul din Anexa 3 va fi egal cu 1. Vom constata că valoarea lui  $\chi^2$  obținută de noi depășește, pentru N=1, probabilitatea p=0, ajungând până la aproape de p=0,001, deci

rezultatul obținut în urma experimentului diferă semnificativ de cel estimat teoretic. În cazul nostru putem interpreta rezultatul obținut ca fiind datorat unei toxicități crescute a produsului față de cea așteptată teoretic (am putea presupune, de exemplu, o descompunere a substanței active cu formarea unor produși cu toxicitate crescută: urmează să stabilim prin cercetări ulterioare care este adevărata cauză a creșterii toxicității compusului, creștere stabilită științific cu ajutorul testului  $\chi^2$ ).

În cazul comparației a două procentaje, formula de calcul se bazează pe coeficientul de asociație Q a lui Zule. Să o aplicăm în cazul a două produse A și B, cu câte două variabile a, respectiv b. Cifrele romane arată frecvențele absolute ale acestor variabile:

$$Q = \frac{I \cdot III - II \cdot IV}{I \cdot III + II \cdot IV} \quad (4.2.17)$$

Datele pot fi grupate într-un tabel sinoptic ca cel de mai jos:

	<b>a</b>	<b>b</b>
<b>A</b>	I	II
<b>B</b>	IV	III

Dacă luăm un număr M de cazuri (de exemplu un experiment ce folosește M animale), formula de mai sus poate fi scrisă:

$$\chi^2 = \frac{[(I \cdot III - II \cdot IV) - M/2]^2 \cdot M}{(I + II)(III + IV)(I + IV)(II + III)} \quad (4.2.18)$$

Să încercăm determinarea cu ajutorul testului  $\chi^2$ , a activității unui produs în comparație cu un produs martor, urmărindu-se supraviețuirea animalelor. Să presupunem că, în urma experimentării, am obținut rezultatele de mai jos:

	<i>Supraviețuitori</i>	<i>Morți</i>	<i>Total</i>	<i>% supraviețuitori</i>
<b>Compus de cercetat</b>	I=25	II = 14	I + II = 39	64%
<b>Compus martor</b>	IV = 21	III = 22	IV + III = 43	49%
<b>Total</b>	I + IV = 46	II + III = 36	M = 82	-

Practic va trebui să determinăm dacă procentul de supraviețuitori de 64%, găsit în cazul compusului cercetat, diferă semnificativ statistic de procentul de supraviețuitori găsit în cazul compusului martor (49%), practic dacă compusul studiat este mai puțin toxic decât martorul. Introducem datele din tabel în formula lui Yule.

$$\chi^2 = \frac{[(25 \cdot 22 - 14 \cdot 21) - 82/2]^2 \cdot 82}{39 \cdot 43 \cdot 46 \cdot 36}$$

Deoarece avem din nou numai două posibilități, animale moarte sau supraviețuitoare, vom avea  $N=2$ , respectiv  $N-1=1$  grad de libertate. Din tabelul Anexei 3 putem constata că rezultatul nu este semnificativ nici la o probabilitate  $p=0,20$  (adică pentru 80% din cayuri), efectul obținut neputând fi asigurat statistic. Putem afirma deci că produsul studiat nu este mai puțin toxic decât martorul, diferența dintre procentajele obținute datorându-se fluctuațiilor de eșantionaj.

#### IV.2.2. TESTE DE SEMNIFICAȚIE NEPARAMETRICE. STATISTICA ORDINEI.

Dacă rezultatele experimentelor nu se încadrează într-o distribuție normală sau volumul eșantioanelor extrase din populația statistică este mic, este indicată recurgerea la un *test de semnificație neparametric*. Astfel de teste fac obiectul *statisticii ordinii*, la care studiază sistemele de valori observate ale variabilelor aleatoare, din punctul de vedere al relațiilor de ordine. Un mare avantaj al acestor metode îl constituie, cum am mai spus faptul că rezultatele ce se obțin nu depind de natura repartiției variabilei aleatoare studiate. Ele se numesc *neparametrice*, deoarece verificarea unei ipoteze nu este legată de parametrul unei anumite repartiții.

Cel mai utilizat test de semnificație neparametric este *testul Wilcoxon*. Aplicarea lui la studiul a două eșantioane, pentru a verifica dacă acestea diferă semnificativ sau nu (și, în ultimă instanță dacă provin sau nu din aceeași populație statistică), presupune parcurgerea următorilor pași:

1. Se așează valorile  $n$  ( $n = n_1 + n_2$ ) în ordine crescătoare, *făcând abstracție de eșantioanele din care provin*. Se atribuie apoi fiecărei valori un rang de ordine crescătoare începând cu 1. Dacă există valori egale, acestora li se atribuie ranguri egale cu media aritmetică a rangurilor pe care le-ar fi avut dacă aceste valori ar fi fost distincte.
2. Se formează un tabel în care se specifică, în ordine crescătoare, valorile obținute la fiecare eșantion și se reține, notând cu  $S$ , una din cele două sume.
3. Folosind tabelul (*testul Wilcoxon*,  $p = 0,95$ ) de mai jos, se procedează astfel:

Dacă  $S$  este situat în afara intervalului din tabel, care se găsește la intersecția coloanei  $(n_1)$  și a liniei  $(n_2)$  se poate afirma că, la pragul de semnificație  $\alpha = 0,05$  (sau, altfel spus,

$p = 0,05$ ), cele două eșantioane diferă. În caz contrar este justificat să se afirme că cele două eșantioane nu diferă semnificativ.

Tabel IV.2.1. Tabel Wilcoxon ( $p = 0,95$ )

$n_1$		4	5	6	7	8	9	10
$n_2$	4	11-26	17-33	24-42	32-52	41-63	51-75	62-88
	5	12-28	19-36	26-46	34-57	44-68	54-81	66-94
	6	13-31	20-40	28-50	36-62	46-74	57-87	69-101
	7	14-34	21-44	29-55	39-66	49-79	60-93	72-108
	8	15-37	23-47	31-59	41-71	51-85	63-99	75-115
	9	16-40	24-51	33-63	43-76	54-90	66-105	79-121
	10	17-43	26-54	35-67	45-81	56-96	69-111	82-128
	11	18-46	27-58	37-71	47-86	59-101	72-117	86-134
	12	19-49	28-62	38-76	49-91	62-106	75-123	89-141
	13	20-52	30-65	40-80	52-95	64-112	78-129	92-148
	14	21-55	31-69	42-84	54-100	67-117	81-135	96-154

**Exemplu.** Se ia un lot martor format din  $n_1=10$  șoareci și un lot tratat, format din  $n_2=9$  șoareci. Ca analgezic se folosește metamizol sodic (5mg/kg.corp), iar ca stimul chimic se folosește acid acetic 0,6% (1 ml / 10 g masă corporală). Se înregistrează numărul de contorsiuni, rezultatele fiind trecute în tabelul de mai jos:

Tabelul IV.2.2. Rezultatele experimentale. Testul Wilcoxon

Lot martor	Lot tratat	Ranguri lot tratat	Ranguri lot martor
-	20	1	-
-	21	2	-
22	-	-	3
27	27	4,5	4,5
-	29	6,5	-
-*	29	6,5	-
31	31	8,5	8,5

34	34	10,5	10,5
-	35	12	-
36	-	-	13,5
36	-	-	13,5
37	-	-	15
-	47	16	-
51	-	-	17
54	-	-	18
55	-	-	19
		$S1 = 67,5$	$S2 = 122,5$

În tabelul de mai jos, pentru  $n_1=10$  și  $n_2=9$ , corespunde intervalul 79-121. Deoarece  $S_2=122,5$  este situat în afara acestui interval, se poate afirma cu probabilitatea  $p=0,95$ , că cele două eșantioane studiate diferă semnificativ, deci acțiunea analgezică a metamizonului s-a manifestat la doza de 5 mg/kg.corp.

Ca o observație trebuie menționat că valorile fracționare apărute în coloanele rangurilor (de exemplu 4,5; 6,5; 8,5; 10,5; 13,5), rezultă din media rangurilor pe care le-ar fi avut valorile în primele două coloane, dacă ele ar fi fost distincte (de exemplu  $4,5 = (4+5)/2$ ).

## V. ANALIZA DISPERSIONALĂ (ANALIZA DE VARIANTĂ)

### *A. Baze teoretice*

După cum se știe procesele biologice se pot afla, la un moment dat, sub influența mai multor factori, cu acțiune concomitentă. Pentru a pune în evidență în ce măsură unul sau mai mulți factori (său chiar o combinație a acestora) influențează în mod esențial asupra unei caracteristici rezultative se utilizează *analiza dispersională*.

Analiza dispersională, cunoscută și sub denumirea de *analiză de varianță (Anova)*, a fost introdusă de statisticianul R.A. Fisher. Prin această metodă se verifică măsura în care valorile reale ale unei caracteristici se abat de la valorile teoretice, calculate, de regulă, sub forma unor mărimi medii sau ecuații de regresie, precum și măsura în care aceste variații sunt dependente sau nu de factorul de grupare.

Pe baza interpretării logice a variației celor două sau mai multe variabile luate în studiu se pot stabili relații de tipul cauză – efect. Uneori prin analiza dispersională trebuie să

fie verificată dependența variabilei rezultative (z) de factorul (factorii) de grupare, ea putând fi considerată, în acest caz, ca o metodă auxiliară, utilizată înainte și după aplicarea metodelor corelației și regresiei statistice. Dacă, însă, trebuie verificată independența variabilei rezultative de o variabilă de sistematizare a datelor, atunci analiza dispersională poate fi considerată ca o *metodă independentă*, ce duce la concluzii de sine stătătoare.

Analiza dispersională are la bază *metoda grupării*. Prin aceasta se separă influența asupra caracteristicii rezultative a factorilor înregistrați ca *esențiali* (determinanți) de influența factorilor *întâmplători* (accidentali).

În funcție de numărul factorilor (unu, doi sau mai mulți) care influențează asupra variației caracteristicii rezultative, avem *modele de analiză dispersională unifactorială, bifactorială sau multifactorială*.

Modelul de analiză dispersională are la bază *ipoteza* că mediile condiționate de factorul de grupare  $\bar{y}_i$ , reprezintă *valorile tipice care se formează la nivelul fiecărei grupe*, în timp ce media generală  $\bar{y}$  este *valoarea tipică pentru întreaga colectivitate statistică*. Măsura în care valorile individuale se abat de la aceste valori tipice reprezintă rezultatul modului de asociere a factorilor care determină variația caracteristicii y.

Se știe că dispersia teoretică (generală)  $\sigma_0^2$  se poate estima cu ajutorul funcției de selecție:

$$\frac{1}{n-1} \sum (y_{ij} - \bar{y})^2 = S^2 \quad (5.1.)$$

$s^2$  fiind, în acest caz, un estimator nedeplasat al dispersiei teoretice

Ideea de bază a analizei dispersionale constă în împărțirea acestei sume de pătrate într-un anumit număr de componente, fiecare componentă corespunzând unei surse reale sau ipotetice de variație a mediilor.

Ipoteza nulă (ipoteza de zero), pe care urmează să o testăm în cadrul analizei dispersionale, este legată de egalitatea mediilor:

$$H_0: m_1 = m_2 \dots = m_i \dots = m_r$$

Cu alternativa:  $H_1$ : cel puțin două medii diferă între ele.

Mediile teoretice  $m_i$  se estimează cu ajutorul mediilor de grupă empirice sau de selecție simbolizate  $\bar{y}_i$ , adică:

$$H_0 : \bar{y}_1 = \bar{y}_2 = \dots = \bar{y}_i = \dots = \bar{y}_r$$

**Notă.** Testul sau criteriul egalității celor  $r$  medii sau selecții are la bază presupunerea că dispersiile de selecție  $s_1^2, s_2^2, \dots, s_r^2$ , sunt omogene, adică sunt *estimații ale uneia și aceleași*

*dispersii generale*. De aceea, ori de câte ori există vreun dubiu în legătură cu omogenitatea celor  $r$  dispersii, se trece la verificarea egalității lor folosind de pildă testul  $\chi^2$ .

### ***B. Considerații practice***

Dacă până acum abordarea teoretică a analizei dispersionale poate părea dificil de înțeles, în cele ce urmează vom căuta abordarea acesteia de pe baze practice. Cu alte cuvinte vom vedea unde și când aplicăm analiza dispersională monofactorială sau bifactorială.

După cum se cunoaște, răspunsul biologic obținut în urma unui experiment poate fi influențat de mai mulți parametri care acționează simultan (doza administrată, administrarea simultană a substanței active și a unor antagoniști, modificarea concentrației substanței simulante în cazul testului stimulului chimic etc), fiecare din acești parametri având, însă, o influență specifică asupra rezultatului urmărit. Scopul analizei dispersionale este separarea și testarea efectelor cauzate de variația parametrilor respectivi și eliminarea din câmpul de observații a parametrilor a căror variație nu este semnificativă pentru rezultatul urmărit.

*Principiul matematic al analizei dispersionale se bazează pe gruparea datelor observate după unul sau mai multe criterii și scoaterea în evidență a efectelor obținute în funcție de influența particulară a criteriilor după care au fost grupate observațiile.*

Efectele odată identificate, *testarea* are loc prin *compararea dispersiilor cauzate de factorii variabili, cu dispersia cauzată de factorii întâmplători* care acționează asupra procesului studiat.

Numărul de criterii după care se grupează datele depinde de numărul parametrilor cuprinși în analiză. Pentru a fi mai expliciti să luăm următorul exemplu:

Să presupunem că avem în studiu șase substanțe cu efect analgezic cărora trebuie să le demonstrăm acest efect folosind testul plăcii încălzite. Practic vom determina timpul de reacție medicamentos – TRM – (timpul de latență al reacției nociceptive la animalul tratat – lingerea labei). Considerând cele șase substanțe medicamentoase drept variabile independente și timpul de latență a reacției nociceptive drept variabilă dependentă, analiza dispersională ne permite testarea influenței fiecărei substanțe active studiate asupra timpului de latență a reacției nociceptive. Metoda de analiză dispersională cu un singur parametru variabil se numește *analiză dispersională monofactorială*.

Există însă posibilitatea de a dori să studiem influența celor șase substanțe cu efect analgezic asupra timpului de latență a reacției nociceptive în condițiile administrării

concomitente și a unor substanțe medicamentoase ce potențează acțiunea analgezicelor respective. În acest caz, analiza dispersională urmărește testarea influenței simultane a două variabile independente. Metoda cu ajutorul căreia putem testa influența a doi parametri variabili se numește *analiză dispersională bifactorială*. În mod asemănător există analiză dispersională cu trei factori, cu patru factori etc. (*analiză dispersională multifactorială*).

În cele urmează vom aborda analiza dispersională monofactorială și bifactorială, aceste două metode fiind suficiente pentru înțelegerea raționamentului care ne permite eliminarea din câmpul experimental a parametrilor a căror variație nu influențează semnificativ rezultatele urmărite printr-o lucrare de cercetare. (De exemplu, aceste metode ne permit să demonstrăm faptul că o anumită substanță potențează sau nu acțiunea unor analgezice, demonstrându-și astfel valoarea extarordinară în cercetarea farmacologică).

### V.1. ANALIZA DISPERSIONALĂ MONOFACTORIALĂ

Cu ajutorul analizei dispersive monofactoriale (cu un singur parametru variabil) se testează egalitatea valorilor medii care variază sub influența unei singure variabile independente. Să presupunem că trebuie testată egalitatea valorilor medii calculate dintr-un număr de  $n$  experiențe cu  $m$  ( $M_1, M_2, \dots, M_m$ ) substanțe având efect analgezic, criteriul de etzare fiind timpul de latență a apariției reacției nociceptive – timpul scurs până în momentul în care animalul își linge laba.

Vom aranja mai întâi datele obținute sub forma unui tabel (tabelul V.I.), în care  $x_{ij}$  ( $i = 1, 2, \dots, m$  și  $j = 1, 2, \dots, n$ ) reprezintă timpul de latență a apariției reacției nociceptive. De exemplu  $x_{32}$  înseamnă timpul înregistrat (în secunde) în urma experienței nr. 2 cu substanța activă nr.  $M_3$ .

**Tabelul V.1.1. Gruparea rezultatelor pentru analiza dispersională monofactorială**

Nr. Exp.	Subst. activă	$M_1$	$M_2$	$M_3$	...	$M_m$
<b>Experimentul 1</b>		$x_{11}$	$x_{21}$	$x_{31}$	...	$x_{m1}$
<b>Experimentul 2</b>		$x_{12}$	$x_{22}$	$x_{32}$	...	$x_{m2}$
<b>Experimentul 3</b>		$x_{13}$	$x_{23}$	$x_{33}$	...	$x_{m3}$
....		....	...	...	...	...



<b>Experimentul n</b>	$x_{1n}$	$x_{2n}$	$x_{3n}$	...	$x_{mn}$
<b>Total</b>	$x_1$	$x_2$	$x_3$		$x_m$

În tabelul V.I. *diferențele* observate între datele numerice înscrise în coloane se datorează faptului că s-au folosit *diferite substanțe cu efect analgezic* (diferența între coloane), iar *diferențele între rânduri* sunt cauzate de *reproductibilitatea condițiilor experimentale*. După cum știm, dispersia valorilor individuale față de media aritmetică a lor este dată de formula:

$$S^2 = \frac{\sum_{ij} x_{ij}^2 - \frac{1}{n} \left( \sum_{ij} x_{ij} \right)^2}{n - 1} \quad (5.1.1)$$

După cum se observă din tabel, în cazul de față dispersia este cauzată de un singur parametru, și anume folosirea unei anumite substanțe active, la care se adaugă, evident, și reproductibilitatea condițiilor experimentale. Datorită proprietății sale aditive, dispersia totală se compune din dispersia cauzată de diferența între coloane plus dispersia totală în componentele sale. Pentru simplificare, vom introduce următoarele notații pentru sumele auxiliare:

1. Suma pătratelor tuturor observațiilor individuale:

$$S_1 = \sum_{ij} x_{ij}^2 \quad (5.1.2)$$

2. Suma pătratelor sumei coloanelor împărțită la numărul de observații pe coloane:

$$S_2 = \frac{\sum_{i=1}^m x_i^2}{n} \quad (5.1.3)$$

3. Pătratul sumei tuturor observațiilor împărțit la numărul total de observații:

$$S_3 = \frac{\left( \sum_y x_y \right)^2}{mn} \quad (5.1.4)$$

Pentru analiza dispersiilor și testarea egalității între valorile medii observate, calculele vor trebui centralizate într-un tabel de forma celui de mai jos:

Tabelul V.1.2. Analiza dispersională monofactorială

<b>Tipul variației</b>	<b>Suma pătratelor</b>	<b>Numărul gradelor de</b>	<b>Estimația dispersiei</b>	<b>F</b>
------------------------	------------------------	----------------------------	-----------------------------	----------

		<i>libertate</i>		
Între coloane (între grupe)	$S_2-S_3$	$m-1$	$S_1^2 = \frac{S_2 - S_3}{m-1}$	$\frac{S_1^2}{S_2^2}$
Între rânduri (în interiorul grupelor)	$S_1-S_2$	$m(n-1)$	$S_2^2 = \frac{S_1 - S_2}{m(n-1)}$	
<b>Total</b>	$(S_2-S_3)+(S_1-S_2) = S_1-S_3$	$mn-1$	-	-

Testul de semnificație (verificarea ipotezei) trebuie să se refere la raportul dintre variația între grupe (sistematică) și variația în interiorul grupei (reziduală). Pentru a verifica dacă factorul de grupare este semnificativ, se folosește testul F, dat de relația:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (5.1.5) \quad \text{unde} \quad S_1^2 = \frac{S_2 - S_3}{m-1} \quad (5.1.6) \quad - \text{ dispersia corectată între grupe}$$

(sistematică).

$$S_2^2 = \frac{S_1 - S_2}{m(n-1)} \quad (5.1.7) \quad - \text{ dispersia corectată din interiorul grupelor (rămasă sau}$$

reziduală)

Valoarea F rezultată din calcul se compară cu valoarea F găsită în Anexa 2 pentru pragul de semnificație ales. Întâlnim următoarele situații:

1. Dacă  $F$  calculat este mai mic decât  $F_{\alpha}$  găsit în tabel, la gradele de libertate folosite pentru calcularea dispersiilor  $S_1^2$  și  $S_2^2$ , se acceptă ipoteza de zero adică ipoteza conform căreia parametrul variabil nu influențează asupra variabilei dependente, diferențele observate datorându-se erorilor experimentale.

2. Dacă  $F$  calculat este mai mare decât  $F_{\alpha}$  găsit în tabel, ipoteza de zero se respinge și se trage concluzia că parametrul variabil are influență asupra rezultatului urmărit, diferențele observate între medii fiind reale.

**Exemplu.** Fiind date 6 substanțe ( $M_1, M_2, \dots, M_6$ ), presupuse ca având efect analgezic, s-au efectuat un număr de 8 experiențe injectându-se intraperitoneal câte unui șoarece substanța de cercetat, după care se efectuează testul plăcii încălzite, conform metodologiei descrise anterior, la testul respectiv, la  $t$ .

estul respectiv. Intensitatea efectului se exprimă prin prelungirea timpului de reacție, adică diferența între TRM-TRI, exprimată în secunde (pentru semnificația acestor timpî, vezi testul plăcii încălzite).

Tabelul V.1.3. *Rezultate experimentale*

Nr. Exp.	Subst. activă	$M_1$	$M_2$	$M_3$	$M_4$	$M_5$	$M_6$
<b>Experimentul 1</b>		25,1	22,8	25,5	24,5	25,5	24,7
<b>Experimentul 2</b>		27,0	23,8	27,9	25,2	28,7	27,1
<b>Experimentul 3</b>		29,6	27,1	28,8	27,7	26,2	26,0
<b>Experimentul 4</b>		<b>26,6</b>	22,7	26,9	26,9	25,7	26,2
<b>Experimentul 5</b>		25,2	22,8	25,4	27,1	27,2	25,7
<b>Experimentul 6</b>		28,3	27,4	30,0	30,6	27,9	29,2
<b>Experimentul 7</b>		24,7	22,2	29,6	26,4	25,6	28,0
<b>Experimentul 8</b>		25,1	25,1	23,5	26,6	28,5	24,0
<b>Total</b>		211,6	193,9	217,6	215,0	215,3	211,3
<b>Media</b>		26,5	24,1	27,2	26,9	26,9	26,4

Pentru a ne putea orienta în vederea alegerii substanței cu cel mai puternic efect analgezic va trebui să verificăm dacă între rezultatele obținute există o diferență semnificativă sau diferențele sunt cauzate de erori experimentale. Vom calcula deci sumele auxiliare:

$$S_1 = 25,1^2 + 27,0^2 + \dots + 29,2^2 + 28,0^2 + 24,4^2 = 33511,11$$

$$S_2 = \frac{211,6^2 + 193,9^2 + 217,6^2 + 215,3^2 + 211,3^2}{8} = 33368,53$$

$$S_3 = \frac{(211,6 + 193,9 + 217,6 + 215,0 + 215,3 + 211,3)^2}{48} = \frac{1264,7^2}{48} = 33322,20$$

$$S_2 - S_3 = 46,33$$

$$S_1 - S_2 = 142,58$$

$$S_1 - S_3 = 188,91$$

$$m - 1 = 5$$

$$m(n - 1) = 42$$

$$mn - 1 = 47$$

$$S_1^2 = \frac{46,33}{5} = 9,27$$

$$S_2^2 = \frac{142,58}{42} = 3,16$$

$$F = \frac{9,27}{3,16} = 2,93$$

Cu aceste date vom completa tabelul V.1.4. pentru analiza dispersională în conformitate cu modelul arătat în tabelul V.1.2.

Tabelul V.1.4. Analiza dispersională a rezultatelor experimentale

<i>Sursa dispersiei</i>	<i>Suma pătratelor</i>	<i>Gradele de libertate</i>	<i>Dispersia</i>	<i>F</i>	<i>F<sub>0,05</sub></i>
<i>Substanțele cercetate (variație între grupe)</i>	46,33	5	9,27	2,93	2,44
<i>Erorile experimentale (variație în interiorul grupei)</i>	142,58	42	3,16	-	-
<b>Total</b>	<b>188,91</b>	<b>47</b>	-	-	-

**Concluzii.** Deoarece  $F > F_{0,05}$  ( $2,93 > 2,44$ ), unde  $F_{0,05}$  se găsește din tabel, la pragul de semnificație  $\alpha = 0,05$ ,  $v = 5$  și  $v = 42$  grade de libertate (în tabel se caută pe orizontal numărul de grade de libertate al dispersiei de la numărul, iar pe vertical numărul de grade de libertate al dispersiei de la numitor), ipoteza de zero se respinge și putem trage concluzia că cele șase substanțe diferă semnificativ din punct de vedere al efectului analgezic. Firește cercetarea un se oprește aici, urmând să aibă loc noi determinări experimentale, menite să stabilească acele substanțe care pot fi utilizate în terapia, datorită efectului suficient de puternic.

## V.2. ANALIZA DISPERSIONALĂ BIFACTORIALĂ

În cazul în care se urmărește influența simulată a doi parametri asupra unui rezultat, diferențele observate între rânduri (vezi tabelul V.2.1.) se vor considera ca fiind cauzate de variația unuia dintre parametri, iar diferența dintre coloane – de variația celui de-al doilea parametru luat în considerare. Fiecare cifră din tabel reprezintă o observație care corespunde uneia dintre combinațiile posibile ale variabilelor independente.

Având doi parametri variabili trebuie testate două ipoteze de zero, dintre care una se referă la diferența valorilor medii între rânduri, iar a doua la diferența valorilor medii între coloane. Pentru testarea primei ipoteze trebuie calculată diferența sumei pătratelor între

rânduri, iar pentru testarea celei de-a doua ipoteze trebuie calculată diferența sumei pătratelor între coloane.

Valorile obținute experimental vor trebui grupate, și în acest caz, sub forma unui tabel, de felul celui de mai jos.

Să presupunem că, în cazul exemplului folosit la analiza dispersională monofactorială, dorim, de data aceasta, să observăm efectul analgezic al diferitelor substanțe studiate, în prezența unor substanțe active ce le potențează efectul. Primal parametru variabil va fi, în acest caz, natura substanței active, cel de-al doilea parametru variabil fiind natura substanței cu efect de potențare a analgeziei ( $P_1, P_2, \dots, P_n$ ). Deci, în acest caz dispersia totală se compune din dispersia datorată diferențelor între coloane, plus dispersia datorată diferențelor între rânduri, rămânând și o dispersie residual, datorată erorilor experimentale. Scopul nostru este să cunoaștem separat fiecare dintre aceste abateri medii pătratice.

*Tabelul V.2.1. Gruparea observațiilor pe criteriul factorilor de influență pentru analiza dispresională bifactorială*

<b>Rândul</b>	<b>Coloana</b>					<b>Total</b>
	$M_1$	$M_2$	$M_3$	...	$M_m$	
$x_1$	$x_{11}$	$x_{21}$	$x_{31}$	...	$x_{m1}$	$x_{i1}$
$x_2$	$x_{12}$	$x_{22}$	$x_{32}$	...	$x_{m2}$	$x_{i2}$
$x_3$	$x_{13}$	$x_{23}$	$x_{33}$	...	$x_{m3}$	$x_{i3}$
...	....	...	...	...	...	...
$x_n$	$x_{1n}$	$x_{2n}$	$x_{3n}$	...	$x_{mn}$	$x_{in}$
<b>Total</b>	$x_{1j}$	$x_{2j}$	$x_{3j}$		$x_{mj}$	$x_{ij}$

Pentru simplificarea calculelor vom introduce notații similare celor folosite la analiza dispersională monofactorială:

Suma pătratelor tuturor observațiilor individuale:

$$S_1 = \sum_{ij} x_{ij}^2 \quad (5.2.1)$$

Suma pătratelor coloanelor, împărțită la numărul observațiilor înscrise în coloană:

$$S_2 = \frac{\sum_{i=1}^m x_i^2}{n} \quad (5.2.2)$$

Suma pătratelor sumei rândurilor împărțită la numărul observațiilor înscrise pe rânduri:

$$S_3 = \frac{\sum_{j=1}^n x_j^2}{m} \quad (5.2.3)$$

Pătratul sumei tuturor observațiilor împărțit la numărul total de observații:

$$S_3 = \frac{\left(\sum_y x_y\right)^2}{mn} \quad (5.2.4)$$

Suma pătratelor reziduale:

$$S_r = S_1 + S_4 - S_2 - S_3 \quad (5.2.5)$$

Pentru calcularea dispersiilor cauzate de parametrii considerați mai trebuie să cunoaștem numărul de grade de libertate pentru fiecare abatere medie pătratică parțială. Deoarece  $S_2$  s-a obținut din suma coloanelor, va avea  $m-1$  grade de libertate, iar  $S_3$ , obținută din suma rândurilor, va avea  $n-1$  grade de libertate. În sfârșit  $S_r$ , în a cărei formulă de calcul au intervenit atât diferențele între rânduri, dispersia cauzată de factorii aleatori (întâmplători) va avea  $(m-1)(n-1)$  grade de libertate. Procedul de calcul al dispersiilor, precum și testarea diferențelor între valorile medii ale coloanelor și, respectiv, rândurilor, sunt prezentate în tabelul V.2.2 :

Tabelul V.2.2. Analiza dispersională bifactorială

Tipul variației (sursa dispersiei)	Suma pătratelor	Numărul gradelor de libertate	Estimația dispersiei	F
<b>Între coloane</b> (primul parametru variabil)	$S_2 - S_4$	$m-1$	$S_1^2 = \frac{S_2 - S_4}{m-1}$	$\frac{S_1^2}{S_r^2}$
<b>Între rânduri</b> (al doilea parametru variabil)	$S_3 - S_4$	$m(n-1)$	$S_2^2 = \frac{S_3 - S_4}{m(n-1)}$	$\frac{S_2^2}{S_r^2}$
<b>Rezidual <math>S_r</math></b>	$S_1 + S_4 - S_2 - S_3$	$(m-1)(n-1)$	$S_r^2 = \frac{S_r}{(m-1)(n-1)}$	
<b>Total</b>	$(S_2 - S_4) + (S_3 - S_4) =$ $S_1 - S_4$	$mn-1$	-	-

Cu ajutorul dispersiilor calculate conform schemei de mai sus, se face testul F, care va arăta dacă diferențele observate între coloane, respectiv între rânduri, sunt reale sau sunt cauzate de factori întâmplători.

Pentru aceasta vom calcula rapoartele  $F = \frac{S_1^2}{S_r^2}$ , respectiv  $F = \frac{S_2^2}{S_r^2}$ . Dacă valorile rezultate din calcul sunt mai mici decât cele găsite în tabelul distribuției F, la aceleași grade de libertate pentru care s-au calculat dispersiile  $S_1^2$ ,  $S_2^2$  și respectiv  $S_r^2$ , vom accepta ipoteza de zero și vom concluziona că parametrul considerat nu influențează semnificativ valorile medii, diferențele fiind cauzate de factori întâmplători. În caz contrar, însă, vom respinge ipoteza de zero și vom trage concluzia că variația parametrilor studiați are o influență semnificativă asupra variabilei dependente.

**Exemplu.** Să luăm experimentul de la analiza dispersională monofactorială, considerând că am lucrat cu patru substanțe cu efect analgezic ( $M_1, \dots, M_4$ ), în prezența unei substanțe P, ce potențează efectul analgezic al acestora, substanță administrată în trei doze diferite ( $D_1, D_2, D_3$ ). Rezultatele experimentului (în secunde) se regăsesc în tabelul de mai jos:

Tabelul V.2.3. Analiza dispersională bifactorială. Rezultate experimentale

Doza administrată pentru efect de potențare	Substanța de cercetat				Total $\sum x_j$	Media $\bar{x}_j$
	$M_1$	$M_2$	$M_3$	$M_4$		
$D_1$	25	28	22	24	99	24,7
$D_2$	27	29	23	23	102	25,5
$D_3$	30	32	26	29	117	29,2
<b>Total</b>	$\sum x_i = 82$	89	71	76	$\sum x_{ij} = 318$	
	$\bar{x}_i = 27,3$	29,7	23,7	25,3		

Din tabel se observă că valorile medii ale coloanelor sunt influențate de natura substanței analgezice, în timp ce variația valorilor rândurilor este cauzată de variația dozei substanței cu efect de potențare a analgeziei. Pentru calcularea dispersiilor valorilor individuale în jurul acestor medii, vom calcula, mai întâi, sumele auxiliare:

$$S_1 = 25^2 + 27^2 + \dots + 23^2 + 29^2 = 8538$$

$$S_2 = \frac{82^2 + 89^2 + 71^2 + 76^2}{3} = 8487,3$$

$$S_3 = \frac{99^2 + 102^2 + 117^2}{4} = 8473,5$$

$$S_4 = \frac{318^2}{12} = 8427,0$$

$$S_r = 8583 + 8427 - 8487,3 - 8473,5 = 4,2$$

Folosind schema de calcul din tabelul V.2.2, vom găsi dispersia cauzată de fiecare parametru variabil în parte, inclusiv dispersia reziduală, cauzată de factori întâmplători. Toți acești parametri statistici vor servi pentru testarea egalității valorilor medii, pentru care vom calcula în prealabil diferențele:

$$S_2 - S_4 = 60,3 \text{ cu } m-1 = 3 \text{ grade de libertate}$$

$$S_3 - S_4 = 46,53 \text{ cu } m-1 = 2 \text{ grade de libertate}$$

$$S_r = 4,2 \text{ cu } (m-1)(n-1) = 6 \text{ grade de libertate}$$

De aici se obțin *dispersiile*:

$$S_1^2 = \frac{60,3}{3} = 20,1; S_2^2 = \frac{46,5}{2} = 23,3; S_r^2 = \frac{4,6}{6} = 0,7$$

și *testul F*:

$$F_{\text{col}} = \frac{S_1^2}{S_r^2} = \frac{20,1}{0,7}; F_{\text{rând}} = \frac{S_2^2}{S_r^2} = \frac{23,3}{0,7} = 33,3$$

În Anexa 2 găsim pentru coloane  $F_{0,05} = 4,76$ , iar pentru rânduri  $F_{0,05} = 5,14$ .

Odată calculate toate aceste elemente, putem completa tabelul pentru analiza dispersională bifactorială:

<i>Felul variației (sursa dispersiei)</i>	<i>Suma pătratelor</i>	<i>Numărul gradelor de libertate</i>	<i>Estimația dispersiei</i>	<i>F</i>	<i>F<sub>0,05</sub></i>
<i>Între analgezice</i>	60,3	3	20,1	28,7	4,76
<i>Între dozele de s.a. cu efect de potențare</i>	46,5	2	23,3	33,3	5,14
<i>Reziduală</i>	4,2	6	0,7	-	-
<b>Total</b>	111,0	11	-	-	-



**Concluzii.** Deoarece  $F_{col} > F_{0,05}$  găsit în Anexa 2 pentru gradele de libertate ale dispersiilor respective, vom respinge ipoteza conform căreia valorile medii ale coloanelor sunt egale și vom trage concluzia că substanțele active studiate diferă semnificativ din punct de vedere al efectului analgezic, la pragul de semnificație ales ( $\alpha = 0,05$ ).

Similar, deoarece  $F_{col} > F_{0,05}$  vom respinge ipoteza conform căreia mediile rândurilor sunt egale și vom trage concluzia că doze diferite de substanță P, influențează semnificativ efectul analgezic al compușilor studiați.

Odată făcute aceste constatări, vor trebui continuate experiențele, pentru a vedea care dintre substanțe are cel mai puternic efect analgezic și, respectiv, care este doza optimă de substanță P, pentru potențarea efectului analgezic.

Mai trebuie studiați faptul că dispersia mică datorată factorilor întâmplători indică faptul că experiențele s-au desfășurat în condiții satisfăcătoare, reproductibile.

Până acum, la analiza dispersiilor cu doi parametri valabili am presupus că efectul acestora este aditiv. Dacă această condiție nu este satisfăcută, analiza dispersională se complică, deoarece eventuala interacțiune între parametrii variabili se manifestă prin creșterea dispersiei reziduale, deoarece aceasta va cuprinde în ea și dispersia cauzată de efectul de interacțiune a parametrilor luați în calcul.

## **ANALIZA STATISTICĂ – Indicatori statistici ai stării de sănătate**

Consider că este deosebit de importantă prezentarea schematică a clasificării tipurilor de indicatori epidemiologici, precum și a tipurilor de studii utilizate în epidemiologia clinică, fapt ce permite justificarea protocolului statistic utilizat în prezenta lucrare.

### **INDICATORI UTILIZAȚI ÎN STUDIILE EPIDEMIOLOGICE**

**În studiile epidemiologice sunt folosiți, în general, 4 tipuri de indicatori:**

- I. Diverse tipuri de **raporturi, proporții și rate**
  1. Raporturi
  2. Proporții
  3. Rate
- II. **Indicatori ai frecvenței bolii** – utilizați pentru a da o măsură a frecvenței bolii sau a numărului de cazuri dintr-o populație
  1. **Prevalența**
    - i. Prevalența la un moment dat
    - ii. Prevalența de-a lungul unei perioade de timp
    - iii. Prevalența de-a lungul vieții
  2. **Incidența**
    - i. Incidența cumulativă
    - ii. Rata incidenței (sau densitatea incidenței)
- III. **Indicatori ai asocierii factori de risc (expunere)-boală**
  1. **Riscul relativ (RR)**
  2. **Rata de șansă (OR –Odds ratio)**
  3. **Rata standardizată a mortalității**
  4. **Rata proporțională a mortalității**
- IV. **Indicatori ai diferenței:**
  1. **Riscul atribuit/populație**

## I. RATE ȘI PROPORȚII

**1. Raportul** - este folosit pentru a compara două cantități (de exemplu **numărul de femei/ numărul de bărbați** dintr-o localitate =  $900/802 = 1,122$ )

**2. Proporția** – un tip special de raport, în care numărătorul este inclus și în numitor, rezultând de fapt un procentaj ( pentru exemplul anterior procentul femei în localitatea respectivă este **numărul de femei/numărul total de locuitori** (femei + bărbați) din localitatea respectivă =  $900/1702 = 52,88 \%$ )

**3. Rata** – un tip special de proporție ce include anumite specificații legate de timp; este unul dintre cei mai utilizați indicatori în epidemiologie deoarece poate exprima clar probabilitatea sau riscul unei boli sau a altor evenimente în cadrul populației studiate pentru a anumită perioadă de timp.

**Formula de calcul:**

$$\frac{\text{numărul de evenimente în perioada specifică de timp}}{\text{populația expusă la risc în perioada specifică}} * k$$

unde k – folosit pentru unități de populație (cum ar fi 1 000 sau 100 000)

**Exemplu:** dacă într-un oraș de 120 000 de locuitori într-un an au fost diagnosticate 11 cazuri de leucemie acută (LA) vom avea o rată a îmbolnăvirilor de LA egală cu

$$\frac{11}{120000} * 100000 = 9,166 \text{ la } 100000 \text{ locuitori}$$

## II. INDICATORI AI FRECVENȚEI BOLII

**1. Prevalența – proporția de indivizi dintr-o anumită populație ce sunt bolnavi de o anumită boală la un anumit moment în timp** (nu contează faptul că sunt bolnavi diagnosticați recent sau în trecut)

- permite estimarea probabilității sau riscului ca cineva din populația respectivă să devină bolnav la un anumit moment dat.

- dă o imagine a severității problemei respective

- este un indicator folositor pentru planificarea serviciilor de sănătate (personal, aparatură etc)

**Formula de calcul:**

$$\frac{\text{numărul de cazuri existente dintr-o anumită boală}}{\text{Totalul populației expuse la risc}}$$
 la un anumit moment în timp

-poate fi și ea exprimată sub forma: la 1000 sau 100000 locuitori etc

**Exemplu:** dacă într-un oraș de 120 000 de locuitori la un moment dat există 70 de cazuri de leucemie acută (LA) vom avea o prevalență de

$$\frac{70}{120000} = 0,0005833 \text{ sau } 58,33 \text{ de cazuri la } 100000 \text{ locuitori}$$

**Tipuri de prevalență:**

- *Prevalența la un moment dat* – numărul de cazuri ce există într-o populație la un moment dat

- *Prevalența de-a lungul unei perioade de timp* - numărul de cazuri ce există într-o populație de-a lungul unei perioade specificate de timp

- *Prevalența de-a lungul vieții* – procentul dintr-o populație existentă ce a prezentat un istoric al unei anumite boli într-un moment al vieții

**2. Incidența – reprezintă un indicator (o măsură) a cazurilor noi dintr-o anumită boală ce au apărut în populația studiată de-a lungul unei perioade de timp**

- este un indicator al probabilității care există ca o persoană neafectată să dezvolte respectiva boală

Practic este folosită **incidența cumulativă – proporția de indivizi ce s-au îmbolnăvit într-o perioadă specificată de timp.**

**Perioada de timp** poate fi un an calendaristic, 6 luni, 3 ani, 5 ani etc.

**Formula de calcul:**

$$IC = \frac{\text{numărul de cazuri NOI dintr-o anumită boală de-a lungul unei perioade de timp}}{\text{Totalul populației expuse la risc}}$$

-poate fi și ea exprimată sub forma: la 1000 sau 100000 locuitori etc

**Exemplu:** dacă într-un oraș de 120 000 de locuitori la un moment dat există 30 de cazuri noi de leucemie acută (LA) în timp de un an, vom avea o incidență de

$$IC = \frac{30 \text{ de cazuri noi de LA}}{120000} = 0,00025 \quad \text{sau } 25 \text{ de cazuri la } 100000$$

locuitori

**3. Rata de incidență (densitatea incidenței)** – un indicator mai puțin folosit, datorită costurilor relativ mari legate de urmărirea cazurilor de-a lungul unei perioade de timp.

- este o măsură a incidenței capabilă să dea informații chiar dacă respectivele cazuri sunt urmărite pe perioade de timp inegale (datorită decesului sau migrației unor persoane)

- în formula de calcul a indicatorului, similară celei a incidenței, numitorul este o sumă a așa numitului **persoana-timp la risc**

### III. INDICATORI AI ASOCIERII FACTORI DE RISC (EXPUNERE)- BOALĂ

- sunt calcule a căror rezultate sunt menite să dea o măsură a frecvenței bolii în funcție de existența altor factori care ar putea influența într-un anumit fel incidența bolii în sânul populației studiate

Extrem de importante în calculul acestor indicatori sunt așa numitele **tabele de contingență 2x2** (sau simplu tabele 2x2).

Acestea sunt folosite pentru:

- a ilustra frecvența bolii, respectiv a expunerii
- calculul asocierii dintre expunerea la factorul (de risc) studiat și boală

Pentru a putea fi folosite în determinarea unor indicatori epidemiologici tabelele de contingență de tip 2x2 trebuie să grupeze corect indivizii din populația studiată, ținând cont de expunere (liniile tabelului), respectiv de starea de boală (coloanele tabelului), cum se poate vedea în exemplul ce urmează.

Tabel VII. Tabel de contingență de tip 2x2

		<b>Boală</b>		<b>Total</b>
		<b>Da</b>	<b>Nu</b>	
<b>Expunere</b>	<b>Da</b>	<b><i>a</i></b>	<b><i>b</i></b>	<b><i>a + b</i></b>
	<b>Nu</b>	<b><i>c</i></b>	<b><i>d</i></b>	<b><i>c + d</i></b>
<b>Total</b>		<b><i>a + c</i></b>	<b><i>b + d</i></b>	<b><i>a + b + c + d</i></b>

unde:

**a** = numărul indivizilor din cadrul populației studiate **expuși** (care au suferit o expunere la factorul de risc studiat) și în același timp **bolnavi** (evident, cei suferinzi din cauza bolii studiate)

**b** = numărul indivizilor din cadrul populației studiate **expuși** dar **sănătoși**

**c** = numărul indivizilor **neexpuși** (care nu au suferit o expunere la factorul de risc studiat) și în același timp **bolnavi**

**d** = numărul indivizilor **neexpuși** și **sănătoși**

\*\*\*\*\*

**a + b** = **numărul total al indivizilor** (bolnavi + sănătoși) din cadrul populației studiate **expuși** la factorul de risc

**c + d** = **numărul total indivizilor** (bolnavi + sănătoși) din cadrul populației studiate **neexpuși** la factorul de risc

**a + c** = **numărul total al indivizilor bolnavi** din cadrul populației studiate

**b + d** = **numărul total al indivizilor sănătoși** din cadrul populației studiate

**a + b + c + d** = Mărimea totală a populației studiate (eșantionului), practic suma tuturor celor patru celule ale tabelului

Există 2 indicatori epidemiologici foarte importanți pentru măsurarea unei asocieri expunere (factor de risc)-boală:

- **Riscul relativ** (Relative Risk - RR)
- **Rata de șansă** (Odds Ratio –OR)

Ambii indicatori sunt calculați folosind gruparea datelor în tabele de contingență de tip 2x2.

### **Riscul relativ (Relative Risk - RR)**

- servește la măsurarea magnitudinii asocierii între incidența bolii studiate și factorul de risc cercetat
- reprezintă în fapt un raport dintre rata incidenței persoanelor expuse și rata incidenței în rândul celor neexpuși la factorul de risc
- folositor în cercetările legate de etiologia unor boli
- sinonime: Rata de risc (Risk ratio)

#### **Formula de calcul:**

$$RR = \frac{\text{Incidența bolii în rândul subiecților expuși la factorul de risc}}{\text{Incidența bolii în rândul subiecților neexpuși la factorul de risc}}$$

sau ținând cont de modul de grupare a datelor într-un tabel de contingență de tip 2x2:

$$RR = \frac{a/(a + b)}{c/(c + d)}$$

#### **Interpretarea valorilor riscului relativ:**

- Riscul relativ poate avea, teoretic vorbind, valori între 0 și infinit
- RR = 1 : Nu există nici un fel de asociere între expunere (factorul de risc) și boală; practic incidența (rata incidenței) este identică între cele două grupuri (expuși, respectiv neexpuși la factorul de risc)
- RR > 1 = Există o asociere pozitivă între expunere (factorul de risc) și boală
- RR < 1 = Există o asociere negativă între expunere (factorul de risc) și boală sau, în unele cazuri putem spune că expunerea la factorul respectiv are chiar un “efect protector” față de boală

#### **Rata de șansă (Odds Ratio –OR)**

- **Singura modalitate de măsurarea a asocierii expunere (factor de risc)-boală disponibilă în cazul studiilor de tip Case-Control**

Dă o măsură a riscului relativ (are valori apropiate de acesta) când:

- valoarea incidenței este mică (< 5 % din populația totală) și
- grupul de control (martor) este reprezentativ pentru întreaga populație (inclusiv din punctul de vedere al expunerii la factorul de risc)

Trebuie definită în doi pași:

- **Șansă (ODDS)** – Raportul dintre probabilitatea ca un eveniment să se întâmple și probabilitatea ca respectivul eveniment să nu aibă loc

- **Rata de șansă** (Odds Ratio –OR) – Raportul dintre rata (șansa) expunerii în rândul celor bolnavi și rata (șansa) expunerii în rândul celor sănătoși

**Formula de calcul:**

- ținând cont de modul de grupare a datelor într-un tabel de contingență de tip 2x2, formula de calcul este:

$$OR = \frac{a/c}{b/d} = \frac{a * d}{b * c}$$

**Interpretarea valorilor ratei de șansă (OR):**

- Rata de șansă (OR) poate avea, teoretic vorbind, valori între 0 și infinit

**OR = 1** : Nu există nici un fel de asociere între expunere (factorul de risc) și boală;

**OR > 1** : Expunerea reprezintă un factor de risc în cazul bolii respective (crește riscul apariției bolii)

**OR < 1** : Expunerea reprezintă un factor „protector” în cazul bolii respective (scade riscul apariției bolii)

**Interpretarea rezultatelor analizei statistice. Interpretarea valorii lui RR (OR) și P în cazul studiilor ce utilizează tabele de contingență de tip 2x2**

Interpretarea existenței unei asocieri între factorul de risc și apariția bolii, în cazul unui studiu retrospectiv de tip cohortă, necesită o analiză atentă, ținând cont de următorii indicatori (13, 145) :

1. **valoarea lui P (cel mai important parametru)**
2. **valoarea minimă și maximă** a intervalului de încredere, calculat pentru o probabilitate de 95 % (CI 95 %)
3. **valoarea ratei de șansă (Odds ratio-OR)**

Într-un astfel de studiu ne interesează atât valoarea lui P (cel mai important parametru cât și intervalul de încredere pentru un anumită rată de șansă (OR) sau risc relativ (RR).

**Valoarea lui P ne răspunde la următoarea întrebare:** Dacă, de exemplu, nu există nici o asociere între variabilele care definesc coloanele și variabilele care definesc liniile unui tabel de contingență (practic în cazul studiului nostru între expunere și boală), care este șansa (probabilitatea) ca luând la întâmplare indivizi (așa numita *eșantionare aleatorie - random sampling*) dintr-o populație să descoperim o asociere (mai) semnificativă decât cea din studiul în cauză (145)? Cu alte cuvinte,



dacă într-adevăr nu există deloc nici o asociație între linii și coloane care este probabilitatea ca o eșantionare aleatorie să ducă la obținerea unei valori a OR (foarte) diferită de 1,0 precum și diferită de cea obținută în studiul în cauză ?

Pentru a explica mai bine cele afirmate mai sus, să luăm un exemplu:

Să presupunem că pentru studiul nostru asupra influenței radiațiilor ionizante asupra incidenței leucemiilor acute (LA) am obținut o valoare a **OR = 0,923** și o valoare a lui **P = 0,991**. Conform celor afirmate mai sus, aceasta valoare a lui P ne spune că printr-o eșantionare aleatorie, la modul teoretic, avem **99,1 %** șanse de a obține un OR diferit atât de valoarea obținută (0,923) de noi cât și de 1,0. De aceea putem afirma că ceea ce am obținut noi în studiu este *statistic nesemnificativ* dacă  $P = 0,991$ . Invers, dacă din analiza statistică ar rezulta o valoare a **OR = 4,204** și o valoare a lui **P < 0,0001**, aceasta ar însemna că avem mai puțin de 0,0001 % șanse de a obține, prin eșantionare aleatorie (alegând deci la întâmplare subiecți) un OR mult diferit atât de valoarea obținută (4,204) de noi cât și de 1,0. De aceea putem afirma că ceea ce am obținut noi în studiu este *statistic semnificativ* dacă **P < 0,0001**.

Din nefericire, termenul "*semnificativ statistic*" nu este de multe ori același lucru cu "*important din punct de vedere științific*".

Înainte de a interpreta din punct de vedere științific o anumită valoare a lui P sau un anumit interval de încredere trebuie să ne gândim atent la ordinul de mărime a ratei de risc (RR) sau ratei de șansă (OR). Cât de mare trebuie să fie această valoare a lui OR pentru a o considera importantă din punct de vedere științific (chiar dacă am obținut un rezultat considerat statistic semnificativ)? Cât de mică trebuie să fie acea valoare pentru a o putea considera "normală" și a putea trage concluzia că expunerea studiată nu poate fi considerată factor de risc în boala respectivă ?

Modul în care interpretăm rezultatele unui studiu depinde foarte mult de valoarea lui P: mică (**P < 0,05**) sau mare (**P > 0,05**).

**A. Dacă valoarea lui P este mică (P < 0,05) = rezultat semnificativ statistic:**

În acest caz este improbabil că asocierea expunere-boală observată să fie întâmplătoare. Putem deci respinge ideea că asocierea este o coincidență datorată eșantionării și putem concluziona că populația studiată are un RR sau OR diferit de 1,0. Asocierea este deci statistic semnificativă (dacă **P < 0,05**). Dar este acest rezultat important și din punct de vedere științific?

**Intervalul de încredere (CI 95 %) este cel care ne poate da un răspuns.**

Orice analiză statistică include întotdeauna, în proporție mai mică sau mai mare, o serie de erori datorate eșantionării (așa numitele effects of random sampling), astfel că valoarea RR sau OR calculată din datele studiului probabil nu este identică cu valoarea “adevărată” a RR sau OR. Dar, din nefericire, nu există posibilitatea determinării exacte a acestei valori “adevărate”. În schimb analiza statistică ne dă o măsură a acestei valori prin intermediul intervalului de încredere la 95 %. *Practic putem fi 95 % siguri că acest interval conține valoarea “adevărată” a RR sau OR.*

Pentru a putea interpreta rezultatele analizei statistice într-un context științific pertinent, trebuie să privim la ambele capete ale intervalului de încredere și să ne întrebăm dacă acestea reprezintă valori ce au importanță din punct de vedere științific sau sunt valori obișnuite, comune, fără importanță științifică.

Tabelul VIII sistematizează variantele posibile:

*Tabel VIII. Interpretarea rezultatelor analizei statistice*

<b>Valoarea minimă a CI 95 %</b>	<b>Valoarea maximă CI 95 %</b>	<b>Interpretare</b>
Comună (relativ apropiată de 1)	Comună (relativ apropiată de 1)	Chiar dacă RR sau OR nu este 1,0 , asocierea expunere-boală este mică și relativ <b>lipsită de interes științific</b> , chiar dacă este <b>statistic semnificativă</b>
Comună (relativ apropiată de 1)	Importantă (mult mai mare decât 1)	Deoarece CI 95 % variază între o valoare a OR comună din punct de vedere biologic (științific) și o valoare semnificativă, nu putem trage o concluzie certă cu privire la importanța științifică a rezultatului. <i>La modul ideal, o nouă serie de date ar trebui analizate pentru a putea avea o concluzie certă, atât din punct de vedere statistic cât și științific.</i>
Importantă (mult mai mică decât 1)	Comună (relativ apropiată de 1)	Deoarece CI 95 % variază între o valoare semnificativă și o valoare a OR comună din punct de vedere biologic (științific), nu putem trage o concluzie certă cu privire la importanța științifică a rezultatului. Apare o <b>problemă legată însă de designul studiului nostru</b> , expunerea pare să influențeze în sens negativ incidența bolii, putând fi considerată chiar ca un “factor de protecție” (13). <i>O nouă serie de date ar trebui analizate pentru a putea avea o concluzie certă, atât din punct</i>

		<i>de vedere statistic cât și științific, iar dacă rezultatele sunt similare trebuie verificat modul în care am conceput designul studiului și gruparea datelor în tabelele de contingență.</i>
Importantă	Importantă	De vreme ce până și valoarea minimă a CI 95% reprezintă o asociere expunere-boală suficient de mare pentru a fi considerată biologic importantă, se poate trage concluzia indubitabilă că <b>există o asociere expunere-boală semnificativă</b> atât din punct de vedere <b>statistic, cât și științific.</b>

**B. Dacă valoare lui P este mare ( $P > 0,05$ ) = rezultat ne semnificativ statistic:**

Dacă valoarea lui P este mare, nu avem nici un motiv plauzibil să concluzionăm că RR sau OR diferă de 1,0. Aceasta **nu înseamnă însă că putem spune că RR sau OR sunt egale cu 1,0. Pur și simplu nu avem dovezi consistente că valorile RR sau OR diferă de 1,0.**

Care este oare valoarea “adevărată” a riscului relativ sau a ratei de șansă ?

Cum datele noastre includ o serie de erori datorate eșantionării (effects of random sampling) valoarea RR sau OR calculată din datele studiului probabil nu este identică cu valoarea “adevărată” a RR sau OR. Neexistând posibilitatea determinării exacte a acestei valori “adevărate”, analiza statistică ne dă o măsură a acestei valori prin intermediul intervalului de încredere la 95 %. Practic putem fi 95 % siguri că acest interval conține valoarea “adevărată” a RR sau OR.

Când însă  $P > 0,05$ , **intervalul de încredere este mult lărgit**: el include așa numita ipoteză de nul (null hypothesis – OR sau RR = 1,0) și se întinde pe o gamă de valori care ar putea sugera **de la existența unei asocieri negative** expunere-boală (valoarea minimă a CI 95 % este RR <1,0 sau OR <1,0) până la **existența unei asocieri pozitive** expunere-boală (valoarea maximă a CI 95 % este RR >1,0 sau OR >1,0)

Pentru a putea interpreta rezultatele analizei statistice într-un context științific pertinent, trebuie să privim la ambele capete ale intervalului de încredere, situațiile ce pot fi întâlnite fiind prezentate schematic în tabelul IX:

Tabel IX. Interpretarea rezultatelor analizei statistice

Valoarea minimă a CI 95 %	Valoarea maximă CI 95 %	Interpretare
Comună (relativ apropiată de 1)	Comună (relativ apropiată de 1)	<b>Nu există o asociere semnificativă statistic între expunere-boală.</b> Cu alte cuvinte nu există o nici asociere între liniile și coloanele tabelului de contingență sau dacă există ea este cu certitudine foarte mică și lipsită de interes. Un rezultat ce poate fi considerat semnificativ și din punct de vedere științific.
Comună (relativ apropiată de 1)	Diferită de 1 (mai mare decât 1)	<b>Nu se poate trage o concluzie foarte clară.</b> Deși analiza statistică <b>demonstrează inexistența unei asocieri statistice semnificative</b> , expunerea la factorul de risc duce la apariția unui interval de încredere ce se întinde de la o valoare minimă specifică unei slabe asocieri negative expunere-boală, până la o valoare maximă specifică unei asocieri pozitive puternice expunere-boală; <b>Cât de apropiată de 0,05 este valoarea lui P ?</b> <i>Pentru a putea trage concluzii clare este necesară repetarea experimentului folosind mai mulți subiecți.</i>
Diferită de 1 (mai mică decât 1)	Comună (relativ apropiată de 1)	<b>Nu se poate trage o concluzie foarte clară.</b> Deși analiza statistică <b>demonstrează inexistența unei asocieri statistice semnificative</b> , expunerea la factorul de risc duce la apariția unui interval de încredere ce se întinde de la o valoare minimă specifică unei puternice asocieri negative expunere-boală, până la o valoare maximă specifică unei slabe asocieri pozitive expunere-boală; <b>Cât de apropiată de 0,05 este valoarea lui P?</b> <b>Dacă P are o valoare relativ apropiată de 0,05 – atenție la designul studiului !</b> <i>Pentru a putea trage concluzii clare este necesară repetarea experimentului folosind mai mulți subiecți.</i>

Modul în care trebuie interpretate rezultatele analizei statistice în cazul studiilor ce utilizează tabele de contingență de tip 2x2 este cel de mai sus, clar prezentat într-un număr mare de surse bibliografice (13, 145, 241, 242) din care aș

dori să menționez, pentru relevanța și claritatea expunerii, cartea - **The InStat Guide to Choosing and Interpreting Statistical Tests**, © 1990-1998, GraphPad Software (145):

– **valoarea lui P** ca prim parametru, din care rezultă **semnificația statistică** a analizei

– **valorile CI 95 %** pentru **explicitarea sensului și magnitudinii asocierii**, din care rezultă **semnificația științifică a analizei**

Cu toate acestea, o serie de articole apărute în ultimii ani în prestigioase reviste internaționale (**7, 93, 153**) pe teme similare prezentului studiu, prezintă valorile OR sau RR fără a preciza valoarea lui P, ci numai intervalul de încredere la 95 % (CI 95 %).

Această situație m-a pus într-o dilemă importantă, având de ales între două opțiuni:

- interpretarea rezultatelor analizei statistice după cele mai stricte reguli, conform lucrării **The InStat Guide to Choosing and Interpreting Statistical Tests** și celorlalte surse bibliografice, *ceea ce ar fi pus o umbră de îndoială asupra comparației dintre rezultatele studiile anterior menționate și rezultatele acestei cercetări.*

- interpretarea rezultatelor analizei statistice conform articolelor ce prezintă studii similare celui efectuat de mine (OR sau RR, CI fără prezentare valorii lui P), *ceea ce ar fi pus o umbră de îndoială asupra semnificației statistice reale a rezultatelor obținute de mine.*

Din fericire, sper că am reușit să găesc o cale de mijloc, dată fiind și o particularitatea a studiului meu, care a necesitat împărțirea datelor primare pe intervale de studiu (6 intervale, unul ca **martor**, caracterizat prin **lipsa expunerii - 1983-1985**, respectiv 5 **intervale post-expunere** 1986-1988, 1989-1991, 1992-1994, 1995-1997, 1997-2000).

Evident, este puțin probabil (dar nu imposibil) ca o asociere expunere-boală observată să fie statistic semnificativă **simultan** pe toate aceste intervale și în același timp cu valori minime și maxime ale CI mai mari decât 1,0 (dacă ar exista o astfel de situație am putea spune că există o asociere expunere-boală **semnificativă** atât din punct de vedere **statistic** cât și **biologic** sau **științific**).

De aceea am luat în considerare din punct de vedere al concluziilor certe doar valorile cu  $P < 0,05$ , dar am realizat și o cuantificare a situațiilor în care valoarea lui  $P$  este apropiată de 0,05.

Aceasta deoarece pot fi întâlnite patru situații distincte:

**I. În cazul existenței unei asocieri semnificative statistic ( $P < 0,05$ ):**

**Cazul 1:**

- valoarea OR (RR)  $> 1$
- valoarea minimă a CI 95 %  $> 1$ ; valoarea maximă a CI 95 %  $> 1$  (de obicei mult mai mare decât 1)
- evident,  $P < 0,05$
- **Interpretare:** În acest caz putem spune că există o asocieră **POZITIVĂ, SEMNIFICATIVĂ STATISTIC**, între factorul de risc și boala studiată.

**Cazul 2:**

- valoarea OR (RR)  $< 1$
- valoarea minimă a CI 95 %  $< 1$  (de obicei mult mai mic decât 1); valoarea maximă a CI 95 %  $< 1$
- $P < 0,05$

**Interpretare:** În acest caz putem spune că există o asocieră **NEGATIVĂ, SEMNIFICATIVĂ STATISTIC**, între factorul de risc și boala studiată. Cu alte cuvinte, în funcție de expunerea studiată, unele surse bibliografice susțin că, în acest caz, putem afirma că expunerea nu numai că nu influențează apariția bolii, ci are chiar o acțiune “protectoare”. (13)

**II. În cazul inexistenței unei asocieri semnificative statistic ( $P > 0,05$ ):**

**Cazul 3:**

- $P > 0,05$ , dar valoarea lui  $P$  este mică (în aceasta lucrare am considerat acest caz pentru  $P < 0,1$ )
- valoarea OR (RR)  $> 1$

- valoarea minimă a CI 95 % < 1; valoarea maximă a CI 95 % > 1

**Interpretare:** În acest caz putem spune că **poate fi observată o asociere POZITIVĂ, NESEMNIFICATIVĂ STATISTIC**, între factorul de risc și boala studiată.

**Cazul 4:**

- **P > 0,05**, dar valoarea lui P este mică (în aceasta lucrare am considerat acest caz pentru **P < 0,1**)
- **valoarea OR (RR) < 1**
- **valoarea minimă a CI 95 % < 1; valoarea maximă a CI 95 % > 1 (de obicei apropiată de 1)**

**Interpretare:** În acest caz putem spune că **poate fi observată o asociere NEGATIVĂ, NESEMNIFICATIVĂ STATISTIC**, între factorul de risc și boala studiată.

Există și o a cincea situație, cea în care **OR (RR)  $\cong$  1**, ceea ce înseamnă între factorul de risc (expunere) și boală **nu poate fi făcută nici un fel de asociere**, factorul de risc (expunerea) nu are nici un fel de influență în cazul studiat (în această lucrare am considerat ca validă o astfel de situație pentru  $0,95 < OR < 1,05$ ).

Practic, după cum se poate vedea, valoarea OR, respectiv CI 95 %, ne furnizează informații despre **sensul influenței factorului de risc (expunerii) asupra bolii** (în mod evident o valoare a OR egală cu 1, însemnând faptul că factorul respectiv nu influențează în nici un fel boala), în timp ce **valoarea lui P** ne dă informații despre **semnificația statistică** a acestei influențe (**P < 0,05 – asocierea descoperită este semnificativă statistic**).

Cele prezentate mai sus sunt sistematizate în tabelul X:

*Tabel X. Interpretarea rezultatelor statistice privind asocierea factor de risc-boală*

<b>ASOCIERE factor de risc - boală STATISTIC SEMNIFICATIVĂ</b>				
OR (RR)	Val. minimă CI 95 %	Val. maximă CI 95 %	P	Interpretare
> 1	> 1	>> 1	< 0,05	Există o asociere <b>POZITIVĂ, SEMNIFICATIVĂ STATISTIC</b> între factorul de risc și boala studiată
<b>Asociere pozitivă</b>			<b>Statistic semnificativ</b>	
OR (RR)	Val. minimă CI 95 %	Val. maximă CI 95 %	P	Interpretare
< 1	<<1	< 1	< 0,05	Există o asociere <b>NEGATIVĂ, SEMNIFICATIVĂ STATISTIC</b> între factorul de risc și boala studiată
<b>Asociere negativă</b>			<b>Statistic semnificativ</b>	
<b>ASOCIERE factor de risc - boală STATISTIC NESEMNIFICATIVĂ</b>				
OR (RR)	Val. minimă CI 95 %	Val. maximă CI 95 %	P	Interpretare
> 1	< 1	> 1	> 0,05	Poate fi observată o asociere <b>POZITIVĂ, NESEMNIFICATIVĂ STATISTIC</b> între factorul de risc și boala studiată
<b>Asociere pozitivă</b>			<b>Statistic ne semnificativ</b>	
OR (RR)	Val. minimă CI 95 %	Val. maximă CI 95 %	P	Interpretare
< 1	< 1	> 1	> 0,05	Poate fi observată o asociere <b>NEGATIVĂ, NESEMNIFICATIVĂ STATISTIC</b> , între factorul de risc și boala studiată
<b>Asociere negativă</b>			<b>Statistic ne semnificativ</b>	
<b>OR (RR) <math>\cong</math> 1</b> : între factorul de risc (expunere) și boală nu poate fi făcută nici un fel de asociere(în cazul studiului nostru am considerat această situație pentru $0,950 < OR (RR) < 1,050$ )				

### Riscul atribuit (RA)

- numărul de cazuri din populația expusă ce ar putea fi „eliminate” dacă expunerea (la factorul de risc) ar putea fi îndepărtată. (239)

### Formula de calcul

$$RA = \text{Incidența în rândul populației expuse} - \text{Incidența în rândul populației neexpuse (la factorul de risc)}$$



## TIPURI DE STUDII EPIDEMIOLOGICE

Este cunoscut faptul că deosebim 2 tipuri mari de studii epidemiologice (239)

### I. **Descriptive** (persoane, locuri și timp)

- » Servesc la **generarea** de ipoteze de lucru

### II. **Analitice** (cauzale)

- » Servesc la **testarea** ipotezelor de lucru

## I. STUDII DESCRIPTIVE

### **CARACTERISTICI GENERALE:**

- **Sunt, în general, studii de tip corelational**
  - » Examinează caracteristici ale întregii populații
    - Exemple: Studierea unor relații între vânzările de țigări pe teritoriul unei țări și mortalitatea datorată BPOC în acea țară
  - » Reprezintă *primul pas* în studierea unei *relații de tip factor de risc-boală*
  - » **Avantaje**
    - Metodă rapidă și ieftină, poate fi utilizată ca un prim pas în efectuarea unui studiu mai complex
  - » **Limitări**
    - **Nu poate furniza informații certe cu privire la existența sau nonexistența unor relații de tip cauză-efect**
    - **Nu poate oferi cercetătorului o modalitate de control detaliat al potențialelor surse de eroare**

### **SUBTIPURI ALE STUDIILOR DESCRIPTIVE:**

#### **A. Descriere de caz sau serii de cazuri (Case Reports and Case Series)**

- » Descriu patologia unui singur bolnav sau a unui grup de bolnavi
- » Cea mai utilizată formă de studiu publicată în revistele medicale
- » **Avantaje**
  - Poate duce la formularea de noi ipoteze de lucru
  - Constituie un element major de legătură între medicina clinică și epidemiologie

» **Limitări**

- **Nu poate fi folosit pentru verificarea unor ipoteze de lucru**

**B. Studiu descriptiv de tip urmărire a prevalenței (Cross-Sectional or prevalence Survey)**

- » Expunerea la factorii de risc și starea de boală sunt simultan cuantificate în cadrul unei populații

- » Furnizează informații legate de frecvența și caracteristicile unei anumite boli

» **Avantaje**

- Foarte folositor în domeniul sănătății publice
- Poate furniza informații utile legate de prevalența (incidența) unei boli în anumite grupuri de populație (expuse la anumiți factori de risc specifici profesiei de exemplu)

» **Limitări**

- **De cele mai multe ori nu poate să dea informații legate de faptul dacă expunerea la factorii de risc a precedat boala sau a apărut în timpul ei**
- **Datorită folosirii prevalenței ca indicator, nu se face o deosebire între cazurile noi și cele deja existente la momentul începerii studiului**
- **Nu poate fi utilizat pentru studierea factorilor etiologici (13)**

**C. Studiu descriptiv de tip ecologic**

- » Studii care în care unitățile de analiza sunt mai degrabă populații întregi sau grupe de populații decât subiecți individuali (cazuri)

» **Avantaje**

- Este extrem de util în generarea de ipoteze de lucru

» **Limitări**

- **Fiecare individ aparținând unei populații este caracterizat de media calculată pentru întreaga populație studiată**
- **Pot apărea erori datorate faptului că o asociere observată la nivelul întregii populații studiate nu reprezintă în mod obligatoriu asocierea existentă la nivel individual**

- **Aceste două limitări pot determina apariția unor erori ce constituie așa numitul “Ecologic Fallacy”**

**ASPECTE CE TREBUIE LUATE ÎN CONSIDERARE ÎN CAZUL EMITERII DE IPOTEZE ȘI A STABILIRII UNUI ANUMIT DESIGN PENTRU STUDIU:**

- » **Ce boală va fi studiată și cum?**
  - **Bine fundamentată teoretic:** boală, respectiv studiu bine fundamentat teoretic, pe bază unor surse bibliografice numeroase
  - **Studiată empiric,** pe baza criteriilor de diagnostic
- » **Ce tip de expunere va fi studiată ?**
  - **Bine fundamentată teoretic:** există numeroase surse bibliografice și studii similare
  - **Studiată empiric,** pe baza criteriilor și metodelor de examinare alese de către cercetător
- » **Care este timpul de inducție ?** (Cu alte cuvinte care este intervalul mediu de timp dintre expunerea la factorul de risc și efect – apariția bolii ?)
- » **Ce alți factori pot influența această asociere ?**
  - **Factori bine studiați (fundamentați teoretic)**
  - **Empiric,** pe baza criteriilor și metodelor de examinare alese de către cercetător

## **II. STUDII ANALITICE**

### ***CARACTERISTICI GENERALE:***

- **Permit efectuarea unei comparații explicite între expunere (la factorii de risc) și boală**
- **Utilizează gruparea populației studiate în tabele de contingență realizate în așa fel încât să se poată observa clar (și determina statistic mai apoi) dacă riscul este diferit între populația expusă și cea neexpusă**
- **Sunt singurele studii ce pot fi utilizate pentru TESTAREA DE IPOTEZE**

## **SUBTIPURI ALE STUDIILOR ANALITICE:**

### **Studiilor analitice sunt grupate în două subtipuri mari:**

- Studii analitice de tip **observațional** – urmează cursul natural al evenimentelor
- Studii analitice de tip **intervențional** – cercetătorul determină expunerea (de exemplu un anumit tratament) și urmărește subiecții (de exemplu așa numitele studii clinice - clinical trials)

În ceea ce urmează mă voi referi numai la prima categorie, studii analitice de tip **observațional**, *acesta fiind tipul de studii folosit de mine în cadrul acestei lucrări.*

## **STUDII ANALITICE OBSERVAȚIONALE – SUBTIPURI:**

### **A. Studii de tip Case-Control (Case-Control studies)**

- » Gruparea în tabele de contingență se face în funcție de prezența sau absența bolii:
  - Persoane care prezintă boala
  - Grup de comparație
- » Practic un astfel de studiu compară expunerea în rândul persoanelor bolnave (grup - cazuri) cu expunerea în rândul persoanelor sănătoase (grup - control)

Este studiul epidemiologic cel mai des utilizat, în ciuda potențialelor erori, ce pot apărea relativ frecvent fără o grupare atentă în tabele de contingență potrivite scopului propus (13)

#### **Avantaje:**

- » Tipul de studiu cel mai potrivit în cercetări legate de boli cu perioada lungă de incubare
- » Eficient din punct de vedere al timpului necesar și al costurilor aferente
- » Potrivit pentru studiul unor boli rare

Poate fi utilizat pentru studierea simultană a mai multor factori de risc, în cadrul aceleași boli

#### **Dezavantaje:**

- » Lipsit de eficiență în cazul studierii unor expuneri la factori de risc rar întâlniți (cum ar fi studierea efectelor unor accidente industriale)
- » Nu permite calculul direct al ratei de incidență a bolii

- » Uneori poate fi extrem de grea stabilirea unor relații temporale între expunere și apariția bolii

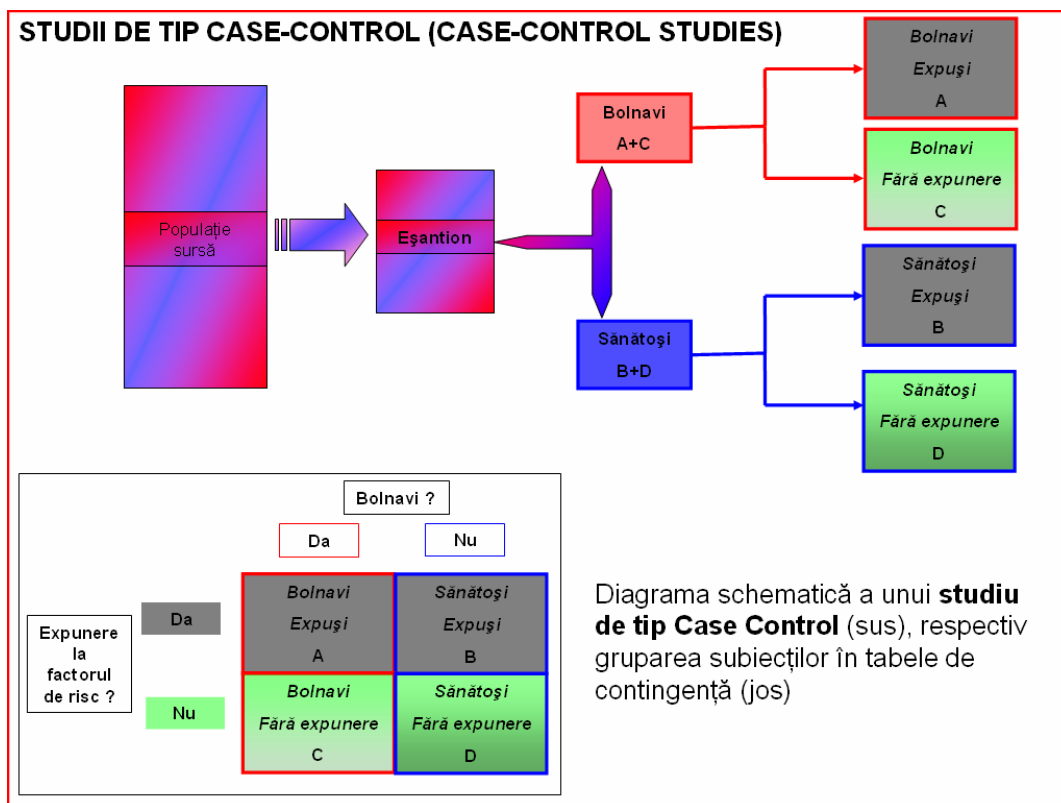


Fig.4 Diagrama schematică a unui studiu de tip Case-Control

**Exemplu:** - Studiul asocierii dintre apariția limfoamelor nonhodgkin și infecția cu virusul Epstein-Bar sau cu Helicobacter pylori (factori biologici de risc studiați și în cadrul acestei lucrări)

#### ASPECTE CE TREBUIE LUATE ÎN CONSIDERARE ÎN CAZUL UNUI STUDIUL DE TIP CASE-CONTROL:

- **definirea și selecția cazurilor**
- **selecția cazurilor pe baza incidenței sau a prevalenței** (cu alte cuvinte cazurile studiate erau diagnosticate înainte de începerea studiului sau sunt cazuri noi diagnosticate recent sau chiar la momentul studiului)
- **validitatea studiu versus generalizarea studiului** (Poate fi studiul considerat valid? – *probleme legate de designul studiului*; Pot fi concluziile lui extinse la totalul populației? – *există alte studii similare ce au ajuns la concluzii asemănătoare?*)

- **sursa loturilor control:** clinici, eșantioane din populație în general, serii speciale de loturi martor etc.

- **raportul cazuri/control** (martor)

- **felul cum se face constatarea stării de boală, respectiv a expunerii la factorul de risc**

### **B. Studii de tip cohortă (Cohort studies)**

- » Subiecții studiului sunt clasificați pe baza expunerii la un anumit factor de risc
- » Populația este urmărită pentru a determina prezența (apariția) bolii în cadrul acesteia ;
- » În funcție de modul de urmărire a prezenței bolii în cadrul populației deosebit:
  - Studii de tip cohortă **prospective**, respectiv **retrospective**
  - **Studiul de tip prospectiv** are ca punct de pornire timpul prezent, cercetătorul investigând populația (eșantionul) prospectiv (în viitor); **avantajul** major al unui astfel de studiu constă în faptul că cercetătorul poate colecta orice informație crede el de cuviință că are fi utilă.
  - În cazul studiului retrospectiv, cercetătorul **identifică** eșantionul (populația studiată – cohorta) și **studiază** acea populație de-a lungul unui anumit interval de timp **precedent** momentului în care a decis să înceapă studiul; **dezavantajul** unei astfel de abordări constă în faptul că cercetătorul are la dispoziție doar informații colectate în trecut, fără a mai putea avea acces la eventuale informații utile, dacă acestea nu au fost deja colectate și arhivate în vreun fel.

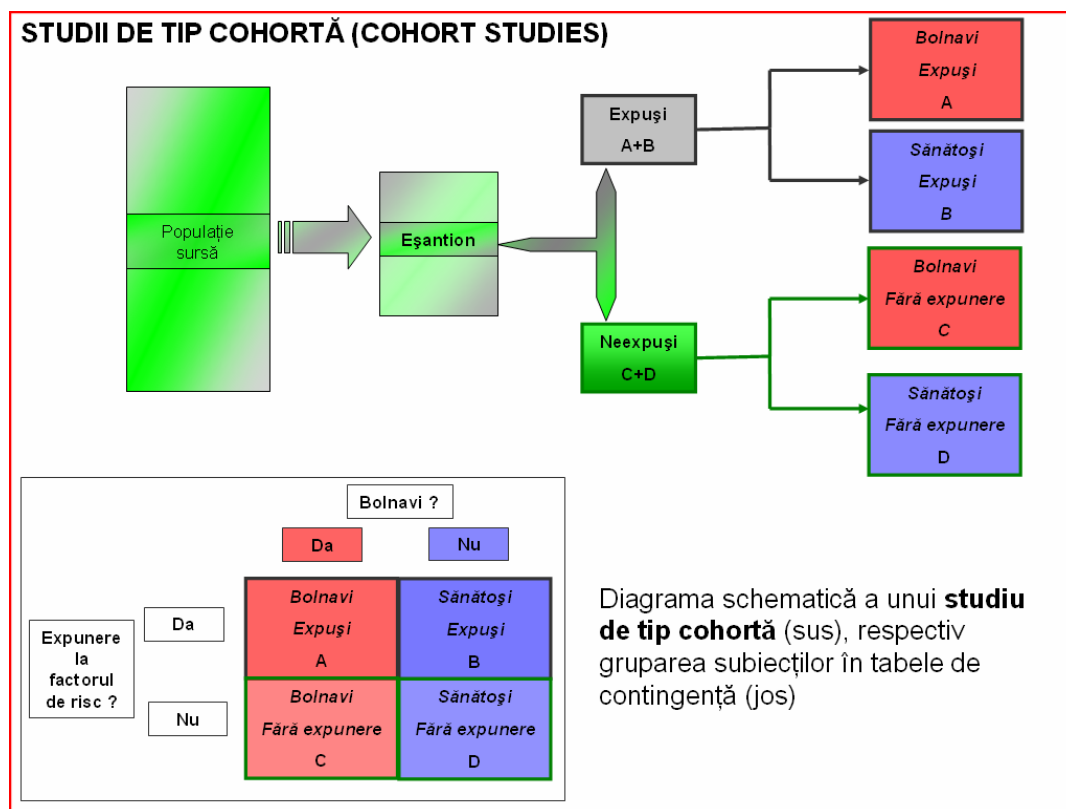


Fig.5 Diagrama schematică a unui studiu de tip Cohortă

**Avantaje:**

- » Astfel de studii pot măsura incidența bolii și deci și cuantifica riscul
- » Expunerea precede apariția bolii
- » Poate servi la studiul unei mari categorii de boli
- » Este foarte eficient în cazul unor **expuneri la factori de risc rar întâlniți**, cum este cazul expunerilor datorate unor **accidente industriale**, aceasta deoarece *investigatorul poate să aleagă eșantionul avînd ca principal criteriu expunerea la factorul de risc*

**Dezavantaje:**

- » Necesită un număr mare mare de subiecți
- » Relativ lipsit de eficiență în cazul unor boli rare
- » Perioadă lungă de urmărire a subiecților studiului
- » Subiecții pot suferi schimbări în starea de sănătate de-a lungul perioadei de studiu, fără ca investigatorul să aibă cunoștința de acest lucru
- » Necesită, în general, costuri mari pentru realizare

**Exemplu:-** Expuneri neobișnuite (accidente industriale), cum este și cazul accidentului nuclear de la Cernobîl (1986), **care ne-a permis efectuarea, în cadrul acestei lucrări, a unui studiu retrospectiv de tip cohortă** în scopul *studierii rolului radiațiilor ionizante ca factor de risc în apariția unor leucemii și limfoame*

### **ASPECTE CE TREBUIE LUATE ÎN CONSIDERARE ÎN CAZUL UNUI STUDIU DE TIP COHORTĂ:**

- **modul de selecție (grupare) a populației expuse**
- **modul de selecție (grupare) a populației neexpuse** (grup de comparație sau martor)
- **datele legate de sursa de expunere la factorul de risc**
- **datele legate de variabilele de ieșire** (apariția bolii, indicatorii folosiți, eventualele surse de eroare)

### **SELECȚIA UNUI ANUMIT TIP DE STUDIU (STUDY DESIGN)**

Trebuie să țină cont de următorii factori și criterii:

#### **❖ Criteriul gradului de cunoaștere științifică a fenomenului studiat (bolii)**

- » Studiu ce **aduce informații noi** sau studiază o **boală nouă** (vezi Severe Acute Respiratory Syndrome – SARS)
- » Studiu ce **adaugă** informații relevante despre o boală
- » Studiu ce **confirmă** informații deja existente despre o boală

#### **❖ Criteriul ipotezei de lucru**

- » Studiu ce servește la **generarea** de ipoteze
- » Studiu ce servește la **testarea** unor ipoteze de lucru

#### **❖ Criteriul epidemiologic / statistic**

- » Studiu ce servește la verificarea unor ipoteze privitoare la **boală** (boala – subiect principal de studiu)
- » Studiu ce servește la verificarea unor ipoteze privitoare la **expunere** (expunerea la factorul de risc- subiect principal de studiu)



»Mărimea eșantionului și reprezentativitatea lui

❖ **Criteriul resurselor disponibile (de obicei factorul limitant)**

»Costuri

»Timp

## ASOCIERE VERSUS CAUZALITATE

*"The presence of an association ... in no way implies that the observed relationship is one of cause and effect." (Hennekens and Buring)*

Principala idee care trebuie să răzbată în urma unei analize statistice efectuate în cadrul unui studiu epidemiologic, este faptul că *asocierea expunere (factor de risc)-boală* se referă strict la **existența unei dependențe statistice între două variabile**.

Pentru a putea considera, eventual, această **asociere** ca o **relație cauză-efect**, există o serie de criterii de interpretare a unui studiu epidemiologic a căror parcurgere este o condiție sine qua non.

Aceste criterii minimale sunt prezentate în cele ce urmează:

- **Există o asociere expunere (factor de risc)-boală, validă din punct de vedere statistic?**

**DACĂ DA ...**

- *Se poate datora această asociere șansei sau nu...?*

- *Se poate datora această asociere unor erori ale studiului, legate de bias...?*

- *Se poate datora această asociere unor erori ale studiului, legate de anumite confuzii?*

## CRITERII PENTRU STABILIREA UNEI RELAȚII DE TIP CAUZĂ-EFECT

Pentru a răspunde la întrebarea: *Poate fi judecată o asociere statistică ca o relație de tip cauză-efect ?* – trebuie luate în considerare următoarele criterii:

### 1. Magnitudinea asocierii:

- i. Dacă a fost relevată existența unei asocieri statistice semnificative, cât de mare este magnitudinea acesteia ?

**2. Credibilitatea biologică a ipotezei de lucru:**

- i. Există un mecanism deja cunoscut care să explice științific asocierea ?

**3. Consistența rezultatelor studiului vis-à-vis de alte studii similare:**

- i. Există alte studii care să confirme concluziile noastre?

**4. Secvența de timp:**

- i. Pentru cazurile studiate, precede expunerea apariția bolii cu o perioadă de timp consistentă (a se vedea timpul de inducție al bolii) pentru un mecanism biologic credibil?

**5. Relația “doză”- răspuns:**

- i. Putem vorbi de un gradient al riscului ce poate fi relaționat cu nivelul expunerii?

**6. Poate fi considerată asocierea ca fiind specifică?**

- i. Câți factori cauzează boala?
- ii. Câte boli pot fi cauzate de factorul respectiv?