REVISTA CERES

DIRETORES

Prof. Otávio Drummond
Prof. Arlindo P. Gonçalves
Prof. Edson Potsch Magalhães
Prof. A. Secundino São José
Prof. Jurema Soares Aroeira

Julho - Dezembro — 1949

VOL. VIII | N. 45

VIÇOSA — MINAS

Caixa postal, 4 — ESAV — E. F. Leopoldina

Algumas Aplicações dos Métodos Estatísticos na Medicina e Veterinária (*)

J. M. POMPEU MEMORIA (**)

É fora de dúvida que o progresso científico deve-se essencialmente à experimentação. O pesquisador realiza um experimento e obtém uma série de dados, dos quais êle tira certas conclusões. Essas conclusões geralmente vão além do material e operações do experimento particular. Em outras palavras, o experimentador generaliza suas conclusões. Esta espécie de extensão do conhecimento é chamada "inferência indutiva" e constitui o único meio pelo qual se adquiri um novo conhecimento. Mas, é impossível fazer uma generalização perfeitamente válida. Entretanto, o grau de incerteza da generalização pode ser medido rigorosamente, se o experimento for realizado de acôrdo com certos princípios. E' uma das funções da análise estatística fornecer a técnica para fazer a indução e medí-la em termos de incerteza. A incerteza é medida em probabilidades e é por isso que o cálculo das probabilidades é o alicerce teórico dos métodos estatísticos.

Estas considerações definem perfeitamente a posição dos métodos estatísticos nas ciências experimentais, bem como mostram seu vasto campo de aplicações. Com efeito, êste tipo de análise pode ser aplicado a tôdas as espécies

(*) Palestra proferida no Centro de Estudos da Escola Superior de Veterinária, em Belo Horizonte, a 13 de setembro de 1949, e na Reunião da Associação de Ex-Alunos da ESAV, em Viçosa, a 14 de Dezembro de 1949.

(**) Eng. Agrônomo, M. S., Prof. do Depto. de Engenharia Rural da ESAV.

de fenômenos, desde que se apresentem em massa como os de natureza social e econômica, ou que possam ser observados em várias e repetidas ocasiões, fornecendo uma série de dados, como nas ciências experimentais. Todos os dados de experimentação podem ser encarados como amostra de uma população real ou hipotética, finita ou infinita. A palavra população aqui tem um sentido muito amplo, podendo designar qualquer conjunto de objetos, animados ou inanimados, ou resultados de operações. A generalização, seja — o salto indutivo, é para o estatístico, a passagem da amostra à população. E' evidente que a amostra deve ser tirada da população inteira sob estudo. A extensão das conclusões a uma população maior que a estudada destroi a confiança da generalização. Além disso, a amostra deve ser tirada ao acaso, isto é, todos os elementos que a compõem devem ter a mesma "chance" de serem tirados. Sem esta condição não se poderia aplicar a teoria das probabilidades. Convém salientar que o êrro cometido na generalização refere-se apenas ao êrro possível na tomada da amostra. O limite dêste êrro é em parte uma questão do arbítrio do pesquisador, tendo sido consagrados pelo uso os limites de 5% e 1%, sendo usados em alguns casos até 1‰. Cumpre ao experimentador precaver-se contra erros grosseiros e acidentes que possam invalidar seus resultados, pois, não há análise estatística capaz de eliminá-los.

Durante algum tempo a análise estatística ficou restrita em aplicações a dados obtidos em grande quantidade, o que só era pràticamente permitido em demografia, economia e ciências sociais. A razão é que só era conhecida a teoria das grandes amostras, desenvolvida principalmente por Pearson. Reduzida às grandes amostras, a estatística aplicada à biologia restringiu-se à análise de dados biométricos e antropológicos. São conhecidos os trabalhos de Galton, Pearl e do próprio Pearson a êsse respeito. Deve-se principalmente a Fisher a aplicação dos métodos estatísticos às pequenas amostras, o que só começou a ter aceitação geral de 1925 para cá. Os primeiros frutos dêste novo advento foram colhidos no setor da agricultura, na Rothamsted Experimental Station, na Inglaterra. A partir dessa época, os trabalhos de natureza quantitativa em biologia têm se desenvolvido de maneira considerável, principalmente em: agricultura, genética, fisiologia, bacteriologia e imunologia, graças primàriamente aos métodos estatísticos — poderoso instrumento de que dispõem os modernos pesquisadores.

O biologista, o médico e o veterinário, em seus experimentos estão lidando contìnuamente com o problema da flutuação individual. Sendo os organismos vivos afetados de um modo marcante pela multiplicidade de causas, é natural que os métodos estatísticos sejam frequentemente usados na elucidação de problemas médicos, humanos ou veterinários. E' de supor, mesmo, que na veterinária o campo seja ainda mais amplo que na medicina humana. Com efeito, enquanto a experimentação com animais tem um campo ilimitado, a experimentação com entes humanos é altamente restringida, ficando o médico limitado às suas observações ou a dados fornecidos pelos hospitais, a menos que não se importe em terminar seus dias na fôrca ou na cadeira elétrica, seguindo o exemplo de seus colegas da Alemanha nazista. A aplicação dos métodos estatísticos é promissora nao só nas ciências biológicas correlatas com a medicina, como as que acabamos de citar, como também em questões de natureza médica pròpriamente dita, a saber: problemas de etiologia, diagnose, etc., bem como na avaliação de diversos métodos terapêuticos. Seguem alguns exemplos concretos para objetivar o assunto.

English, Willius e Berkson (2) acharam que em homens de 40 a 49 anos de idade, a proporção de fumantes entre os indivíduos com esclerose coronária era significantemente maior que entre aqueles que não tinham a doença; como também que a incidência dêste distúrbio cardíaco em fumantes era maior do que em não fumantes. Além disso, entre os fumantes a incidência da doença aumentava com a intensidade do uso do fumo. Embora isto não implique necessàriamente uma relação causal entre o uso do tabaco e a esclerose coronária, a nicotina pode ter exercido uma influência que afetou o curso e o desenvolvimento da doença. Um outro exemplo interessante é o seguinte: Tinha sido sugerido que ministrando-se ácido ascórbico a uma pessoa, prevenia-se o efeito do envenenamento pelo chumbo. Evans e seus assistentes (2) determinaram a concentração do chumbo no sangue e na urina de um grupo de operários que trabalharam numa fábrica para a manufatura do chumbo tetra-etila, usado em mistura com a gasolina. Estas concentrações foram determinadas durante um ano, e comparadas entre grupos que recebiam 100 mg de ácido ascórbico, por dia, por via oral, com as dos mesmos indivíduos, no ano anterior, sem tratamento, e com as concentrações de um grupo de homens, na mesma época, sem tratamento. As diferenças não foram estatìsticamente significantes e, portanto, não foi encontrada uma razão para ser recomendado o uso do ácido ascórbico para tal fim.

Citaremos agora alguns exemplos de testes estatísticos aplicados a dados de natureza médica, alguns reais e outros hipótéticos. Não entraremos em detalhes da parte técnica dessas análises, que podem ser fàcilmente encontrados na vasta literatura sôbre o assunto. Nossa intenção é apenas salientar o vasto campo de aplicações da análise estatística na medicina e na veterinária. A tabela 1 dá o número de hemátias e a taxa de hemoglobina num grupo de 20 homens e 12 mulheres (3) Haverá correlação entre o número de hemátias e a taxa de hemoglobina? Existirá uma diferença significante no número de hemátias e na taxa de hemoglobina entre os sexos ? A resposta dessas perguntas é fornecida pelos testes estatísticos.

TABELA I

HOMENS		MULHERES	
Hemátias (Milhões por mm³)	Taxa de hemoglobina (Gramas por 100 cm³)	Hemátias Milhões por mm³)	Taxa de hemoglobina (Gramas por 100 cm³)
4,27	14,00	3,89	12,12
4,40	14,41	3,95	12,10
4,52	14,02	3,97	11,90
4,56	14,20	4,15	13,20
4,58	14,50	4,20	13,10
4,64	14,30	4,26	13,50
4,72	14,70	4,31	13,40
4,80	15,10	4,38	14,80
4,84	15,00	4,40	13,50
4,89	15,60	4,45	13,88
4,93	16,20	4,56	14,00
4,97	15,40	4,72	14,60
5,00	16,40		
5,02	15,52		
5,15	16,50		
5,20	15,75		
5,36	16,10		
5,49	16,70		
5,57	17,17		
5,62	16,61		

O coeficiente de correlação na amostra de homens é $r_1 = 0,92$ ** e na de mulheres é $r_2 = 0,75$ **, ambos altamente significantes o que indica uma correlação entre as 2 variáveis. Os valores de r_1 e r_2 não apresentam uma diferença estatìsticamente significante. Esta diferença pode, pois, ser interpretada como devida oo êrro de tomada da amostra. Para se determinar se os dois sexos diferem significantemente em número de hemátias e em taxa de hemoglobina, faz-se o teste *t*, engenho devido a Student. A questão consiste em saber se as médias dos números de hemátias e das taxas de hemoglobina diferem mais do que é de esperar por mera flutuação do acaso. O valor de *t* para o número de hemátias é 5,28 ** e para a taxa de hemoglobina 5,33 **; valores tão grandes de *t*, para 30 graus de liberdade têm uma probabilidade tão pequena de ocorrência, (muito menor que 1%), que o investigador pode concluir que há realmente uma diferença real dêsses índices hemométricos nos dois sexos.

Outro exemplo interessante é o seguinte: Numa longa série de dados hospitalares verificou-se que em 40% dos casos de uma certa doença os pacientes não se restabeleciam (morte). Um novo tratamento está sendo experimentado e foi ministrado a 10 pacientes e apenas 1 deles morreu. Terá sido eficiente o tratamento? À primeira vista parece que não se pode duvidar da eficiência do tratamento, pois que é esperado em média 4 mortes em 10 pacientes e houve apenas 1. Mas, é bem possível, por mera flutuação do acaso encontrar-se êste resultado numa amostra proveniente de uma população de média 4. Qual será então esta "chance"? Trata-se de uma população binomial, onde *p* é a probabilidade de morte e q = 1 — p é a de sobrevivência.

$$(p + q)^n = \sum_{x=0}^{x=n} \frac{n!}{x!\,(n-x)!}\, p^x q^{n-x} \quad ; x = 0,1,2,\ldots,10$$

No nosso caso p = 0,4 e q = 0,6, sendo n = 10 e x = número de mortes

$$P(0) = 0,6^{10} = 0,00605 \quad , \quad P(1) = 10 .\ 0,4 .\ 0,6^{9} = 0,04031$$

A probabilidade de se obter no máximo 1 morte é P(0) + P(1) = 0,04646; isto é, aproximadamente 5%, donde se conclui que em 10 pacientes é de esperar por mero jôgo do acaso 1 morte em cêrca de 20 vezes. Se o experimentador tiver conhecimento dêste fato, poderá ficar em dúvida sôbre a eficiência do tratamento. O melhor, no seu caso, será usar uma amostra maior e repetir o tratamento para poder tirar conclusões mais seguras. O exemplo dado é hipotético, mas serve para ilustrar como a análise estatística pode guiar o experimentador em tirar suas conclusões e até tornar sua técnica experimental mais refinada.

Não é nossa intenção dar aqui uma série de modelos para os vários testes, mas, para tornar o assunto bem claro, daremos mais dois exemplos. A distribuição binomial tende para a distribuição normal quando n $\longrightarrow \infty$, e p é igual ou próximo de q ; mas, se p é muito pequeno e portanto q é grande, a distribuição binomial tende assintòticamente para a distribuição de Poisson ou lei dos pequenos números:

$$f(x) = \frac{e^{-m}\, m^{x}}{x!}$$

onde $x = 0,1,..., n$; $e = 2,718...$ base dos logarítmos neperianos, $m = np$ representa a média que, nesta distribuição é igual à variância. Que interêsse apresenta esta distribuição para o biologista? Sendo a "chance" de ocorrência do acontecimento muito pequena p, ao se tomar uma amostra relativamente grande, um certo número sempre é encontrado. Tal situação aparece quando o biologista conta o número de bactérias ou de hemátias no quadradinho do hematímetro. Supondo-se que o fato de encontrarmos 0,1,2 ou n bactérias num quadrado é governado pelas leis do acaso, e como o volume do líquido é grande em relação ao da bactéria, a probabilidade de se encontrar um número qualquer delas x é muito pequena e obedece ao modêlo matemático — a distribuição de Poisson. A Tabela 2 é um exemplo dado por Fisher (1), à qual acrescentamos duas colunas para facilitar a compreensão dos cálculos aritméticos.

TABELA 2

Número de bactérias	Frequência observada				Frequência esperada	
x	F		Fx	Fx²		
0	—		—	—	3,71	21,08
1	20		20	20	17,37	
2	43		86	172	40,65	
3	53		159	477	63,41	
4	86		344	1376	74,19	
5	70		350	1750	69,44	
6	54		324	1944	54,16	
7	37		259	1813	36,21	
8	18		144	1152	21,18	
9	10		90	810	11,02	
10	5	9,00	50	500	5,16	8,66
11	2		22	242	2,19	
12	2		24	288	0,86	
13	—		—	—	0,31	
14	—		—	—	0,10	
15	—		—	—	0,03	
16	—		—	—	0,01	
Total	400		1872	10544	400,00	

$m = \frac{1872}{400} = 4{,}68$, conhecendo-se *m* , as frequências esperadas foram obtidas com a fórmula : $f(x) = \frac{e^{-m} m^x}{x!}$.

A variância *V* é obtida do seguinte modo:

$$V = \frac{10544 - \frac{(1872)^2}{400}}{399} = 4{,}47 .$$

As estimativas da média e da variância concordam razoàvelmente bem. Uma perfeita concordância não é para ser esperada, pois, embora a média e a variância sejam iguais na população, o êrro de tomada da amostra causará ligeiras discrepâncias entre seus valores estimados. Sabendo que seus dados se ajustam à distribuição de Poisson, o bacteriologista nada tem a duvidar da técnica de contagem. Outro modo que o bacteriologista poderá usar para saber se a sua técnica de contagem foi perfeita, é comprovar o ajustamento da distribuição de Poisson aos dados obtidos, pelo teste do χ^2 (qui-quadrado). Para isto basta obter em cada classe a diferença entre a frequência esperada e a observada, elevar ao quadrado e dividir pela frequência esperada correspondente. Cada uma dessas frações obedece à distribuição do χ^2, bem como a sua soma, que é obtida adicionando-se os diversos χ^2 em tôdas as classes. Entretanto, o teste perde sua segurança quando a frequência esperada é igual ou inferior a 5, razão pela qual as frequências das duas primeiras e das sete últimas classes foram adicionadas. Esta operação reduziu o número de classes a 10,

$$\chi^2 = \Sigma \frac{(\text{freq. obs.} - \text{freq. esp.})^2}{\text{freq. esp.}} = 3{,}964 \text{ está associado a } 8$$

graus de liberdade devido à perda de mais 1 grau de liberdade por causa de se estimar *m*. Valor tão pequeno do χ^2 tem uma probabilidade tão grande de acontecer que o ajustamento pode ser aceito como bom.

Aplicações interessantes do teste do χ^2 surgem com as tabelas de contingência, sendo as mais simples as tabelas 2x2. Daremos um exemplo com os dados de Yule e Greenwod (1), onde um pesquisador experimenta a eficiência de uma vacina contra a febre tifoide. Para isso foram vacinados 6815 indivíduos entre 18.483, obtendo-se o resultado da Tabela 3.

TABELA 3

Frequências observadas

	Atacados	Não atacados	Total
Inoculados	56	6759	6815
Não inoculados	272	11396	11668
Total	328	18155	18483

O experimentador deseja saber se há associação ou independência entre ter sido vacinado e não ter tido a doença. Partindo da hipótese de independência, isto é, que a vacina não diminuiu a suscetibilidade à doença, as frequências esperadas, em número de 4, devem estar em proporção e dêste modo obtém-se a Tabela 4.

TABELA 4

Frequências esperadas

	Atacados	Não atacados	Total
Inoculados	120,94	6694,06	6815
Não inoculados	207,06	11460,94	11668
Total	328,00	18155,00	18483

A frequência da 1ª classe é $120{,}94 = \frac{328 \times 6815}{18483}$ e as demais foram obtidas por subtração dos totais marginais. Usando-se a fórmula do χ^2 dada no exemplo anterior obtém-se $\chi^2 = 56{,}234^{**}$, associado a 1 grau de liberdade. Como χ^2 (1%) $= 6{,}635$, um valor do χ^2 tão alto quanto o encontrado é incompatível com a hipótese de independência, o que leva o imunologista a acreditar na eficiência de sua vacina.

Muitas pessoas assumem uma atitude drástica em relação aos testes de significância, aceitando sem restrições a hipótese se o resultado é inferior ao do nível 5%, e rejeitando, no caso contrário. Isto revela uma interpretação errônea da finalidade dos testes estatísticos. Uma hipótese não pode ser provada ou refutada ùnicamente pela análise estatística. Sòmente a crítica lógica e sensata dos dados do experimentador bem como dos resultados de outros pesquisadores, atendendo à natureza peculiar do problema poderá fazer uma decisão de tal ordem. Os métodos estatísticos apenas medem o grau de incerteza dessas conclusões. Quanto ao valor numérico dêsse grau, já dissemos que em parte é uma questão do arbítrio do experimentador, e em parte depende da natureza do experimento. Muitos principiantes julgam acertado que êste êrro deve ser feito o menor possível, 1% ou mesmo menor. Entretanto, a diminuição dêsse êrro, que é o de rejeitar uma hipótese verdadeira, aumenta um outro tipo de êrro, o de aceitar uma hipótese falsa. Sôbre êste segundo tipo de êrro não se pode ter uma ação direta, mas a melhor decisão será aquela que para um certo êrro do primeiro tipo, torna êsse segundo êrro o menor possível.

Bibliografia citada

(1) Fisher, R. A. Statistical Methods for Research Workers, p. 56 e p. 85. Oliver & Boyd, London, 1946.

(2) Miner, John R. Some Uses of Statistical Methods in Medicine. Biometrics, 1 (1) 3:5 February 1945.

(3) Rider, Paul R. An Introduction to Modern Statistical Methods, p. 63. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1939.