

## Parte II – Protocolos e métodos de trabalho em doença de Chagas experimental

19. Sistematização e análise de resultados: confecção de planilhas, tabelas, gráficos e análises estatísticas

Tania C. Araújo-Jorge  
Solange L. de Castro  
(Orgs.)

SciELO Books / SciELO Livros / SciELO Libros

JORGE, TCA., and CASTRO, SL., orgs. *Doença de chagas: manual para experimentação animal* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. 368 p. Antropologia e Saúde collection. ISBN 85-85676-75-2. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

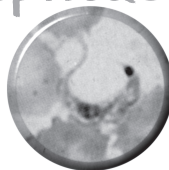


All the contents of this work, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported.

Todo o conteúdo deste trabalho, exceto quando houver ressalva, é publicado sob a licença Creative Commons Atribuição - Uso Não Comercial - Partilha nos Mesmos Termos 3.0 Não adaptada.

Todo el contenido de esta obra, excepto donde se indique lo contrario, está bajo licencia de la licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Unported.

## Capítulo 19



# Sistematização e Análise de Resultados: Confecção de Planilhas, Tabelas, Gráficos e Análises Estatísticas

Solange L. de Castro, Tania C. Araújo-Jorge & Pedro H. Cabello

Faz-se Ciência com fatos, como uma casa com pedras;  
porém, uma acumulação de fatos não é Ciência, exatamente  
como um montão de pedras não é uma casa.  
(Henri Poincaré)

### 19.1 A Importância do Registro e da Análise dos Dados Experimentais

A construção de uma casa, a partir de um montão de pedras, é um processo análogo à transformação de dados em informações (cujo acúmulo constitui o conhecimento). Em outras palavras, informação é o produto/ resultado do processamento de dados.

A citação de Poincaré ilustra bem a necessidade de se organizar a coleta dos dados brutos de um experimento, registrando-os de modo a que possam ser compreensíveis e “analisáveis” a qualquer tempo. Os pontos essenciais são: (1) não perder qualquer dado relevante; (2) analisar integralmente cada experimento individual, ou seja, que resposta foi encontrada à pergunta formulada, pois é essa resposta obtida ao final de cada experimento que vai determinar a necessidade de novos experimentos (repetição para confirmação do resultado, alteração de condições experimentais, etc.); (3) jamais fazer uma série de experimentos sequenciais sem sistematização do anterior.

Durante o planejamento do experimento (ver Capítulo 10) ressaltamos a importância da clareza na definição do objetivo, da(s) pergunta(s) que o experimento visa a responder e da escolha dos parâmetros que precisam ser acompanhados para se alcançar o objetivo proposto. Um detalhe de suma importância, anterior ao levantamento dos dados, é a elaboração/formulação de fichas, cadernos, protocolos e formulários onde serão registrados os dados originalmente coletados, que poderão ser codificados, sintetizados e armazenados geralmente em forma de planilhas. Os primeiros constituirão a memória básica do trabalho, enquanto as planilhas devem se tornar a base operacional da manipulação e processamento dos dados. Por isso, a elaboração de planilhas de coleta de dados brutos é um passo fundamental do desenho experimental e qualquer tratamento posterior dos dados poderá ser alterado, mas não a obtenção dos dados originais.

Sejam as anotações do número de parasitas por área, seja o peso dos animais, ou qualquer outro parâmetro a ser avaliado, é essencial que se organize previamente o instrumento de registro desses dados e seu cronograma. No Capítulo 20 inserimos diversos exemplos de planilhas de registro de dados brutos para o estudo *in vivo* de animais infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. Trataremos aqui de procedimentos gerais de análise desses dados: a tabulação

e a expressão gráfica dos resultados, bem como a necessidade de análise estatística – quando, como e que testes utilizar.

## 19.2 O Papel da Análise Estatística dos Dados Obtidos em Animais Experimentalmente Infectados

A análise estatística permite duas abordagens. A primeira refere-se à descrição dos resultados, por isso mesmo é chamada de *estatística descritiva*. Neste procedimento, que se pode fazer tanto em programas de planilhas de cálculo (tipo Lotus ou Excel) como em programas específicos para análises estatísticas, obtém-se informações sobre a tendência central dos dados (média, moda, mediana) e de sua dispersão (desvio-padrão, variância, faixa, quartis e percentis, valores mínimo e máximo, etc.). Na análise descritiva também se avalia o tipo de distribuição dos dados, ou seja, se são normais ou não. Na segunda abordagem, faz-se a *estatística inferencial* (testes de hipóteses), através de um conjunto de métodos analíticos que permitam inferir sobre a validade das proposições feitas; entre esses pode-se mencionar as análises comparativas que permitem testar as semelhanças ou diferenças entre dois ou mais grupos experimentais. Estas semelhanças ou diferenças são tratadas em termos probabilísticos (limites/níveis de significância). A análise descritiva permite determinar o tipo de distribuição dos dados, de importância maiúscula, pois definirá a escolha dos testes estatísticos a serem utilizados posteriormente. A primeira informação importante é *saber se os dados se ajustam a um padrão de distribuição normal*. Para isso eles devem ter valores de média e mediana aproximadamente iguais e de índices de Curtose/Kurtosis (que indicam a forma/altura da curva) e de Assimetria/Skewness aproximadamente iguais a 0 (entre 0 e 1), e desse modo devem acompanhar uma curva de distribuição gaussiana de frequência.

Utilizaremos exemplos de dados reais obtidos com animais infectados experimentalmente com *T. cruzi* para orientar a análise e a interpretação. Em alguns casos, apenas os cálculos de estatística descritiva, bem como os gráficos resultantes de dados individuais ou das tendências centrais da amostragem podem ser suficientes para gerar a resposta desejada. Em outros, além da visualização tabulada ou gráfica dos dados obtidos entre diferentes grupos experimentais, será necessária a análise da significância estatística dessas diferenças. Todos os parâmetros qualitativos e quantitativos que foram descritos nos vários capítulos deste manual podem inicialmente ser descritos com os indicadores da estatística descritiva e ser analisados quanto à sua significância biológica.

## 19.3 Análises Descritivas dos Dados

### Análise do curso da infecção

#### Código do experimento - INF#1

**Objetivo** - Acompanhar o curso da infecção em animais a infecção por *T. cruzi*

**Pergunta** - Como se comporta a cepa X de parasita na linhagem Y de camundongo?

**Justificativa** - O conhecimento do curso da infecção, período pré-patente, período de aumento e diminuição de parasitemia e período de mortalidade, é essencial para todos os demais experimentos a serem feitos neste modelo de par parasita/hospedeiro.

#### Cronograma e protocolo (dpi = dias pós-infecção)

- -n dpi (planejamento do experimento: definição dos grupos, do par parasita-hospedeiro, dos inóculos e da via de inoculação). No caso: fêmeas de C57BL/6 + cepa Y 10<sup>4</sup> par/camundongos via intraperitoneal
- -10 a -7 dpi: pedido dos animais ao biotério para aclimação

- -5 a -1 dpi: pesagem dos animais, distribuição entre os grupos, marcação, coleta de plasma
- 0 dpi: infecção dos animais
- 6-40 dpi: acompanhamento de parasitemia, mortalidade, peso, leucometria e níveis de IgG anti-*T.cruzi*

### Acompanhamento da cinética de parasitemia

Planilha de análise: incorporam-se os dados brutos referentes a cada animal e a cada dpi e calcula-se o número de parasitas/ml, de acordo com o método empregado (ver Capítulo 13). Calculam-se também as medidas de tendência central e de dispersão dos dados: média e desvio padrão, mediana e percentis 25 e 75% (Figura 1, Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados de contagens de parasitemia do experimento INF#1

	7 dpi (1:3) <sup>1</sup>			8 dpi (1:5)			9 dpi (1:3)		
	par em 50 campos	par/cp	10 <sup>4</sup> p/ml <sup>2</sup>	par em 50 campos	par/cp	10 <sup>4</sup> p/ml <sup>2</sup>	par em 50 campos	par/cp	10 <sup>4</sup> p/ml <sup>2</sup>
cdg-1	5	0,10	9,9	68	1,36	224,4	5	0,10	9,9
cdg-2	5	0,10	9,9	71	1,42	234,3	8	0,16	15,8
cdg-3	17	0,34	33,7	174	3,48	574,2	10	0,20	19,8
cdg-4	23	0,46	45,5	83	1,66	273,9	28	0,56	55,4
cdg-5	12	0,24	23,8	100	2,00	330,0	28	0,56	55,4
cdg-6	3	0,06	5,9	39	0,78	128,7	25	0,50	49,5
cdg-7	3	0,06	5,9	30	0,60	99,0	20	0,40	39,6
cdg-8	3	0,06	5,9	30	0,60	99,0	48	0,96	95,0
cdg-9	2	0,04	4,0	30	0,60	99,0	20	0,40	39,6
cdg-10	5	0,10	9,9	40	0,80	132,0	3	0,06	5,9
<b>média</b>			<b>15,4</b>			<b>219,5</b>			<b>38,6</b>
<b>desvio padrão</b>			<b>13,4</b>			<b>141,7</b>			<b>25,8</b>
<b>mediana</b>			<b>9,9</b>			<b>178,2</b>			<b>39,6</b>
<b>perc 25</b>			<b>5,9</b>			<b>106,4</b>			<b>16,8</b>
<b>perc 75</b>			<b>20,3</b>			<b>264,0</b>			<b>54,0</b>

<sup>1</sup>diluição do sangue

<sup>2</sup>contagem pelo método de Pizzi-Brener com microscópio Axioplan (fator=33x10<sup>4</sup>)

dpi = dias pós-infecção; par/cp = número de parasitas/campo microscópico; cdg = camundongo

### Análise da parasitemia máxima

Planilha de análise: dados calculados em número de parasitas/ml e em seu logaritmo decimal. A transformação dos valores reais para logaritmo se deve à necessidade de diminuição da dispersão comumente observada, e conseqüente tentativa de normalização dos dados (Tabela 2). Estatística descritiva dos dados de obtidos no 8 dpi (Tabela 3).

Tabela 2 – Dados reais e em log dos valores de parasitemia máxima e valores de tempo de sobrevida

	10 <sup>4</sup> par/ml	log10	dia do pico	TS
cdg-1	224,4	6,351	8	21
cdg-2	234,3	6,370	8	23
cdg-3	574,2	6,759	8	40 <sup>1</sup>
cdg-4	273,9	6,438	8	40 <sup>1</sup>
cdg-5	330,0	6,519	8	29
cdg-6	128,7	6,110	8	40 <sup>1</sup>
cdg-7	99,0	5,996	8	40 <sup>1</sup>
cdg-8	99,0	5,996	8	23
cdg-9	99,0	5,996	8	40 <sup>1</sup>
cdg-10	132,0	6,121	8	40 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>sobreviventes após 40 dpi, devem ser excluídos da análise de tempo de sobrevida

Tabela 3 – Dados de estatística descritiva referentes ao pico da parasitemia

Indicador	10 <sup>4</sup> par/ml	log <sub>10</sub>	Indicador	10 <sup>4</sup> par/ml	log <sub>10</sub>
Contagem (n)	10	10	Intervalo	475,2	0,76
Média	219,5	6,27	Mínimo	99	6,00
Desvio padrão	149,3	0,26	Máximo	574,2	6,76
Mediana	178,2	6,24	Erro padrão	47,221	0,08
Percentil 25%	106,4	6,02	Modo	99	6,00
Percentil 75%	264,0	6,42	Soma	2194,5	62,65
Variância da amostra	22298	0,07	Maior (1)	574,2	6,76
Curtose	3,0146	-0,58	Menor (1)	99	6,00
Assimetria	1,6477	0,60	p Teste W (Shapiro-Wilks)	0,0181	0,217

A simples observação desta tabela já nos indica que

- existe grande dispersão nos dados obtidos. Tomando-se os valores reais de parasitas/ml, o desvio-padrão é 68% do valor da média. Já os valores transformados logaritmicamente não apresentam tamanha dispersão e o desvio encontrado correspondeu a apenas 4% do valor da média;
- a média é relativamente diferente da mediana, no caso dos dados reais, e se aproxima no caso dos valores em log;
- os índices de Curtose e Assimetria dos valores reais são bem diferentes de zero, enquanto os índices respectivos obtidos com os valores transformados são menores que 1;
- estas observações sugerem que os dados reais não possuem distribuição normal, enquanto os dados transformados possivelmente se distribuem normalmente.

Para confirmar se os dados realmente têm distribuição normal, pode-se fazer uma análise específica em programas de estatística. Mostramos abaixo um exemplo, utilizando o programa Statistics for Windows, exatamente sobre estes dados de parasitemia máxima (Fig. 2). Aqui foram obtidos os histogramas de distribuição de frequência (barras), calculada a curva normal esperada (linha) e os valores do teste W de Shapiro-Wilks. Este teste é o mais recomendado. Se seu resultado for significativo ( $p < 0,05$ ) então é porque a distribuição não é normal (rejeita-se a hipótese de que a distribuição seja normal). Se os dados forem normais, p será maior que 0,05 no teste W. Inserimos na Tabela 3 os resultados do teste W, que confirmaram que a distribuição dos dados reais não é normal ( $p < 0,05$ ), enquanto a dos dados transformados para log é normal ( $p > 0,05$ ). As curvas de probabilidade normal também foram obtidas (Figs. 2 a,b) e indicam que os dados reais se correlacionam menos com o esperado, isto é, se afastam mais da linha de regressão do que os dados transformados, que praticamente se superpõem com a linha de regressão.

### Acompanhamento da mortalidade e sobrevida

Com base nos dados de sobrevida é construída a planilha de mortalidade cumulativa, como mostrado na Tabela 4. O número de animais mortos a cada dia é indicado na coluna de mortalidade individual (mi) e o número acumulado de animais mortos na de mortalidade acumulada (ma). Neste experimento, como a mortalidade cumulativa foi menor que 50%, não temos o índice  $M_{50}$ , temos apenas o valor de tempo de sobrevida (TS) calculado sobre os poucos animais que morreram até o final da observação do experimento (40 dpi) (Tabela 4). A expressão gráfica desses resultados é mostrada na Figura 3. A análise de sobrevida é complementar à de mortalidade (Fig. 3).

Tabela 4 – Valores de mortalidade cumulativa e de tempo de sobrevida

INF#1: mortalidade/sobrevida cumulativa n (inicial) =10					INF#1: tempo de sobrevida (TS)	
dpi	mi	ma	%MC	%SC		Inf
0	0	0	0,0	100,0		
22	1	1	10,0	90,0	cdgo 1	21
23	0	1	10,0	90,0	cdgo 2	23
24	2	3	30,0	70,0	cdgo 3	23
25	0	3	30,0	70,0	cdgo 4	29
30	1	4	40,0	60,0	<b>média</b>	<b>24,0</b>
31	0	4	40,0	60,0	<b>desvio-padrão</b>	<b>3,0</b>
40	0	4	<b>40,0</b>	60,0		
			<b>M<sub>50</sub> -</b>			

mi= mortalidade individual; ma= mortalidade acumulada

## 19.4 Análises Comparativas dos Dados

Mesmo que tenhamos apenas um grupo experimental a analisar, como no caso do experimento INF#1, alguns parâmetros podem ser comparados a diferentes tempos pós-infecção. A análise comparativa pode ser feita, inicialmente, apenas de forma tabulada e gráfica, que indicarão *diferenças óbvias* entre dados quantitativos obtidos em quaisquer parâmetros parasitológicos, imunológicos ou inflamatórios. Essas diferenças podem até dispensar análise estatística detalhada e geralmente indicam processos relevantes do ponto de vista biológico. Porém, muitas vezes devido a heterogeneidades intrínsecas a populações de animais, mesmo às linhagens isogênicas, a existência ou não de diferença nos resultados obtidos precisa ser testada por meio de recursos estatísticos apropriados. A questão imediata que surge é: que teste estatístico usar?

Qualquer livro de estatística aplicada à biologia vai indicar basicamente dois caminhos a seguir: o dos testes paramétricos e o dos não paramétricos. Essa escolha é a primeira e depende essencialmente do tipo de distribuição dos dados a serem comparados, que é analisada pelos indicadores da estatística descritiva, como discutido acima, e pelos testes apropriados para se testar normalidade (por exemplo, o teste W de Shapiro-Wilks).

Se a distribuição for do tipo normal os testes paramétricos poderão ser aplicados. *Se a distribuição não for normal, os testes paramétricos não poderão ser utilizados.* Neste ponto, mais dois caminhos se apresentam: (1) utilizar diretamente testes não paramétricos ou (2) proceder à transformações matemáticas que normalizem a distribuição dos dados, como por exemplo, a transformação para logaritmos decimais, como também apontado anteriormente. Neste caso, mesmo após esta transformação, os novos dados gerados devem passar pelo teste de normalidade, como mostrado acima.

Além da definição de uso de um teste paramétrico ou não paramétrico, a segunda questão que se coloca é definir o nível de significância (p) com o qual os dados serão analisados. Assumir  $p < 0,05$  significa trabalhar apenas com 5% de probabilidade de erro do tipo I (rejeitar uma hipótese, sendo ela verdadeira). Mas este limiar pode ser arbitrado em valor maior ou menor. Pode-se inclusive apenas fornecer o valor de p e deixar a interpretação da significância por conta do experimentador ou do leitor.

De qualquer modo, a regra básica aqui é de que *é melhor não fazer qualquer análise estatística sobre diferenças óbvias, do que fazer análises erradas sobre diferenças prováveis.* Ou seja, não aplicar qualquer teste, sem um conhecimento de como aplicá-lo, o que ele mede, e se os dados em questão podem ser analisados por aquele teste. Portanto, se se for trabalhar com estatística, é indispensável que se estude um pouco o assunto, mas também que se converse com quem entende, antes de se aventurar a utilizar erradamente os muitos programas estatísticos disponíveis.

O tamanho da amostragem a ser analisada também é outro indicativo do tipo de teste a ser usado. De um modo geral os estatísticos consideram uma amostragem com  $n = 100$  observações, como o mínimo para análises de distribuição de frequência paramétricas. Por outro lado, quando o conjunto de dados for grande ( $n > 100$ ) não faz muito sentido usar estatística não paramétrica, pois com amostragens grandes os dados tendem a distribuir-se normalmente, mesmo que a respectiva variável não seja normalmente distribuída na população. Na maioria destes casos os métodos não paramétricos, que são menos sensíveis (tem menor poder estatístico), podem ser apropriados.

É comum, na experimentação animal, se obter dados que os estatísticos consideram de “baixa qualidade”, ou seja, derivados de amostras pequenas ( $n = 4$  a  $10$ ), ou de variáveis sobre as quais nada se sabe acerca do tipo de distribuição. Os métodos não paramétricos foram desenvolvidos para serem usados em casos nos quais o pesquisador não sabe nada a respeito dos parâmetros de uma variável de interesse numa população (por exemplo, a parasitemia máxima de um grupo de animais *knock-outs* para certo gene, infectados com uma dada cepa de *T. cruzi*). Daí o nome não paramétrico. Eles não se baseiam no conhecimento da média e do desvio-padrão e portanto dispensam seu cálculo. Os métodos não paramétricos são menos poderosos (menos sensíveis) para discriminar diferenças significativas que os paramétricos (portanto, se indicarem estas diferenças, elas também certamente seriam indicadas se testes paramétricos fossem usados). Em geral, se o resultado de um estudo tem implicações econômicas ou terapêuticas importantes (por exemplo: uma terapia cara e dolorosa pode ajudar a melhorar a qualidade de vida dos pacientes?), então é aconselhável que se aplique aos resultados diferentes testes não paramétricos e se houver discrepância entre eles, procurar entender o porquê destes diferentes resultados. Por outro lado, como são menos sensíveis, os testes não paramétricos podem deixar passar certos pequenos efeitos (por exemplo: um certo aditivo nutricional pode ser perigoso para a população?) e é necessário que se seja bastante cuidadoso na escolha do teste.

A estatística descritiva também deve ser mais cuidadosa quando se trabalha com dados de distribuição não normal. Se uma variável se comporta como uma função logarítmica e não linear, então a média geométrica é mais informativa do que a média aritmética. A estatística descritiva do fenômeno observado deve computar uma variedade mais ampla de medidas de locação (média, mediana, moda, etc.) e de dispersão (variância, desvio médio, faixa de quartis, percentis, etc.) para fornecer um quadro mais completo dos dados.

A seqüência de ações nessa análise é:

- criar uma matriz com a base de dados a analisar, organizando em linhas as informações referentes a cada animal (todos os grupos testados, experimentalmente, e todos os dias) e em colunas as variáveis que indicam seu grupamento (controle, grupo A, grupo B, grupo C; dias pós-infecção, etc.) ou os valores que serão testados tais como parasitemia (ou nível de IgG ou qualquer outro parâmetro medido ao longo do tempo); tempo de sobrevida, parasitemia máxima, etc.);
- obter os dados de estatística descritiva de cada variável;
- testar se estas variáveis apresentam distribuição normal ou não (teste W);
- em função do resultado, escolher o teste a ser usado;
- escolher os limites de confiança (90 ou 95%);
- verificar o valor de  $p$ .

## 19.5 O Vasto “Menu” de Testes Paramétricos e Não Paramétricos para se Utilizar

Como apontado na Tabela 5, para cada tipo geral de teste paramétrico, existe basicamente pelo menos um teste não paramétrico equivalente numa das seguintes categorias:

- testes de diferenças entre grupos (amostras independentes)
- testes de diferenças entre variáveis (amostras dependentes)
- testes de relações entre variáveis

**Observações:**

- em todos os testes a hipótese testada é de que sejam iguais (hipótese nula). O valor de  $p$  obtido em um teste  $t$  representa a probabilidade do erro envolvido no aceite da hipótese sobre a existência de diferença. Em termos práticos,  $p < 0,05$  significa que os grupos testados têm mais de 95% de chance de serem diferentes, ou seja, menos de 5% de chance de serem iguais;
- dados não normais indicam que seus valores se dispersam muito em torno da média ou se distribuem assimetricamente; portanto a média não é mais um bom parâmetro para comparar os grupos em questão. Os testes não paramétricos, em geral, comparam medianas, ou seja, ordenam (fazem um *rank*) os dados desde o menor até o maior valor e tomam o valor do posto médio como padrão a ser comparado;
- o teste de Kolmogorov-Smirnov para duas amostras é sensível a diferenças entre médias e medianas, mas também é bastante afetado pelas diferenças nas formas das curvas de distribuição dos dados;
- o teste de Wilcoxon para dados pareados assume que se pode ordenar a magnitude das diferenças nas observações pareadas de algum modo com significado biológico. Se não for este o caso, então deve ser usado o teste dos sinais;
- o coeficiente de concordância de Kendall é frequentemente usado para expressar a concordância entre variáveis independentes (por exemplo, IgG total e IgG anti *T. cruzi*) que estão sendo estimuladas pelo mesmo fator (por exemplo, a infecção).

Tabela 5 – Escolha dos testes estatísticos

Para comparar	Teste paramétrico (distribuição normal dos dados ou de sua transformação matemática)	Teste não paramétrico (independentes do tipo de distribuição)
Diferenças entre dois grupos (amostras independentes)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste <math>t</math> para amostras independentes: compara médias de uma variável</li> <li>• Teste F: compara variâncias</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste U de Mann-Whitney</li> <li>• Teste de Kolmogorov-Smirnov para duas amostras</li> <li>• Teste de Wald-Wolfowitz</li> </ul>
Diferenças entre dois grupos (amostras dependentes ou pareadas)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste <math>t</math> para amostras dependentes: compara médias entre variáveis, medidas na mesma amostra ou em amostras pareadas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de Wilcoxon para dados pareados</li> <li>• Teste dos Sinais</li> </ul>
Diferenças entre mais de dois grupos (amostras independentes)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Análise de variância (ANOVA): compara médias entre mais de dois grupos, através da análise de sua dispersão indicada pela variância</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Análise de postos de Kruskal-Wallis</li> <li>• Teste de mediana</li> </ul>
Diferenças entre mais de duas variáveis entre grupos dependentes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Análise de variância</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Análise de variância dois -fatores de Friedman</li> </ul>
Medidas de freqüência (proporções) em tempos diferentes de variáveis dicotomizadas (sim ou não, + ou -)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de Qui-quadrado de McNemar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste T de Cochran</li> </ul>
Relação entre variáveis quantitativas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coeficiente de correlação</li> <li>• Coeficiente de regressão</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de Kendall Tau</li> <li>• Teste R de Spearman</li> <li>• Coeficiente Gamma</li> </ul>
Relação entre variáveis qualitativas (machos x fêmeas, + x -)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de Qui-quadrado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coeficiente de concordância de Kendall</li> <li>• Coeficiente de Phi</li> <li>• Teste exato de Fisher</li> </ul>

Seguem-se alguns exemplos:

**Acompanhamento da série branca**

Foi feito esfregaço sangüíneo de animais em diferentes dias pós-infecção e uma contagem do percentual relativo de leucócitos, cujos resultados são mostrados na Tabela 6, cuja expressão gráfica está na Figura 4.



Tabela 6 – Resultados da contagem leucocitária do experimento INF#1

INF#1: contagem de esfregaço sanguíneo									
	% linfócitos			% neutrófilos			% monócitos		
dpi	1	20	40	1	20	40	1	20	40
cdg-1	74		50	15		15	11		35
cdg-2	68	26	43	23	24	32	9	50	25
cdg-3	74	24		19	19		8	67	
cdg-4	76	15	45	17	18	34	7	46	21
cdg-5	80	33	51	14	21	31	6	40	18
cdg-6	80	32		14	28		6	53	
cdg-7	74	25		20	22		6	67	
cdg-8	79	18		12	25		8	58	
cdg-9	80	26	51	17	16	23	3	45	26
cdg-10	60	36	54	33	19	26	7	61	20
<b>média</b>	<b>74,3</b>	<b>26,1</b>	<b>49,0</b>	<b>18,5</b>	<b>21,3</b>	<b>26,8</b>	<b>7,1</b>	<b>54,1</b>	<b>24,2</b>
<b>desvio padrão</b>	<b>6,0</b>	<b>6,5</b>	<b>3,8</b>	<b>5,7</b>	<b>3,6</b>	<b>6,5</b>	<b>2,0</b>	<b>9,2</b>	<b>5,6</b>
<b>W</b>	<b>0,0380</b>	<b>0,7346</b>	<b>0,4177</b>	<b>0,0481</b>	<b>0,9021</b>	<b>0,4877</b>	<b>0,8714</b>	<b>0,6247</b>	<b>0,3616</b>
<b>normal</b>	<b>não</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>não</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>
<b>p K-W</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0419</b>	<b>0,0001</b>						

### Questões

- A distribuição dos dados é normal? Alguns sim, outros não.
- Quantos grupos há a comparar? Três para cada variável.
- Que teste usar? Como alguns dos dados iniciais (linfócitos e neutrófilos no dia 1) não têm distribuição normal, deve-se usar um teste não paramétrico. Como três grupos serão comparados (dias 1, 20 e 40), o teste deve ser o de Kruskal-Wallis.
- O valor de p fornecido pelo teste de Kruskal-Wallis indica variação significativa entre os três grupos? Sim, pois todos são menores que 0.05.
- Quais são os grupos diferentes entre si? Após saber que existe uma diferença significativa entre os grupos, pode-se compará-los dois a dois. Para isso usa-se então o teste U de Mann-Whitney, que, neste caso, forneceu os resultados da Tabela 7. A única comparação onde as diferenças são significativas forma as correspondentes a vinte e quarenta dias pós-infecção.

Tabela 7 – Valores de p do teste U de Mann-Whitney aplicado sobre os dados de análise leucocitária do experimento INF#1

Grupos	Linfócitos	Neutrófilos	Monócitos
1 x 20	0,0002	0,0989	0,0023
1 x 40	0,0011	0,0509	0,0113
20 x 40	0,0140	0,0014	0,0014

### Acompanhamento de peso

Os animais infectados e não infectados (controle) foram pesados em diferentes dias pós-infecção e obtidos, assim, os dados da Tabela 8.

**Tabela 8** – Valores de peso dos animais do experimento INF#1

dpi	Controle				Infectado			
	0	7	14	20	0	7	14	20
cdg-1	20,4	27,2	30,8	33,6	17,6	24,5	21,8	
cdg-2	17,7	28,6	32,1	32,6	21,5	29,6	27,0	
cdg-3	19,0	30,0	30,2	31,6	20,5	32,5	22,5	
cdg-4	17,0	27,5	32,3	35,6	19,0	22,5	26,5	25,6
cdg-5	20,5	31,2	36,1	38,6	20,5	26,0	30,5	
cdg-6	19,5	26,6	34,8	36,7	19,6	28,2	30,7	18,6
cdg-7	17,3	28,5	33,9	36,4	21,6	32,5	25,9	
cdg-8	17,5	28,0	32,0	32,7	19,0	24,0	24,5	
cdg-9	18,5	24,6	33,9	37,2	20,5	27,3	25,8	
cdg-10	18,5	27,5	30,9	32,6	18,3	24,4		
<b>média</b>	<b>18,6</b>	<b>28,0</b>	<b>32,7</b>	<b>34,8</b>	<b>19,8</b>	<b>27,2</b>	<b>26,1</b>	<b>22,1</b>
<b>desvio padrão</b>	<b>1,2</b>	<b>1,7</b>	<b>1,8</b>	<b>2,3</b>	<b>1,3</b>	<b>3,3</b>	<b>2,9</b>	<b>3,5</b>
<b>W</b>	<b>0,4406</b>	<b>0,8517</b>	<b>0,7422</b>	<b>0,3193</b>	<b>0,6231</b>	<b>0,3920</b>	<b>0,5131</b>	<b>&lt;1</b>
<b>normal</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>?</b>
<b>F</b>	<b>0,0000001</b>				<b>0,000023</b>			

### Questões

- A distribuição dos dados é normal? Sim.
- Quantos grupos há a comparar? Quatro para cada variável (dias 0, 7, 14, 20).
- Que teste usar? Paramétrico. Como há quatro grupos a ser comparados, o teste deve ser ANOVA.
- O valor de p fornecido pelo teste de ANOVA indica variação significativa entre os quatro grupos? Sim, pois todos são menores que 0,05.
- Quais são os grupos diferentes entre si? Após saber que existe uma diferença entre os vários grupos, avança-se no teste ANOVA para saber quais grupos diferem entre si. Um dos testes que pode ser escolhido é o de Student-Neuman-Keuls (SNK), cujos resultados estão mostrados na Tabela 9. Eles indicam que os animais não infectados apresentam uma curva de evolução ponderal crescente, com valores diferentes significativamente a cada semana (estão “engordando” normalmente). Já os animais infectados ganham peso só até a segunda semana, quando por algum motivo param de “engordar”.
- A infecção leva à diferença no peso? Para isso compara-se a cada dia os grupos controle *versus* infectado, com os resultados ANOVA mostrados na Tabela 10. Eles demonstram claramente que os animais infectados não se diferenciam dos normais na primeira semana (7 dpi), mas que após catorze e vinte dias a sua diferença de peso é bastante significativa.

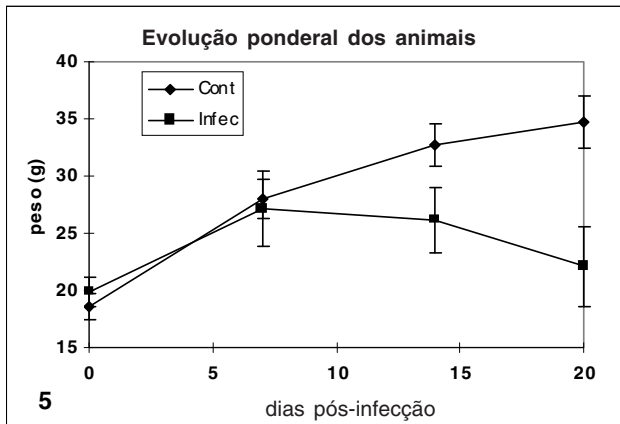
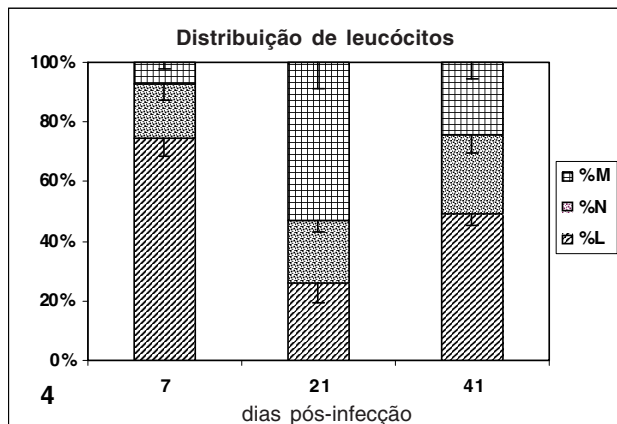
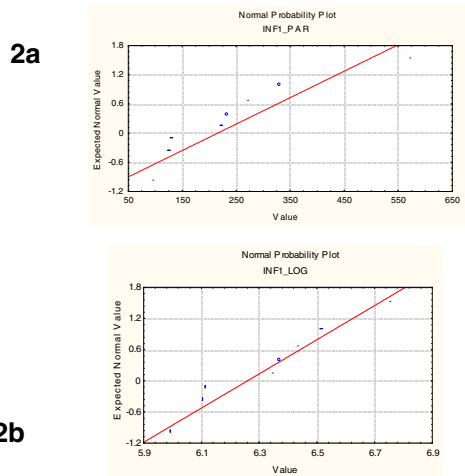
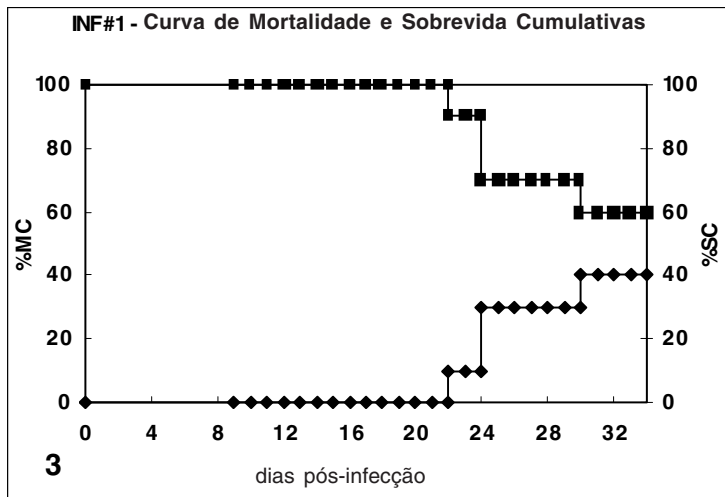
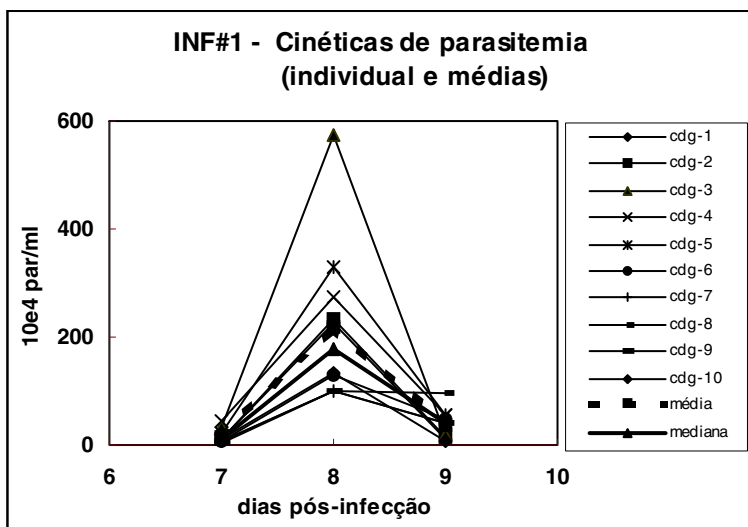
**Tabela 9** – Diferenças no peso dos animais a cada dia

Grupos	Não infectado	Significância	Infectado	Significância
dpi 1 x dpi 7	0,000122	sim	0,000189	sim
dpi 1 x dpi 14	0,000127	sim	0,000293	sim
dpi 1 x dpi 20	0,000159	sim	0,318091	não
dpi 7 x dpi 14	0,000123	sim	0,453093	não
dpi 7 x dpi 20	0,000127	sim	0,081881	não
dpi 14 x dpi 20	0,021999	sim	0,087019	não

**Tabela 10** – Diferenças no peso dos animais infectados em relação aos controles

Grupos	0 dpi	7 dpi	14 dpi	20 dpi
Cont x Inf	0,049218	0,521147	0,000027	0,000155

Este é o raciocínio básico a ser seguido em todos os casos: análise dos níveis de imunoglobulinas, citocinas, enzimas, ou qualquer outro parâmetro que se pretenda acompanhar.



Figuras 1 a 5 - Resultados do experimento INF#1: (1) expressão gráfica da cinética de variação da parasitemia dos animais infectados: dados individuais, de média e de mediana (programa Excel para Windows); (2) teste de probabilidade de normalidade para os dados de parasitemia máxima em número de parasitas/ml (PAR) (a) e para os dados transformados para logaritmo (LOG) (b) (programa Statistics for Windows); (3) mortalidade e sobrevida acumuladas (programa Excel para Windows); (4) percentagem de monócitos, neutrófilos e leucócitos (programa Excel para Windows); (5) evolução ponderal (programa Excel para Windows)

## Teste do efeito de uma droga na evolução da infecção

### Código do experimento - DX#1

**Objetivo** - Testar o efeito do derivado DX sobre a resistência dos animais à infecção por *T. cruzi*

**Justificativa** - Entre oito derivados sintetizados de uma certa droga, o derivado DX foi o mais efetivo sobre tripomastigotas *in vitro*

**Pergunta** - DX tem efeito sobre o curso da infecção por *T. cruzi*?

#### Cronograma e protocolo

- -n dpi (dias pós-infecção): planejamento do experimento: definição dos grupos, do par parasita-hospedeiro, dos inóculos, da via de inoculação e do esquema de administração do DX a ser testado
- -10 a -7 dpi: pedido dos animais ao biotério para aclimação
- -5 a -1 dpi: pesagem dos animais, distribuição entre os grupos, marcação, coleta de plasma
- 0 dpi: infecção dos animais
- 5 dpi: tratamento com o composto DX por administração via oral
- 6-30 dpi: acompanhamento de parasitemia e da mortalidade

#### Grupos

- Cont: 0,1 ml diluente
- DX100: 0,1 ml de solução contendo 16,8 mg DX

### Cálculo da dosagem de DX

Pesagem dos animais em 5 dpi para cálculo da concentração da droga

Peso individual em gramas (n=20)										Média	des. pd.
16,9	16,5	18,0	18,2	19,4	20,8	15,3	20,0	19,5	18,3	16,8	0,4
16,3	17,5	19,6	15,8	19,2	18,2	18,6	18,0	17,3	17,2		

Preparo da suspensão de DX

- administração de dose única por via oral de 100 mg/kg peso de DX no volume de 0,1ml para dez animais (grupo DX100) pesando em média 16,8 g (os outros dez animais serão inoculados com 0,1 ml do diluente - 3% de Tween 80 em água (grupo Cont))

DX		Peso do animal	
100 mg	---	1000 mg	$x = 1,68 \text{ mg/animal}$ —> cada animal deverá receber 1,68 mg de DX
x	---	16,8	
DX		Diluente	
1,68 mg	---	0,1 ml	$y = 16,8 \text{ mg/ml de diluente}$ —> concentração da suspensão a ser preparada
y	---	1,0	

Administração de 0,1 ml (via oral) em dose única (5 dpi) em dez animais

- volume total: 0,1 ml X 10 (animais) = 1,0 ml
- considerando as perdas, preparar 2,0 ml (33,6 mg em 2 ml do diluente)

Acompanhamento da parasitemia

O método de acompanhamento de parasitemia aqui utilizado foi o de contagem em câmara de Neubauer; portanto, os resultados brutos de parasitas contados nos quatro quadrantes da câmara são lançados na planilha (Tabela 11) e calculado o número de parasitas por ml, tendo em vista a correção da diluição. Os resultados de análise descritiva são expressos na Figura 6 e na Tabela 12.

Tabela 11 – Cálculos das curvas de parasitemia do experimento DX#1

Cont	6 dpi				1:20 <sup>1</sup>				7 dpi				1:30 <sup>1</sup>				8 dpi				1:30 <sup>1</sup>				9 dpi				1:30 <sup>1</sup>			
animal	par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml				par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml				par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml				par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml			
cdg-1	3	0	0	1	20,0	46	36	24	45	755,0	44	40	25	31	700,0	4	3	3	3	65,0												
cdg-2	1	0	1	0	10,0	16	10	14	14	270,0	15	12	14	18	295,0	3	2	4	3	60,0												
cdg-3	3	4	1	4	60,0	92	110	97		1993,3	51	42	62	66	1105,0	2	4	5	1	60,0												
cdg-4	7	9	3	10	145,0	64	37	59		1066,7	57	64	67	56	1220,0	2	2	0	3	35,0												
cdg-5	3	4	1	3	55,0	40	42	46	57	925,0	36	14	20	28	490,0	2	4	1	2	45,0												
cdg-6	0	2	1	0	15,0	3	7	4	10	120,0	7	13	9	12	205,0	0	0	1	2	15,0												
cdg-7	7	6	8	13	170,0	42	42	46	43	865,0	24	33	29	40	630,0	1	2	1	3	35,0												
cdg-8	4	3	2	3	60,0	32	32	30		626,7	76	84	82	72	1613,3	12	17	9	10	253,3												
cdg-9	4	5	3	6	90,0	13	13	20	19	325,0	33	17	27	25	510,0	3	2	5	3	65,0												
cdg-10	0	1	0	1	10,0	0	1	5	2	40,0	1	0	2	1	20,0	0	1	1	0	10,0												
<b>média</b>					<b>63,5</b>					<b>698,7</b>					<b>678,8</b>					<b>64,3</b>												
<b>des.pd.</b>					<b>53,6</b>					<b>546,9</b>					<b>471,2</b>					<b>65,8</b>												
DX100	6dpi				1:20 <sup>1</sup>				7dpi				1:30 <sup>1</sup>				8dpi				1:30 <sup>1</sup>				9dpi				1:30 <sup>1</sup>			
animal	par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml				par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml				par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml				par/quad				10 <sup>4</sup> p/ml			
cdg-1	3	2	5	4	70,0	9	5	8	4	130,0	4	3	2	2	55,0	1	0	0	0	5,0												
cdg-2	1	4	4	3	60,0	5	3	3	3	70,0	0	0	1	1	10,0	0	0	0	0	0,0												
cdg-3	3	3	1	1	40,0	4	2	2	3	55,0	2	1	0	0	15,0	0	0	0	0	0,0												
cdg-4	2	1	1	4	40,0	4	3	0	2	45,0	1	0	0	0	5,0	0	0	0	0	0,0												
cdg-5	0	1	0	1	10,0	3	4	2	3	60,0	2	1	1	0	20,0	1	0	0	0	5,0												
cdg-6	3	1	1	1	30,0	4	2	2	0	40,0	1	0	0	0	5,0	0	0	0	1	5,0												
cdg-7	6	3	3	0	60,0	1	2	5	5	65,0	1	2	0	0	15,0	1	0	0	0	5,0												
cdg-8	1	4	0	1	30,0	5	5	6	5	105,0	1	0	0	0	5,0	0	0	0	0	0,0												
cdg-9	1	1	0	1	15,0	0	1	2	1	20,0	0	0	0	1	5,0	0	0	0	0	0,0												
cdg-10	2	3	2	1	40,0	1	4	3	1	45,0	1	0	0	0	5,0	0	0	0	0	0,0												
<b>média</b>					<b>39,5</b>					<b>63,5</b>					<b>14,0</b>					<b>2,0</b>												
<b>des.pd.</b>					<b>18,5</b>					<b>30,7</b>					<b>14,6</b>					<b>2,4</b>												

<sup>1</sup>diluição do sangue

Tabela 12 – Análises descritiva e comparativa da parasitemia máxima do experimento DX#1

Pico de parasitemia				
Animal	10 <sup>4</sup> par/ml		log10	
	Cont	DX00	Cont	DX100
cdg-1	755,0	130,0	6,878	6,114
cdg-2	295,0	70,0	6,470	5,845
cdg-3	1993,3	55,0	7,300	5,740
cdg-4	1220,0	45,0	7,086	5,653
cdg-5	925,0	60,0	6,966	5,778
cdg-6	205,0	40,0	6,312	5,602
cdg-7	865,0	65	6,937	5,813
cdg-8	1613,3	105	7,208	6,021
cdg-9	510,0	20	6,708	5,301
cdg-10	40,0	45	5,602	5,653
<b>média</b>	<b>842,2</b>	<b>63,5</b>	<b>6,747</b>	<b>5,752</b>
<b>desvio padrão</b>	<b>594,7</b>	<b>30,7</b>	<b>0,481</b>	<b>0,215</b>
<b>W</b>	<b>0,7328</b>	<b>0,2606</b>	<b>0,1590</b>	<b>0,7667</b>
<b>Normal?</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>	<b>sim</b>
<b>ANOVA</b>	<b>0,000998 (par)</b>		<b>0,000023 (log)</b>	
<b>Teste de mediana</b>	<b>0,0003</b>		<b>0,0003</b>	
<b>Man-Whitney</b>	<b>0,00178</b>		<b>0,00178</b>	

exemplo de cálculo de  $\log_{10}$ :  $\log 755 \cdot 10^4 = \log 755 + \log 10^4 = 2,878 + 4 = 6,878$

## Questões

- A distribuição é normal? Sim.
- Que teste usar? ANOVA ou teste t.
- O pico de parasitemia do grupo tratado é menor do que o do grupo controle? É, pois a comparação do grupo controle com o tratado com a droga DX é altamente significativa, tanto com os dados reais como com as transformações logarítmicas.

## Acompanhamento da sobrevida e da mortalidade

As curvas de sobrevida e mortalidade podem ser calculadas e expressas graficamente como demonstrado anteriormente, a partir de planilhas como a da Tabela 13. As Figura 7 e 8 mostram a representação gráfica dos resultados obtidos neste experimento, tanto para percentual de mortalidade ou sobrevida (Figura 7) como para média do tempo de sobrevida (Figura 8). A questão de interesse aqui passa a ser a comprovação estatística de se estas curvas de sobrevida são diferentes entre si ou não, e portanto se tal situação experimental é mais ou menos favorável ao hospedeiro. Para essa análise organiza-se uma base de dados com os animais individuais nas linhas e com três colunas de variáveis: o grupo (controle ou DX), o tempo de sobrevida observado para cada animal, e o indicador de dados a ser censurados, como na Tabela 14. Neste caso serão marcados como “censurados” todos os animais que não tiverem morrido, ou seja, tiverem sobrevivido ao último dia de observação do experimento (no caso, dia quarenta), ou que tiverem sido sacrificados, ou perdidos por qualquer outro motivo. Os programas de análise de sobrevida levam em consideração essa restrição.

Tabela 13 – Planilha de cálculo de mortalidade e sobrevida do experimento DX#1

DX#1: mortalidade cumulativa (%MC)							DX#1: sobrevida cumulativa (%SC)				
dpi	Cont (n=10)			DX100 (n=10)			dpi	Cont (n=10)		DX100 (n=10)	
	mi	ma	%MC	mi	ma	%MC		sobreviventes	%SC	sobreviventes	%SC
0	0	0	0	0	0	0	0	10	100	10	100
13	1	1	10	0	0	0	13	9	90	10	100
14	2	3	30	0	0	0	14	7	70	10	100
15	2	5	50	0	0	0	15	5	50	10	100
16	2	7	70	0	0	0	16	3	30	10	100
17	0	7	70	0	0	0	17	3	30	10	100
19	0	7	70	1	1	10	19	3	30	9	90
20	0	7	70	0	1	10	20	3	30	9	90
22	1	8	80	0	1	10	22	2	20	9	90
23	1	9	90	0	1	10	23	1	10	9	90
24	0	9	90	1	2	20	24	1	10	8	80
25	0	9	90	0	2	20	25	1	10	8	80
26	0	9	90	1	3	30	26	1	10	7	70
27	0	9	90	0	3	30	27	1	10	7	70
40	0	9	90	0	3	30	40	1	10	7	70
	<b>M<sub>50</sub>=15</b>			<b>M<sub>50</sub>= -</b>							
	<b>%MC=90</b>			<b>%MC=30</b>							

mi = mortalidade individual; ma = mortalidade acumulada

Tabela 14 – Análise dos dados de sobrevida do experimento DX#1

DX#1: tempo de sobrevida (TS)												
Animal	TS	Grupo	Censura	Testes aplicado para comparar Controle x DX100								
cdg-1	12	Cont	não	<b>Cont</b>	<b>média</b>	<b>15,4</b>	<b>teste</b>	<b>p</b>				
cdg-2	13	Cont	não						<b>des.pd.</b>	<b>3,4</b>	Gehan-Wilcoxon	0,00059
cdg-3	13	Cont	não								F	0,00162
cdg-4	14	Cont	não								Cox	0,00030
cdg-5	14	Cont	não								Log-rank	0,00103
cdg-6	15	Cont	não								Peto & Peto	0,00059
cdg-7	15	Cont	não									
cdg-8	21	Cont	não									
cdg-9	22	Cont	não									
cdg-1	18	DX100	não	<b>DX100</b>								
cdg-2	23	DX100	não	<b>média</b>	<b>22,3</b>							
cdg-3	26	DX100	não	<b>des.pd.</b>	<b>3,3</b>							

Para a análise de sobrevida na pesquisa biomédica utiliza-se um conjunto de testes especialmente desenvolvidos com esta finalidade, geralmente apresentado sob a forma de um módulo específico nos diferentes programas estatísticos. Esses métodos são conhecidos como “técnicas analíticas” (tabela de vida, distribuição de sobrevida e estimativa de sobrevida (TS). Nestas abordagens, alguns dados serão “censurados”. Observações censuradas podem ocorrer quando a variável em questão é o tempo até um evento terminal e a duração do estudo tem um tempo limitado. Por exemplo, limitando-se o acompanhamento da mortalidade de um grupo controle e outro tratado há quarenta dias, observamos que no grupo controle todos os animais morreram enquanto que no tratado apenas três de um total de dez animais; assim temos registrado quando morreu cada um dos animais, porém os seis animais sobreviventes são considerados observações censuradas, na medida em que não podem ser contabilizadas, pois o evento não ocorreu. Uma outra situação neste exemplo é: se algum dos animais morreu comprovadamente por uma outra causa, ele também será uma observação censurada.

Nestes programas geralmente podemos obter as seguintes informações:

- análises de tabelas de vida
- ajuste da distribuição (*fitting*)
- método de Kaplan-Meier (Produto-Limite)
- comparação de sobrevida em dois ou mais grupos
- modelos de regressão para dados censurados
- parâmetros de ajuste para estimativas

Destas opções, as que mais interessam à análise de experimentos de modulação da resistência do hospedeiro e da virulência do parasita nas infecções experimentais são: análises de tabelas de vida, o método de Kaplan-Meier e a comparação de sobrevida em dois ou mais grupos.

A *análise de tabela de vida* é um dos mais antigos testes para análise de sobrevida. Pode ser vista como uma tabela de distribuição de frequência “reforçada”. Os tempos de sobrevida são distribuídos em um certo número de intervalos e para cada intervalo é calculada a frequência de casos (animais) vivos ou mortos que entram em cada intervalo, bem como o número de casos perdidos ou censurados no respectivo intervalo. Com base nestes números e proporções, várias análises adicionais podem ser computadas: o *número de casos sob risco* (número de casos que entram vivos no respectivo intervalo, menos o número de casos censurados no respectivo intervalo); a *proporção de morte* (razão entre o número de casos mortos em cada intervalo e o número de casos sob risco no intervalo); e *proporção de sobrevida* (um menos a proporção de morte). Calcula-se também a *mediana do tempo de sobrevida* ( $M_{50}$ ), ou seja, o TS no qual a função de sobrevida cumulativa é igual a 0,5. Outros percentis ( $M_{25}$  e  $M_{75}$ ) também podem ser calculados. O *ajuste de distribuição* é usado para verificar se a distribuição de TS se dá de modo exponencial ou linear ao acaso, se segue a distribuição Weibull para eventos extremos, ou se segue a distribuição de Gompertz, os três tipos mais frequentes.

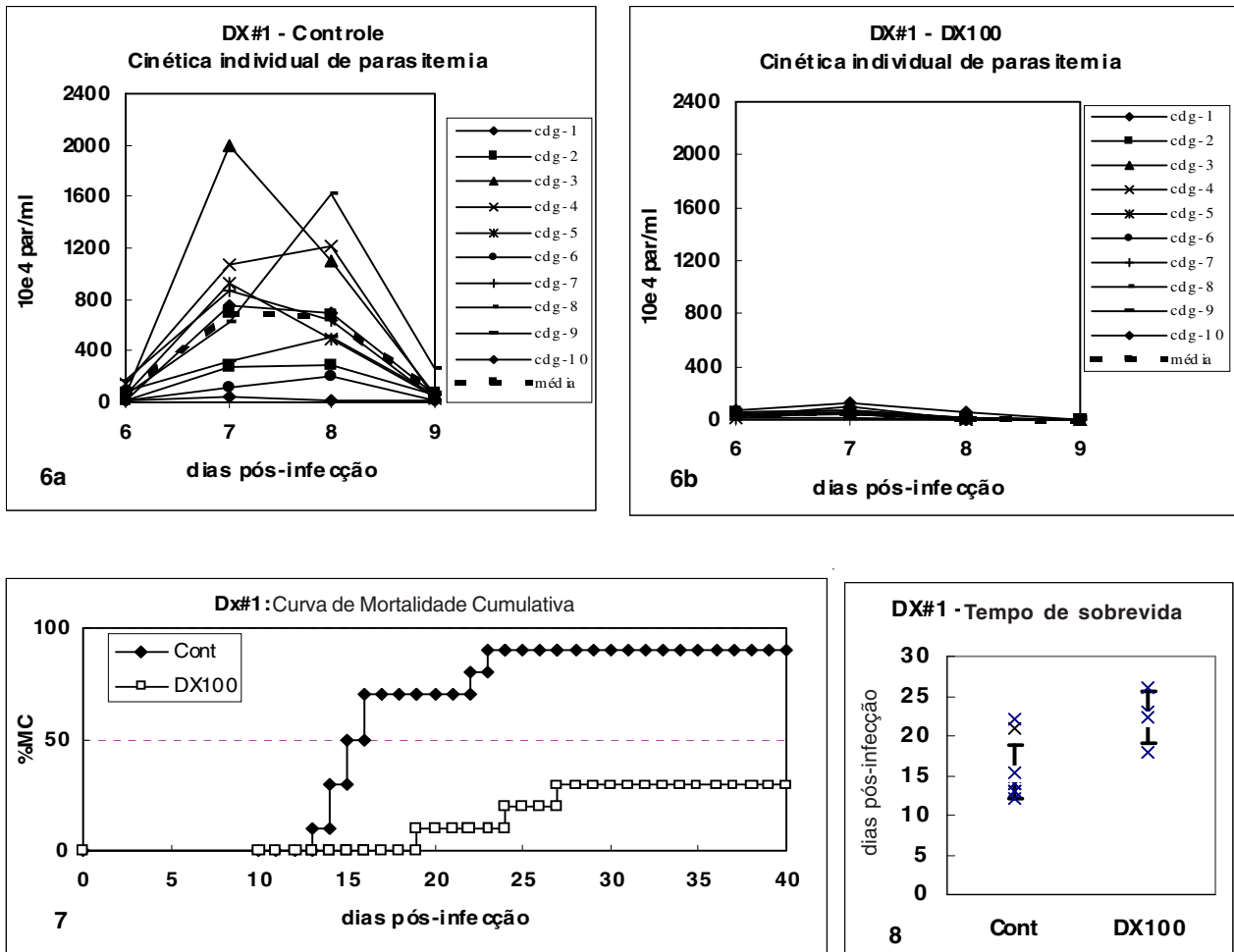
O método de Kaplan-Meier estima a função de sobrevivência diretamente a partir dos tempos contínuos de sobrevivência ou morte. A vantagem sobre a tabela de vida é que o resultado estimado não depende de agrupar os dados em certo número de intervalos de tempo.

Pelo método de comparação de duas ou mais amostras se implementam os testes de Gehan, o teste de Cox-Mantel, o teste F de Cox, o teste de Peto & Peto, e o teste *log-rank*. Em princípio, como os tempos de sobrevivência não são normalmente distribuídos, aplicam-se testes não paramétricos baseados na ordenação (*ranking*). Os testes não paramétricos são para dados censurados. A maioria destes testes além do valor de p, indica também um valor de z, que pode ser usado para cálculos de diferenças entre grupos.

Não há um guia de regras claras para a escolha de um teste em especial para uma situação particular. O teste F de Cox tende a ser mais potente que o de Gehan, quando as amostras forem pequenas ( $n < 50$ ), se seguirem uma distribuição exponencial ou então a distribuição de Weibull, e se não houver observações censuradas. O teste de Cox-Mantel e o de *log-rank* são mais poderosos (independente de censura ou não a dados) quando as amostras vêm de uma população que segue a distribuição exponencial ou a de Weibull.

Quando os dados de duas amostras forem comparados, é muito importante examinar o número de observações censuradas em cada grupo. No caso de teste de novas drogas ou terapias, nos quais o animal melhora como resultado do tratamento, e tende a sair do estudo e ser censurado, resulta em números diferentes de observações censuradas em cada grupo. Essa censura sistemática pode levar a problemas nas comparações de resultados.

No caso específico do experimento DX#1, todos os testes indicaram diferenças significativas entre os animais infectados não tratados (Cont) e os tratados com a droga X na concentração de 100 mg/kg de peso (DX100).



Figuras 6-8 – Resultados do experimento DX#1 analisando os grupos Controle e DX100: (6) curva de parasitemia; (7) curva de mortalidade cumulativa; (8) distribuição do tempo de sobrevivência (gráficos obtidos através do programa Excel para Windows)



