

ANÁLISE DE VARIÂNCIA



L.T. Gama
R.J.B. Bessa

Nota histórica

- ANOVA inicialmente proposta por Sir Ronald Fisher
 - ◆ Teste F...
 - ◆ Muitos outros métodos estatísticos
 - ◆ Publicou “Statistical Methods for Research Workers” - 1925
- Deu contributo fundamental no desenvolvimento da Genética de Populações e Quantitativa
 - ◆ Publicou “The Genetical Theory of Natural Selection” – 1930
 - ◆ Mentor da síntese evolucionista moderna (com S. Wright e J. Haldane)



Rothamsted

Every experiment may be said to exist only in order to give the facts a chance of disproving the null hypothesis.

Sir R. Fisher - The Design of Experiments, 1935

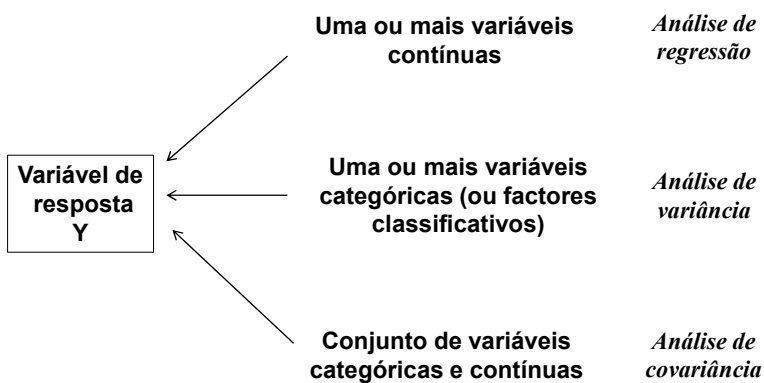
A hypothesis is an idea that can be tested and disproved but not proven.

??

Make everything as simple as possible, but no simpler.

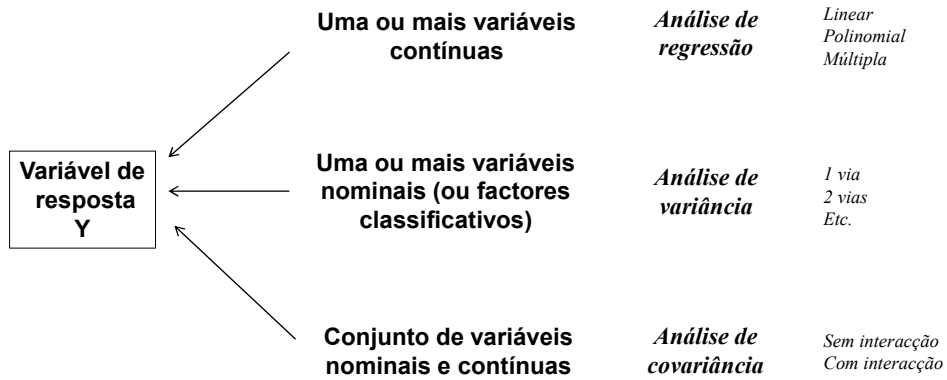
Albert Einstein

Terminologia



Mas a metodologia geral é idêntica...

Terminologia

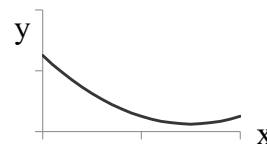


Mas a metodologia geral é idêntica...

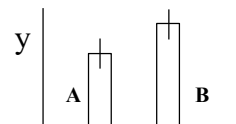
Terminologia

■ Resultados e interpretação diferentes

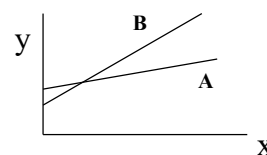
◆ Análise de regressão



◆ Análise de variância

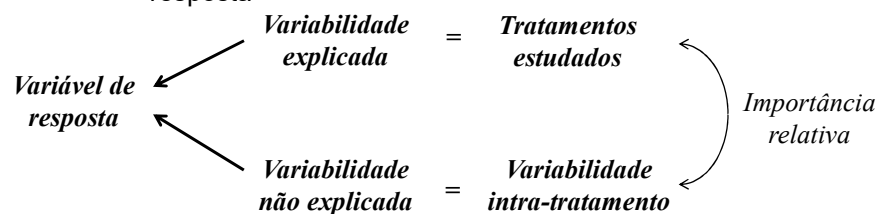


◆ Análise de covariância

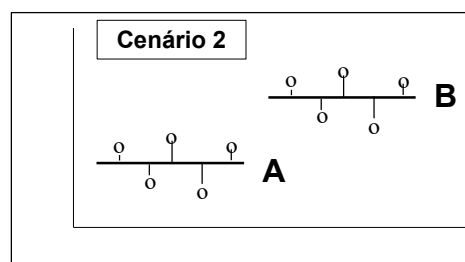
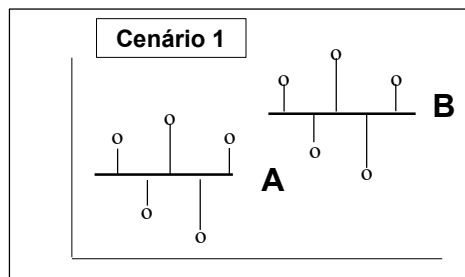


Análise de variância (ANOVA)

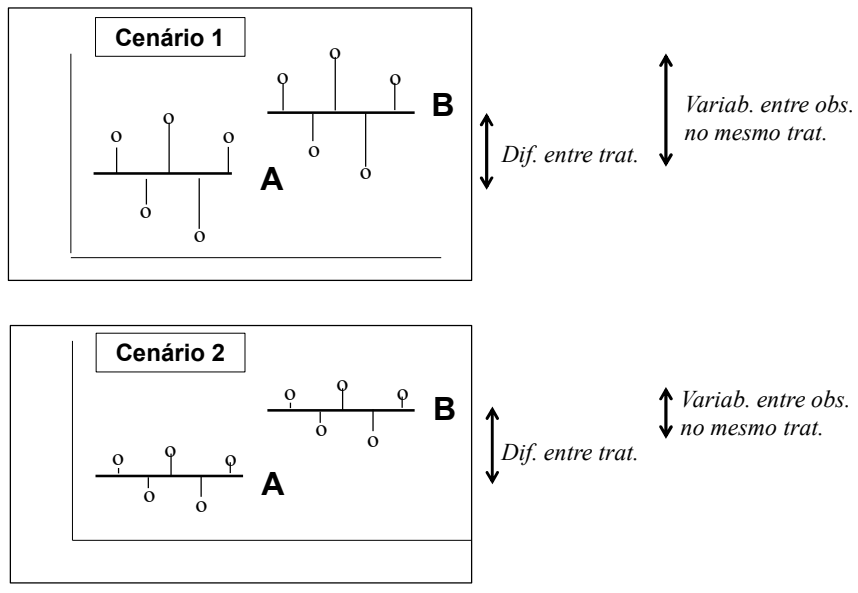
- Procedimento estatístico que permite estudar a variabilidade entre observações, considerando a influência de diferentes factores.
 - ◆ Forma mais comum de comparar as médias de diferentes tratamentos
- Objectivo
 - ◆ Saber como diferentes factores afectam uma variável de resposta



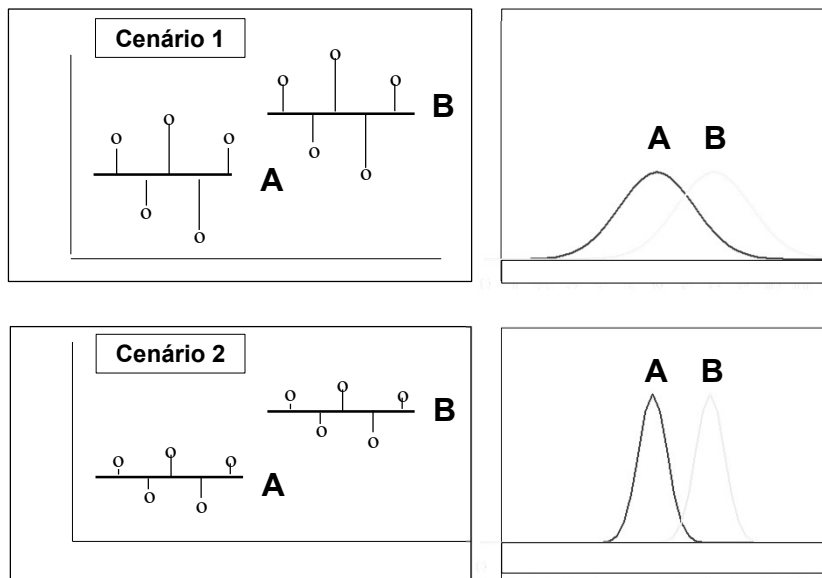
Comparação de dois tratamentos



Comparação de dois tratamentos



Comparação de dois tratamentos

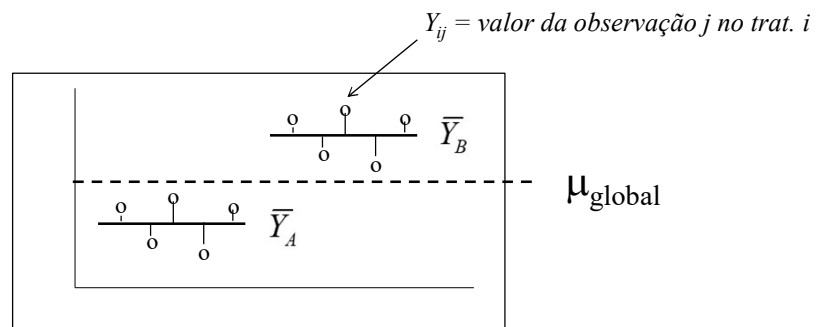


ANOVA

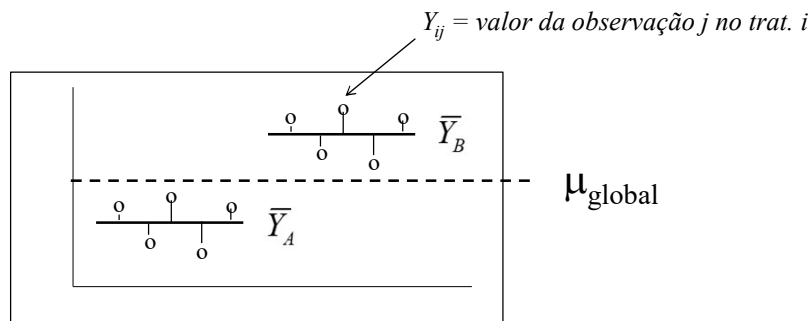
Uma via de classificação (one-way)

- Uma variável de resposta
- Um único factor de variação
 - ◆ Com diferentes níveis

Como repartir a variabilidade?



Como repartir a variabilidade?



- Desvio de uma observação em relação à média ($Y_{ij} - \mu$)

$$Y_{ij} - \mu = (\bar{Y}_i - \mu) + (Y_{ij} - \bar{Y}_i)$$

$\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Desvio de } \mu}$
 $\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Ef. do trat.}} \tau_i$
 $\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Desvio residual}} e_{ij}$

Como repartir a variabilidade?

- Desvio de uma observação em relação à média ($Y_{ij} - \mu$)

$$Y_{ij} - \mu = (\bar{Y}_i - \mu) + (Y_{ij} - \bar{Y}_i)$$

$\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Desvio de } \mu}$
 $\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Ef. do trat.}} \tau_i$
 $\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Desvio residual}} e_{ij}$

$$Y_{ij} = \mu + (\bar{Y}_i - \mu) + (Y_{ij} - \bar{Y}_i)$$

$\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Ef. do trat.}} \tau_i$
 $\underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Desvio residual}} e_{ij}$

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

ANOVA

■ Modelo linear

- ◆ Admitindo uma via de classificação

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

- ◆ i.e., uma observação resulta do efeito cumulativo de:
 - Média global (μ)
 - Efeito do tratamento (τ_i)
 - Desvio residual (e_{ij})

Porquê ANOVA?

■ Se a comparação é entre dois tratamentos

- ◆ $H_0: \mu_A = \mu_B$; $H_A: \mu_A \neq \mu_B$

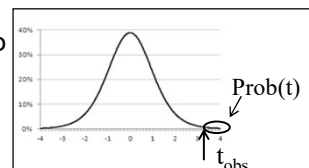
- ◆ T-teste

- Visto anteriormente

- a)
$$t_{obs} = \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{\sqrt{\frac{2s^2}{n}}}$$

- b1) Comparar com $t_{crít.}$ tabelado

- b2) Obter P-value do t_{obs} .



Porquê ANOVA?

■ Se a comparação for de mais de 2 tratamentos

- ◆ Seria tentador realizar comparações 2 a 2 (t-teste)
- ◆ Contudo, a Prob. Erro tipo I global seria maior que o α pré-determinado
 - Exemplo: 4 tratamentos (A, B, C, D)
 - Há 6 comparações possíveis
 - AB, AC, AD, BC, BD, CD
 - Probabilidade de que pelo menos uma das comparações na experiência resulte num erro do tipo I
 - $\alpha_{\text{exp}} = 1 - (1 - \alpha)^c$ $c = n^\circ$ comparações
 - Neste caso, com $\alpha = 0.05$ e $c = 6$
 - $\alpha_{\text{exp}} = 0.265$

Relembrando

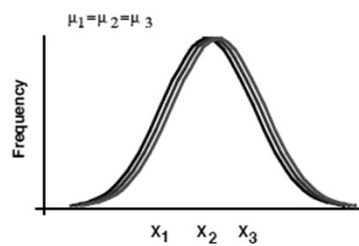
- A type I error (false-positive) occurs if an investigator rejects a null hypothesis that is actually true in the population;
- a type II error (false-negative) occurs if the investigator fails to reject a null hypothesis that is actually false in the population.

Porquê ANOVA?

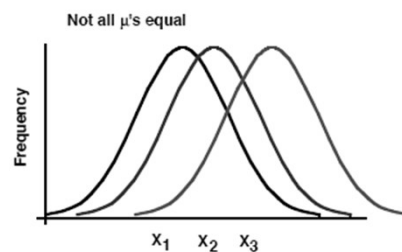
■ Se a comparação for de mais de 2 tratamentos

- ◆ Alternativa mais correcta (+conservadora?)
- ◆ Comparar
 - Variabilidade entre tratamentos
 - Variabilidade dentro dos tratamentos
- ◆ Teste de Hipóteses
 - $H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C$
 - H_A : pelo menos uma diferença entre médias
 - Outros testes permitem identificar quais médias diferem

Teste de hipóteses

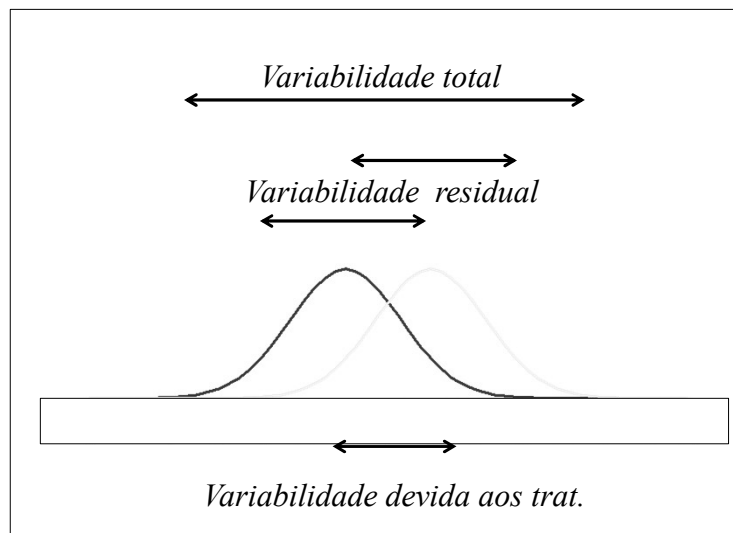


$$H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C$$

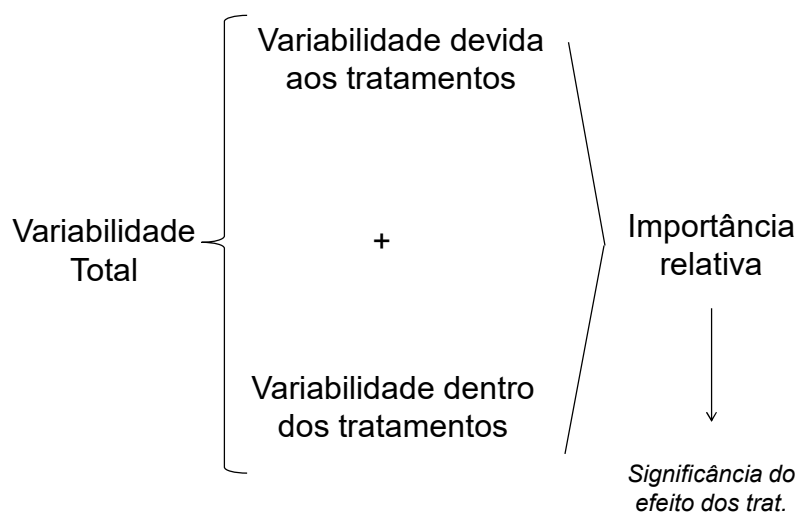


H_A : pelo menos uma
diferença entre médias

Repartição da variabilidade total



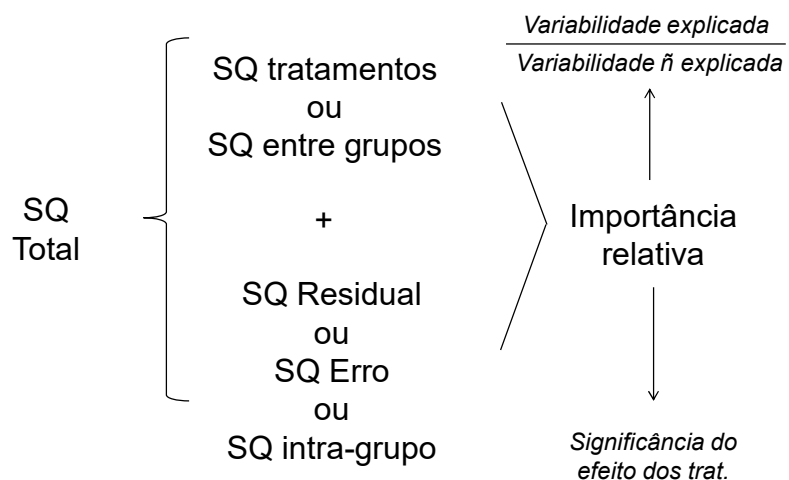
Repartição da variabilidade total



Repartição da variabilidade total



Repartição da variabilidade total



Terminologia

- Variabilidade total = variância total de y

$$SQ \text{ Total} \left\{ \begin{array}{l} SQ \text{ Trat} \longrightarrow MQ \text{ Trat} = \frac{SQ \text{ Trat}}{g.l. \text{ trat}} \\ + \\ SQ \text{ Erro} \longrightarrow MQ \text{ Erro} = \frac{SQ \text{ Erro}}{g.l. \text{ erro}} \end{array} \right.$$

Repartição da variabilidade total

$$SQ \text{ Total} \left\{ \begin{array}{l} SQ \text{ Tratamentos} \xrightarrow{/ glt} MQ \text{ Trat.} \\ + \\ SQ \text{ Erro} \xrightarrow{/ gle} MQ \text{ Erro} \end{array} \right. \quad F = \frac{MQ \text{ Trat}}{MQ \text{ Erro}}$$

$\sum (Y - \bar{Y})^2$

Repartição da variabilidade total

■ Tabela ANOVA

Fonte de variação	g.l.	Soma de Quadrados	Média de Quadrados	F
Tratamentos	t-1	$SQ_{Trat} = \sum (\bar{y}_i - \bar{y}_{..})^2$	$MQ_{Trat} = \frac{SQ_{Trat}}{t-1}$	$F = \frac{MQ_{Trat}}{MQ_{Erro}}$
Resíduo	t(n-1)	$SQ_{Erro} = \sum (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$MQ_{Erro} = \frac{SQ_{Erro}}{t(n-1)}$	
Total	tn-1	$SQ_{Total} = \sum (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2$		

$t = n^\circ$ tratamentos
 $n = n^\circ$ observ./trat.

$y_{ij} =$ valor da observ. indiv.
 $\bar{y}_i =$ média do trat. i $\bar{y}_{..} =$ média global

ANOVA

- Recordar:

$$s_y^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n-1} = \frac{\sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{n}}{n-1}$$

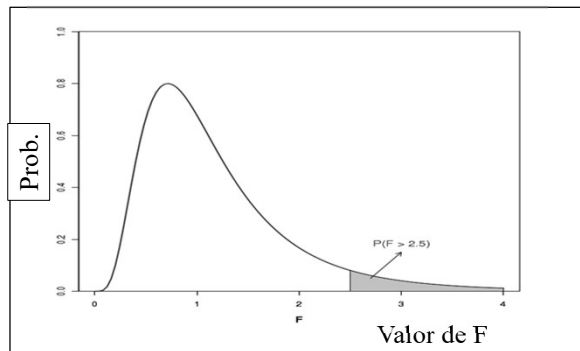
- Como a SQTot corresponde ao numerador de s_y^2

$$SQT = \sum (y_{ij} - \bar{y})^2 = \left(\underbrace{\sum y_{ij}^2}_{\Sigma \text{ obs. ao quadrado}} - \underbrace{\frac{(\sum y_{ij})^2}{n}}_{\text{Correcção para a média}} \right)$$

ANOVA

- Quociente de duas variâncias $\frac{MQ_{Trat}}{MQ_{Erro}}$

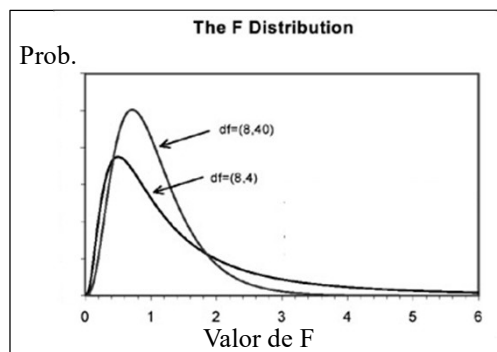
- ◆ Tem distribuição F
 - Forma geral da distribuição F



ANOVA

- Quociente de duas variâncias $\frac{MQ_{Trat}}{MQ_{Erro}}$

- ◆ No entanto a distribuição F...
 - Forma da distribuição F depende de $\frac{gl_{Trat}}{gl_{Erro}}$



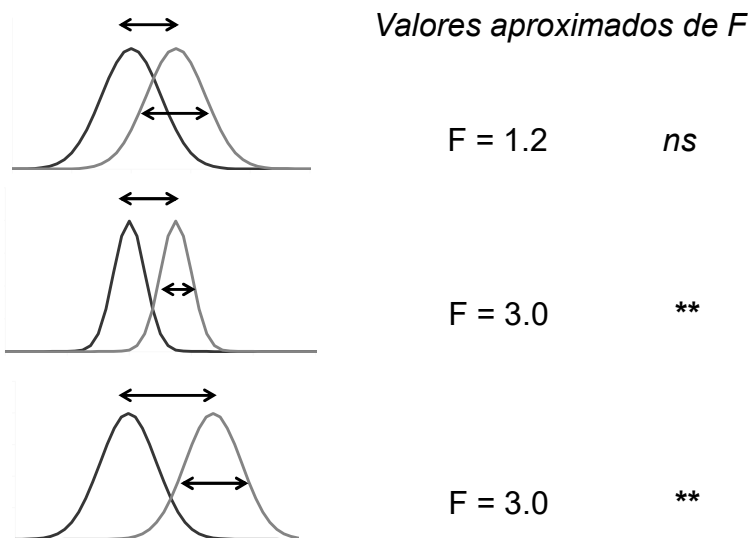
Distribuição F

- Valor de F é tanto maior quando o numerador aumenta em relação ao denominador, i.e. :

quando $\frac{\text{Variabilidade entre Tratamentos}}{\text{Variabilidade Residual}}$ aumenta

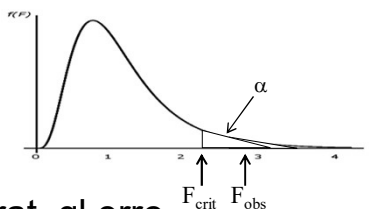
- Se não existir qualquer efeito dos tratamentos em estudo, o valor de F será ~ 1 .
 - ◆ Significa que os vários tratamentos provêm de uma mesma população, e diferem apenas devido à amostragem

Distribuição das observações para tratamentos A e B



Teste de significância

- Calcular F_{obs}
- Alternativa 1
 - ◆ Obter $F_{crít}$ para α , gl trat, gl erro
 - ◆ Se $F_{obs} > F_{crít}$ então rejeitar H_0



Valores críticos Distribuição F

Table A.6* F-Distribution Probability Table

$\alpha = 0.05$

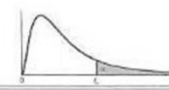


Table A.6* Critical Values of the F-Distribution

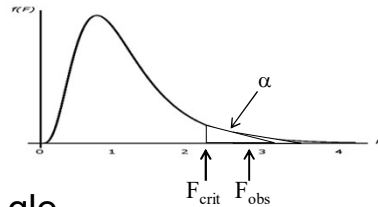
df denominador →	v_2	$f_{0.05}(v_1, v_2)$ df numerador								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54
2	1	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	1	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	1	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	1	6.61	5.79	5.11	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	1	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	1	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	1	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	1	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	1	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	1	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	1	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	1	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	1	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	1	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	1	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	1	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	1	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	1	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	1	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	1	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	1	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	1	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	1	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	1	4.21	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	1	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	1	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	1	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	1	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	1	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	1	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	1	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	1	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96
∞	1	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

Teste de significância

- Calcular F_{obs}

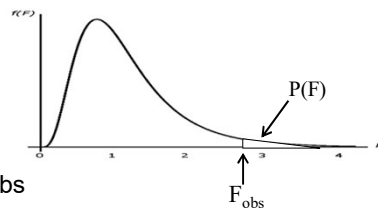
- Alternativa 1

- ◆ Obter $F_{crít}$ para α , glt, gle
- ◆ Se $F_{obs} > F_{crít}$ então rejeitar H_0



- Alternativa 2

- ◆ Obter P-value para F_{obs}
- ◆ Se $P(F) < \alpha$, então rejeitar H_0



Resultados da ANOVA

- F não significativo

- ◆ Falhamos rejeição de H_0
 - Globalmente médias não diferem
 - Acabou a análise!!!

- F significativo

- ◆ Pelo menos 2 médias diferem
 - Quais???
 - Testes de comparações múltiplas
 - Testes post-hoc
 - Contrastes ortogonais

ANOVA - Síntese

■ 1. Modelo Linear

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

■ 2. Definir teste de Hipóteses

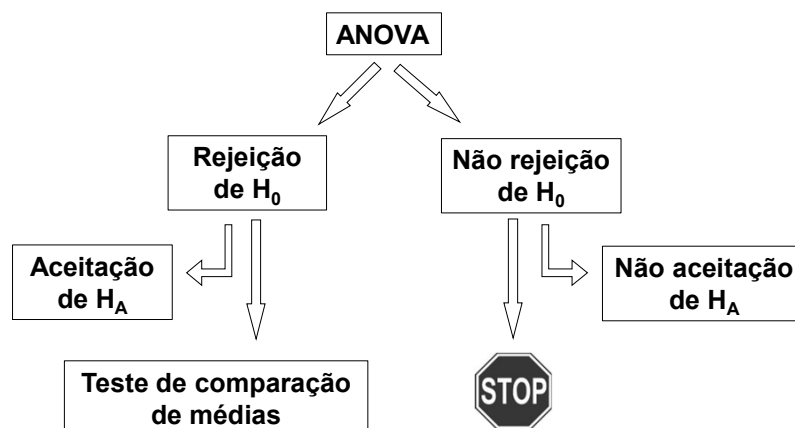
- ◆ $H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C$
- ◆ H_A : pelo menos uma diferença entre médias

■ 3. Realizar ANOVA

ANOVA - Síntese

■ 4. Resultados da ANOVA

- ◆ Testar H_0 - Função de α e g.l.



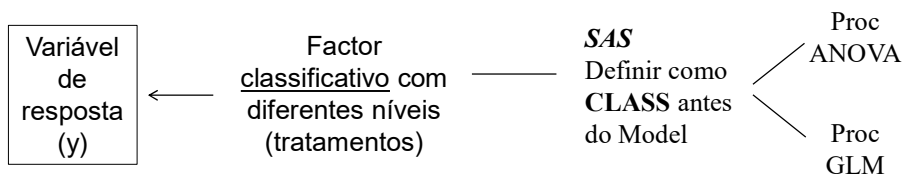
ANOVA

■ Pressupostos

- ◆ Amostragem foi aleatória e tratamentos atribuídos aleatoriamente
- ◆ Observações em cada tratamento têm distribuição normal
- ◆ Resíduos têm distribuição normal e igual em todos os tratamentos
 - $e_{ij} \sim N(0, \sigma_e^2)$ – “Erros são homoscedásticos”
- ◆ Pressuposto inicial: H_0 é verdadeira
 - tentar encontrar evidência em contrário

Software para ANOVA

■ Em qualquer caso há que definir modelo



Software para ANOVA

■ SAS

- ◆ Proc ANOVA
 - Apenas para dados balanceados
- ◆ Proc GLM
 - Mais flexível
 - (Tb Proc Mixed ou Proc Glimmix)
- Indispensável definir quais são os factores classificativos ou descontínuos

Proc GLM; **class A;**

Model y = **A;**

Software para ANOVA

■ SAS - Exemplo

Data a;

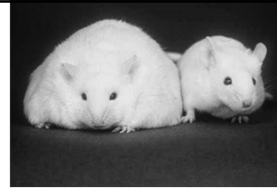
...

Proc GLM; Class A;

Model y = A;

LSMeans A / *opções;*

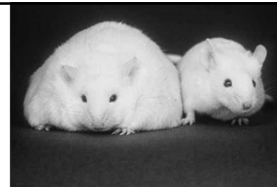
Exemplo



■ Avaliação da cardiotoxicidade do isoproterenol em ratinhos obesos

- ◆ Duas estirpes de ratinhos (Ob e BALB/c)
- ◆ Isoproterenol
 - agente β -agonista capaz de induzir enfarte
 - injectado a 10 animais de cada estirpe (1 mg/kg)
- ◆ Isquemia do miocárdio avaliada pela concentração de troponina cardíaca I às 8 h

Exemplo - Resultados



Rato	Estirpe	Conc_troponina (ng/ml)
1	BALB	5
2	BALB	4
3	BALB	6
4	BALB	4
5	BALB	5
6	BALB	8
7	BALB	6
8	BALB	5
9	BALB	7
10	BALB	4
11	OB	8
12	OB	7
13	OB	8
14	OB	9
15	OB	6
16	OB	10
17	OB	7
18	OB	5
19	OB	6
20	OB	8

10_ratos_obesos.xls

Ponto prévio

- Antes de proceder a qualquer análise, devemos assegurar-nos da “normalidade” dos dados
 - ◆ SAS – Proc Univariate
- Neste caso, como são muito poucas observações e simuladas, dispensamos

Confirmar que tudo bate certo

	gl	SQ	MQ	F	P(F)
Tratamentos	1	20.0	20.000	9.783	0.006
Erro	18	36.8	2.044		
Total	19	56.8			$R^2 = 0.352$

- g.l.
- Diferenças das SQ
- MQ
- F
- R^2

Resultados SAS - GLM

The GLM Procedure
Dependent Variable: conc_trop

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	20.00000000	20.00000000	9.78	0.0058
Error	18	36.80000000	2.04444444		
Corrected Total	19	56.80000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	conc_trop Mean
0.352113	22.34126	1.429841	6.400000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
estirpe	1	20.00000000	20.00000000	9.78	0.0058

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
estirpe	1	20.00000000	20.00000000	9.78	0.0058

o SAS dá-nos também:

- DPR = 1.43
- CVR = 22.3%

Alternativa...

- Neste caso existiam apenas 2 tratamentos, pelo que um t-teste deveria dar o mesmo resultado
- Confirmação no SAS
 - ◆ **proc ttest;** class estirpe;
 - ◆ var conc_trop;
 - ◆ **run;**
- Output (lixo apagado)

■ The TTEST Procedure

■ Variable: conc_trop

estirpe	N	Mean	Std Dev	Std Err
BALB	10	5.4000	1.3499	0.4269
OB	10	7.4000	1.5055	0.4761
Diff (1-2)		-2.0000	1.4298	0.6394

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	18	-3.13	0.0058

Conclusões (preliminares)

- As estirpes diferem significativamente
 - ◆ $P=0.006$
 - ◆ Ainda assim, estirpe explica apenas $\sim 1/3$ da variabilidade observada
 - ◆ Desvio-padrão da [troponina] em animais da mesma estirpe é de 1.43 ng/ml
- Qual a magnitude da diferença entre estirpes?
 - ◆ Próxima etapa!

Exemplo 2

- Influência de duas celulases recombinantes (A e B) na eficiência alimentar em frangos



- Ensaio até aos 45 d com dieta padrão
- 8 frangos/jaula; 10 jaulas/trat.
- Grupos
 - ◆ Controle
 - ◆ Enzima A
 - ◆ Enzima B
- Medido índice de conversão/jaula



Exemplo 2

11_celulases.xls

■ Resultados

Jaula	Trat	IC	Jaula	Trat	IC	Jaula	Trat	IC
1	C	2.2	11	A	1.8	21	B	1.8
2	C	1.9	12	A	1.7	22	B	1.7
3	C	2	13	A	2.1	23	B	1.6
4	C	2.3	14	A	1.9	24	B	1.9
5	C	2	15	A	2	25	B	1.9
6	C	1.9	16	A	1.7	26	B	1.7
7	C	1.8	17	A	1.9	27	B	1.9
8	C	2.1	18	A	1.8	28	B	1.8
9	C	2.3	19	A	1.6	29	B	1.9
10	C	2	20	A	1.7	30	B	1.7

Teste de Hipóteses e Programa

■ Teste de Hipóteses

- $H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C$
- H_A : pelo menos uma diferença entre médias

■ Programa – Fase 1

```
data a;
input Jaula Trat$ IC;
cards;
1      C      2.2
2      C      1.9
...
29     B      1.9
30     B      1.7
;
proc glm; class trat;
model ic=trat;
run;
```

SAS - Output

Dependent Variable: IC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.40466667	0.20233333	9.26	0.0009
Error	27	0.59000000	0.02185185		
Corrected Total	29	0.99466667			

R-Square Coeff Var Root MSE IC Mean
 0.406836 7.835179 0.147824 1.886667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Trat	2	0.40466667	0.20233333	9.26	0.0009

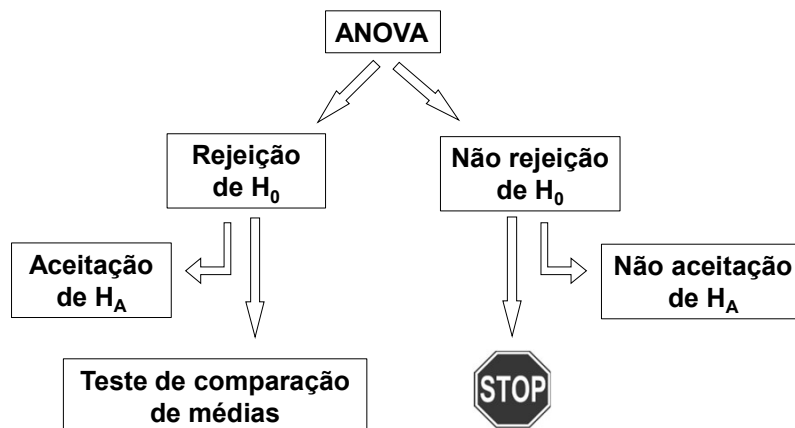
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Trat	2	0.40466667	0.20233333	9.26	0.0009

*Há diferença entre os tratamentos
 Mas não sabemos (ainda) qual difere de qual*

ANOVA - Síntese

■ Resultados da ANOVA

- ◆ Testar H_0 - Função de α e g.l.



SAS – Programa Fase 2

■ Obtenção de médias (e SE) por tratamento

```

proc glm; class trat;
model ic=trat;
lsmeans trat/stderr pdiff;

```

Médias ajustadas →
Pede SE →
Pede comparação de médias →

SAS – Programa Fase 2

■ Obtenção de médias (e SE) por tratamento

```

proc glm; class trat;
model ic=trat;
lsmeans trat/stderr pdiff;

```

Médias ajustadas →
Pede SE →
Pede comparação de médias →

Trat	IC LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
A	1.82000000	0.04674596	<.0001	1
B	1.79000000	0.04674596	<.0001	2
C	2.05000000	0.04674596	<.0001	3

Least Squares Means for effect Trat
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: IC

i/j	1	2	3
1		0.6536	0.0017
2	0.6536		0.0005
3	0.0017	0.0005	

Quais diferem de quais

Comparação das LSMeans

■ Conversão de PDIFF em superscripts

- ◆ À mão...
- ◆ Software de ajuda – incluir “lines” na linha dos lsmeans

```
lsmeans trat/stderr pdiff lines;
```

Comparação das LSMeans

■ Quais diferem de quais?...

■ Opção **Lines** faz comparação de médias e dá superscripts

- ◆ Assume $\alpha = 0.05$; pode mudar-se com alpha=...
- ◆ No exemplo
 - `proc glm; class trat;`
 - `model ic=trat;`
 - `lsmeans trat/stderr pdiff lines;`

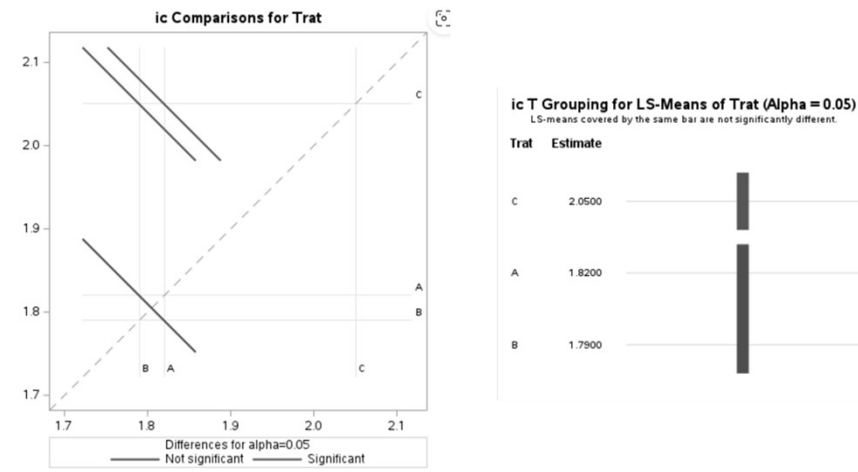
◆ Resultado

T Comparison Lines for Least Squares Means of trat
LS-means with the same letter are not significantly different.

	ic LSMEAN	trat	LSMEAN Number
A	2.05	C	3
B	1.82	A	1
B	1.79	B	2

Comparação das LSMeans

■ SAS 9.3 - *Diffogram*



Alguns detalhes

- Confirmar SQ e gl
- Médias (ajustadas) por tratamento

$$\bar{X}_A = \frac{1.8 + 1.7 + \dots + 1.7}{10} = 1.82$$

$$\bar{X}_C = \frac{2.2 + 1.9 + \dots + 2.0}{10} = 2.05$$

- $DPR = \sqrt{MQE} = \sqrt{0.02185} = 0.1478$

- De onde vem o EP (EPM, SE, SEM, etc.)?

$$EP = \frac{DPR}{\sqrt{n}} = \frac{0.1478}{\sqrt{10}} = 0.0467$$

Apresentação dos resultados

- Efeito da adição de celulases A e B na eficiência alimentar de frangos

- ◆ Significância do efeito do tratamento

- $P(F) = 0.0009$

- ◆ Médias por tratamento

Trat.	Média
Controle	2.05 ^a
Celulase A	1.82 ^b
Celulase B	1.79 ^b
EP	0.047

Médias com letra diferente diferem para $P < 0.05$

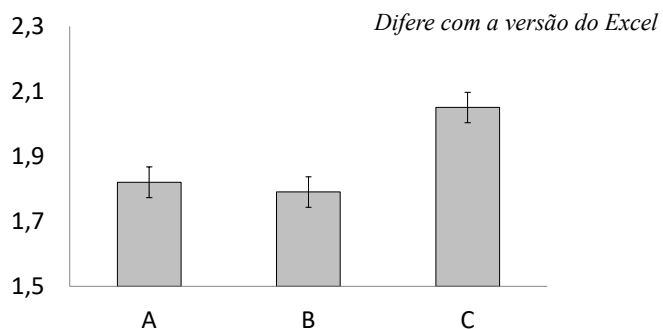
Apresentação dos resultados

- Efeito da adição de celulases A e B na eficiência alimentar de frangos

- Apresentação gráfica

- ◆ Gráfico no Excel

- ◆ SE colocado em coluna; escolhido em "Format data series"



Testes de comparação de médias

- ◆ Se (e só se...) os resultados do teste F foram significativos
 - Rejeitamos H_0
- ◆ Quais são então as médias que diferem?

Comparação de Médias

■ Comparações *a priori* ou *a posteriori*

A priori Contrastes	A posteriori Post hoc
Testam médias ou grupos de médias	Testam pares de médias
Testam tendências (lin., quad., etc.)	Não
Testam interações	Não
Erro experimental controlado	Controle do erro depende do teste escolhido
Não consegue fazer todas as comparações de médias	Sim, mas em princípio deveriam ser usadas para comparar médias independentes

Comparação de Médias

■ 1. Comparações *a priori*

◆ Contrastes ortogonais

- ◆ Combinações lineares das médias dos trats., que permitem “desagregar” a variabilidade observada
 - Ortogonalidade = independência das comparações

◆ Regras

- Soma dos coef. usados = 0
- Tantos contrastes possíveis quantos os g.l. trat.
- Se forem bem construídos (=ortogonais) a SQ Trat é repartida na SQ dos vários contrastes
- Exemplo com 3 tratamentos (g.l.trat = 2)

		Coeficientes			SQ	} SQT
		A	B	C		
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	SQ1	} SQT
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1		SQ2	

Contrastes ortogonais

- O que justifica as diferenças encontradas entre tratamentos na ANOVA?

◆ 2 comparações de interesse

• Média das 2 celulases vs. Controle

$$\frac{1}{2}(\bar{X}_A + \bar{X}_B) = \bar{X}_C \Rightarrow 0.5\bar{X}_A + 0.5\bar{X}_B - \bar{X}_C = 0$$

• Celulase A vs. Celulase B

$$\bar{X}_A = \bar{X}_B \Rightarrow 1\bar{X}_A - 1\bar{X}_B + 0\bar{X}_C = 0$$

		Coeficientes			SQ	} SQT
		A	B	C		
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	SQ1	} SQT
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1		SQ2	

Comparação de Médias

◆ Contrastes ortogonais

- Exemplo considerado

		Coeficientes			SQ	} SQT
		A	B	C		
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	SQ1	
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1	0	SQ2	

- O que estamos a testar? H_0

Contraste 1 $H_0 : \frac{1}{2}(\mu_A + \mu_B) = \mu_C$

Contraste 2 $H_0 : \mu_A = \mu_B$

Verificar se os contrastes são ortogonais

		Coeficientes			
		A	B	C	soma
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	0
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1	0	0
verificação	C1 x C2	0.5	-0,5	0	0

		Coeficientes			
		A	B	C	soma
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	0
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1	0	0
Contraste 3	<i>A vs Média de B e C</i>	0.5	-0.5	0	0
verificação	C1xC2xC3				

Verificar se os contrastes são ortogonais

		Coeficientes			
		A	B	C	soma
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	0
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1	0	0
verificação	<i>C1 x C2</i>	0.5	-0,5	0	0

		Coeficientes			
		A	B	C	soma
Contraste 1	<i>C vs. Média de A e B</i>	0.5	0.5	-1	0
Contraste 2	<i>A vs. B</i>	1	-1	0	0
Contraste 3	<i>A vs Média de B e C</i>	1	-0.5	-0.5	0
verificação	<i>C1xC2xC3</i>	0.5	0.25	0	0.75

Comparação de Médias

◆ Contrastos ortogonais polinomiais

- Outra possibilidade é utilizar contrastes para testar efeitos linear, quadrático, etc.
- Possível se os tratamentos reflectirem níveis crescentes de determinado factor

Nº trat.	Polinómio	Coeficientes dos tratamentos			
		T1	T2	T3	T4
2	<i>Linear</i>	-1	1		
3	<i>Linear</i>	-1	0	1	
	<i>Quadrático</i>	1	-2	1	
4	<i>Linear</i>	-3	-1	1	3
	<i>Quadrático</i>	1	-1	-1	1
	<i>Cúbico</i>	-1	3	-3	1

Comparação de Médias

■ Contrastes ortogonais

- ◆ Definição no SAS – 2 formas
 - *Contrast* (para obter SQ)
 - *Estimate* (para obter valores estimados)

- ◆ Formato

- Contrast 'nome' efeito coeficientes
- Estimate 'nome' efeito coeficientes

Nome do factor a estudar
(p.e. trat)

Coefficiente a aplicar a cada nível do factor
(sequenciado por ordem alfabética)

- Estimate 'C_vs_media_AB' Trat -0.5 -0.5 1;

Contrastes ortogonais

■ O que justifica as diferenças encontradas entre tratamentos na ANOVA?

- ◆ 2 comparações de interesse
 - **Média das 2 celulases vs. Controle**

$$\frac{1}{2}(\bar{X}_A + \bar{X}_B) = \bar{X}_C \Rightarrow 0.5 \bar{X}_A + 0.5 \bar{X}_B - \bar{X}_C = 0$$

- **Celulase A vs. Celulase B**

$$\bar{X}_A = \bar{X}_B \Rightarrow 1\bar{X}_A - 1\bar{X}_B + 0\bar{X}_C = 0$$

Contrastes ortogonais

■ Como definir no SAS?

- ◆ `proc glm; class trat;`
- ◆ `model ic=trat;`
- ◆ `lsmeans trat/stderr pdiff;`
- ◆ `contrast 'celAB_control' trat 0.5 0.5 -1;`
- ◆ `contrast 'celA_celB' trat 1 -1 0;`
- ◆ `estimate 'celAB_control' trat 0.5 0.5 -1;`
- ◆ `estimate 'celA_celB' trat 1 -1 0;`
- ◆ `run;`

$\Sigma = \text{SQTrat} = 0.4046$

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
celAB_control	1	0.40016667	0.40016667	18.31	0.0002
celA_celB	1	0.00450000	0.00450000	0.21	0.6536

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
celAB_control	-0.24500000	0.05725188	-4.28	0.0002
celA_celB	0.03000000	0.06610878	0.45	0.6536

Médias no SAS

■ Means vs. LSMeans

- ◆ As Means correspondem às médias “brutas”, i.e., soma das observações dividida por n
- ◆ As LSMeans correspondem às médias ajustadas para determinado factor tendo em conta os outros factores considerados no modelo.
- ◆ Frequentemente as Means e LSMeans são iguais. No entanto não são se:
 - Os tratamentos não estiverem balanceados (i.e., nº obs. diferente)
 - Existirem factores descontínuos e contínuos no modelo (ANCOVA)

Médias no SAS

■ Means vs. LSMeans

◆ Exemplo

- Factorial A (2 níveis) e B (3 níveis)
- N° observações para as combinações

	A1	A2
B1	20	20
B2	20	20
B3	20	5

- ◆ A **Mean** para A2 é calculada pela média das 45 observ., portanto com menor ponderação para B3
- ◆ A **LSMean** para A2 é calculada considerando a média das células que incluem combinações de A2 com B1, B2 e B3 como se eles estivessem balanceados

■ Conclusão

- ◆ Se os dados forem balanceados usar Means
- ◆ Se forem não balanceados usar LSMeans

(na prática usar sempre o LSMEANS)

Comparação de Médias

■ Comparações *a priori* ou *a posteriori*

A priori <i>Contrastes</i>	A posteriori <i>Post hoc</i>
Testam médias ou grupos de médias	Testam pares de médias
Testam tendências (lin., quad., etc.)	Não
Testam interações	Não
Erro experimental controlado	Controle do erro depende do teste escolhido
Não consegue fazer todas as comparações de médias	Sim, mas em princípio deveriam ser usadas para comparar médias independentes

Comparação de Médias

- 2. Comparações *a posteriori* ou *post-hoc*
 - ◆ Comparações múltiplas
- Diferentes testes disponíveis:
 - ◆ Têm diferentes propriedades
 - ◆ Diferente nível de controle da possibilidade de erros tipo I e II nas comparações
 - ◆ Necessidade de garantir que o teste usado respeita o α para o total das comparações
 - Risco sério de serem declaradas diferenças que não o são realmente (erro tipo I)

Comparação de médias no SAS

- Principais testes post hoc
 - ◆ **t** ou **LSD** – faz teste t de todas as combinações de médias; é o default no SAS.
 - ◆ **Bonferroni** – em vez de comparar P com α , compara com α/n (em que n é o nº comparações)
 - ◆ **Scheffé** - Critério de comparação de médias construído a partir da distribuição F
 - ◆ **Tukey** – Distribuição própria. Extremamente conservador. A escala de comparação de duas médias é tanto mais exigente quanto mais afastadas elas estiverem.
 - ◆ **Dunnnett** – delineado especificamente para comparar vários tratamentos com um grupo controle

Comparação de médias no SAS

Teste	Tipo de comparação ¹	Mean	LSMean
Student t	MC	t	PDIFF ADJUST=T ²
Duncan	M	DUNCAN	
SNK	M	SNK	
Tukey	M	TUKEY	PDIFF ADJUST=TUKEY
Bonferroni	MC	BON	PDIFF ADJUST=BON
Scheffé	MC	SCHEFFE	PDIFF ADJUST=SCHEFFE
Dunnett	C	DUNNETT	PDIFF ADJUST=DUNNETT

¹ M = Comparação entre médias
C = comparação com grupo controle

² Default se nada for especificado

Formato e opções no SAS

- **Comparação de Médias**
- **proc glm**; class trat; model ic=trat;
- lsmeans trat/s p; ← *Default*
- lsmeans trat/pdiff adjust=t;
- lsmeans trat/pdiff adjust=tukey;
- lsmeans trat/pdiff adjust=bon; ↙ *Especifica qual é o grupo controle*
- lsmeans trat/pdiff=control ('C') adjust=dunnett;
- **run**;

- **Contrastes**
- **proc glm**; class trat; model ic=trat;
- contrast 'celAB_control' trat **0.5 0.5 -1**;
- contrast 'celA_celB' trat **1 -1 0**;
- estimate 'celAB_control' trat **0.5 0.5 -1**;
- estimate 'celA_celB' trat **1 -1 0**;
- **run**;

Comparação de médias

■ Resultados obtidos

P-value					
Médias	Diferença	LSD	Tukey	Bonferroni	Dunnett
A-B	0.03	0.6536	0.8931	1.000	-
A-C	-0.23	0.0017	0.0047	0.0052	0.0033
B-C	-0.26	0.0005	0.0015	0.0016	0.0010

Formato e opções das LSMeans

■ SAS

- ◆ Definição de qual é e comparação com uma linha controle

- `proc glm; class A B;`
- `model y = A B A*B;`
- `lsmeans A*B /pdiff=control ('1' '1') adjust=dunnett;`

em que A=1 e B=1 é o grupo controle

Exemplo

- Eficácia de 4 estratégias de controle de nemátodes GI em borregos (5 animais/trat.)
 - Placebo (CONT)
 - Fenbendazol (FBZ)
 - Ivermectina (IVM)
 - Nicotina extraída com metanol da planta do tabaco (NIC)

12_parasitas.xls

- ◆ Resultados

- EPG 5 d após tratamento (desvio em relação ao valor inicial)

Ovos/g fezes
↗

CONT	FBZ	IVM	NIC
100	875	850	700
-50	725	700	450
-130	645	620	520
20	795	770	620
200	975	950	580

Exemplo

- Analise
- Interprete
- Apresente

