

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UFRB

Orientações para cálculo e justificativa do número de repetições e do tamanho amostral em pesquisas com animais[[1]](#footnote-2)

*Carlos Eduardo Crispim de Oliveira Ramos\*; Fabiane de Lima Silva\**

\* Docentes do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas da UFRB, Membros da CEUA/UFRB. carlosramos@ufrb.edu.br ; fabianesilva@ufrb.edu.br

Conteúdo

[PREÂMBULO 1](#_Toc477278507)

[AS DÚVIDAS NO PREENCHIMENTO DO FORMULÁRIO CEUA QUANTO AO PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM 2](#_Toc477278508)

[1. Justificativa baseada em literatura 3](#_Toc477278509)

[2. Confundir planejamento experimental com análise de dados 4](#_Toc477278510)

[3. Marcar a opção “Não [ ]” e não justificar 4](#_Toc477278511)

[Referencial teórico 5](#_Toc477278512)

[APÊNDICES E MATERIAL COMPLEMENTAR 6](#_Toc477278513)

[I. Apêndice 01 6](#_Toc477278514)

[II. Apêndice 02 7](#_Toc477278515)

[DETERMINANDO TAMANHO AMOSTRAL BASEADO NO PODER E NA PROPORÇÃO (p+q) 7](#_Toc477278516)

[A) Determinando tamanho de amostra no R. (Baseado em poder do teste) 7](#_Toc477278517)

[B) Cálculo amostral baseado na proporção de eventos desejados versus eventos não desejados 7](#_Toc477278518)

## PREÂMBULO

A CEUA-UFRB recebe e emite pareceres em processos de ensino e pesquisa acerca das normas éticas e bem estar na prática do uso de animais. Uma das atividades de maior procura de nossa comunidade é a prática de pesquisas acadêmicas seja para animais de produção, saúde animal e até animais silvestres. Um dos princípios mais importantes a ser considerado é o dos 3 R’s, não só para o bem estar dos animais submetidos à experimentação, mas também para reduzir o número de unidades experimentais (ou de indivíduos) ao mínimo necessário para a obtenção de resultados juntamente com o refinamento e a substituição, quando possível.

## PRINCIPAIS DÚVIDAS NO PREENCHIMENTO DO FORMULÁRIO CEUA QUANTO AO PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM

A CEUA em sua página online (<https://ufrb.edu.br/ceua/>) disponibiliza um formulário apropriado para que o pesquisador solicite o parecer de conformidade e assim receba não só o protocolo como a liberação da CEUA, mas, ao fim do processo, a autorização para que desenvolva normalmente as suas pesquisas. Esse formulário atende, obrigatoriamente, as definições da Instrução Normativa nº 27 do CONCEA (CONCEA, 2015) mesmo que tal formulário passe por reformulações e adequações ao longo do processo de aperfeiçoamento das CEUA’s.

Ultimamente tem preocupado os membros da CEUA alguns erros recorrentes no preenchimento no protocolo, especialmente no tocante ao item 9.4 transcrito abaixo:

*INÍCIO DA TRANSCRIÇÃO DO FORMULÁRIO*

**9.4 – PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

O planejamento estatístico deve embasar a solicitação do número de animais a serem utilizados no projeto. Dados prévios do responsável ou obtidos da literatura, devem ser utilizados para o cálculo formal do tamanho da amostra. Deve ser utilizado o número mínimo de animais para a obtenção de resultados estatisticamente válidos.

1. **Amostragem**

|  |
| --- |
| **QUAL A QUANTIDADE DE ANIMAIS UTILIZADOS?** |
| Quantidade **total de animais** utilizado na pesquisa: |  |
| Quantidade de **animais** **por grupo** utilizado na pesquisa: |  |
| Quantidade **total de grupos** utilizado na pesquisa: |  |

**B) Planejamento Estatístico**

|  |
| --- |
| **HOUVE PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO PARA DEFINIÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA?** |
| ( ) Sim. Especifique: |
| ( ) Não. Justificativa: |
| Método estatístico a ser empregado para análise dos resultados, quando for o caso: |

***FIM DA TRANSCRIÇÃO***

O item “A” diz respeito ao número dos animais (quando esses são considerados como unidades experimentais) e sua distribuição nas parcelas experimentais ou desenhos afins, geralmente há poucos equívocos nesse item.

 No item “B” o planejamento estatístico se refere ao que é feito anteriormente ao experimento, respaldado em modelos de estimação de tamanho amostral, testes de poder estatístico ou literatura que faça referência direta e demonstre claramente o procedimento para obtenção seja de “n amostral” seja de número de repetições por parcela experimental. No que concerne à demonstração clara entende-se que o pesquisador tenha conhecimento prévio do Método Científico e das estratégias de testagem de hipóteses.

Nesse quesito demonstramos os erros mais comuns (e as possíveis soluções) como os que são exemplificados abaixo.

## Justificativa baseada em literatura

*Exemplo:*

**INADEQUADO:** “*o número de repetições por parcela foi de 8 animais, conforme consta no trabalho de Fulano et al. (2016) que é similar ao nosso”*

**ADEQUADO:** “*o número de repetições por parcela foi de 8 animais, conforme consta no trabalho de Fulano et al. (2016) que utilizaram o modelo de Cochran (1965), denominado amostragem aleatória simples, e dado por:*

$$n=\left(\frac{Z . σ}{e\_{0}}\right)^{2}$$

*OBS: Abaixo a explicação do modelo de Cochran para fins didáticos.*

* ***n –*** *estimativa do tamanho de amostra que se deseja obter;*
* ***Z –*** *Valor tabelado (Tabela Z) que representa o valor sob a curva normal que se adota com determinado intervalo de confiança (1-α). Normalmente o intervalo de confiança usado é de 95% sendo* ***Z = 1,96*** *para esse intervalo.*
* ***σ –*** *Desvio padrão da característica estudada, na fórmula ficará σ2**que corresponde à variância.*
* ***e –*** *Nível de precisão desejado, em geral utiliza-se 0,05, mas pode ser maior ou menor (0,1; 0,05; 0,01; 0,001; etc.).*

*Considerando-se, a título de exemplo, que se estuda a variação de peso em coelhos de raças distintas e sabe-se que o desvio padrão da característica de interesse (peso) seria de 0,5Kg, para mais ou para menos, pode-se aplicar a fórmula da seguinte maneira:*

$$n=\left(\frac{1,96 . 0,5}{0,05}\right)^{2}= \frac{1,96^{2}. 0,5^{2}}{0,05^{2}}= \frac{0,9604}{0,0025}≅384 indivíduos $$

*Em outras palavras para obtermos uma amostragem simples e aleatória adequada e representativa deveremos fazer o estudo de variação de peso utilizando-se 384 coelhos.*

*Obviamente temos diversas fórmulas de estimação de* ***n*** *amostral e temos de conhecer adequadamente o objeto de estudo e as características da variação e de distribuição das medidas que desejamos avaliar. Definições mais completas podem ser encontradas em COHEN (1988); ISRAEL (1992) ou em COCHRAN (1963).*

## Confundir planejamento experimental com análise de dados

*Exemplo de preenchimento:*

**INADEQUADO:** *“[ ]....os dados serão analisados utilizando ANOVA e teste de Tukey para p<0,05 entre os grupos experimentais. O softaware utilizado será o STAT versão 2021... [ ] ”*

**ADEQUADO***: “o número de será estimado levando em conta o poder do teste conforme o modelo proposto e adaptado por Champely (2015) que propõe o cálculo do número de repetições por tratamentos dado por:*

$$ \hat{r}=\frac{δ\_{1-β}}{k. f^{2}}$$

*Em que*

* ***δ1-β*** *é o parâmetro de não centralidade fixado para um poder de teste* ***1-β*** *com nível de significância α;*
* ***k*** *é o número de tratamentos;*
* ***f*** *é o tamanho do efeito esperado;*

## Marcar a opção “Não [ ]” e não justificar

**Explicação:** Não se admite, em circunstância alguma, que não seja feito um planejamento ou que não se forneça justificativas alicerçadas em argumentos lógicos e razoáveis, **dentro do que é aceito pelas normas do CONCEA**, para uma amostragem baseada em métodos subjetivos, ou seja, não formalizada do ponto de vista da Teoria de Amostragem.

Abaixo listamos algumas referências úteis aos pesquisadores ou aos mestrandos e doutorandos que preencham o formulário para a orientação no referido item.

## Referencial teórico

1. CHAMPELY, S. pwr: **Basic Functions for Power Analysis**. 2015. R package version 1.1-3. Disponível em <https://CRAN.R-project.org/package=pwr>.
2. COCHRAN, W.G. **Sampling techniques**. 2ed. New York: John Wiley and Sons, 1963.
3. COHEN, J. **Statistical power analysis for behavior science**. 2ed. New York: Lawrence Erlbaum Associates, 1988. 567p.
4. COHEN, J. The earth is round (p < .05). **American Psychologist**. v.49, n.12, p.997-1003, 1994.
5. CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal **- Instrução Normativa nº 27,** D.O.U., seção 01, n. 205, p.10-14, 2015.

## APÊNDICES E MATERIAL COMPLEMENTAR

## Apêndice 01

Tabela 01 - Determinação de *Z* tabelado bicaudal (Zα/2). O valor de referência para o intervalo de confiança (α) de 95% (0,95) é dado por: *0,95/2 = 0,4750*; logo *Z* = soma dos valores das extremidades da tabela (linha e coluna), ou seja, *1,9 + 0,06 =* ***1,96***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 0.00 | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.06 | 0.07 | 0.08 | 0.09 |
| 0.0 | 0.0000 | 0.0040 | 0.0080 | 0.0120 | 0.0160 | 0.0199 | 0.0239 | 0.0279 | 0.0319 | 0.0359 |
| 0.1 | 0.0398 | 0.0438 | 0.0478 | 0.0517 | 0.0557 | 0.0596 | 0.0636 | 0.0675 | 0.0714 | 0.0753 |
| 0.2 | 0.0793 | 0.0832 | 0.0871 | 0.0910 | 0.0948 | 0.0987 | 0.1026 | 0.1064 | 0.1103 | 0.1141 |
| 0.3 | 0.1179 | 0.1217 | 0.1255 | 0.1293 | 0.1331 | 0.1368 | 0.1406 | 0.1443 | 0.1480 | 0.1517 |
| 0.4 | 0.1554 | 0.1591 | 0.1628 | 0.1664 | 0.1700 | 0.1736 | 0.1772 | 0.1808 | 0.1844 | 0.1879 |
| 0.5 | 0.1915 | 0.1950 | 0.1985 | 0.2019 | 0.2054 | 0.2088 | 0.2123 | 0.2157 | 0.2190 | 0.2224 |
| 0.6 | 0.2257 | 0.2291 | 0.2324 | 0.2357 | 0.2389 | 0.2422 | 0.2454 | 0.2486 | 0.2517 | 0.2549 |
| 0.7 | 0.2580 | 0.2611 | 0.2642 | 0.2673 | 0.2704 | 0.2734 | 0.2764 | 0.2794 | 0.2823 | 0.2852 |
| 0.8 | 0.2881 | 0.2910 | 0.2939 | 0.2967 | 0.2995 | 0.3023 | 0.3051 | 0.3078 | 0.3106 | 0.3133 |
| 0.9 | 0.3159 | 0.3186 | 0.3212 | 0.3238 | 0.3264 | 0.3289 | 0.3315 | 0.3340 | 0.3365 | 0.3389 |
| 1.0 | 0.3413 | 0.3438 | 0.3461 | 0.3485 | 0.3508 | 0.3531 | 0.3554 | 0.3577 | 0.3599 | 0.3621 |
| 1.1 | 0.3643 | 0.3665 | 0.3686 | 0.3708 | 0.3729 | 0.3749 | 0.3770 | 0.3790 | 0.3810 | 0.3830 |
| 1.2 | 0.3849 | 0.3869 | 0.3888 | 0.3907 | 0.3925 | 0.3944 | 0.3962 | 0.3980 | 0.3997 | 0.4015 |
| 1.3 | 0.4032 | 0.4049 | 0.4066 | 0.4082 | 0.4099 | 0.4115 | 0.4131 | 0.4147 | 0.4162 | 0.4177 |
| 1.4 | 0.4192 | 0.4207 | 0.4222 | 0.4236 | 0.4251 | 0.4265 | 0.4279 | 0.4292 | 0.4306 | 0.4319 |
| 1.5 | 0.4332 | 0.4345 | 0.4357 | 0.4370 | 0.4382 | 0.4394 | 0.4406 | 0.4418 | 0.4429 | 0.4441 |
| 1.6 | 0.4452 | 0.4463 | 0.4474 | 0.4484 | 0.4495 | 0.4505 | 0.4515 | 0.4525 | 0.4535 | 0.4545 |
| 1.7 | 0.4554 | 0.4564 | 0.4573 | 0.4582 | 0.4591 | 0.4599 | 0.4608 | 0.4616 | 0.4625 | 0.4633 |
| 1.8 | 0.4641 | 0.4649 | 0.4656 | 0.4664 | 0.4671 | 0.4678 | 0.4686 | 0.4693 | 0.4699 | 0.4706 |
| 1.9 | 0.4713 | 0.4719 | 0.4726 | 0.4732 | 0.4738 | 0.4744 | 0.4750 | 0.4756 | 0.4761 | 0.4767 |
| 2.0 | 0.4772 | 0.4778 | 0.4783 | 0.4788 | 0.4793 | 0.4798 | 0.4803 | 0.4808 | 0.4812 | 0.4817 |
| 2.1 | 0.4821 | 0.4826 | 0.4830 | 0.4834 | 0.4838 | 0.4842 | 0.4846 | 0.4850 | 0.4854 | 0.4857 |
| 2.2 | 0.4861 | 0.4864 | 0.4868 | 0.4871 | 0.4875 | 0.4878 | 0.4881 | 0.4884 | 0.4887 | 0.4890 |
| 2.3 | 0.4893 | 0.4896 | 0.4898 | 0.4901 | 0.4904 | 0.4906 | 0.4909 | 0.4911 | 0.4913 | 0.4916 |
| 2.4 | 0.4918 | 0.4920 | 0.4922 | 0.4925 | 0.4927 | 0.4929 | 0.4931 | 0.4932 | 0.4934 | 0.4936 |
| 2.5 | 0.4938 | 0.4940 | 0.4941 | 0.4943 | 0.4945 | 0.4946 | 0.4948 | 0.4949 | 0.4951 | 0.4952 |
| 2.6 | 0.4953 | 0.4955 | 0.4956 | 0.4957 | 0.4959 | 0.4960 | 0.4961 | 0.4962 | 0.4963 | 0.4964 |
| 2.7 | 0.4965 | 0.4966 | 0.4967 | 0.4968 | 0.4969 | 0.4970 | 0.4971 | 0.4972 | 0.4973 | 0.4974 |
| 2.8 | 0.4974 | 0.4975 | 0.4976 | 0.4977 | 0.4977 | 0.4978 | 0.4979 | 0.4979 | 0.4980 | 0.4981 |
| 2.9 | 0.4981 | 0.4982 | 0.4982 | 0.4983 | 0.4984 | 0.4984 | 0.4985 | 0.4985 | 0.4986 | 0.4986 |
| 3.0 | 0.4987 | 0.4987 | 0.4987 | 0.4988 | 0.4988 | 0.4989 | 0.4989 | 0.4989 | 0.4990 | 0.4990 |
| 3.1 | 0.4990 | 0.4991 | 0.4991 | 0.4991 | 0.4992 | 0.4992 | 0.4992 | 0.4992 | 0.4993 | 0.4993 |
| 3.2 | 0.4993 | 0.4993 | 0.4994 | 0.4994 | 0.4994 | 0.4994 | 0.4994 | 0.4995 | 0.4995 | 0.4995 |
| 3.3 | 0.4995 | 0.4995 | 0.4995 | 0.4996 | 0.4996 | 0.4996 | 0.4996 | 0.4996 | 0.4996 | 0.4997 |
| 3.4 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4997 | 0.4998 |
| 3.5 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4998 |
| 3.6 | 0.4998 | 0.4998 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 |
| 3.7 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 |
| 3.8 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 | 0.4999 |

## Apêndice 02

Algumas rotinas feitas no software R versão 2.15.0 para obterem-se números de amostras

### DETERMINANDO TAMANHO AMOSTRAL BASEADO NO PODER E NA PROPORÇÃO (p+q)

### A) Determinando tamanho de amostra no R. (Baseado em poder do teste)

#Testando Ho: mu = 15

 Ha: mu > 15

#Poder power = 0.9

#Desvio padrão populacional stdv = 2.32

#Diferença esperada delta = 2.5

#Nível de significância (1-α) sig.level = 0.01

#exemplo

power.t.test( power = 0.95, # Power

 delta = 20, # Difference between mu and xbar

 sd = 5, # Desvio Padrão

 sig.level = 0.01, # Significância (0,001 até 0,05)

 type = "one.sample", # Tipo de estudo

 alternative = "one.sided" # Tipo de teste “monocaudal”

 )

Para um teste bicaudal (mais comum) substituir **alternative = “one.sided”** por **alternative = “two.sided”**

#SAÍDAS de A)

 Cálculo baseado em t teste e no poder estatístico (1-β)

 n = 16.71477

 delta = 5

 sd = 5

 sig.level = 0.05

 power = 0.8

 alternative = two.sided

 NOTA: n é o número amostral em cada grupo

### B) Cálculo amostral baseado na proporção de eventos desejados versus eventos não desejados

zstar = qnorm(.975) #Z^2 (alpha/2)

p = 0.99 # valor de "p", onde "q" é complementar

E = 0.05 # estatística "E"

zstar^2 \* p \* (1-p) / E^2 # Modelo que fornece o output da amostra

#SAÍDAS de B)

> zstar = qnorm(.975) #Z^2 (alpha/2)

> p = 0.99 # valor de "p", onde "q" é complementar

> E = 0.05 # estatística "E" precisão desejada

> zstar^2 \* p \* (1-p) / E^2 # Modelo que fornece o output da amostra

[1] 15.21218

# ***n = 15,21 ~ 15.***

OBS:

Brevemente será disponibilizado material em planilha eletrônica (.xlsx) para facilitar a interface com o usuário.

1. Demanda qualificada da Comissão de Ética no Uso de Animais em pesquisa/ensino | CEUA-UFRB, elaborada para orientar os pesquisadores no preenchimento e submissão dos protocolos de pesquisa [↑](#footnote-ref-2)