



Protocolo Estatístico: Doseamento Biológico

Action Stat Doseamento Versão 4.1

ESTATCAMP

Abril / 2023

Sumário

1	Aprovação	4
2	HISTÓRICO DE REVISÃO	5
3	Introdução	5
4	Objetivos	5
5	Análise descritiva	5
5.1	Média amostral	5
5.2	Desvio padrão amostral	6
5.3	Coefficiente de variação	6
5.4	Amplitude	6
6	Modelo de retas paralelas - paralelismo	6
6.1	Retas paralelas $d \times d$	6
6.1.1	Modelo para validade do ensaio	7
6.1.2	Modelo para estimativa da potência relativa	10
6.1.3	Determinação da potência relativa	13
6.1.4	Incerteza pelo método de Fieller	14
6.1.5	Fator de correção	17
7	Modelo de interpolação $d \times 1$	17
7.1	Análise da falta de ajuste	18
7.2	Cálculo da potência relativa	20
8	Modelo slope-ratio	20
8.1	Modelo para validade do ensaio	21
8.2	Cálculo da potência relativa	23
9	Medida descritiva da qualidade de ajuste	23
9.1	Coefficiente de associação	23
10	Análise dos resíduos	24
10.1	Resíduos	24
10.1.1	Resíduos ordinários	24
10.1.2	Resíduos padronizados	24
10.1.3	Resíduos studentizados	25
10.2	Teste de normalidade	25
10.2.1	Teste de Anderson-Darling	26
10.2.2	Teste de Shapiro-Wilk	27
10.2.3	Teste de Kolmogorov-Smirnov	29
10.2.4	Teste de Ryan-Joiner	31
10.3	Testes de homoscedasticidade	32
10.3.1	Gráfico: Resíduos X Valores Ajustados	32
10.3.2	Teste de Brown-Forsythe	33
10.3.3	Teste de Cochran	34

10.3.4	Teste de Breusch-Pagan	35
10.3.5	Teste de Goldfeld-Quandt	35
10.4	Testes de independência	36
10.4.1	Gráfico: Resíduos Padronizados X Ordem de Coleta	36
10.4.2	Teste de Durbin-Watson	36
11	Aplicação	38
11.1	Aplicação 1 - Paralelismo 3×3	38
11.2	Aplicação 2 - Paralelismo 4×4 com fator de correção	49
11.3	Aplicação 3 - Interpolação 5×1	55
11.4	Aplicação 4 - Modelo slope-ratio	62
	Referências	70

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

1 Aprovação

A assinatura abaixo indica a aprovação deste relatório.

ELABORADO POR:

NOME: Dorival Leão Pinto Júnior

CARGO: Consultor estatístico

Registro CONRE: 9795



ASSINATURA:

DATA: 03 de abril de 2023

	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

2 HISTÓRICO DE REVISÃO

Tabela 1: Itens Revisados

Revisão	Data	Histórico
00	13 de janeiro de 2022	Emissão inicial
01	03 de abril de 2023	Mudança para versão 4.1

3 Introdução

O Action Stat é um sistema estatístico desenvolvido pela Estatcamp, uma empresa que atua desde 1997 nos setores de consultoria, desenvolvimento e treinamento. O início de seu desenvolvimento foi em 2005 por uma equipe de doutores em computação e estatística. O Action Stat utiliza o R, a principal linguagem de programação estatística de uso mundial. Através de um sistema próprio, conecta-se o R com ferramentas Web para que você tenha flexibilidade, agilidade e confiança nas suas aplicações estatísticas utilizando uma interface fácil e amigável.

4 Objetivos

Este protocolo tem por objetivo demonstrar as funcionalidades Action Stat referente ao Doseamento Biológico. Neste protocolo contemplam os tópicos:

- Análise descritiva
- Modelo de retas paralelas: ensaios $d \times d$
- Interpolação: ensaios $d \times 1$
- Modelo de slope-ratio
- Medida descritiva da qualidade de ajuste
- Análise de resíduos

Em cada tópico descreve-se as técnicas estatísticas utilizadas e exibe-se uma aplicação demonstrando as contas calculadas de forma manual e os resultados do Action Stat confirmando os resultados.

5 Análise descritiva

Nesta seção apresentam-se as técnicas voltadas à análise descritiva dos dados.

5.1 Média amostral

A média aritmética ou simplesmente média é uma medida de posição. Medidas de posição orientam onde os valores de interesse estão concentrados. Tem-se que a média $\bar{x}$ é dada por:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

5.2 Desvio padrão amostral

O desvio padrão é definido como a raiz da soma ao quadrado dos desvios dos elementos em relação à sua média $\bar{x}$ dividido por $(n - 1)$. Ou seja, o desvio padrão amostral é dado por:

$$sd = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

5.3 Coeficiente de variação

O coeficiente de variação é definido como a razão entre o desvio padrão, sd , e a média amostral, $\bar{x}$. Tem-se que o coeficiente de variação é dado por:

$$cv = \frac{sd}{\bar{x}} \times 100\%$$

5.4 Amplitude

A amplitude é definida como sendo a diferença entre o maior e o menor valor do conjunto de dados. Denota-se a amplitude por R . Portanto, considere o conjunto de dados ordenado:

$$X_{(1)} \leq X_{(2)} \leq X_{(3)} \leq \dots \leq X_{(n-1)} \leq X_{(n)}$$

A amplitude R dos dados é dada por:

$$R = X_{(n)} - X_{(1)}$$

6 Modelo de retas paralelas - paralelismo

Nesta seção apresentam-se os modelos de retas paralelas (paralelismo). Inicialmente apresenta-se o delineamento de retas paralelas para a validade de ensaios $d \times d$ e, também, ensaios $d \times 1$, em que d denota a quantidade de concentrações utilizadas no ensaio.

6.1 Retas paralelas $d \times d$

No modelo de paralelismo, os exemplos de delineamentos $d \times d$ mais frequentes são 2×2 , 3×3 e 4×4 . Previamente a apresentação da modelagem estatística voltada a validade do ensaio.

Conforme a Farmacopeia Brasileira [2], as hipóteses avaliadas na validação do ensaio são:

- **Regressão:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{Coeficiente angular igual a zero} \\ H_1 : \text{Coeficiente angular diferente de zero} \end{cases}$$

- **Paralelismo:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{As retas possuem coeficientes angulares iguais} \\ H_1 : \text{As retas possuem coeficientes angulares distintos} \end{cases}$$

- **Quadrado:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{Coeficiente referente ao polinômio de segundo grau é igual a zero} \\ H_1 : \text{Coeficiente referente ao polinômio de segundo grau é diferente de zero} \end{cases}$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Conforme a Farmacopeia Europeia [3], as hipóteses avaliadas na validação do ensaio são:

• **Regressão:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{Coeficiente angular igual a zero} \\ H_1 : \text{Coeficiente angular diferente de zero} \end{cases}$$

• **Paralelismo:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{As retas possuem coeficientes angulares iguais} \\ H_1 : \text{As retas possuem coeficientes angulares distintos} \end{cases}$$

• **Desvio da linearidade (falta de ajuste):**

$$\begin{cases} H_0 : \text{O modelo não apresenta desvio da linearidade (Falta de ajuste)} \\ H_1 : \text{O modelo apresenta desvio da linearidade (Falta de ajuste)} \end{cases}$$

Em ensaios 2×2 não se avalia a hipótese referente ao parâmetro Quadrado ou Desvio da linearidade (falta de ajuste). Segundo a Farmacopeia Brasileira [2], usualmente adotam-se os níveis de significância de 1% ($\alpha = 0,01$) e 5%, ($\alpha = 0,05$) para ensaios biológicos.

6.1.1 Modelo para validade do ensaio

Com objetivo de avaliar a significância dos parâmetros descritos anteriormente, isto é, Placa, Regressão, Preparação, Paralelismo, Quadrado e Diferença de quadrado, utiliza-se o teste F parcial. Inicialmente, considera-se o modelo de regressão linear escrito na forma matricial:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X}\beta + \varepsilon \quad (1)$$

em que

$$\mathbf{Y} = \begin{bmatrix} Y_1 \\ Y_2 \\ \vdots \\ Y_n \end{bmatrix}; \quad \mathbf{X} = \begin{bmatrix} 1 & X_{11} & \dots & X_{16} \\ 1 & X_{21} & \dots & X_{26} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & X_{n1} & \dots & X_{n6} \end{bmatrix} = [X_0 \ X_1 \ \dots \ X_6]; \quad \beta = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \beta_2 \\ \vdots \\ \beta_6 \end{bmatrix} \quad e \quad \varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_n \end{bmatrix}$$

Sejam $X_0, X_1, X_2, \dots, X_6$ vetores referentes a cada coluna da matriz $\mathbf{X}$. Desta forma, pode-se reescrever o modelo matricial de forma particionada:

$$Y = X_0\beta_0 + X_1\beta_1 + X_2\beta_2 + X_3\beta_3 + X_4\beta_4 + X_5\beta_5 + X_6\beta_6 + \varepsilon \quad (2)$$

A soma de quadrados total (SQT) para o modelo matricial (1), é calculada da seguinte forma:

$$SQT = \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 = Y^T Y - \frac{1}{n} Y^T J Y = Y^T \left(I - \frac{1}{n} J \right) Y,$$

em que

$$J = \begin{bmatrix} 1 & 1 & \dots & 1 \\ 1 & 1 & \dots & 1 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & 1 & \dots & 1 \end{bmatrix}_{n \times n}.$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Já a soma de quadrados dos resíduos é dada por:

$$\begin{aligned}
 SQE &= \sum_{i=1}^n e_i^2 = e^\top e = (Y - \hat{Y})^\top (Y - \hat{Y}) = (Y - X\hat{\beta})^\top (Y - X\hat{\beta}) \\
 &= Y^\top Y - Y^\top X\hat{\beta} - \hat{\beta}^\top X^\top Y + \hat{\beta}^\top X^\top X\hat{\beta} = Y^\top Y - 2\hat{\beta}^\top X^\top Y + \hat{\beta}^\top X^\top X\hat{\beta}.
 \end{aligned}$$

Desde que $X^\top X\hat{\beta} = X^\top Y$, segue que

$$\begin{aligned}
 SQE &= Y^\top Y - 2\hat{\beta}^\top X^\top Y + \hat{\beta}^\top X^\top Y = Y^\top Y - \hat{\beta}^\top X^\top Y \\
 &= Y^\top Y - Y^\top X(X^\top X)^{-1}X^\top Y = Y^\top (I - X(X^\top X)^{-1}X^\top)Y.
 \end{aligned}$$

Portanto,

$$SQE = Y^\top Y - \hat{\beta}^\top X^\top Y = Y^\top (I - X(X^\top X)^{-1}X^\top)Y = Y^\top (I - H)Y.$$

A matriz I é a matriz identidade com dimensão $n \times n$ e a matriz $H = X[X^\top X]^{-1}X^\top$ é chamada matriz chapéu que transforma o vetor de respostas Y no vetor de valores ajustados $\hat{Y}$.

Desta forma, obtêm-se que a soma de quadrados da regressão é dada por

$$SQR = SQT - SQE = \left(Y^\top Y - \frac{1}{n} Y^\top JY \right) - (Y^\top Y - \hat{\beta}^\top X^\top Y) = \hat{\beta}^\top X^\top Y - \frac{1}{n} Y^\top JY.$$

e o quadrado médio do erro (QME) é calculado por

$$QME = \frac{SQE}{n - 5 - 1} = \frac{SQE}{n - 6}$$

Utilizando essas definições, pode-se definir os testes para comparação das curvas.

Teste parcial de F No teste de significância de cada fator, as hipóteses de interesse são:

$$\begin{cases} H_0 : \beta_i = 0 \\ H_1 : \beta_i \neq 0, \quad i = 1, \dots, 6 \end{cases} \quad (3)$$

Denomina-se por modelo reduzido o modelo supondo que H_0 é verdadeiro. Utilizando a notação matricial particionada tem-se que o modelo reduzido é

$$Y = X_0\beta_0 + \sum_{\{j \setminus i\}=1}^k X_j\beta_j, \quad i, j = 1, \dots, 6$$

Então, se o interesse é para testar $H_0 : \beta_1 = 0$, a matriz X para o modelo reduzido, denominada por X_R e o vetor de parâmetros β_R são dados por

$$X_R = [X_0 \quad X_2 \quad \dots \quad X_6] = \begin{bmatrix} 1 & X_{12} & \dots & X_{16} \\ 1 & X_{22} & \dots & X_{26} \\ & & \ddots & \\ 1 & X_{n2} & \dots & X_{n6} \end{bmatrix} \quad \text{e} \quad \beta_R = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_2 \\ \vdots \\ \beta_6 \end{bmatrix}$$

Assim, pode-se calcular o SQR do modelo reduzido por

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$SQR(\beta_R) = \beta_R^\top X_R^\top Y - \frac{1}{n} Y^\top J Y$$

Então, a soma de quadrados da regressão de β dado que β_R já está no modelo é calculado da seguinte forma:

$$SQR(\beta|\beta_R) = SQR(\beta) - SQR(\beta_R) = \beta^\top X^\top Y - \frac{1}{n} Y^\top J Y - (\beta_R^\top X_R^\top Y - \frac{1}{n} Y^\top J Y) = \beta^\top X^\top Y - \beta_R^\top X_R^\top Y$$

com $(7 - (7 - 1)) = 1$ grau de liberdade. A soma de quadrados da regressão parcial representa a quantidade adicional que se teria na soma de quadrados da regressão ao adicionar-se uma covariável no modelo reduzido.

Então, a estatística sob H_0 é dada por:

$$F_0 = SQR(\beta|\beta_R) Q M E^{-1} \sim F_{1,(n-7)}$$

e o p-valor:

$$p\text{-valor} = \mathbb{P}[F_0 > F_{1,(n-7)}]$$

Portanto, se $F_0 > F_{\alpha,1,(n-7)}$ ou $p\text{-valor} \leq \alpha$ rejeita-se a hipótese nula.

A seguir se apresenta a Tabela ANOVA para os ensaios $d \times d$ conforme Farmacopeia Brasileira:

Fonte	SQ	GL	QM	Estatística
Preparações	SQ_{prep}			
Regressão	SQ_{reg}	1	$QM_{reg} = \frac{SQ_{reg}}{p-1}$	$\frac{SQ_{reg}}{SQE}$
Paralelismo	SQ_{par}	1	$QM_{par} = \frac{SQ_{par}}{1}$	$\frac{SQ_{par}}{SQE}$
Quadrático	SQ_{qua}	1	$QM_{qua} = \frac{SQ_{qua}}{1}$	$\frac{SQ_{qua}}{SQE}$
Diferença de Quadráticos	SQ_{dqua}			
Resíduos	SQE			
Total	SQT	$n - 1$		

Tabela 2: Tabela da ANOVA - Ensaios $d \times d$ de Paralelismo (Farmacopeia Brasileira).

Consideram-se os ensaios estatisticamente válidos conforme Farmacopeia Brasileira se os testes apresentarem os seguintes resultados:

- **Regressão significativa:** p-valor do teste menor do que o nível de significância, $p\text{-valor} < \alpha$;
- **Quadrado não significativo:** p-valor do teste maior do que o nível de significância, $p\text{-valor} > \alpha$;
- **Paralelismo não significativo:** p-valor do teste maior do que o nível de significância, $p\text{-valor} > \alpha$.

A seguir se apresenta a Tabela ANOVA para os ensaios $d \times d$ conforme Farmacopeia Europeia:

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Fonte	SQ	GL	QM	Estatística
Preparações	SQ_{prep}			
Regressão	SQ_{reg}	1	$QM_{reg} = \frac{SQ_{reg}}{p-1}$	$\frac{SQ_{reg}}{SQE}$
Paralelismo	SQ_{par}	1	$QM_{par} = \frac{SQ_{par}}{1}$	$\frac{SQ_{par}}{SQE}$
Desvio da linearidade	$SQE - SQE(puro)$	$m - 2$	$\frac{SQE - SQE(puro)}{m - 2}$	$\frac{SQE - SQE(puro)}{s^2(m - 2)}$
Erro Puro	$SQE(puro)$			
Resíduo	SQE			

Tabela 3: Tabela da ANOVA - Ensaios $d \times d$ de Paralelismo (Farmacopeia Europeia).

Consideram-se os ensaios estatisticamente válidos conforme Farmacopeia Europeia se os testes apresentarem os seguintes resultados:

- **Regressão significativa:** p-valor do teste menor do que o nível de significância, $p - valor < \alpha$;
- **Paralelismo não significativo:** p-valor do teste maior do que o nível de significância, $p - valor > \alpha$;
- **Desvio da linearidade não significativo:** p-valor do teste maior do que o nível de significância, $p - valor > \alpha$.

Conforme as Farmacopeias Brasileira [2] e Europeia [3], para os ensaios que incluíram Placas terão uma fonte de variação segregada na Tabela de Anova, 2 e 3, entretanto a significância não afeta a validade do ensaio.

6.1.2 Modelo para estimativa da potência relativa

Nos modelos de regressão, as variáveis independentes podem ser qualitativas ou quantitativas. Algumas variáveis qualitativas indicam presença ou ausência (dicotômicas) de eventos de interesse. Este tipo de variável é denominada variável dummy. Neste modelo pode-se também codificar como 0 e 1. Assim, a variável codificada pode ser modelado na forma:

$$\text{Preparação} = \begin{cases} 0, & \text{padrão} \\ 1, & \text{teste} \end{cases}$$

Assim, apresenta-se o seguinte modelo de regressão:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n \quad (4)$$

em que

- Y_i : é a variável resposta, que se relaciona com $p = 2$ variáveis explicativas;
- β_0 : é o intercepto do modelo;
- β_1 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa. Nesse caso aplica-se o logaritmo na dose, em que as possíveis transformações são $\log_{10}(\text{dose})$ e $\ln(\text{dose})$;
- X_{i1} : é a variável explicativa $\log_{10}(\text{dose})$ ou $\ln(\text{dose})$;
- β_2 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa Preparação;

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- X_{i2} : é a variável dummy, referente a Preparação;
- ε_i : representa o erro experimental.

Vale ressaltar que no modelo de retas paralelas, como descrito acima, aplica-se o logaritmo na dose, isto é, $\log_{10}(\text{dose})$ ou $\ln(\text{dose})$.

Para entender os testes de comparação de curvas descrito a seguir, observe que:

$$\mathbb{E}[Y_i|X_{i1}; X_{i2} = 1] = (\beta_0 + \beta_2) + \beta_1 X_{i1} \quad (5)$$

$$\mathbb{E}[Y_i|X_{i1}; X_{i2} = 0] = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} \quad (6)$$

a) para $X_{i2} = 0$ tem-se que

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \varepsilon_i \quad i = 1, \dots, n$$

b) para $X_{i2} = 1$

$$Y_i = (\beta_0 + \beta_2) + \beta_1 X_{i1} + \varepsilon_i \quad i = 1, \dots, n$$

Então, das equações (5) e (6) tem-se que a diferença entre as curvas é dada por:

$$\begin{aligned} \mathbb{E}[Y_i|X_{i1}; X_{i2} = 1] - \mathbb{E}[Y_i|X_{i1}; X_{i2} = 0] &= (\beta_0 + \beta_2 + \beta_1 X_{i1}) - (\beta_0 + \beta_1 X_{i1}) \\ &= \beta_2 \end{aligned} \quad (7)$$

A diferença entre as retas esperadas (com e sem efeito matriz respectivamente, isto é, preparação do padrão e teste) é representada pela equação (7). Com objetivo de testar a igualdade do intercepto, avalia-se as hipóteses do coeficiente β_2 ($H_0 : \beta_2 = 0$). No paralelismo avalia-se o coeficiente β_1 ($H_0 : \beta_1 = 0$). Se os dois coeficientes forem nulos, tem-se o teste de coincidência (teste de igualdade das curvas com e sem efeito matriz).

Modelagem matricial Com objetivo de avaliar o Paralelismo se utiliza o teste F parcial. Inicialmente, considera-se o modelo de regressão linear escrito na forma matricial:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X}\beta + \varepsilon \quad (8)$$

em que

$$\mathbf{Y} = \begin{bmatrix} Y_1 \\ Y_2 \\ \vdots \\ Y_n \end{bmatrix}; \quad \mathbf{X} = \begin{bmatrix} 1 & X_{11} & X_{12} \\ 1 & X_{21} & X_{22} \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & X_{n1} & X_{n2} \end{bmatrix} = [X_0 \ X_1 \ X_2]; \quad \beta = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} \quad e \quad \varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_n \end{bmatrix}$$

Sejam X_0, X_1, X_2 vetores referentes a cada coluna da matriz $\mathbf{X}$. Desta forma, pode-se reescrever o modelo matricial de forma particionada:

$$Y = X_0\beta_0 + X_1\beta_1 + X_2\beta_2 + \varepsilon \quad (9)$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

O método de mínimos quadrados tem como objetivo encontrar o vetor $\hat{\beta}$ que minimiza

$$L = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i^2 = \varepsilon' \varepsilon = (Y - X\beta)'(Y - X\beta) =$$

$$= Y'Y - Y'X\beta - \beta'X'Y + \beta'X'X\beta = Y'Y - 2\beta'X'Y + \beta'X'X\beta,$$

sendo que $Y'X\beta = \beta'X'Y$, pois o produto resulta em um escalar. A notação X' representa o transposto da matriz X enquanto que Y' e β' representam os transpostos dos vetores Y e β , respectivamente. Usando a técnica de derivação (em termos matriciais) obtêm-se:

$$\frac{\partial L}{\partial \beta} = -2X'Y + 2X'X\beta.$$

Igualando a zero e substituindo o vetor β pelo vetor $\hat{\beta}$, tem-se:

$$(X'X)\hat{\beta} = X'Y.$$

Em geral, a matriz $(X'X)$ é não singular, ou seja, tem determinante diferente de zero e, portanto é invertível. Desta forma, conclui-se que os estimadores para os parâmetros β_j , $j = 0, \dots, p$ são dados pelo vetor

$$\hat{\beta} = (X'X)^{-1}X'Y.$$

Portanto, o modelo de regressão linear ajustado e o vetor de resíduos são respectivamente

$$\hat{Y} = X\hat{\beta} \quad e \quad e = Y - \hat{Y}.$$

Ao substituir os estimadores de mínimos quadrados, obtêm-se que $\hat{Y} = HY$ no qual $H = X(X'X)^{-1}X'$ é a matriz chapéu ou matriz de projeção do vetor de respostas Y no vetor de valores ajustadas $\hat{Y}$.

A soma de quadrados total (SQT) para o modelo matricial (8), é calculada da seguinte forma:

$$SQT = \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 = Y^T Y - \frac{1}{n} Y^T J Y = Y^T \left(I - \frac{1}{n} J \right) Y,$$

em que

$$J = \begin{bmatrix} 1 & 1 & \dots & 1 \\ 1 & 1 & \dots & 1 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & 1 & \dots & 1 \end{bmatrix}_{n \times n}.$$

Já a soma de quadrados dos resíduos é dada por:

$$\begin{aligned} SQE &= \sum_{i=1}^n e_i^2 = e^T e = (Y - \hat{Y})^T (Y - \hat{Y}) = (Y - X\hat{\beta})^T (Y - X\hat{\beta}) \\ &= Y^T Y - Y^T X\hat{\beta} - \hat{\beta}^T X^T Y + \hat{\beta}^T X^T X\hat{\beta} = Y^T Y - 2\hat{\beta}^T X^T Y + \hat{\beta}^T X^T X\hat{\beta}. \end{aligned}$$

Desde que $X^T X\hat{\beta} = X^T Y$, segue que

$$\begin{aligned} SQE &= Y^T Y - 2\hat{\beta}^T X^T Y + \hat{\beta}^T X^T Y = Y^T Y - \hat{\beta}^T X^T Y \\ &= Y^T Y - Y^T X(X^T X)^{-1}X^T Y = Y^T (I - X(X^T X)^{-1}X^T)Y. \end{aligned}$$

	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Portanto,

$$SQE = Y^T Y - \hat{\beta}^T X^T Y = Y^T (I - X(X^T X)^{-1} X^T) Y = Y^T (I - H) Y.$$

A matriz I é a matriz identidade com dimensão $n \times n$ e a matriz $H = X[X^T X]^{-1} X^T$ é chamada matriz chapéu que transforma o vetor de respostas Y no vetor de valores ajustados $\hat{Y}$.

Desta forma, obtém-se que a soma de quadrados da regressão é dada por

$$SQR = SQT - SQE = \left(Y^T Y - \frac{1}{n} Y^T J Y \right) - (Y^T Y - \hat{\beta}^T X^T Y) = \hat{\beta}^T X^T Y - \frac{1}{n} Y^T J Y.$$

e o quadrado médio do erro (QME) é calculado por

$$QME = \frac{1}{n - 2 - 1} SQE = \frac{1}{n - 3} SQE$$

Utilizando essas definições, pode-se definir os testes para comparação das curvas.

6.1.3 Determinação da potência relativa

Os ensaios de linha paralela são aqueles em que a resposta está linearmente relacionada ao logaritmo da dose, da definição de “potência relativa” ρ , as duas doses são relacionadas por:

$$d_s = \rho d_t \quad (10)$$

em que

- d_s é a dose padrão;
- d_t é a dose teste;
- ρ é a potência relativa.

O modelo é dado por:

$$\begin{aligned} \mathbb{E}[Y_s | X_s = \log_{10}(d_s)] &= \beta_0 + \beta_1 x_s \quad (\text{padrão}) \\ \mathbb{E}[Y_t | X_t = \log_{10}(d_t)] &= \mathbb{E}[Y_t | X_t = \log_{10}(\rho d_t)] = \beta_0 + \beta_1 \log_{10} \rho x_t \quad (\text{teste}) \end{aligned} \quad (11)$$

O objetivo principal de uma análise estatística é estimar a “potência relativa” ρ de um estímulo (uma estimativa pontual), bem como limites de confiança (intervalo de confiança de $100(1 - \alpha)\%$). Para isto, estima-se $\log_{10} \rho$, subtraindo os interceptos e dividindo pela inclinação comum da equação 11,

Do modelo descrito em 21 pode-se reescrever:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n \quad (12)$$

em que:

- Y_i : é a variável resposta, que se relaciona com $p = 2$ variáveis explicativas;
- β_0 : é o intercepto do modelo;
- β_1 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa. Nesse caso aplica-se o logaritmo na dose, em que as possíveis transformações são $\log_{10}(\text{dose})$ e $\ln(\text{dose})$;

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- X_{i1} : é a variável explicativa $\log_{10}(\text{dose})$ ou $\ln(\text{dose})$;
- β_2 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa Preparação;
- X_{i2} : é a variável dummy, referente a Preparação;
- ε_i : representa o erro experimental.

Desta forma, obtém-se a potência relativa:

$$M = \text{logaritmo}(\rho) = \frac{\hat{\beta}_2}{\hat{\beta}_1} \quad (13)$$

6.1.4 Incerteza pelo método de Fieller

Na prática tem-se interesse em prever o valor de X , dado uma observação em Y . Com isso obtém-se:

$$\hat{x}_0 = \frac{\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1}$$

que é uma razão de duas variáveis aleatórias com distribuição normal, ou seja, $\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0$ tem distribuição normal com média $\beta_1 x_0$ e variância $\frac{\sigma^2 x_0^2}{S_{xx}}$ e $\hat{\beta}_1$ tem distribuição normal com média β_1 e variância $\frac{\sigma^2}{S_{xx}}$. Ao padronizar estas duas variáveis aleatórias, obtém-se duas variáveis aleatórias normais padrão, isto é, $W, V \sim N(0, 1)$. Logo a razão destas duas variáveis aleatórias terá uma distribuição de Cauchy, que não possui média e variância, o que impossibilitaria calcular a incerteza devido à curva de calibração. Porém, é possível utilizar um resultado que possibilite calcular a incerteza devido à curva de calibração, que é o teorema de Fieller.

O teorema de Fieller é um resultado geral para intervalos de confiança da razão de duas variáveis aleatórias normalmente distribuídas.

Seja a variável aleatória $\rho = \frac{\beta_0}{\beta_1}$, em que β_0 e β_1 são estimados por $\hat{\beta}_0$ e $\hat{\beta}_1$ e estes estimadores são normalmente distribuídos com médias β_0 , β_1 e variâncias $\text{Var}(\beta_0)$, $\text{Var}(\beta_1)$ respectivamente. Considerar $\psi = \hat{\beta}_0 - \rho\hat{\beta}_1$.

Com isso, como $\hat{\beta}_0$ e $\hat{\beta}_1$ são estimadores não viciados de β_0 e β_1 , tem-se que:

$$\mathbb{E}(\psi) = \beta_0 - \rho\beta_1 \quad \text{e}$$

$$\text{Var}(\psi) = \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \text{Var}(\rho\hat{\beta}_1) - 2\text{Cov}(\hat{\beta}_0, \rho\hat{\beta}_1) \quad (14)$$

Suponha que ψ seja normalmente distribuído e

$$\frac{\hat{\beta}_0 - \rho\hat{\beta}_1}{\text{Var}(\psi)}$$

tem distribuição normal padrão. Agora, observe a seguinte desigualdade,

$$|\hat{\beta}_0 - \rho\hat{\beta}_1| \leq z_{\alpha/2} \sqrt{\text{Var}(\psi)}$$

Elevando ao quadrado em ambos os lados e igualando a zero.

$$\hat{\beta}_0^2 + \rho^2 \hat{\beta}_1^2 - 2\rho\hat{\beta}_0\hat{\beta}_1 - z_{\alpha/2}^2 \text{Var}(\psi) = 0$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Substituindo $\text{Var}(\psi)$ por (14), com isso obtêm-se

$$\hat{\beta}_0^2 + \rho^2 \hat{\beta}_1^2 - 2\rho \hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 - z_{\alpha/2}^2 \left(\text{Var}(\hat{\beta}_0) + \text{Var}(\hat{\beta}_1) - 2\rho \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) \right) = 0$$

Para facilitar a notação, substitui-se $\text{Var}(\hat{\beta}_0) = v_1, \text{Var}(\hat{\beta}_1) = v_2, \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = v_{12}$ e $z_{\alpha/2} = w$. Com isso, têm-se que

$$\hat{\beta}_0^2 + (\hat{\rho} \hat{\beta}_1)^2 - 2\hat{\rho} \hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 - w^2 v_1 - \hat{\rho}^2 w^2 v_2 + 2\hat{\rho} w^2 v_{12} = 0$$

$$(\hat{\beta}_1^2 - w^2 v_2) \hat{\rho}^2 - (2\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 - 2w^2 v_{12}) \hat{\rho} + (\hat{\beta}_0^2 - w^2 v_1) = 0$$

Assim esta expressão é uma equação do segundo grau do tipo $a\rho^2 + b\rho + c = 0$ (Bhaskara). Logo resolve-se esta equação da seguinte forma:

$$\begin{aligned} \Delta &= 4(2\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 - 2w^2 v_{12})^2 - 4(\hat{\beta}_1^2 - w^2 v_2)(\hat{\beta}_0^2 - w^2 v_1) \\ &= 4w^2(w^2 v_{12}^2 - w^2 v_1 v_2 + \beta_0^2 v_2 + \beta_0^2 v_1 - 2\beta_0 \beta_1 v_{12}) \end{aligned}$$

Portanto, a solução para $\hat{\rho}$ é dada por

$$\hat{\rho} = \frac{\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 - w^2 v_{12}}{\hat{\beta}_1^2 - w^2 v_2} \pm \frac{w}{\hat{\beta}_1^2 - w^2 v_2} \sqrt{w^2 v_{12}^2 - w^2 v_1 v_2 + \beta_0^2 v_2 + \beta_1^2 v_1 - 2\beta_0 \beta_1 v_{12}}$$

Voltando as notações originais e chega-se a seguinte expressão:

$$\hat{\rho} = \gamma_1 \pm \gamma_2 \sqrt{\left(z_{\alpha/2} \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) \right)^2 - z_{\alpha/2}^2 \text{Var}(\hat{\beta}_0) \text{Var}(\hat{\beta}_1) + \beta_0^2 \text{Var}(\hat{\beta}_1) + \beta_1^2 \text{Var}(\hat{\beta}_0) - 2\beta_0 \beta_1 \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)}$$

em que

$$\gamma_1 = \frac{\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 - z_{\alpha/2}^2 \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)}{\hat{\beta}_1^2 - z_{\alpha/2}^2 \text{Var}(\hat{\beta}_1)} \quad \text{e} \quad \gamma_2 = \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2 - z_{\alpha/2}^2 \text{Var}(\hat{\beta}_1)}$$

As duas raízes da equação do segundo grau, são os limites de confiança $100(1-\alpha)\%$ para ρ , que é o método de Fieller.

Agora calcula-se a variância para $\hat{x}_0 = \frac{\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1}$. Para isto, adapta-se o resultado obtido para $\hat{\rho}$. Então basta trocar $\hat{\beta}_0$ por $\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0$. Mas para isto realiza-se alguns cálculos:

$$\text{Var}(\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0) = \text{Var}(\hat{y}_0) + \text{Var}(\hat{\beta}_0) - 2\text{Cov}(\hat{y}_0, \hat{\beta}_0) \quad (15)$$

Porém, tem-se:

$$\text{Cov}(\hat{y}_0, \hat{\beta}_0) = \mathbb{E}(\hat{y}_0 \hat{\beta}_0) - \mathbb{E}(\hat{y}_0) \mathbb{E}(\hat{\beta}_0) \quad (16)$$

Calcula-se agora

$$\mathbb{E}(\hat{y}_0 \hat{\beta}_0) = \mathbb{E}(\hat{\beta}_0^2 + \hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 x_0) = \mathbb{E}(\hat{\beta}_0^2) + \mathbb{E}(\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1) x_0 = \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \mathbb{E}^2(\hat{\beta}_0) + \mathbb{E}(\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1) x_0$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Voltando em (16) e obtêm-se

$$\begin{aligned}\text{Cov}(\hat{y}_0, \hat{\beta}_0) &= \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \mathbb{E}^2(\hat{\beta}_0) + \mathbb{E}(\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1) x_0 - \mathbb{E}^2(\hat{\beta}_0) - \mathbb{E}(\hat{\beta}_0) \mathbb{E}(\hat{\beta}_1) x_0 = \\ &= \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) x_0\end{aligned}$$

Agora, voltando em (15) e obtêm-se

$$\begin{aligned}\text{Var}(\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0) &= \text{Var}(\hat{y}_0) + \text{Var}(\hat{\beta}_0) - 2\text{Cov}(\hat{y}_0, \hat{\beta}_0) = \\ &= \text{Var}(\hat{y}_0) - \text{Var}(\hat{\beta}_0) - 2\text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) x_0\end{aligned}$$

Vale lembrar que

$$\begin{aligned}\text{Cov}(\hat{y}_0 - \hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) &= \text{Cov}(\hat{y}_0, \hat{\beta}_1) - \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = \text{Cov}(\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_0, \hat{\beta}_1) - \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = \\ &= \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) + \text{Cov}(\hat{\beta}_1, \hat{\beta}_1) x_0 - \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = \text{Var}(\hat{\beta}_1) x_0\end{aligned}$$

Logo, tem-se que

$$\begin{aligned}u(\hat{x}_0) &= \gamma_1 \pm \gamma_2 \left(\left(z_{\alpha/2} \text{Var}(\hat{\beta}_1) x_0 \right)^2 - z_{\alpha/2}^2 \text{Var}(\hat{y}_0) \text{Var}(\hat{\beta}_1) + z_{\alpha/2}^2 \text{Var}(\hat{\beta}_0) \text{Var}(\hat{\beta}_1) + \right. \\ &+ 2z_{\alpha/2}^2 \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) \text{Var}(\hat{\beta}_1) x_0 + \hat{\beta}_0^2 \text{Var}(\hat{\beta}_1) + \hat{\beta}_1^2 \text{Var}(\hat{y}_0) - \hat{\beta}_1^2 \text{Var}(\hat{\beta}_0) \\ &\left. - 2\hat{\beta}_1^2 \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) x_0 - 2\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 \text{Var}(\hat{\beta}_1) x_0 \right)^{1/2}\end{aligned}$$

Substituindo a equação anterior pelos valores:

$$\text{Var}(\hat{\beta}_1) = \frac{\text{QME}}{S_{xx}}, \quad \text{Var}(\hat{\beta}_0) = \text{QME} \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{S_{xx}} \right) \quad \text{e} \quad \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = -\frac{\bar{x} \text{QME}}{S_{xx}}$$

e com algumas manipulações algébricas obtêm-se que

$$V(\hat{x}_0) = \frac{\hat{\beta}_0 \hat{\beta}_1 + \bar{x} g}{(\hat{\beta}_1^2 - g)} \pm \frac{z_{\alpha/2}}{(\hat{\beta}_1^2 - g)} \sqrt{2g \frac{\text{QME}}{S_{xx}} \bar{x} \hat{x}_0 + \text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}}$$

em que $g = \frac{z_{\alpha/2}^2 \text{QME}}{S_{xx}}$. Quando g é zero para $V(\hat{x}_0)$, tem-se os limites para $\hat{\rho}(\hat{x}_0)$. Com isso tem-se que

$$V(\hat{x}_0) = \hat{\rho} \pm \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}}$$

Agora, observe que

$$-\frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}} \leq \frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \leq \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}}$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Multiplicando por -1 a inequação e somando $\frac{\hat{y}_0}{\hat{\beta}_1}$, obtêm-se que

$$\frac{\hat{y}_0}{\hat{\beta}_1} - \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}} \leq \frac{\hat{y}_0}{\hat{\beta}_1} - \frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \leq \frac{\hat{y}_0}{\hat{\beta}_1} + \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}}$$

Logo, tem-se que

$$\frac{\hat{y}_0}{\hat{\beta}_1} - \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}} \leq \hat{x}_0 \leq \frac{\hat{y}_0}{\hat{\beta}_1} + \frac{z_{\alpha/2}}{\hat{\beta}_1^2} \sqrt{\text{QME} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx}}}$$

Portanto, a incerteza padronizada devido a curva de calibração é dada por:

$$u(\hat{x}_0) = \frac{\hat{y}_0 + \hat{\beta}_1}{\hat{\beta}_1} \sqrt{\frac{\text{QME}}{\hat{\beta}_1^2} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx} \hat{\beta}_1^2}}$$

6.1.5 Fator de correção

Para a obtenção da potência se define, conforme a Famacopeia Europeia [3]

- **Potência atribuída:** potência da preparação do padrão;
- **Potência assumida:** potência atribuída provisoriamente de uma preparação a ser examinada (no caso da amostra), que constitui a base do cálculo das doses que são equipotentes e das doses a serem utilizadas na preparação do padrão.

O fator de correção deve ser aplicado se as soluções estoques não são exatamente equipotentes com base nas potências atribuídas (para o padrão) e assumidas (para a amostra). O fator de correção é dado por:

$$fc = \frac{Pot_{at} \times Sol_{est_p}}{Pot_{as} \times Sol_{est_a}},$$

em que:

- Pot_{at} : potência atribuída para a preparação do padrão;
- Pot_{as} : potência assumida para a preparação da amostra;
- Sol_{est_p} : solução estoque da preparação do padrão;
- Sol_{est_a} : solução estoque da preparação do amostra.

Caso seja considerada mais de uma solução estoque, o fator de correção deve incluir estas em seu cálculo.

Logo, a potência é dada por:

$$Pot = \frac{\text{antilog}(M)}{100} \times fc \times Pot_{as},$$

em que $\text{antilog}(M)$ é o antilog da potência relativa M obtida e Pot refere-se a potência.

7 Modelo de interpolação $d \times 1$

Nesta seção apresentam-se as técnicas estatísticas voltadas à análise de ensaios com o delineamento $d \times 1$. O modelo é análogo ao de regressão linear, conforme descrito na seção 6.1.1, desta forma o modelo de validade é análogo ao descrito na seção 6.1.1. Vale ressaltar que a hipótese referente ao parâmetro Placa é opcional.

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

7.1 Análise da falta de ajuste

O modelo linear simples é:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 x_i + \varepsilon \quad \begin{cases} i = 1, 2, \dots, m \\ j = 1, 2, \dots, n_i \end{cases} \quad (17)$$

em que,

- Y_{ij} : representa a j -ésima observação para o i -ésimo valor da variável;
- β_0 : onde a reta intercepta o eixo y ;
- β_1 : representa a inclinação da reta de regressão;
- x_i : representa o i -ésimo valor da variável explicativa;
- ε_{ij} : representa o erro aleatório associado à i -ésimo e j -ésima observação;
- n_i representa o número de observações para o i -ésimo valor de x .

Supondo que se tem m diferentes valores da variável explicativa ($x_1, x_2, \dots, x_m$) e que se tem n_i réplicas da variável resposta para cada valor da variável explicativa, ou seja,

$$\left\{ \begin{array}{l} x_1 \Rightarrow Y_{11} \ Y_{12} \ Y_{13} \ \dots \ Y_{1n_1} \\ x_2 \Rightarrow Y_{21} \ Y_{22} \ Y_{23} \ \dots \ Y_{1n_2} \\ x_3 \Rightarrow Y_{31} \ Y_{32} \ Y_{33} \ \dots \ Y_{1n_3} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \quad \vdots \quad \vdots \quad \ddots \quad \vdots \\ x_m \Rightarrow Y_{m1} \ Y_{m2} \ Y_{m3} \ \dots \ Y_{mn_m} \end{array} \right.$$

Decompõe-se a soma de quadrados do erro em dois componentes.

Para se entender a decomposição, toma-se,

$$Y_{ij} - \hat{Y}_i = (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.}) + (\bar{Y}_{i.} - \hat{Y}_i).$$

A primeira parte reflete a variabilidade entre as observações da variável resposta para o mesmo x_i , enquanto que a segunda parte reflete os desvios das médias das observações (em cada x_i) para o modelo.

Assim, associa-se a primeira parte ao erro puro (PE) e a segunda parte à falta de ajuste do modelo (lof).

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$\begin{aligned}
SQE &= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \hat{Y}_i)^2 \\
&= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.} + \bar{Y}_{i.} - \hat{Y}_i)^2 \\
&= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} ((Y_{ij} - \bar{Y}_{i.}) - (\hat{Y}_i - \bar{Y}_{i.}))^2 \\
&= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})^2 - 2 \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})(\hat{Y}_i - \bar{Y}_{i.}) + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (\hat{Y}_i - \bar{Y}_{i.})^2 \\
&= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})^2 + \sum_{i=1}^m n_i (\hat{Y}_i - \bar{Y}_{i.})^2, \text{ pois } 2 \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})(\hat{Y}_i - \bar{Y}_{i.}) = 0 \\
&= SQ_{PE} + SQ_{LOF}.
\end{aligned}$$

Assim,

$$SQ_{PE} = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_{i.})^2 \quad \text{e} \quad SQ_{LOF} = \sum_{i=1}^m n_i (\hat{Y}_i - \bar{Y}_{i.})^2.$$

O quadrado médio devido ao Falta de Ajuste é dado por

$$QM_{LOF} = \frac{SQ_{LOF}}{m-2}.$$

Logo o teste para a falta de ajuste é dada por

$$F_0 = \frac{QM_{LOF}}{QM_{PE}} = \frac{\frac{(SQ_{LOF})}{(m-2)}}{\frac{SQ_{PE}}{(n-m)}} \sim F_{(m-2; n-m)}$$

Tem-se que

$$E[QM_{LOF}] = \sigma^2 + \frac{\sum_{i=1}^m n_i [E(Y_i) - \beta_0 - \beta_1 x_i]^2}{m-2}. \quad (18)$$

Se a regressão linear for perfeita obtém-se que $E(Y_i) = \beta_0 + \beta_1 x_i$ e o segundo termo da equação (18) é zero. Neste caso,

$$E[QM_{LOF}] = \sigma^2$$

Se o modelo linear não for adequado, obtém-se que $E(Y_i) \neq \beta_0 + \beta_1 x_i$. Neste caso,

$$E[QM_{LOF}] > \sigma^2$$

Seja,

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$E(Y_i) \neq \beta_0 + \beta_1 x_i \text{ modelo linear inadequado}$$

Se H_0 é verdadeiro, obtém-se que $F_0 \sim F_{(m-2;n-m)}$. Com isso, rejeita-se H_0 se $F_0 > F_{(\alpha, m-2; n-m)}$. O P-valor é dado por

$$\text{P-valor} = P[F_{(m-2; n-m)} > F_0].$$

Fonte	SQ	GL	QM	Estatística
Regressão	SQR	1	$SQR/1$	$\frac{QMR}{QME}$
Falta de Ajuste	$SQE - SQE(puro)$	$m - 2$	$\frac{SQE - SQE(puro)}{m - 2}$	$\frac{QME_{LOF}}{QME_{Puro}}$
Erro Puro	$SQE(puro)$	$n - m$	$\frac{SQE(puro)}{n - m}$	
Resíduo	SQE	$n - 2$	$\frac{SQE}{n - 2}$	
Total	SQT	$n - 1$		

Tabela 4: Tabela da ANOVA.

7.2 Cálculo da potência relativa

O cálculo da potência para ensaios $d \times 1$ é dado por:

$$\text{Potência Relativa} = \text{Antilog} M = \text{Antilog} \frac{1}{\hat{\beta}_1} \sum_{i=1}^n (y_{a_i} - y_{p_i}) \quad (19)$$

em que

- Antilog M : potência relativa;
- y_{a_i} : i —ésima medição da amostra;
- y_{p_i} : i —ésima medição do padrão;
- $\hat{\beta}_1$: estimativa do coeficiente angular.

8 Modelo slope-ratio

Nesta seção apresentam-se as técnicas estatísticas voltadas ao modelo de slope-ratio (razão entre os coeficientes angulares). Segundo a Farmacopeia Europeia [3] tem-se que os experimentos que utilizam a modelagem via slope-ratio podem ser:

- $d \times d + 1$: nesse tipo de ensaio tem-se d concentrações e se considera o branco, denotado por 1 no ensaio;
- $d \times d$: nesse tipo de ensaios tem-se d concentrações, sem considerar o branco.

Para os ensaios que seguem esse formato, têm-se algumas restrições (para mais detalhes [3]), as quais são:

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- As preparações do padrão e da amostra deve ser avaliadas com o mesmo número de diluições e as diluições devem ser equidistantes;
- O branco é definido como o grupo experimental que não recebe nenhum tratamento;
- O número de unidades experimentais deve ser igual para cada tratamento.

A seguir apresentam-se as hipóteses a serem avaliadas na validação do ensaio.

• **Branco:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{A variação do branco não é significativa} \\ H_1 : \text{A variação no branco é significativa} \end{cases}$$

• **Regressão:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{Coeficiente angular igual a zero} \\ H_1 : \text{Coeficiente angular diferente de zero} \end{cases}$$

• **Igualdade de intercepto:**

$$\begin{cases} H_0 : \text{A preparação do padrão e da amostra têm o mesmo intercepto} \\ H_1 : \text{A preparação do padrão e da amostra têm interceptos distintos} \end{cases}$$

• **Desvio da linearidade (falta de ajuste):**

$$\begin{cases} H_0 : \text{O modelo não apresenta desvio da linearidade (Falta de ajuste)} \\ H_1 : \text{O modelo apresenta desvio da linearidade (Falta de ajuste)} \end{cases}$$

Em relação a hipótese referente ao branco, tem-se que se a variação deste é significativa a hipótese de linearidade no ponto de zero-dose não é válida. Desta forma retira-se tal ponto da análise estatística, obtendo assim um ensaio $d \times d$ e não mais $d \times d + 1$.

8.1 Modelo para validade do ensaio

Com objetivo de avaliar a significância dos parâmetros descritos anteriormente utiliza-se o teste F parcial, analogamente ao descrito na seção 6.1.1. Inicialmente, considera-se o modelo de regressão linear escrito na forma:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n \quad (20)$$

em que

- Y_i : é a variável resposta, que se relaciona com $p = 3$ variáveis explicativas;
- β_0 : é o intercepto do modelo;
- β_1 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa Dose;
- X_{i1} : é a variável explicativa correspondente a variável explicativa Dose;
- β_2 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa Preparação;
- X_{i2} : é a variável dummy, referente a Preparação;

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- β_3 : é o coeficiente de regressão correspondente a interação entre as variáveis explicativas Dose e Preparação;
- X_{i3} : é a variável explicativa referente a interação entre Dose e Preparação;
- ε_i : representa o erro experimental.

A variável explicativa Preparação, em ensaios $d \times d + 1$ é denotada por:

$$\text{Preparação} = \begin{cases} -1, & \text{branco} \\ 0, & \text{padrão} \\ 1, & \text{teste} \end{cases}$$

Nos ensaios em que não se considera o branco, a variável explicativa Preparação, isto é, em ensaios $d \times d$ é denotada por:

$$\text{Preparação} = \begin{cases} 0, & \text{padrão} \\ 1, & \text{teste} \end{cases}$$

A modelagem é análoga ao descrito na seção 6.1.2. Assim como o teste referente ao desvio da linearidade (falta de ajuste) é análogo ao descrito na seção 7.1.

A seguir se apresenta a Tabela ANOVA para os ensaios $d \times d + 1$, isto é, considerando-se o branco.

Fonte	SQ	GL	QM	Estatística
Branco	SQB	1	$QMB = \frac{SQB}{1}$	$\frac{SQB}{QMEP}$
Regressão	SQR	$p - 1$	$QMR = \frac{SQR}{p-1}$	$\frac{SQR}{QMEP}$
Igualdade do intercepto	SQI	1	$QMI = \frac{SQI}{1}$	$\frac{SQI}{QMEP}$
Desvio da linearidade	$SQE - SQE(puro)$	$m - 2$	$QMD = \frac{SQE - SQE(puro)}{m-2}$	$\frac{SQE - SQE(puro)}{s^2(m-2)}$
Erro Puro	$SQE(puro)$	$n - m$	$QMEP = \frac{SQE - SQE(puro)}{m-2}$	
Resíduos	SQE	$n - 2$		
Total	SQT	$n - 1$		

Tabela 5: Tabela da ANOVA - Ensaios $d \times d + 1$.

A seguir se apresenta a Tabela ANOVA para os ensaios $d \times d$, isto é, desconsiderando-se o branco.

Fonte	SQ	GL	QM	Estatística
Regressão	SQR	$p - 1$	$QMR = \frac{SQR}{p-1}$	$\frac{SQR}{QMEP}$
Igualdade do intercepto	SQI	1	$QMI = \frac{SQI}{1}$	$\frac{SQI}{QMEP}$
Desvio da linearidade	$SQE - SQE(puro)$	$m - 2$	$QMD = \frac{SQE - SQE(puro)}{m-2}$	$\frac{SQE - SQE(puro)}{s^2(m-2)}$
Erro Puro	$SQE(puro)$	$n - m$	$QMEP = \frac{SQE - SQE(puro)}{m-2}$	
Resíduo	SQE	$n - 2$		
Total	SQT	$n - 1$		

Tabela 6: Tabela da ANOVA - Ensaios $d \times d$.

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

8.2 Cálculo da potência relativa

Tem-se que o modelo utilizado para o cálculo da potência relativa é

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n \quad (21)$$

em que

- Y_i : é a variável resposta, que se relaciona com $p = 2$ variáveis explicativas;
- β_0 : é o intercepto do modelo;
- β_1 : é o coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa, no caso a Dose;
- X_{i1} : é a variável explicativa Dose;
- β_2 : é o coeficiente de regressão correspondente a interação entre as variáveis explicativas Dose e Preparação;
- X_{i2} : é a variável dummy, referente a interação entre as variáveis explicativas Dose e Preparação;
- ε_i : representa o erro experimental.

O cálculo da potência é dado por:

$$\rho = \frac{\hat{\beta}_1 + \hat{\beta}_2}{\hat{\beta}_1} \quad (22)$$

em que

- ρ : potência relativa;
- $\hat{\beta}_1$: coeficiente de regressão correspondente a variável explicativa Dose;
- $\hat{\beta}_2$: coeficiente de regressão correspondente a interação entre Dose e Preparação.

A determinação do intervalo de confiança para a estimativa da potência relativa é dado pelo Método de Fieller, conforme descrito na seção 6.1.4.

9 Medida descritiva da qualidade de ajuste

Nesta seção apresentam-se o coeficiente de associação e o coeficiente de correlação de Pearson. Estas medidas medem a qualidade de ajuste do modelo para a estimativa da potência relativa.

9.1 Coeficiente de associação

É uma medida descritiva da qualidade do ajuste obtido, que representa a variabilidade nos dados que é explicada pelo modelo de regressão ajustado. O valor do coeficiente de determinação depende do número de observações (n), tendendo a crescer quando n diminui. Se $n = 2$ tem-se sempre $R^2 = 1$. Para calcular o coeficiente de correlação, se utiliza a expressão dada a seguir

$$R^2 = \frac{SQR}{S_{yy}} = 1 - \frac{SQE}{S_{yy}} = \frac{\hat{\beta}_1 S_{xy}}{S_{yy}} \quad (23)$$

em que:

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- $S_{yy} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij}^2 - n\bar{Y}^2);$
- $S_{xy} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij}Y_{ij} - n\bar{Y}\bar{x});$
- R^2 coeficiente de determinação;
- $R = \sqrt{R^2}$ é o coeficiente de correlação.

Vale ressaltar que as fórmulas não estão em notação matricial.

10 Análise dos resíduos

Nesta seção apresentam-se as técnicas estatísticas voltadas à análise de resíduos dos modelos de regressão.

10.1 Resíduos

Nesta subseção apresentam-se os tipos de resíduos.

10.1.1 Resíduos ordinários

Considere o vetor de resíduos ordinários denotado por e :

$$e = Y - \hat{Y} = Y - X\hat{\beta} = Y - HY = (I - H)Y.$$

A matriz de covariâncias dos resíduos é,

$$\begin{aligned} Cov[e] &= Cov[(I - H)Y] = (I - H)Var(Y)(I - H)' \\ &= \sigma^2(I - H)(I - H)' \\ &= \sigma^2(I - H) \end{aligned}$$

no qual $H = X(X'X)^{-1}X'$ é a matriz chapéu (hat) e X a matriz do modelo. Para avaliar a presença de valores extremos (ou outliers), se escalonar os resíduos.

10.1.2 Resíduos padronizados

Os resíduos padronizados são dados por

$$r_i = \frac{e_i}{\sqrt{QME(1 - h_{ii})}}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (24)$$

com $\hat{\sigma}^2 = QME$ e h_{ii} o i -ésimo elemento da diagonal principal da matriz chapéu H .

Os resíduos padronizados têm variâncias constantes $Var(r_i) = 1$ o que consequentemente torna muito prática a procura por outliers, que são observações distantes das demais. Em geral, as observações com resíduo padronizado fora do intervalo $-3 \leq r_i \leq 3$ são considerados valores extremos (outliers).

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

10.1.3 Resíduos studentizados

Um dos testes mais utilizados para se detectar outlier é o teste da mudança na média. Suponha que a i -ésima resposta é um candidato a outlier. Para todas as outras respostas se assume que $\mathbb{E}[Y \mid X = x_j] = x_j' \beta$, mas para o i -ésima resposta assume-se que a função média é dada por $\mathbb{E}[Y \mid X = x_i] = x_i' \beta + \delta$. A resposta esperada para o caso i é modificada pelo parâmetro δ . Assim, pode-se realizar o teste $H_0 : \delta = 0$ versus $H_1 : \delta \neq 0$ para verificar se a i -ésima resposta é um valor extremo (outlier). Assume-se que a variância é constante, isto é, $\text{Var}(Y \mid X) = \sigma^2$.

Resposta com valores altos de resíduos são candidatos a outlier, porém, nem toda observação com resíduo alto é um outlier. Resíduos altos devem ocorrer conforme a distribuição de probabilidade dos dados (normal). Além disso, nem todo outlier é ruim, pois o outlier é detectado em função do modelo ajustado, que pode não ser adequado aos dados. Suponha que a observação i seja suspeita de ser um outlier. Para verificar esta suspeita procede-se da seguinte forma:

1. Retira-se a observação i dos dados, ficando com as $n - 1$ observações restantes;
2. Com os dados reduzidos, estima-se os parâmetros β_0 , β_1 e σ^2 . Denota-se as estimativas por $\beta_{(i)}$ e $\sigma_{(i)}$ para evidenciar que retirou-se a observação i do conjunto de dados. Neste caso, o estimador para $\sigma_{(i)}^2$ tem $n - 1 - p - 1$ graus de liberdade, para o modelo com o intercepto. Se denota por p' o número de linhas da matriz X , obtém-se que $p' = p + 1$ no caso com intercepto. Neste caso, tem-se que $\hat{\sigma}_{(i)}^2$ tem $n - p' - 1$ graus de liberdade.
3. Para os dados sem a observação i , se calcula o valor ajustado $\hat{Y}_{i(i)} = x_i' \beta_{(i)}$. Desde que a i -ésima observação não foi utilizada para estimar os parâmetros $\beta_{(i)}$ conclui-se que Y_i e $\hat{Y}_{i(i)}$ são independentes. Como consequência, obtém-se que

$$\text{Var}[Y_i - \hat{Y}_{i(i)}] = \sigma^2 + \sigma^2 x_i' (X_{(i)}' X_{(i)})^{-1} x_i,$$

no qual $X_{(i)}$ é a matriz X sem a linha i . A variância é estimada substituindo-se σ^2 por $\hat{\sigma}_{(i)}^2$ na expressão acima.

4. Sabe-se que $\mathbb{E}[Y_i - \hat{Y}_{i(i)}] = \delta$ que é zero sob H_0 e diferente de zero sob H_1 .

Assumindo distribuição normal para os resíduos, tem-se que sob $H_0 : \delta = 0$, a estatística do teste

$$t_i = \frac{Y_i - \hat{Y}_{i(i)}}{\hat{\sigma} \sqrt{1 + x_i' (X_{(i)}' X_{(i)})^{-1} x_i}},$$

tem distribuição t -Student com $n - p' - 1$ graus de liberdade. Assim, o resíduo studentizado pode ser escrito na forma:

$$t_i = r_i \sqrt{\frac{n - p' - 1}{n - p' - r_i^2}},$$

no qual r_i o resíduo padronizado.

10.2 Teste de normalidade

Nesta seção se descreve os testes voltados a avaliação de normalidade dos resíduos.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

10.2.1 Teste de Anderson-Darling

O problema é de testar a hipótese de que uma dada amostra tenha sido retirada de uma dada população com função de distribuição acumulada contínua F . Considere $e_1, e_2, \dots, e_N$ os resíduos e suponha que um provável candidato para a FDA ¹ dos resíduos seja F , no qual F é a função de distribuição acumulada da normal. Então, o teste de hipóteses para verificar a adequabilidade da distribuição é:

$$\begin{cases} H_0 : \text{a amostra tem distribuição } F(x) \\ H_1 : \text{a amostra não tem distribuição } F(x) \end{cases}$$

De forma genérica, considere $x_1, \dots, x_n$ uma amostra aleatória. Anderson e Darling (1952, 1954) propuseram a seguinte estatística para este teste

$$A^2 = n \int_{-\infty}^{\infty} \frac{[F_n(x) - F(x)]}{F(x)(1 - F(x))} dF(x)$$

no qual F_n é a função de distribuição acumulada empírica definida como

$$F_n(x) = \begin{cases} 0, & \text{se } x < x_{(1)} \\ \frac{k}{n}, & \text{se } x_{(k)} \leq x < x_{(k+1)} \\ 1, & \text{se } x \geq x_{(n)} \end{cases} \quad (7.3.1)$$

para $x_{(1)} \leq x_{(2)} \leq \dots \leq x_{(n)}$, são as estatísticas de ordem da amostra aleatória. A estatística A^2 pode ser escrita numa forma equivalente:

$$A^2 = -n - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [(2i-1) \ln(F(x_{(i)})) + (2(n-i)+1) \ln(1 - F(x_{(i)}))]$$

A transformação $F(x_{(i)})$ leva $x_{(i)}$ em $U_{(i)}$ de uma amostra de tamanho n com distribuição uniforme em $(0, 1)$. Logo,

$$A^2 = -n - \frac{1}{n} D$$

em que D é dado por

$$D = \sum_{i=1}^n [(2i-1) \ln(U_{(i)}) + (2(n-i)+1) \ln(1 - U_{(i)})]$$

Para calcular o valor da estatística A^2 procede-se da seguinte forma:

- Ordena-se os valores da amostra: $x_{(1)} \leq x_{(2)} \leq \dots \leq x_{(n)}$;
- Quando necessário, estime os parâmetros da distribuição de interesse;
- Calcule $U_i = F(x_{(i)})$ e calcule o valor da estatística de Anderson Darling

$$A^2 = -n - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [(2i-1) \ln(U_{(i)}) + (2(n-i)+1) \ln(1 - U_{(i)})]$$

¹ Função Distribuição Acumulada

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- Para cada uma das distribuições calcule, se for o caso, o valor da estatística modificada de acordo com as tabelas dadas para cada uma delas.

Para uma distribuição com parâmetros conhecidos tem-se os valores da função de distribuição acumulada da estatística A^2 tabulados em Peter and Lewis (1960). O problema surge quando um ou dois dos parâmetros da distribuição precisam ser estimados. Para contornar esse problema Stephens (1974, 1976, 1977) utilizou métodos assintóticos para tabular os valores dessas probabilidades quando os parâmetros das distribuições são desconhecidos.

Para a distribuição Normal com função densidade de probabilidade

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (-\infty < x, < \infty).$$

a seguinte tabela fornece alguns valores de quantis e a estatística de Anderson Darling modificada, dada por

$$A_m^2 = \left(1 + \frac{0,75}{n} + \frac{2,25}{n^2}\right) A^2.$$

Caso 1: O parâmetro $\theta(\mu, \sigma^2)$ é totalmente conhecido.

Caso 2: μ é conhecido e σ^2 é estimado por s^2 .

Caso 3: σ^2 é conhecido e μ é estimado por $\bar{X}$.

Caso 4: Nenhum dos componentes de $\theta = (\mu, \sigma^2)$ é conhecido e são estimados por $(\bar{X}, s^2)$.

Caso	Modificação	P-Valor				
		15%	10%	5%	2,5%	1%
Caso 0	-	1,61	1,933	2,492	3,07	3,857
Caso 1	-	0,784	0,897	1,088	1,281	1,541
Caso 2	-	1,443	1,761	2,315	2,89	3,682
Caso 3	$A^2(1 + (0,75/n) + (2,25/n^2))$	0,56	0,632	0,751	0,87	1,029

Tabela 7: Valores críticos para o teste de Anderson-Darling.

Nesse caso o p-valor exato é obtido por interpolação dos valores tabelados. Então se p-valor $> 0,05$ não rejeita-se a hipótese nula e concluiu-se que os resíduos possuem distribuição normal. Caso p-valor $\leq 0,05$ se rejeita a hipóteses nula e concluiu-se que os resíduos não possuem distribuição normal.

10.2.2 Teste de Shapiro-Wilk

O teste Shapiro-Wilk, proposto em 1965, é baseado na estatística W dada por:

$$W = \frac{b^2}{\sum_{i=1}^n (x_{(i)} - \bar{x})^2}$$

em que x_i são os valores da amostra ordenada ($x_{(1)}$ é o menor valor). A constante b é determinada da seguinte forma

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$b = \begin{cases} \sum_{i=1}^{n/2} a_{n-i+1} \times (x_{(n-i+1)} - x_{(i)}) & \text{se } n \text{ é par} \\ \sum_{i=1}^{(n+1)/2} a_{n-i+1} \times (x_{(n-i+1)} - x_{(i)}) & \text{se } n \text{ é ímpar} \end{cases}$$

em que a_{n-i+1} são constantes geradas pelas médias, variâncias e covariâncias das estatísticas de ordem de uma amostra de tamanho n de uma distribuição Normal.

Para aplicar-se o teste de Shapiro-Wilk, segue-se os passos:

1. Formulação da hipótese:

$$\begin{cases} H_0 : \text{os resíduos tem distribuição} \\ H_1 : \text{os resíduos não tem distribuição} \end{cases}$$

2. Estabelecer o nível de significância do teste (α);

3. Calcular a estatística de teste:

- Ordenar as n observações da amostra: $x_{(1)}, x_{(2)}, x_{(3)}, \dots, x_{(n)}$;
- Calcular $\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$;
- Calcular b ;
- Calcular W .

4. Tomar a decisão: rejeitar H_0 ao nível de significância α se $W_{\text{calculado}} < W_{\alpha}$

Os valores críticos da estatística W de Shapiro-Wilk são dados na Tabela a seguir.

N	0,01	0,02	0,05	0,1	0,5	0,9	0,95	0,98	0,99
3	0,753	0,756	0,767	0,789	0,959	0,998	0,999	1	1
4	0,687	0,707	0,748	0,792	0,935	0,987	0,992	0,996	0,997
5	0,686	0,715	0,762	0,806	0,927	0,979	0,986	0,991	0,993
6	0,713	0,743	0,788	0,826	0,927	0,974	0,981	0,986	0,989
7	0,73	0,76	0,803	0,838	0,928	0,972	0,979	0,985	0,988
8	0,749	0,778	0,818	0,851	0,932	0,972	0,978	0,984	0,987
9	0,764	0,791	0,829	0,859	0,935	0,972	0,978	0,984	0,986
10	0,781	0,806	0,842	0,869	0,938	0,972	0,978	0,983	0,986
11	0,792	0,817	0,85	0,876	0,94	0,973	0,979	0,984	0,986
12	0,805	0,828	0,859	0,883	0,943	0,973	0,979	0,984	0,986
13	0,814	0,837	0,866	0,889	0,945	0,974	0,979	0,984	0,986
14	0,825	0,846	0,874	0,895	0,947	0,975	0,98	0,984	0,986
15	0,835	0,855	0,881	0,901	0,95	0,975	0,98	0,984	0,987
16	0,844	0,863	0,887	0,906	0,952	0,976	0,981	0,985	0,987
17	0,851	0,869	0,892	0,91	0,954	0,977	0,981	0,985	0,987
18	0,858	0,874	0,897	0,914	0,956	0,978	0,982	0,986	0,988
19	0,863	0,879	0,901	0,917	0,957	0,978	0,982	0,986	0,988
20	0,868	0,884	0,905	0,92	0,959	0,979	0,983	0,986	0,988
21	0,873	0,888	0,908	0,923	0,96	0,98	0,983	0,987	0,989

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

22	0,878	0,892	0,911	0,926	0,961	0,98	0,984	0,987	0,989
23	0,881	0,895	0,914	0,928	0,962	0,981	0,984	0,987	0,989
24	0,884	0,898	0,916	0,93	0,963	0,981	0,984	0,987	0,989
25	0,888	0,901	0,918	0,931	0,964	0,981	0,985	0,988	0,989
26	0,891	0,904	0,92	0,933	0,965	0,982	0,985	0,988	0,989
27	0,894	0,906	0,923	0,935	0,965	0,982	0,985	0,988	0,99
28	0,896	0,908	0,924	0,936	0,966	0,982	0,985	0,988	0,99
29	0,898	0,91	0,926	0,937	0,966	0,982	0,985	0,988	0,99
30	0,9	0,912	0,927	0,939	0,967	0,983	0,985	0,988	0,99
31	0,902	0,914	0,929	0,94	0,967	0,983	0,986	0,988	0,99
32	0,904	0,915	0,93	0,941	0,968	0,983	0,986	0,988	0,99
33	0,906	0,917	0,931	0,942	0,968	0,983	0,986	0,989	0,99
34	0,908	0,919	0,933	0,943	0,969	0,983	0,986	0,989	0,99
35	0,91	0,92	0,934	0,944	0,969	0,984	0,986	0,989	0,99
36	0,912	0,922	0,935	0,945	0,97	0,984	0,986	0,989	0,99
37	0,914	0,924	0,936	0,946	0,97	0,984	0,987	0,989	0,99
38	0,916	0,925	0,938	0,947	0,971	0,984	0,987	0,989	0,99
39	0,917	0,927	0,939	0,948	0,971	0,984	0,987	0,989	0,991
40	0,919	0,928	0,94	0,949	0,972	0,985	0,987	0,989	0,991
41	0,92	0,929	0,941	0,95	0,972	0,985	0,987	0,989	0,991
42	0,922	0,93	0,942	0,951	0,972	0,985	0,987	0,989	0,991
43	0,923	0,932	0,943	0,951	0,973	0,985	0,987	0,99	0,991
44	0,924	0,933	0,944	0,952	0,973	0,985	0,987	0,99	0,991
45	0,926	0,934	0,945	0,953	0,973	0,985	0,988	0,99	0,991
46	0,927	0,935	0,945	0,953	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
47	0,928	0,936	0,946	0,954	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
48	0,929	0,937	0,947	0,954	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
49	0,929	0,938	0,947	0,955	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991
50	0,93	0,939	0,947	0,955	0,974	0,985	0,988	0,99	0,991

10.2.3 Teste de Kolmogorov-Smirnov

O teste de Kolmogorov-Smirnov pode ser utilizado para avaliar as hipóteses:

$$\begin{cases} H_0 : \text{a amostra tem distribuição normal} \\ H_1 : \text{a amostra não tem distribuição normal} \end{cases}$$

Este teste observa a máxima diferença absoluta entre a função de distribuição acumulada assumida para os dados, no caso a Normal, e a função de distribuição empírica dos dados. Como critério, compara-se esta diferença com um valor crítico, para um dado nível de significância.

Considere uma amostra aleatória simples $X_1, X_2, \dots, X_n$ de uma população com função de distribuição acumulada contínua F_X desconhecida. A estatística utilizada para o teste é:

$$D_n = \sup_x |F(x) - F_n(x)|$$

Esta função corresponde a distância máxima vertical entre os gráficos de $F(x)$ e $F_n(x)$ sobre a amplitude dos possíveis valores de x . Em D_n temos que

- $F(x)$ representa a função de distribuição acumulada assumida para os dados;
- $F_n(x)$ representa a função de distribuição acumulada empírica dos dados.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Neste caso, deseja-se testar a hipótese $F_X = F$ contra a hipótese alternativa $F_X \neq F$. Para isto, toma-se $X_{(1)}, X_{(2)}, \dots, X_{(n)}$ as observações aleatórias ordenadas de forma crescente da população com função de distribuição contínua F_X . No caso de análise da normalidade dos dados, assume-se F a função de distribuição da normal.

A função de distribuição acumulada assumida para os dados é definida por $F(x_{(i)}) = \mathbb{P}(X \leq x_{(i)})$ e a função de distribuição acumulada empírica é definida por uma função escada, dada pela fórmula:

$$F_n(x) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n I_{\{(-\infty, x]\}}(x_{(i)})$$

onde I_A é a função indicadora. A função indicadora é definida da seguinte forma:

$$I_A = \begin{cases} 1; & \text{se } x \in A \\ 0; & \text{caso contrário} \end{cases}$$

Observe que a função da distribuição empírica $F_n(x)$ corresponde à proporção de valores menores ou iguais a x . Tal função também pode ser escrita da seguinte forma

$$F_n(x) = \begin{cases} 0, & \text{se } x < x_{(1)} \\ \frac{k}{n}, & \text{se } x_{(k)} \leq x < x_{(k+1)} \\ 1, & \text{se } x > x_{(n)} \end{cases} \quad (12)$$

Sob H_0 , a distribuição assintótica da estatística de Kolmogorov-Smirnov é dada por

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P[\sqrt{n}D_n \leq x] = 1 - 2 \sum_{j=1}^{\infty} (-1)^{j-1} \exp^{-2j^2 x^2}.$$

Esta distribuição assintótica é válida quando se tem conhecimento completo sobre a distribuição de H_0 , entretanto, na prática, H_0 especifica uma família de distribuições de probabilidade. Neste caso, a distribuição assintótica da estatística de Kolmogorov-Smirnov não conhecida e foi determinada via simulação.

Como a função de distribuição empírica F_n é descontínua e a função de distribuição hipotética é contínua, considera-se duas outras estatísticas:

$$D^+ = \sup_{x_{(i)}} |F(x_{(i)}) - F_n(x_{(i)})|$$

$$D^- = \sup_{x_{(i)}} |F(x_{(i)}) - F_n(x_{(i-1)})|$$

para se calcular a estatística de Kolmogorov-Smirnov. Essas estatísticas medem as distâncias (vertical) entre os gráficos das duas funções, teórica e empírica, nos pontos $x_{(i-1)}$ e $x_{(i)}$. Com isso, pode-se utilizar como estatística de teste

$$D_n = \max(D^+, D^-)$$

Se D_n é maior que o valor crítico, se rejeita a hipótese de normalidade dos dados com $(1 - \alpha)100\%$ de confiança. Caso contrário, não rejeita-se a hipótese de normalidade. A Tabela de valores críticos para a estatística do teste de Kolmogorov-Smirnov (D_n) é dada a seguir.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

n	0,2	0,1	0,05	0,01
5	0,45	0,51	0,56	0,67
10	0,32	0,37	0,41	0,49
15	0,27	0,3	0,34	0,4
20	0,23	0,26	0,29	0,36
25	0,21	0,24	0,27	0,32
30	0,19	0,22	0,24	0,29
35	0,18	0,2	0,23	0,27
40	0,17	0,19	0,21	0,25
45	0,16	0,18	0,2	0,24
50	0,15	0,17	0,19	0,23
Valores maiores	$\frac{1,07}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,22}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,36}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,63}{\sqrt{n}}$

Tabela 9: Valores críticos para Kolgomorov-Smirnov.

10.2.4 Teste de Ryan-Joiner

O teste de Ryan-Joiner é utilizado para testar se os dados provêm de uma população com distribuição normal. É similar ao teste de Shapiro-Wilk, pois também se baseia na relação linear entre a estatística de ordem da distribuição normal de uma amostra de tamanho n e a amostra da população em estudo após ser ordenada.

Suponha que $\mathbf{X} = X_1, X_2, \dots, X_n$ represente o vetor contendo uma amostra de tamanho n da população de interesse. Denotando por $\mathbf{Y} = Y_1, Y_2, \dots, Y_n$ o vetor ordenado de forma crescente dos elementos de $\mathbf{X}$, ou seja, $Y_1 = \min(\mathbf{X})$ e $Y_n = \max(\mathbf{X})$ e analogamente para os termos intermediários, por fim, seja $\mathbf{Z} = Z_1, Z_2, \dots, Z_n$ um vetor contendo os valores dos quantis teóricos de uma distribuição $N(0, 1)$, dado por:

$$Z_i = \Phi^{-1} \left(\frac{i - 3/8}{n + 1/4} \right), i = 1, 2, \dots, n$$

em que $\left(\frac{i - 3/8}{n + 1/4} \right)$ é conhecido como posição de plotagem.

O teste de Ryan-Joiner se resume em estudar o gráfico normal de probabilidade entre $\mathbf{Z}$ e $\mathbf{Y}$ através do método de regressão linear. Caso a amostra $\mathbf{X}$ provenha de uma população normal espera-se que $\mathbf{Z}$ e $\mathbf{Y}$ tenha, de fato, uma relação linear. A ideia central do teste está em estudar o quão significativa é essa relação, para isso Ryan-Joiner propôs a estatística de teste baseada no coeficiente de correlação amostral de Pearson, dada por

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y}) (Z_i - \bar{Z})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (Z_i - \bar{Z})^2}}$$

O teste de Ryan-Joiner rejeita a hipótese de normalidade dos dados se $r \leq c_\alpha$ onde c_α é o valor crítico do teste. Porém, sob H_0 , a distribuição de r depende de n , ou seja, para tamanhos de amostras diferentes tem-se distribuições diferentes e consequentemente valores críticos distintos.

Por sua vez, o p -valor é calculado como $p\text{-valor} = \mathbf{P}[r < r_{obs} | H_0]$, porém, como mencionado a distribuição de r , sob H_0 , depende do tamanho da amostra, portanto necessita-se de apoio computacional para o cálculo do p -valor e c_α .

De maneira prática, o teste de Ryan-Joiner é realizado pelos seguintes passos:

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- Fixar as hipóteses:

$$\begin{cases} H_0 : \text{A amostra provém de população com distribuição normal} \\ H_1 : \text{A amostra não provém de população com distribuição normal} \end{cases}$$

- Definir o tamanho da amostra n ;
- Ordenar a amostra $x_1, x_2, \dots, x_n$ em $y_1, y_2, \dots, y_n$;
- Calcular os quantis $z_1, z_2, \dots, z_n$;

$$\text{• Calcular } r = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y}) (Z_i - \bar{Z})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (Z_i - \bar{Z})^2}};$$

- Fixar o nível de significância α ;
- Calcular c_α ;
- Se $r \leq c_\alpha$, a um nível de significância α , rejeitar H_0 , caso contrário, não rejeitar H_0 .

10.3 Testes de homoscedasticidade

Homoscedasticidade é o termo utilizado para designar variância constante dos erros ε_{ij} para observações diferentes. Caso a suposição de homoscedasticidade não seja válida, pode-se listar alguns efeitos no ajuste do modelo:

- Os erros padrões dos estimadores, obtidos pelo método dos mínimos quadrados, são incorretos e portanto a inferência estatística não é válida;
- Não se pode mais afirmar que os estimadores de mínimos quadrados são os melhores estimadores de mínima variância para β , embora ainda possam ser não viciados.

10.3.1 Gráfico: Resíduos X Valores Ajustados

O gráfico dos resíduos versus valores ajustados (valores preditos) é uma das principais técnicas utilizadas para verificar as suposições dos resíduos. Para o diagnóstico de heteroscedasticidade, se visa encontrar algum comportamento atípico no gráfico, como o efeito “funil”, a variabilidade dos resíduos aumenta conforme aumenta o valor ajustado. A presença de “funil” é um indicativo da presença de heteroscedasticidade.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

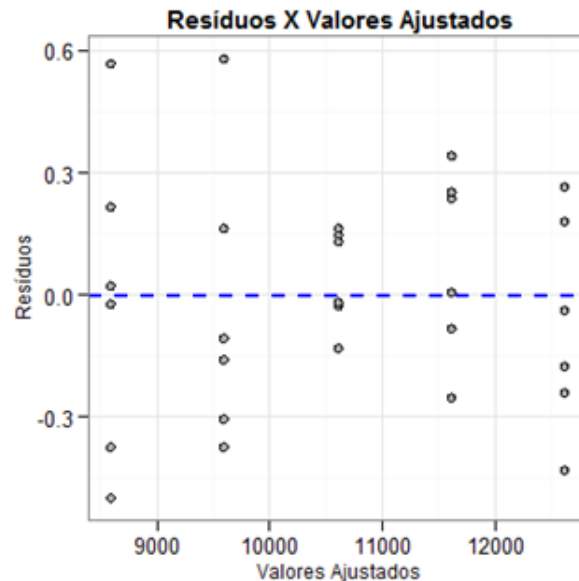


Figura 1: Gráfico dos Resíduos X Valores Ajustados para detectar heteroscedasticidade.

10.3.2 Teste de Brown-Forsythe

O teste de Brown-Forsythe é utilizado para o teste de igualdade de variâncias, que também pode ser utilizado para testar a homoscedasticidade dos resíduos no caso de uma variável explicativa. As hipóteses são dadas por

$$\begin{cases} H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma_k^2 \\ H_1 : \text{Pelo menos um } \sigma_i^2 \text{ é diferente. } i = 1, \dots, k. \end{cases}$$

Para definir a estatística do teste, seja $x_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$, em que x_{ij} é a j -ésima observação no i -ésimo grupo, μ_i representa a media de cada grupo i e são desconhecidas e desiguais. Assume-se que ε_{ij} são independentes e identicamente distribuídos com média zero e variância possivelmente desiguais. Para cada grupo se toma a mediana $\tilde{x}_i$ e a variância amostral s_i^2 e define-se os desvios absolutos por $z_{ij} = |x_{ij} - \tilde{x}_i|$. O cálculo da estatística é dada pela equação 25

$$F_{BF} = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{n_i(\bar{z}_{i.} - \bar{z}_{..})^2}{(k-1)}}{\frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (z_{ij} - \bar{z}_{i.})^2}{\sum_{i=1}^k (n_i - 1)}} \sim F_{(k-1, n-1)} \quad (25)$$

em que

- k = número de grupos da amostra;
- n_i = tamanho da amostra por grupo $i, i = 1, \dots, k$;

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$\begin{aligned} \bullet \bar{z}_{i.} &= \sum_{j=1}^k \frac{z_{ij}}{n_i}; \\ \bullet \bar{z}_{..} &= \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij}}{\sum_{i=1}^k n_i}. \end{aligned}$$

Calcula-se o p-valor por:

$$\text{P-valor} = \mathbb{P} \left[F_{(k-1, \sum_{i=1}^k (n_i-1))} > F_{BF} \right]$$

Então, se $\text{P-valor} > 0,05$ não rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os resíduos são homoscedásticos. Caso $\text{P-valor} \leq 0,05$ se rejeita a hipótese nula e conclui-se que pelo menos um grupo possui variância significativamente diferente dos outros grupos.

10.3.3 Teste de Cochran

O teste de Cochran é o teste de igualdade de variância sugerido pela ANVISA.

- O teste consiste inicialmente em determinar a maior variância para todos os níveis.
- Após isso, divide-se a maior variância pela soma de todas as variâncias e compara-se com o valor crítico do teste.
- As hipóteses do teste são dadas por:

$$\begin{cases} H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma_k^2 \\ H_1 : \text{Pelo menos um } \sigma_i^2 \text{ é diferente. } i = 1, \dots, k. \end{cases}$$

- A estatística do teste é dada pela equação 26

$$C = \frac{s_{max}^2}{\sum_{i=1}^k s_i^2} = \frac{\text{maior variância}}{\text{soma de todas as variâncias}} \quad (26)$$

Os valores críticos para a estatística de Cochran são tabelados e podem ser calculados por

$$C_L(\alpha, k, n) = \left[1 + \frac{n-1}{F_{\left(\frac{\alpha}{n}; ((n-1)*(k-1), n-1)\right)}} \right]^{-1}$$

e o p-valor é calculado por

$$\text{P-valor} = \mathbb{P} \left[\frac{\frac{1}{C} - 1}{n-1} > F_{((n-1)*(k-1), n-1)} \right] * k$$

em que:

- k = número de grupos da amostra
- $n = n_i$ = tamanho da amostra por grupo $i, i = 1, \dots, k$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Portanto se $p\text{-valor} > 0,05$ não rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os dados são homoscedásticos. Caso $p\text{-valor} \leq 0,05$ rejeita-se a hipótese nula e concluiu-se que pelo menos um grupo possui variância significativamente diferente dos outros grupos.

10.3.4 Teste de Breusch-Pagan

Baseado no teste multiplicador de Lagrange, o teste de Breusch-Pagan é bastante utilizado para testar a hipótese nula de que as variâncias dos erros são iguais (homoscedasticidade) versus a hipótese alternativa de que as variâncias dos erros são uma função multiplicativa de uma ou mais variáveis, sendo que esta(s) variável(eis) pode(m) pertencer ou não ao modelo em questão. É indicado para grandes amostras e quando a suposição de normalidade nos erros é assumida.

Para o cálculo da estatística do teste, tem-se que a partir dos resíduos $e = (e_1, \dots, e_n)$ e dos valores ajustados $\hat{y} = (\hat{y}_1, \dots, \hat{y}_n)$, considera-se os resíduos ao quadrado e os padroniza-se de modo que a média do vetor de resíduos padronizados, denotada por u , seja 1. Esta padronização é feita dividindo cada resíduo ao quadrado pela SQE/n em que SQE é a soma de quadrados dos resíduos do modelo ajustado e n é o número de observações. Desta forma, tem-se que cada resíduo padronizado é dado por

$$u_i = \frac{e_i^2}{SQE/n}, \quad i = 1, \dots, n,$$

$$\text{em que } SQE = \sum_{i=1}^n e_i^2.$$

Por fim, se faz a regressão entre $u = (u_1, \dots, u_n)$ (variável resposta) e o vetor $\hat{y}$ (variável explicativa) e obtém-se a estatística do teste χ_{BP}^2 calculando a Soma de Quadrados da Regressão de u sobre $\hat{y}$ e dividindo o valor encontrado por 2. A estatística usada no teste é a χ_{BP}^2 studentizada que é dada por

$$\chi_{BP}^2 \text{ studentizada} = \frac{\chi_{BP}^2}{\lambda},$$

$$\text{em que } \lambda = \frac{\text{Var}(\varepsilon^2)}{2 \text{Var}(\varepsilon)^2}.$$

Sob a hipótese nula, esta estatística tem distribuição qui-quadrada com 1 grau de liberdade. Resumidamente, se não existe heteroscedasticidade, é de se esperar que os resíduos ao quadrado não aumentem ou diminuam com o aumento do valor predito, $\hat{y}$ e assim, a estatística de teste deveria ser insignificante.

Desta forma, calcula-se o P-valor do teste e conclui-se que:

- se $P\text{-valor} = \mathbb{P} \left[\chi_{(1)}^2 > \chi_{BP}^2 \right] > 0,05$ não rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os resíduos são homoscedásticos.
- se $P\text{-valor} = \mathbb{P} \left[\chi_{(1)}^2 > \chi_{BP}^2 \right] \leq 0,05$ rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os resíduos são heteroscedásticos.

10.3.5 Teste de Goldfeld-Quandt

O teste de Goldfeld-Quandt também é utilizado para testar a homoscedasticidade dos resíduos. Entre as limitações deste teste está a exigência de que a amostra seja relativamente grande.

O teste consiste inicialmente em ordenar as observações de acordo com a variável explicativa que se acredita a responsável pela heteroscedasticidade. Após isso, divide-se a amostra ordenada em 3 partes de tal forma que a parte do meio tenha aproximadamente 20% dos dados e que as partes 1 e 3 tenham quantidade de dados semelhantes. Então, ajusta-se um modelo de regressão com os dados da parte 1 (contendo os menores valores da variável explicativa

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

utilizada na ordenação) e outro modelo de regressão com os dados da parte 3 (contendo os maiores valores da variável explicativa utilizada na ordenação). Por fim, testa-se a hipótese de que as variâncias dos erros em ambas regressões são iguais contra a hipótese de que a variância dos erros na parte 3 é maior do que a variância dos erros na parte 1, utilizando o teste F.

A estatística de teste neste caso é dada por

$$F_{GQ} = \frac{SQE^b / (n_3 - (p + 1))}{SQE^a / (n_1 - (p + 1))},$$

em que SQE^a e SQE^b são as somas de quadrados dos resíduos da regressão para o grupo inferior (parte 1) e para o grupo superior (parte 3), respectivamente, n_1 é o número de observações da parte 1 e n_3 é o número de observações da parte 3. Denota-se d o número de observações omitidas (parte 2). Essa estatística tem distribuição $F_{(n_3-(p+1), n_1-(p+1))}$. Desta forma, considerando um nível de significância $\alpha = 0,05$, rejeita-se a hipótese nula, ou seja, a hipótese de que as variâncias são iguais se $F_{GQ} > F_{(\alpha)}$. Pode-se também tomar decisão avaliando o P-valor do teste:

- se $P\text{-valor} = \mathbb{P}[F_{(n_3-(p+1), n_1-(p+1))} > F_{GQ}] > 0,05$ não rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os resíduos são homoscedásticos.
- se $P\text{-valor} = \mathbb{P}[F_{(n_3-(p+1), n_1-(p+1))} > F_{GQ}] \leq 0,05$ rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os resíduos são heterocedásticos.

10.4 Testes de independência

Para verificar se os resíduos são independentes, pode-se utilizar técnicas gráficas e testes. A seguir, tem-se o diagnóstico de independência por meio da análise visual gráfica e teste estatístico.

10.4.1 Gráfico: Resíduos Padronizados X Ordem de Coleta

Se no gráfico de Resíduos Padronizados X Ordem de Coleta se observa que existe uma tendência dos pontos, tem-se indícios de dependência dos resíduos.

10.4.2 Teste de Durbin-Watson

O teste de Durbin-Watson possui as seguintes características:

- é utilizado para detectar a presença de auto correlação (dependência) nos resíduos de uma análise de regressão;
- o teste é baseado na suposição de que os erros no modelo de regressão são gerados por um processo autorregressivo de primeira ordem, de acordo com $\varepsilon_i = \rho_{i-1} + a_i$ em que ε_i é o termo do erro do modelo na i -ésima observação;
- $a_i \stackrel{i.i.d.}{\sim} \mathbb{N}(0, \sigma_a^2)$
- $\rho(|\rho| < 1)$ é o parâmetro de autocorrelação.
- Testa-se a presença de autocorrelação por meio das hipóteses

$$\begin{cases} H_0 : \rho = 0 \\ H_1 : \rho \neq 0 \end{cases}$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

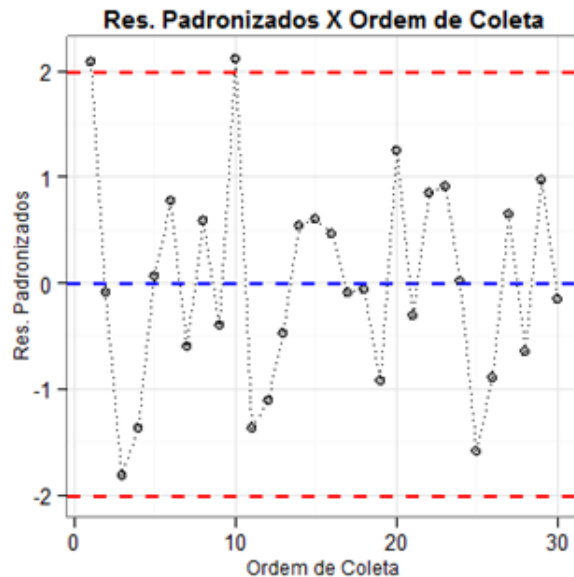


Figura 2: Gráfico dos Resíduos Padronizados X Ordem de Coleta para detectar independência.

- A estatística do teste de Durbin-Watson é dada pela equação 27

$$d_w = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2} \quad (27)$$

A distribuição de d_w depende da matriz X . Entretanto, pode-se tomar a decisão comparando o valor de d_w com os valores críticos d_L e d_U da Tabela de Durbin-Watson 10.

Utiliza-se os seguintes critérios:

- se $0 \leq d_w < d_L$ então rejeita-se H_0 (dependência);
- se $d_L \leq d_w \leq d_U$ então o teste é inconclusivo;
- se $d_U \leq d_w < 4 - d_U$ então não rejeita-se H_0 (independência);
- se $4 - d_U \leq d_w \leq 4 - d_L$ então o teste é inconclusivo;
- se $4 - d_L < d_w < 4$ então rejeita-se H_0 (dependência).

Quando $0 \leq d_w < d_L$ tem-se evidência de uma correlação positiva. Já se $4 - d_L < d_w < 4$, a correlação é negativa. No caso em que não rejeita-se H_0 tem-se que não existe autocorrelação, ou seja, os resíduos são independentes.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

		Número de variáveis explicativas									
		1		2		3		4		5	
<i>n</i>	α	d_L	d_U	d_L	d_U	d_L	d_U	d_L	d_U	d_L	d_U
<15	0,01	0,81	1,07	0,7	1,25	0,59	1,46	0,49	1,7	0,39	1,96
	0,025	0,95	1,23	0,83	1,4	0,71	1,61	0,59	1,84	0,48	2,09
15	0,05	1,08	1,36	0,95	1,54	0,82	1,75	0,69	1,97	0,56	2,21
	0,01	0,95	1,15	0,86	1,27	0,77	1,41	0,63	1,57	0,6	1,74
20	0,025	1,08	1,28	0,99	1,41	0,89	1,55	0,79	1,7	0,7	1,87
	0,05	1,2	1,41	1,1	1,54	1	1,68	0,9	1,83	0,79	1,99
25	0,01	1,05	1,21	0,98	1,3	0,9	1,41	0,83	1,52	0,75	1,65
	0,025	1,13	1,34	1,1	1,43	1,02	1,54	0,94	1,65	0,86	1,77
30	0,05	1,2	1,45	1,21	1,55	1,12	1,66	1,04	1,77	0,95	1,89
	0,01	1,13	1,26	1,07	1,34	1,01	1,42	0,94	1,51	0,88	1,61
40	0,025	1,25	1,38	1,18	1,46	1,12	1,54	1,05	1,63	0,98	1,73
	0,05	1,35	1,49	1,28	1,57	1,21	1,65	1,14	1,74	1,07	1,83
50	0,01	1,25	1,34	1,2	1,4	1,15	1,46	1,1	1,52	1,05	1,58
	0,025	1,35	1,45	1,3	1,51	1,25	1,57	1,2	1,63	1,15	1,69
	0,05	1,44	1,54	1,39	1,6	1,34	1,66	1,29	1,72	1,23	1,79
	0,01	1,32	1,4	1,28	1,45	1,24	1,49	1,2	1,54	1,16	1,59
	0,025	1,42	1,5	1,38	1,54	1,34	1,59	1,3	1,64	1,26	1,69
	0,05	1,5	1,59	1,46	1,63	1,42	1,67	1,38	1,72	1,34	1,7

Tabela 10: Tabela de Durbin-Watson.

Pode-se também tomar a decisão pelo p-valor. Nesse caso, o Action Stat calcula o p-valor por duas formas diferentes, dependendo o tamanho da amostra.

- Se o tamanho da amostra for maior do que 100, uma aproximação para a distribuição normal é realizada e o p-valor é calculado. Para maiores informações consulte [15], [16] e [17].
- Se o tamanho da amostra for menor do que 100, o p-valor é calculado utilizando um algoritmo conhecido por 'pan' ou 'gradsol'. Mais informações consulte [18], [19] e [22].

Portanto, se $P\text{-valor} > 0,05$ não rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que os dados são independentes. Caso $P\text{-valor} \leq 0,05$ rejeita-se a hipótese nula e conclui-se que existe uma correlação serial entre os resíduos.

11 Aplicação

Esta seção é dedicada a validação dos cálculos das técnicas estatísticas para a validação dos ensaios de doseamento.

11.1 Aplicação 1 - Paralelismo 3×3

Inicia-se a aplicação para doseamento, para isto, toma-se o seguinte produto:

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Data:	Produto / Matéria-prima:	Lote:
21/05/19	Gingilone Pomada (Neomicina)	B19E0715
Especificação do teor:	3,38 (3,042 a 4,563) mg/g ou 100,0 (90,0 a 135,0)	
Potência do padrão:	732,81 µg/mg	Númeror do lote do padrão 213222018
Condições de incubação:	30°C por 16 a 20 horas	

Figura 3: Produto para validação do doseamento 3x3.

A partir da coleta de dados obtêm-se:

Doses	16	20	25	16	20	25
Placas	p1	p2	p3	a1	a2	a3
1	16,39	18,00	19,35	16,36	18,66	19,50
2	16,28	18,11	19,66	16,47	17,87	19,72
3	16,85	17,71	18,99	16,89	17,94	19,00
4	16,36	18,09	19,84	16,31	18,06	20,00
5	16,04	17,66	19,89	16,39	17,92	19,38
6	16,49	18,14	19,59	16,62	18,46	19,30

Tabela 11: Leituras do diâmetro (mm) dos halos de inibição.

Da Tabela 11 disponha-se o modelo com as colunas dadas a seguir:

Placa	Preparação	Regressão	Paralelismo	Quadrado	DifQuadrado	Diâmetro
1	-1	-1	1	1	-1	16,39
1	-1	0	0	-2	2	18
1	-1	1	-1	1	-1	19,35
1	1	-1	-1	1	1	16,36
1	1	0	0	-2	-2	18,66
1	1	1	1	1	1	19,5
2	-1	-1	1	1	-1	16,28
2	-1	0	0	-2	2	18,11
2	-1	1	-1	1	-1	19,66
2	1	-1	-1	1	1	16,47
2	1	0	0	-2	-2	17,87
2	1	1	1	1	1	19,72
3	-1	-1	1	1	-1	16,85
3	-1	0	0	-2	2	17,71
3	-1	1	-1	1	-1	18,99
3	1	-1	-1	1	1	16,89
3	1	0	0	-2	-2	17,94
3	1	1	1	1	1	19
4	-1	-1	1	1	-1	16,36
4	-1	0	0	-2	2	18,09
4	-1	1	-1	1	-1	19,84
4	1	-1	-1	1	1	16,31

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

4	1	0	0	-2	-2	18,06
4	1	1	1	1	1	20
5	-1	-1	1	1	-1	16,04
5	-1	0	0	-2	2	17,66
5	-1	1	-1	1	-1	19,89
5	1	-1	-1	1	1	16,39
5	1	0	0	-2	-2	17,92
5	1	1	1	1	1	19,38
6	-1	-1	1	1	-1	16,49
6	-1	0	0	-2	2	18,14
6	-1	1	-1	1	-1	19,59
6	1	-1	-1	1	1	16,62
6	1	0	0	-2	-2	18,46
6	1	1	1	1	1	19,3

Agora, defina-se o modelo matricial:

$$\mathbf{Y} = \begin{bmatrix} 16,39 \\ 18 \\ \vdots \\ 16,28 \\ 18,11 \\ \vdots \\ 16,85 \\ 17,71 \\ \vdots \\ 16,36 \\ 18,09 \\ \vdots \\ 16,04 \\ 17,66 \\ \vdots \\ 18,46 \\ 19,3 \end{bmatrix}; \quad \mathbf{X} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 1 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 2 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 2 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 3 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 3 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 4 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 4 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 5 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 5 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 6 & 1 & 0 & 0 & -2 & -2 \\ 1 & 6 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

Apresenta-se o exemplo para testar se as placas são iguais formulando a hipótese:

$$\begin{cases} H_0 : \beta_1 = 0 \\ H_1 : \beta_1 \neq 0 \end{cases}$$

Assim, a matriz X_R para o modelo reduzido e o vetor de parâmetros β_R são dados por

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$\beta_R = \begin{pmatrix} \beta_0 \\ \beta_2 \\ \beta_3 \\ \vdots \\ \beta_6 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 2,56036984 \\ 0,0391667 \\ 15,80933988 \\ \vdots \\ 0,03041667 \end{pmatrix}; \quad \mathbf{X}_R = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & -2 & 2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1 & 0 & 0 & -2 & -2 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

Então, a soma de quadrados de regressão de β dado que β_R já está no modelo é calculada da seguinte forma:

$$SQR(\beta|\beta_R) = \beta^\top X^\top Y - \beta_R^\top X_R^\top Y = 0,2940139$$

com 1 grau de liberdade. A soma de quadrados da regressão parcial representa a quantidade adicional que se teria na soma de quadrados da regressão ao se adicionar uma covariável no modelo reduzido.

Então, a estatística sob H_0 é dada por:

$$F_0 = SQR(\beta|\beta_R)QME^{-1} = \frac{0,2940139}{2,2304361} = 0,65909514$$

Desta forma, tem-se que $\mathbb{P}(F_0 > F_{1,29}) = 0,65766126 > 0,05$. Portanto, ao nível de significância de 5%, não rejeita-se a hipótese nula, ou seja, conclui-se que há evidências para aceitar a igualdade das placas.

Analogamente, testa-se os outros coeficientes de regressão. Abaixo encontram-se os resultados:

	g.l.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Est. F	P-valor)
Placa	5	0,2940139	0,0588028	0,6590951	0,6576126
Regressão	1	56,3347042	56,3347042	631,4314932	< 2e-16
Preparação	1	0,0552250	0,0552250	0,6189933	0,4388166
Quadrado	1	0,0342347	0,0342347	0,3837223	0,5412227
Paralelismo	1	0,0459375	0,0459375	0,5148937	0,4796799
Diferença quadrado	1	0,0666125	0,0666125	0,7466309	0,3957601
Resíduos	25	2,2304361	0,0892174		

Tabela 13: Tabela ANOVA.

Utilizando o Action Stat obtêm-se:

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

 Tabela da Anova

	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressao	1	56.335	56.335	669.469	0
Preparacao	1	0.055	0.055	0.656	0.424
Quadrado	1	0.034	0.034	0.407	0.528
Paralelismo	1	0.046	0.046	0.546	0.466
Dif_Quadrado	1	0.067	0.067	0.792	0.381
Resíduos	30	2.524	0.084		

Será ajustado um modelo linear baseado nos dados coletados como dado na Tabela 14:

Tabela 14: Dados coletados

$\log_{10}(\text{dose})$	Preparação	Diâmetro(mm)	$\log_{10}(\text{dose})$	Preparação	Diâmetro(mm)
1,2041	padrão	16,3900	1,2041	teste	16,3600
1,2041	padrão	16,2800	1,2041	teste	16,4700
1,2041	padrão	16,8500	1,2041	teste	16,8900
1,2041	padrão	16,3600	1,2041	teste	16,3100
1,2041	padrão	16,0400	1,2041	teste	16,3900
1,2041	padrão	16,4900	1,2041	teste	16,6200
1,3010	padrão	18,0000	1,3010	teste	18,6600
1,3010	padrão	18,1100	1,3010	teste	17,8700
1,3010	padrão	17,7100	1,3010	teste	17,9400
1,3010	padrão	18,0900	1,3010	teste	18,0600
1,3010	padrão	17,6600	1,3010	teste	17,9200
1,3010	padrão	18,1400	1,3010	teste	18,4600
1,3979	padrão	19,3500	1,3979	teste	19,5000
1,3979	padrão	19,6600	1,3979	teste	19,7200
1,3979	padrão	18,9900	1,3979	teste	19,0000
1,3979	padrão	19,8400	1,3979	teste	20,0000
1,3979	padrão	19,8900	1,3979	teste	19,3800
1,3979	padrão	19,5900	1,3979	teste	19,3000

Utiliza-se a seguinte notação:

- X_1 : $\log_{10}(\text{dose})$;
- X_2 : Preparação $\begin{cases} X_2 = 0, & \text{Preparação padrão;} \\ X_2 = 1, & \text{Preparação teste;} \end{cases}$
- Y : Diâmetro(mm).

• **Estimativa dos parâmetros:**

Inicialmente, encontram-se as estimativas para os parâmetros do modelo.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$Y = \begin{bmatrix} 16,39 \\ 16,28 \\ \vdots \\ 19,89 \\ 19,59 \\ \vdots \\ 16,36 \\ 16,47 \\ \vdots \\ 19,38 \\ 19,30 \end{bmatrix}; \quad X = \begin{bmatrix} 1 & 1,2041 & 0 \\ 1 & 1,2041 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1,3979 & 0 \\ 1 & 1,3979 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1,2041 & 1 \\ 1 & 1,2041 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1,3979 & 1 \\ 1 & 1,3979 & 1 \end{bmatrix}$$

$$X^T X = \begin{bmatrix} 36,00000 & 46,83708 & 18,00000 \\ 46,83708 & 61,16184 & 23,41854 \\ 18,00000 & 23,41854 & 18,00000 \end{bmatrix},$$

$$(X^T X)^{-1} = \begin{bmatrix} 7,565316 & -5,772165 & -0,055556 \\ -5,772165 & 4,436612 & 0 \\ -0,055556 & 0 & 0,111111 \end{bmatrix},$$

$$X^T y = \begin{bmatrix} 648,2900 \\ 847,0081 \\ 324,8500 \end{bmatrix}$$

e de $\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'Y$ encontra-se

$$\hat{\beta} = \begin{bmatrix} -2,59954 \\ 15,80934 \\ 0,07833 \end{bmatrix}$$

Assim, o modelo ajustado é dado por:

$$\text{Diâmetro} = -2,59954 + 15,80934 * \log_{10}(\text{dose}) + 0,07833 * \text{Preparação}$$

• **Teste de significância dos parâmetros:**

$$\begin{aligned} - SQT &= y'y - \frac{\left(\sum_{i=1}^{36} y_i\right)^2}{36} = 11733,5 - \frac{(648,29)^2}{36} = 59,06116 \\ - SQR &= SQR_{x_1} + SQR_{x_2} = 56,334704 + 0,055225 = 56,38993 \\ - SQE &= SQT - SQR = 59,06116 - 56,38993 = 2,67123135 \\ - \hat{\sigma}^2 &= QME = \frac{SQE}{n-p-1} = \frac{2,671235}{33} = 0,080947 \\ - \hat{\sigma}^2(X^T X)^{-1} &= \begin{bmatrix} 0,612386 & -0,467237 & -0,004497 \\ -0,467237 & 0,359128 & 0 \\ -0,004497 & 0 & 0,008994 \end{bmatrix} \end{aligned}$$

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$- \widehat{\text{Var}}(\hat{\beta}_0) = 0,612386$$

$$- \widehat{\text{Var}}(\hat{\beta}_1) = 0,359128$$

$$- \widehat{\text{Var}}(\hat{\beta}_0) = 0,008994$$

Portanto, a estatística do teste é calculada por

$$- F_1 = \frac{QMR_{x1}}{QME} = \frac{\frac{SQR_{x1}}{1}}{\frac{SQE}{33}} = \frac{\frac{56,334704}{1}}{\frac{2,67123135}{33}} = \frac{56,334704}{0,080946507} = 695,9497876$$

$$- F_2 = \frac{QMR_{x2}}{QME} = \frac{\frac{SQR_{x2}}{1}}{\frac{SQE}{33}} = \frac{\frac{0,055225}{1}}{\frac{2,67123135}{33}} = \frac{0,055225}{0,080946507} = 0,682240682$$

A Tabela ANOVA fica da seguinte forma:

Fatores	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
log ₁₀ (dose)	1	56,33	56,33	695,95	9,33E-24
PreparaçãoTeste	1	0,06	0,06	0,66	0,424
Resíduos	33	2,52	0,08		

Tabela 15: Tabela ANOVA para o exemplo utilizando o método de mínimos quadrados ordinários.

• Coeficiente de associação e correlação:

O coeficiente de associação R^2 é calculado por:

$$R^2 = 1 - \frac{SQE}{SQT} = 1 - \frac{2,67123135}{59,06116} = 0,95477$$

Dessa forma, o coeficiente de correlação seria:

$$R = \sqrt{R^2} = 0,97712$$

Utilizando o Action Stat constatam-se os seguintes resultados:

Resumo descritivo por fator

Preparação	Log10Dose	Mínimo	Média	Máximo	Desvio Padrão	CV (%)	Amplitude	Tamanho
Padrão	1.204	16.04	16.402	16.85	0.267	1.628	0.81	6
Padrão	1.301	17.66	17.952	18.14	0.212	1.183	0.48	6
Padrão	1.398	18.99	19.553	19.89	0.337	1.722	0.9	6
Teste	1.204	16.31	16.507	16.89	0.217	1.313	0.58	6
Teste	1.301	17.87	18.152	18.66	0.329	1.81	0.79	6
Teste	1.398	19	19.483	20	0.347	1.78	1	6

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Qualidade do Ajuste

—

Desvio Padrão dos Resíduos	Graus de Liberdade	R^2	R^2 Ajustado
0.285	33	0.955	0.952

Coeficientes

—

	Estimativa	Desvio Padrão	Estat.t	P-valor
Intercepto	-2.6	0.783	-3.322	0.002
Log10Dose	15.809	0.599	26.381	0
PreparaçãoTeste	0.078	0.095	0.826	0.415

Cálculo da potência relativa:

$$M = \log_{10} \rho = \frac{\hat{\beta}_2}{\hat{\beta}_1} = \frac{0,07833}{15,80934} = 0,004955$$

Aplicando o *antilog* em M , encontra-se:

$$\text{Potência relativa} = \text{antilog } M = 10^{0,004955} = 1,011474$$

$$1,011474 \cdot 100\% = 101,1474\%$$

Utilizando o Action Stat constatam-se os seguintes resultados:

Estimativa da Potência

—

	Estimativa	Limite inferior	Limite superior
Razão de betas (Log10)	0.005	-0.005	0.015
Potência relativa (%)	101.147	98.809	103.551

Para este exemplo, adota-se o teste de Shapiro-Wilk, para isto, considere os resíduos e_i para $i = 1, \dots, 36$ da Tabela 16:

i	$n - i + 1$	a_{n-i+1}	x_{n-i+1}	$x_{(i)}$	$a_{n-i+1}(x_{n-i+1} - x_{(i)})$
1	36	0,4068	0,61277778	-0,57930556	0,484939503
2	35	0,2813	0,42069444	-0,51097222	0,262077831
3	34	0,2415	0,41319444	-0,39680556	0,195615
4	33	0,2121	0,41277778	-0,30888889	0,153065501
5	32	0,1883	0,38902778	-0,27930556	0,125847168
6	31	0,1678	0,37486111	-0,25888889	0,10634325
7	30	0,1496	0,33902778	-0,20513889	0,081407334
8	29	0,1331	0,17111111	-0,19930556	0,049302459

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

9	28	0,1179	0,15902778	-0,17722222	0,039643875
10	27	0,1036	0,14111111	-0,15680556	0,030864167
11	26	0,090	0,14069444	-0,15513889	0,026625
12	25	0,0770	0,12111111	-0,15097222	0,020950416
13	24	0,0645	0,10486111	-0,12722222	0,014969375
14	23	0,0523	0,08902778	-0,12513889	0,011200917
15	22	0,0404	0,05319444	-0,10722222	0,006480833
16	21	0,0287	0,03111111	-0,07930556	0,003168958
17	20	0,0172	0,01277778	-0,07680556	0,001540833
18	19	0,0057	-0,04513889	-0,04680556	9,50002E-06
SW					0,97776

Tabela 16: Dados para cálculo da estatística de Shapiro-Wilk.

A partir da Tabela 16, tem-se que $SW > W_\alpha = 0,935$. Portanto não rejeita-se H_0 , isto é, não se rejeita a hipótese de normalidade dos erros experimentais ao nível de significância de 5%.

• Diagnóstico de Homoscedasticidade

A seguir apresenta-se o teste de Breusch-Pagan para avaliar a homoscedasticidade. As hipóteses de interesse são

$$\begin{cases} H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_k^2 \\ H_1 : \text{pelo menos um dos } \sigma_i^2 \text{'s diferente} \end{cases}$$

Os resíduos padronizados u_i são dados por:

$$u_i = \frac{e_i^2}{SQE/n}, \quad i = 1, \dots, n.$$

Na Tabela 17 apresentam-se os resíduos padronizados u_i e os valores ajustados.

N.Observação	u_i	Valores ajustados
1	0,029524684	16,44
2	0,331370117	16,44
3	2,300908756	16,44
4	0,079501573	16,44
5	2,122002726	16,44
6	0,038134934	16,44
7	0,013044321	17,97
8	0,268356966	17,97
9	0,903269347	17,97
10	0,197678040	17,97
11	1,285863955	17,97
12	0,394590725	17,97
13	0,307174065	19,50
14	0,340828913	19,50
15	3,518722615	19,50
16	1,549034233	19,50

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

N.Observação	u_i	Valores ajustados
17	2,039631329	19,50
18	0,106817280	19,50
19	0,324363369	16,52
20	0,027459472	16,52
21	1,893787413	16,52
22	0,567134996	16,52
23	0,211044986	16,52
24	0,148190158	16,52
25	5,060535364	18,05
26	0,423279081	18,05
27	0,154938753	18,05
28	0,002200397	18,05
29	0,218130505	18,05
30	2,296270607	18,05
31	0,084761313	19,58
32	0,266774520	19,58
33	4,522783887	19,58
34	2,385195621	19,58
35	0,535339463	19,58
36	1,051355517	19,58

Tabela 17: Dados para análise de regressão.

Para testar as hipóteses, com os valores obtidos na Tabela 17, realiza-se uma análise de regressão com u como a variável resposta e o valor ajustado como covariável de entrada. A estatística do teste de Breusch-Pagan é dada pela soma de quadrados da regressão dividido por 2. A seguir, calculam-se as quantidades necessárias para se determinar a estatística do teste.

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n x_i^2 - n\bar{x}^2 = 56,38993$$

e

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n x_i Y_i - n\bar{x}\bar{Y} = 13,39979$$

A estimativa do parâmetro β_1 é dada por

$$\hat{\beta}_1 = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} = \frac{13,39979}{56,38993} = 0,2376274$$

Logo, a soma de quadrado da regressão é dada por

$$SQReg = \hat{\beta}_1 S_{xy} = 0,2376274 \times 13,39979 = 3,184159$$

Assim,

$$\chi_{BP}^2 = \frac{SQR}{2} = \frac{3,184159}{2} = 1,592079$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$\lambda = \frac{\text{Var}(\varepsilon^2)}{2 \text{Var}(\varepsilon)^2} = \frac{0,008968763}{2 \cdot 0,005505783} = 0,8144857$$

$$\chi_{BP \text{ studentizada}}^2 = \frac{\chi_{BP}^2}{\lambda} = \frac{1,592079}{0,8144857} = 1,954705$$

$$\text{P-valor} = \mathbb{P}(\chi_{BP \text{ studentizada}}^2 \geq 1,954705) = 0,1620807$$

no qual $\chi_{BP \text{ studentizada}}^2$ é a distribuição qui-quadrado com 1 grau de liberdade.

Portanto, utilizando um nível de significância de 5%, não rejeita-se a hipótese de homogeneidade.

• Diagnóstico de Independência:

Para calcular a estatística do teste de Durbin-Watson utiliza-se a Tabela 18:

Observação	e_i	e_i^2	$(e_i - e_{i-1})^2$
1	-0,04680556	0,00219076	-
2	0,03111111	0,000967901	0,006071007
3	-0,15097222	0,022792611	0,033154339
4	-0,15513889	0,024068075	1,73611E-05
5	0,61277778	0,375496608	0,589696012
6	-0,07930556	0,006289372	0,47897935
7	-0,15680556	0,024587984	0,00600625
8	0,14111111	0,019912345	0,088754342
9	0,15902778	0,025289835	0,000321007
10	-0,04513889	0,002037519	0,041684029
11	-0,17722222	0,031407715	0,017446006
12	0,14069444	0,019794925	0,101071003
13	0,41319444	0,170729645	0,07425625
14	-0,25888889	0,067023457	0,451696002
15	-0,51097222	0,26109261	0,063546005
16	0,37486111	0,140520852	0,784700689
17	-0,10722222	0,011496604	0,232404337
18	-0,57930556	0,335594932	0,22286268
19	-0,07680556	0,005899094	0,25250625
20	0,12111111	0,014667901	0,039171008
21	0,33902778	0,114939836	0,047487675
22	-0,20513889	0,042081964	0,296117365
23	0,01277778	0,000163272	0,047487675
24	0,42069444	0,176983812	0,166396002
25	-0,39680556	0,157454652	0,66830625
26	-0,30888889	0,095412346	0,007729341
27	0,38902778	0,151342614	0,487087678
28	-0,12513889	0,015659742	0,264367365
29	-0,12722222	0,016185493	4,34026E-06
30	-0,19930556	0,039722706	0,005196008
31	0,05319444	0,002829648	0,06375625
32	0,17111111	0,029279012	0,013904341

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

33	0,08902778	0,007925946	0,006737673
34	0,10486111	0,010995852	0,000250694
35	0,41277778	0,170385496	0,094812676
36	-0,27930556	0,078011596	0,47897935

Tabela 18: Dados para o cálculo da estatística do teste de Durbin-Watson.

Então,

$$d_w = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2} = \frac{6,1329646}{2,6712347} = 2,671$$

A partir da Tabela de Durbin-Watson, 10, tem-se que $d_U = 1,18 < d_w < 4 - d_U = 2,76$, logo não rejeita-se H_0 . Portanto não rejeita-se a hipótese de independência das observações.

Utilizando o Action Stat constata-se os seguintes resultados:

Teste de normalidade —			
	Estatística		P-valor
Shapiro-Wilk	0.978		0.669
Teste de Homocedasticidade —			
	Estatística	GL	P-valor
Breusch-Pagan	1.955	1	0.162
Teste de Independência —			
	Estatística		P-valor
Durbin-Watson	2.671		0.078

11.2 Aplicação 2 - Paralelismo 4×4 com fator de correção

Para validar o função referente ao fator de correção do modelo de paralelismo toma-se o exemplo da Farmacopeia Europeia [3] 5.1.3, no qual tem-se um ensaio 4×4 . A seguir apresentam-se os dados utilizados na aplicação.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Preparação	Dose	Resposta	Potência	Dissolução
Padrão	0,296296304	252	670	0,668
Padrão	0,296296304	249	670	0,668
Padrão	0,296296304	247	670	0,668
Padrão	0,296296304	250	670	0,668
Padrão	0,296296304	235	670	0,668
Padrão	0,444444452	207	670	0,668
Padrão	0,444444452	201	670	0,668
Padrão	0,444444452	193	670	0,668
Padrão	0,444444452	207	670	0,668
Padrão	0,444444452	207	670	0,668
Padrão	0,666666672	168	670	0,668
Padrão	0,666666672	187	670	0,668
Padrão	0,666666672	162	670	0,668
Padrão	0,666666672	155	670	0,668
Padrão	0,666666672	140	670	0,668
Padrão	1	113	670	0,668
Padrão	1	107	670	0,668
Padrão	1	111	670	0,668
Padrão	1	108	670	0,668
Padrão	1	98	670	0,668
Amostra	0,296296304	242	20000	0,025
Amostra	0,296296304	236	20000	0,025
Amostra	0,296296304	246	20000	0,025
Amostra	0,296296304	231	20000	0,025
Amostra	0,296296304	232	20000	0,025
Amostra	0,444444452	206	20000	0,025
Amostra	0,444444452	197	20000	0,025
Amostra	0,444444452	197	20000	0,025
Amostra	0,444444452	191	20000	0,025
Amostra	0,444444452	186	20000	0,025
Amostra	0,666666672	146	20000	0,025
Amostra	0,666666672	153	20000	0,025
Amostra	0,666666672	148	20000	0,025
Amostra	0,666666672	159	20000	0,025
Amostra	0,666666672	146	20000	0,025
Amostra	1	115	20000	0,025
Amostra	1	102	20000	0,025
Amostra	1	104	20000	0,025
Amostra	1	106	20000	0,025
Amostra	1	95	20000	0,025

Tabela 19: Dados para a aplicação.

Para esse exemplo se considera:

- **Potência atribuída** Pot_{at} : potência da preparação do padrão é dada por 670 UI/mg ;
- **Potência assumida** Pot_{as} : potência assumida para preparação do teste é dada por 20000 UI/vial
- Sol_{est_p} solução estoque padrão;

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- Sol_{est_a} solução estoque amostra.

Conforme dado na Farmacopeia Europeia, tem-se que a solução estoque para o padrão é dada por:

$$Sol_{est_p} = \frac{16,7 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} = 0,668 \text{ mg/mL}$$

E tem-se que a solução estoque para amostra é dada por:

$$Sol_{est_a} = \frac{1 \text{ vial}}{40 \text{ mL}} = 0,025 \text{ vial/mL}$$

As demonstrações dos cálculos referentes as estimativas do modelo de retas paralelas são dadas na primeira aplicação 11.1, desta forma como os cálculos foram validados anteriormente, apresenta-se apenas a validação referente ao fator de correção.

O fator de correção é dado por:

$$f_c = \frac{Pot_{at} \times Sol_{est_p}}{Pot_{as} \times Sol_{est_a}} = \frac{670 \text{ UI/mg} \times 0,668 \text{ mg/mL}}{20000 \text{ UI/vial} \times 0,025 \text{ vial/mL}} = \frac{670 \times 0,668 \text{ UI/mL}}{20000 \times 0,025 \text{ UI/mL}} = 0,89512$$

Tem-se que a estimativa da potência relativa é dada por:

$$\text{antilog}(M) = 4,21316$$

Logo, a potência é dada por:

$$Pot = \frac{4,21316}{100} \times 0,89512 \times 20000 = 724,25726 \text{ UI/vial}$$

A seguir, apresentam-se os resultados obtidos pelo Action Stat.

Resumo descritivo por fator								
Preparação	Dose	Mínimo	Média	Máximo	Desvio Padrão	CV (%)	Amplitude	Tamanho
Amostra	0.296	231	237.4	246	6.465	2.723	15	5
Amostra	0.444	186	195.4	206	7.503	3.84	20	5
Amostra	0.667	146	150.4	159	5.595	3.72	13	5
Amostra	1	95	104.4	115	7.232	6.927	20	5
Padrão	0.296	235	246.6	252	6.731	2.729	17	5
Padrão	0.444	193	203	207	6.164	3.037	14	5
Padrão	0.667	140	162.4	187	17.271	10.635	47	5
Padrão	1	98	107.4	113	5.771	5.373	15	5

Figura 4: Análise descritiva.

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Teste de Falta de Ajuste

	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressao	1	101745.475	101745.475	1364.338	0
Preparacao	1	632.025	632.025	8.475	0.007
Quadrado	1	147.964	147.964	1.984	0.169
Paralelismo	1	25.199	25.199	0.338	0.565
Dif_Quadrado	1	34.227	34.227	0.459	0.503
Resíduos	34	2463.484	72.455		
Nao linearidade	2	77.084	38.542	0.517	0.601
Erro Puro	32	2386.4	74.575		

Tabela da Anova

	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressao	1	100008.975	100008.975	823.776	0
Preparacao	1	632.025	632.025	5.206	0.029
Paralelismo	1	36.86	36.86	0.304	0.585
Resíduos	36	4370.515	121.403		

Figura 5: Teste de paralelismo.

Coefficientes

	Estimativa	Desvio Padrão	Estat.t	P-valor
Intercepto	293.416	4.617	63.55	0
Dose	-188.694	6.512	-28.975	0
PreparaçãoAmostra	-7.95	3.451	-2.303	0.027

Qualidade do Ajuste

Desvio Padrão dos Resíduos	Graus de Liberdade	R^2	R^2 Ajustado
10.914	37	0.958	0.956

Figura 6: Estimativas do modelo para a potência.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

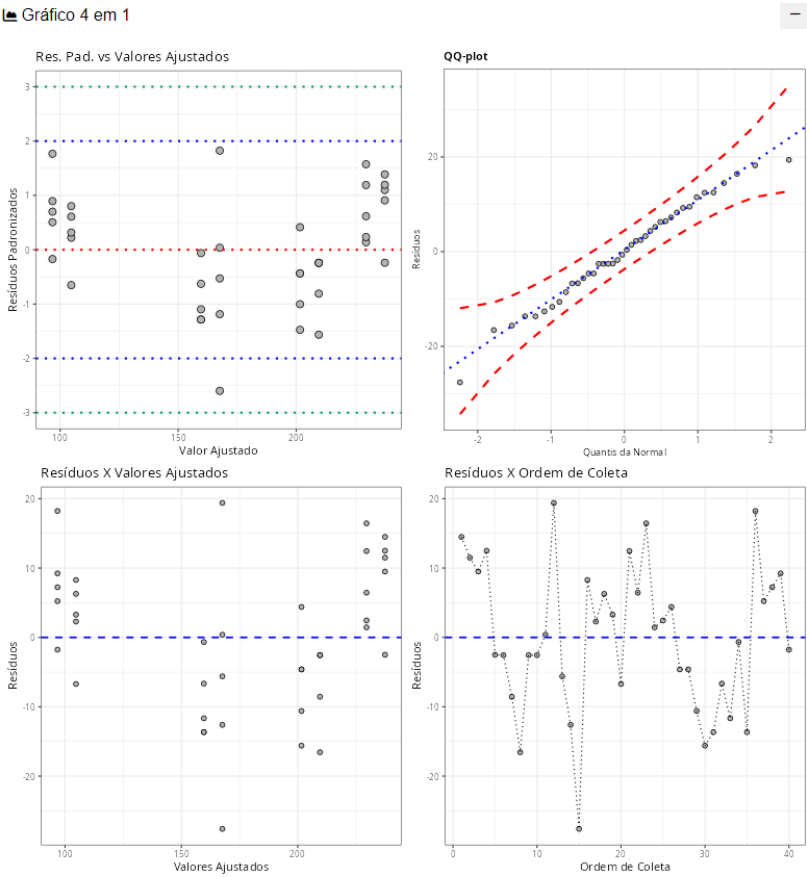


Figura 7: Gráfico 4 em 1 dos resíduos.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Teste de normalidade —			
	Estatística		P-valor
Shapiro-Wilk	0.986		0.891
Teste de Homocedasticidade —			
	Estatística	GL	P-valor
Breusch-Pagan	0.09	1	0.764
Teste de Independência —			
	Estatística		P-valor
Durbin-Watson	1.32		0.01

Figura 8: Testes de normalidade, homocedasticidade e independência.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Gráfico de Comparação das Curvas

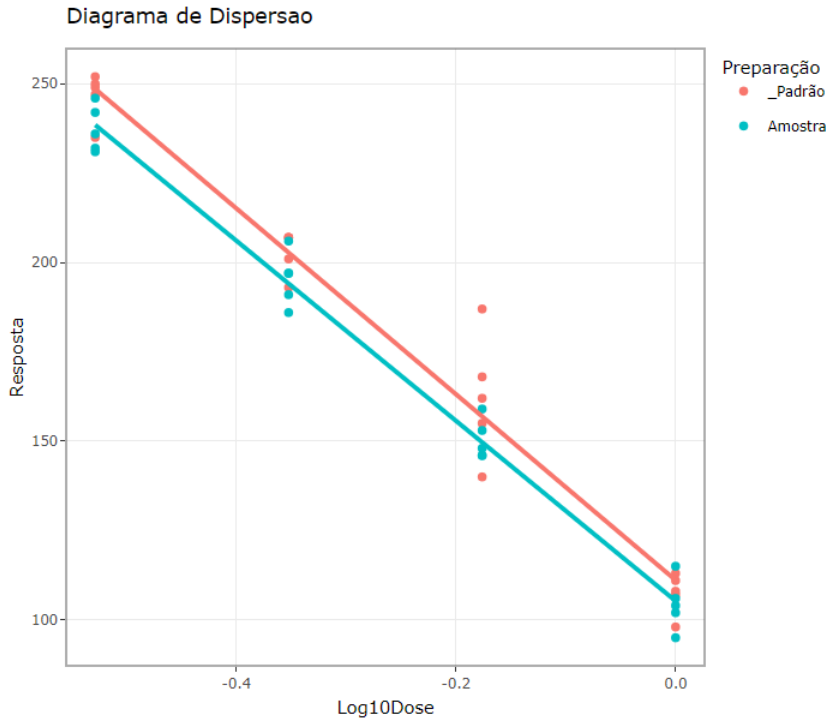


Figura 9: Gráfico de dispersão.

Estimativa da Potência

	Estimativa	Limite inferior	Limite superior
Razão de betas	0.042	0.073	0.011
Potência relativa (%)	4.213	7.328	1.127
Potência (UI/mL)	754.257	1311.948	201.698

Figura 10: Estimativa da potência.

11.3 Aplicação 3 - Interpolação 5×1

Para validar o doseamento em ensaios 5×1 , toma-se o exemplo 7 da farmacopeia brasileira (2010) [2]. O ensaio é referente a um antibiótico usando placas de Petri. Neste caso, doseamento microbiológico de Benzilpenicilina benzatina pó para injetável. A potência suposta é de $S_A = 600.000 \text{ UI/frasco}$. Os dados estão na tabela a seguir.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão:
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	03 de abril de 2023
		Doseamento Biológico	

Doses UI/mL		0,15	0,3	0,6	1,2	2,4	0,6
$\log_{10}$ Doses		-0,823908741	-0,522878745	-0,22184875	0,079181246	0,380211242	-0,823908741
Placas		p1	p2	p3	p4	p5	ponto da amostra
Ponto	Réplica	PADRÃO REFERENCIA (P3)			AMOSTRA/PADRÃO		
		ZONA 1	ZONA 3	ZONA 5	ZONA 2	ZONA 4	ZONA 6
P1	1	19,88	19,85	19,75	13,87	12,86	12,88
P1	2	20,6	20,07	20,3	12,95	13,24	13,39
P1	3	20,43	20,06	20,3	13,08	13,08	13,31
P2	1	19,54	18,49	19,96	16,24	15,34	16,26
P2	2	19,85	19,06	19,7	16,35	15,98	16,7
P2	3	19,86	19,2	19,95	16,88	15,5	16,7
P4	1	19,21	19,68	19,81	23,47	23,04	23,99
P4	2	18,97	19,14	19,72	23,04	22,65	23,85
P4	3	19,39	19,65	19,55	23,19	23,01	23,82
P5	1	19,32	19,65	19,25	27,41	27,5	27,3
P5	2	19,61	19,27	19,53	27,62	27,41	27,49
P5	3	19,72	20,04	19,9	26,67	26,53	27,27
AMOSTRA	1	19,78	18,73	18,57	19,66	19,57	18,69
AMOSTRA	2	19,45	19,12	18,89	19,49	18,91	19,04
AMOSTRA	3	19,5	19,7	19,12	19,94	19,02	19,28

Tabela 20: Leituras do diâmetro (mm) dos halos de inibição

Inicialmente tem-se a Tabela do modelo:

Dose	$X = \log_{10} \text{Dose}$	$Y = \text{Diâmetro}$	X^2	Y^2	$Y \times X$
0,15	-0,82391	13,40611	0,678826	179,7238	-11,0454
0,15	-0,82391	12,48611	0,678826	155,903	-10,2874
0,15	-0,82391	12,61611	0,678826	159,1663	-10,3945
0,15	-0,82391	12,39611	0,678826	153,6636	-10,2133
0,15	-0,82391	12,77611	0,678826	163,229	-10,5263
0,15	-0,82391	12,61611	0,678826	159,1663	-10,3945
0,15	-0,82391	12,41611	0,678826	154,1598	-10,2297
0,15	-0,82391	12,92611	0,678826	167,0843	-10,6499
0,15	-0,82391	12,84611	0,678826	165,0226	-10,584
0,3	-0,52288	16,40167	0,273402	269,0147	-8,57608
0,3	-0,52288	16,51167	0,273402	272,6351	-8,6336
0,3	-0,52288	17,04167	0,273402	290,4184	-8,91073
0,3	-0,52288	15,50167	0,273402	240,3017	-8,10549
0,3	-0,52288	16,14167	0,273402	260,5534	-8,44013
0,3	-0,52288	15,66167	0,273402	245,2878	-8,18915
0,3	-0,52288	16,42167	0,273402	269,6711	-8,58654
0,3	-0,52288	16,86167	0,273402	284,3158	-8,81661
0,3	-0,52288	16,86167	0,273402	284,3158	-8,81661
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
0,6	-0,22185	19,67389	0,049217	387,0619	-4,36463
1,2	0,079181	23,68611	0,00627	561,0319	1,875496
1,2	0,079181	23,25611	0,00627	540,8467	1,841448
1,2	0,079181	23,40611	0,00627	547,846	1,853325
1,2	0,079181	23,25611	0,00627	540,8467	1,841448
1,2	0,079181	22,86611	0,00627	522,859	1,810567
1,2	0,079181	23,22611	0,00627	539,4522	1,839072
1,2	0,079181	24,20611	0,00627	585,9358	1,91667
1,2	0,079181	24,06611	0,00627	579,1777	1,905585
1,2	0,079181	24,03611	0,00627	577,7346	1,903209
2,4	0,380211	27,49611	0,144561	756,0361	10,45433
2,4	0,380211	27,70611	0,144561	767,6286	10,53417
2,4	0,380211	26,75611	0,144561	715,8895	10,17297
2,4	0,380211	27,58611	0,144561	760,9935	10,48855
2,4	0,380211	27,49611	0,144561	756,0361	10,45433
2,4	0,380211	26,61611	0,144561	708,4174	10,11974
2,4	0,380211	27,38611	0,144561	749,9991	10,41251
2,4	0,380211	27,57611	0,144561	760,4419	10,48475
2,4	0,380211	27,35611	0,144561	748,3568	10,4011
Soma	-9,98319	896,935	10,37047	19076,72	-100,373
Média	-0,22185	19,93189			

As médias amostrais das variáveis $\log_{10} Dose(X)$ e $Diametro(Y)$ são, respectivamente,

$$\bar{x} = \frac{1}{45} \sum_{i=1}^{45} x_i = -0,22185 \quad \text{e} \quad \bar{y} = \frac{1}{45} \sum_{i=1}^{45} y_i = 19,93189.$$

Além disso, na Tabela anterior, apresentam-se os valores de x^2 , y^2 e xy para cada observação $i = 1, \dots, 45$.

Da Tabela calculam-se as somas de quadrados da seguinte forma:

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n x_i^2 - n\bar{x}^2 = 10,37 - 45 \times (-0,22185)^2 = 8,15522$$

$$S_{yy} = \sum_{i=1}^n y_i^2 - n\bar{y}^2 = 19076,72 - 45 \times 19,9319^2 = 1199,09135$$

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n x_i y_i - n\bar{x}\bar{y} = -100,37 - 45 \times (-0,2218 \times 19,9319) = 98,98514.$$

Logo, as estimativas dos parâmetros β_1 e β_0 são, respectivamente

$$\hat{\beta}_1 = \frac{98,98514}{8,15522} = 12,137642 \quad \text{e} \quad \hat{\beta}_0 = 19,9318889 - (-0,22184875) \times 12,137642 = 22,61427988.$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

A seguir apresenta-se o teste de falta de ajuste (desvio de linearidade).

	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressão	1	1070,25348	1070,25348	6981,22427	0,00000
Resíduos	43	7,87605	0,18316		
Desvio de Linearidade	3	1,74387	0,58129	3,79173	0,01747
Erro Puro	40	6,13218	0,15330		

Tabela 22: Teste de Falta de Ajuste.

Para o cálculo da potência, utiliza-se a equação 19. Com isso, tem-se:

Amostra	Padrão	Diferença
14,16	14,83	-0,67
14,7	14,88	-0,18
14,5	14,85	-0,35
14,8	14,37	0,43
15,08	14,91	0,17
14,51	14,41	0,1
14,48	14,05	0,43
14,81	14,63	0,18
14,35	13,95	0,4
Média		0,056667

Tabela 23: Cálculo da tendência.

$$M = \frac{1}{\hat{\beta}_1} \sum_{i=1}^n (y_{ai} - y_{pi}) = \frac{0,056667}{12,14} = 0,004687$$

Desta forma a potência é dada por:

$$\text{Potência} = 10^{M + \log_{10} \text{Potência declarada}} = 10^{5,78327} = 607111,652 \text{ UI/frasco.}$$

- $\bar{x} = -0,22185$
- $S_{xx} = 8,15522$
- $\hat{\beta}_1 = 12,1376$
- $\hat{\beta}_0 = 22,6143$
- $QME = 0,1579577$
- $\hat{y}_0 = 12,72$

Suponha-se, $\hat{x}_0 = \log_{10} 0,15$, logo a incerteza devido à curva de calibração pelo método Fieller é dada por

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$\begin{aligned}
 u(\hat{x}_0) &= \frac{\hat{y}_0 + \hat{\beta}_1}{\hat{\beta}_1} \sqrt{\frac{\text{QME}}{\hat{\beta}_1^2} \frac{\hat{y}_0^2}{S_{xx} \hat{\beta}_1^2}} = \\
 &= \frac{12,72 + 12,14}{12,14} \sqrt{\frac{0,1579577}{12,14^2} \frac{12,72^2}{20,35366803 \times 12,14^2}} = 0,024647584
 \end{aligned}$$

Uma das fontes de incerteza é o desvio-padrão do $u(M) = 0,031709805/\sqrt{9}$. A incerteza para o doseamento é dados por:

$$U = 2 \times \sqrt{u^2(M) + u^2(\text{Curva})} = 2 \times \sqrt{0,031709805^2 + 0,01057^2} = 0,05637$$

$$M_s = M + U = 0,058323463$$

$$M_i = M - U = -0,048950162$$

O intervalo de confiança é dado por:

$$\text{Potência}_{\text{superior}} = 10^{M_s + \log_{10} \text{Potência declarada}} = 10^{5,81368} = 651.142,58 \text{ UI/frasco}$$

$$\text{Potência}_{\text{inferior}} = 10^{M_i + \log_{10} \text{Potência declarada}} = 10^{5,75287} = 566.058,14 \text{ UI/frasco}$$

Resumo descritivo por fator

Preparação	Log10Dose	Mínimo	Média	Máximo	Desvio Padrão	CV (%)	Amplitude	Tamanho
Amostra	-0.222	19.04	19.589	19.94	0.271	1.385	0.9	18
Padrão	0.079	22.65	23.34	23.99	0.463	1.985	1.34	9
Padrão	0.38	26.53	27.244	27.62	0.382	1.401	1.09	9
Padrão	-0.222	18.49	19.674	20.6	0.435	2.214	2.11	36
Padrão	-0.523	15.34	16.217	16.88	0.532	3.282	1.54	9
Padrão	-0.824	12.86	13.184	13.87	0.317	2.407	1.01	9

Figura 11: Análise descritiva.

Tabela da Anova

	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressão	1	1070.253	1070.253	6981.224	0
Resíduos	43	7.876	0.183		
Desvio de Linearidade	3	1.744	0.581	3.792	0.017
Erro Puro	40	6.132	0.153		

Figura 12: Teste de paralelismo.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Coeficientes

	Estimativa	Desvio Padrão	Estat.t	P-valor
Intercepto	22.61	0.071	316.83	0
Log10Dose	11.725	0.153	76.44	0

Qualidade do Ajuste

Desvio Padrão dos Resíduos	Graus de Liberdade	R^2	R^2 Ajustado
0.428	43	0.993	0.993

Figura 13: Estimativas do modelo para a potência.

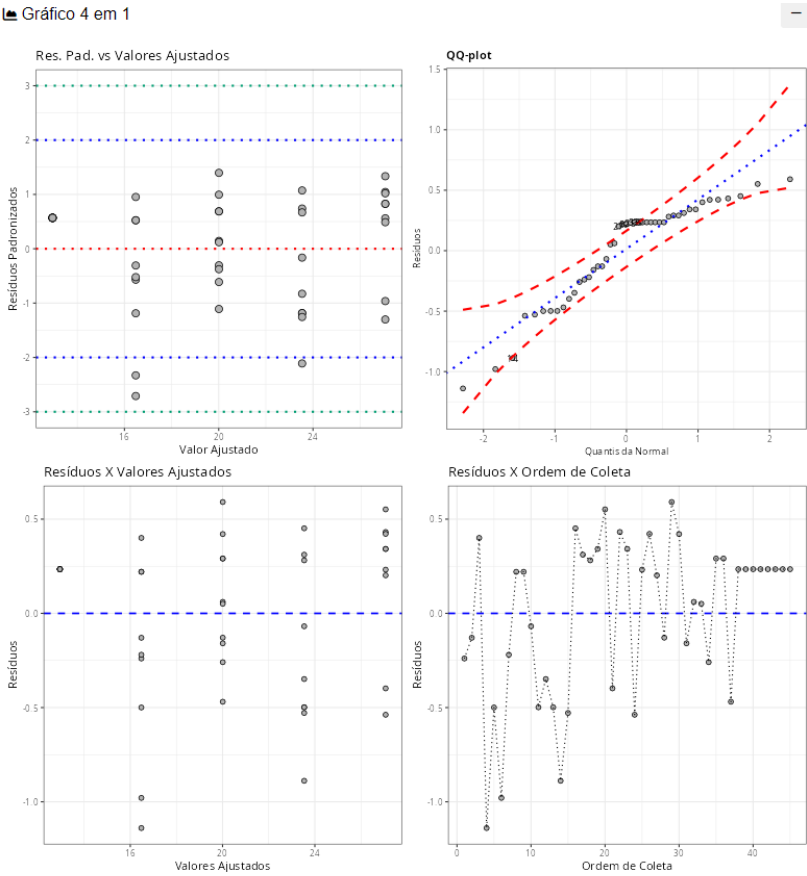


Figura 14: Gráfico 4 em 1 dos resíduos.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Teste de normalidade

	Estatística	P-valor
Shapiro-Wilk	0.897	0.001

Teste de Homocedasticidade

	Estatística	GL	P-valor
Breusch-Pagan	0.135	1	0.713

Teste de Independência

	Estatística	P-valor
Durbin-Watson	1.43	0.034

Figura 15: Testes de normalidade, homocedasticidade e independência.

Gráfico de Comparação das Curvas

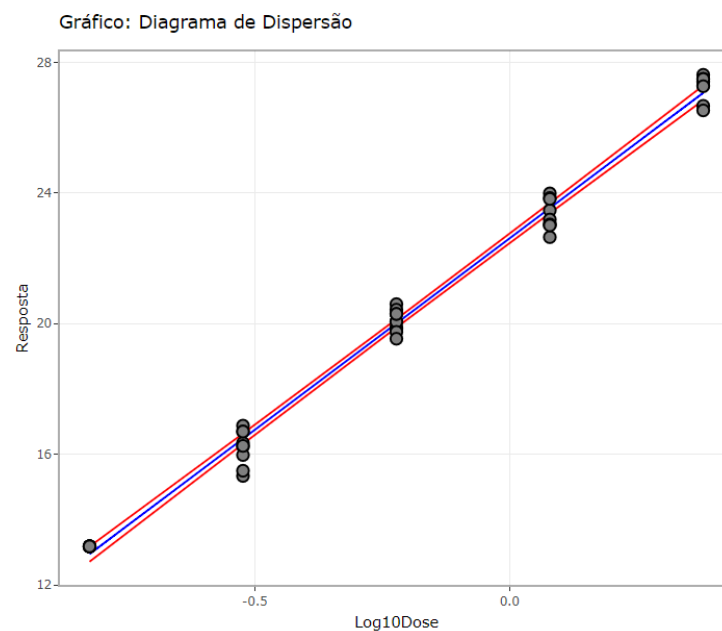


Figura 16: Gráfico de dispersão.

GRUPO ESTAT CAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Estimativa da Potência

—

	Estimativa	Limite inferior	Limite superior
Razão Amostra/Coef.Angular (Log10)	0.005	-0.025	0.036
Potência relativa (%)	101.185	94.343	108.524
Potência (UI/mL)	607111.652	566058.139	651142.581

Figura 17: Estimativa da potência.

11.4 Aplicação 4 - Modelo slope-ratio

Para validar o modelo de slope-ratio, toma-se o exemplo da Farmacopeia Europeia [3] 5.2.1, no qual tem-se um ensaio 3 × 3. Nesta aplicação, desconsidera-se o branco.

• Modelo para validade do ensaio

Será ajustado um modelo linear baseado nos dados coletados como mostrados na Tabela 24:

Tabela 24: Dados coletados

Dose	Preparação	Absorbância	Dose	Preparação	Absorbância
0,01	Padrão	0,133	0,01	Amostra	0,12
0,01	Padrão	0,133	0,01	Amostra	0,119
0,01	Padrão	0,131	0,01	Amostra	0,118
0,01	Padrão	0,136	0,01	Amostra	0,12
0,01	Padrão	0,137	0,01	Amostra	0,12
0,01	Padrão	0,136	0,01	Amostra	0,121
0,01	Padrão	0,138	0,01	Amostra	0,121
0,01	Padrão	0,137	0,01	Amostra	0,121
0,02	Padrão	0,215	0,02	Amostra	0,188
0,02	Padrão	0,215	0,02	Amostra	0,188
0,02	Padrão	0,216	0,02	Amostra	0,19
0,02	Padrão	0,218	0,02	Amostra	0,19
0,02	Padrão	0,22	0,02	Amostra	0,19
0,02	Padrão	0,22	0,02	Amostra	0,191
0,02	Padrão	0,219	0,02	Amostra	0,191
0,02	Padrão	0,218	0,02	Amostra	0,19
0,03	Padrão	0,299	0,03	Amostra	0,254
0,03	Padrão	0,299	0,03	Amostra	0,253
0,03	Padrão	0,299	0,03	Amostra	0,255
0,03	Padrão	0,297	0,03	Amostra	0,258
0,03	Padrão	0,297	0,03	Amostra	0,257
0,03	Padrão	0,305	0,03	Amostra	0,257
0,03	Padrão	0,299	0,03	Amostra	0,255
0,03	Padrão	0,302	0,03	Amostra	0,254

Adota-se a seguinte notação:

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- X_1 : Dose;
- X_2 : Preparação $\begin{cases} X_2 = 0, & \text{Preparação Padrão;} \\ X_2 = 1, & \text{Preparação Amostra;} \end{cases}$
- X_3 : Interação entre Dose e Preparação;
- Y : Absorbância.
- **Estimativa dos parâmetros:**

Inicialmente, encontram-se as estimativas para os parâmetros do modelo.

$$Y = \begin{bmatrix} 0,133 \\ 0,133 \\ \vdots \\ 0,299 \\ 0,299 \\ \vdots \\ 0,12 \\ 0,119 \\ \vdots \\ 0,254 \\ 0,253 \end{bmatrix}; \quad X = \begin{bmatrix} 1 & 0,01 & 1 & 0,01 \\ 1 & 0,01 & 1 & 0,01 \\ & & \vdots & \\ 1 & 0,03 & 1 & 0,03 \\ 1 & 0,03 & 1 & 0,03 \\ & & \vdots & \\ 1 & 0,01 & 0 & 0,00 \\ 1 & 0,01 & 0 & 0,00 \\ & & \vdots & \\ 1 & 0,03 & 0 & 0,00 \\ 1 & 0,03 & 0 & 0,00 \end{bmatrix}$$

$$X^T X = \begin{bmatrix} 48,00 & 0,96 & 24,00 & 0,48 \\ 0,96 & 0,02 & 0,48 & 0,01 \\ 24,00 & 0,48 & 24,00 & 0,48 \\ 0,48 & 0,01 & 0,48 & 0,01 \end{bmatrix},$$

$$(X^T X)^{-1} = \begin{bmatrix} 0,29 & -12,50 & -0,29 & 12,50 \\ -12,50 & 625,00 & 12,50 & -625,00 \\ -0,29 & 12,50 & 0,58 & -25,00 \\ 12,50 & -625,00 & -25,00 & 1250,00 \end{bmatrix},$$

$$X^T y = \begin{bmatrix} 9,74 \\ 0,22 \\ 4,52 \\ 0,10 \end{bmatrix}$$

e da $\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'Y$ obtém-se

$$\hat{\beta} = \begin{bmatrix} -1,052 \\ 18,200 \\ -0,0000212 \\ -2,705 \end{bmatrix}$$

Assim, o modelo ajustado é dado por:

$$\text{Absorbância} = -1,052 + 18,200 * \text{Dose} - 2,12 * 10^{-5} * \text{Preparação} - 2,705 * \text{Dose} * \text{Preparação} \quad (28)$$

- **Teste de significância dos parâmetros:**

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$\begin{aligned}
* SQT &= y'y - \frac{\left(\sum_{i=1}^{48} y_i\right)^2}{48} = 2,16829 - \frac{(94,8676)^2}{48} = 0,952308 \\
* SQE &= Y^T Y - \hat{\beta}^T X^T Y = 2,16829 - 2,168105 = 0,013617 \\
* SQR &= SQR_{x_1} + SQR_{x_2} + SQR_{x_3} = 0,17985 + 0,01015 + 0,0017 = 0,1917 \\
* SQI &= 0,003060 \\
* SQ_{EP} &= 0,000889 \\
* SQ_{FA} &= SQE - SQ_{EP} = 0,000185 - 0,000162 = 0,952308 \\
* QM_{EP} &= \frac{SQ_{EP}}{n - m} = \frac{0,000162}{42} = 0,000004
\end{aligned}$$

Portanto, a estatística do teste é calculada por

$$\begin{aligned}
* F_1 &= \frac{QM_{Reg}}{QM_{EP}} = \frac{\frac{SQ_{Reg}}{2}}{\frac{SQ_{EP}}{42}} = \frac{\frac{0,952308}{2}}{\frac{0,000889}{42}} = \frac{0,476154}{2,12 * 10^{-5}} = 22504,41 \\
* F_2 &= \frac{QM_{R1}}{QM_{EP}} = \frac{\frac{SQ_{R1}}{1}}{\frac{SQ_{EP}}{42}} = \frac{\frac{0,003060}{1}}{\frac{0,000889}{42}} = \frac{0,003060}{2,12 * 10^{-5}} = 0,000708 \\
* F_3 &= \frac{QM_{FA}}{QM_{EP}} = \frac{\frac{SQ_{FA}}{1}}{\frac{SQ_{EP}}{42}} = \frac{\frac{0,012728}{1}}{\frac{0,000889}{42}} = \frac{0,012728}{2,12 * 10^{-5}} = 300,786410
\end{aligned}$$

A Tabela ANOVA fica da seguinte forma:

Fatores	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressão	2	0,952308	0,476154	22504,406790	0,000000
Igualdade do Intercepto	1	0,003060	0,003060	9,888292	0,002978
Resíduos	44	0,013617	0,000309		
Desvio de Linearidade	2	0,012728	0,006364	300,786410	0,000000
Erro Puro	42	0,000889	0,000021		

• Cálculo da potência relativa

O modelo para cálculo de potência é uma atualização do modelo ajustado ?? desconsiderando a variável Preparação. Assim, baseado nos mesmos dados 24 encontram-se as estimativas para os parâmetros do novo modelo com a seguinte notação:

- X_1 : Dose;
- X_2 : Interação entre Dose e Preparação e
- Y : Absorbância.
- **Estimativa dos parâmetros:**
Inicialmente, encontra-se as estimativas para os parâmetros do modelo.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

$$Y = \begin{bmatrix} 0,133 \\ 0,133 \\ \vdots \\ 0,299 \\ 0,299 \\ \vdots \\ 0,12 \\ 0,119 \\ \vdots \\ 0,254 \\ 0,253 \end{bmatrix}; \quad X = \begin{bmatrix} 1 & 0,01 & 0,01 \\ 1 & 0,01 & 0,01 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0,03 & 0,03 \\ 1 & 0,03 & 0,03 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0,01 & 0,00 \\ 1 & 0,01 & 0,00 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0,03 & 0,00 \\ 1 & 0,03 & 0,00 \end{bmatrix}$$

$$X^T X = \begin{bmatrix} 48,00 & 0,96 & 0,48 \\ 0,96 & 0,02 & 0,01 \\ 0,48 & 0,01 & 0,01 \end{bmatrix},$$

$$(X^T X)^{-1} = \begin{bmatrix} 0,15 & -6,25 & 0,00 \\ -6,25 & 357,14 & -89,29 \\ 0,00 & -89,29 & 178,57 \end{bmatrix},$$

$$X^T y = \begin{bmatrix} 9,74 \\ 0,22 \\ 0,10 \end{bmatrix}$$

e da $\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'Y$ obtemos

$$\hat{\beta} = \begin{bmatrix} -1,052 \\ 18,200 \\ -2,705 \end{bmatrix}$$

Assim, o modelo ajustado para potência é dado por:

$$\text{Absobância} = -1,052 + 18,200 * \text{Dose} - 2,705 * \text{Dose} * \text{Preparação} \quad (29)$$

– Teste de significância dos parâmetros:

$$* SQT = y'y - \frac{\left(\sum_{i=1}^{48} y_i\right)^2}{48} = 2,16829 - \frac{(94,8676)^2}{48} = 0,19188$$

$$* SQE = Y^T Y - \hat{\beta}^T X^T Y = 2,16829 - 2,168105 = 0,000185$$

$$* SQR_{x_1} = 0,17985$$

$$* SQR_{x_2} = 0,01185$$

$$* \hat{\sigma}^2 = QME = \frac{SQE}{n - p - 1} = \frac{0,000185}{45} = 0,000004$$

Portanto, a estatística do teste é calculada por

$$* F_1 = \frac{QMR_{x_1}}{QME} = \frac{\frac{SQR_{x_1}}{1}}{\frac{SQE}{45}} = \frac{\frac{0,17985}{1}}{\frac{0,000185}{45}} = \frac{0,17985}{0,000004} = 43741,68$$

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Fatores	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Dose	1	0,17985	0,17985	43741,68	6,92E-69
Dose:Preparacao	1	0,011847	0,011847	2881,237	1,91E-42
Resíduos	45	0,000185	4,11E-06		

$$* F_2 = \frac{QME_{x2}}{QME} = \frac{\frac{SQR_{x2}}{1}}{\frac{SQE}{45}} = \frac{\frac{0,01185}{1}}{\frac{0,000185}{45}} = \frac{0,01185}{0,000004} = 2881,24$$

– Cálculo da potência relativa

O cálculo da potência é dado por: $\rho = \frac{\hat{\beta}_1 + \hat{\beta}_2}{\hat{\beta}_1} = \frac{18,200 - 2,705}{18,200} = 0,85137$.

Desta forma, tem-se a potência relativa dada por: $0,85137 \times 100(\%) = 85,137\%$

A seguir, apresentam-se os resultados obtidos pelo Action Stat.

Resumo descritivo por fator

—

Preparação	Dose	Mínimo	Média	Máximo	Desvio Padrão	CV (%)	Amplitude	Tamanho
Amostra	0.01	-0.928	-0.921	-0.917	0.004	0.422	0.011	8
Amostra	0.02	-0.726	-0.722	-0.719	0.003	0.37	0.007	8
Amostra	0.03	-0.597	-0.593	-0.588	0.003	0.507	0.008	8
Padrao	0.01	-0.883	-0.869	-0.86	0.008	0.919	0.023	8
Padrao	0.02	-0.668	-0.662	-0.658	0.004	0.623	0.01	8
Padrao	0.03	-0.527	-0.523	-0.516	0.004	0.736	0.012	8

Figura 18: Análise descritiva.

Tabela da Anova

—

	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Regressão	2	0.952	0.476	22504.407	0
Igualdade do Intercepto	1	0.003	0.003	9.888	0.003
Resíduos	44	0.014	0		
Desvio de Linearidade	2	0.013	0.006	300.786	0
Erro Puro	42	0.001	0		

Figura 19: Teste de paralelismo.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Coeficientes

	Estimativa	Desvio Padrão	Estat.t	P-valor
Intercepto	-1.052	0.007	-143.104	0
Dose	18.2	0.364	50.026	0
Dose:PreparaçãoAmostra	-2.705	0.257	-10.516	0

Qualidade do Ajuste

Desvio Padrão dos Resíduos	Graus de Liberdade	R ²	R ² Ajustado
0.019	45	0.983	0.982

Figura 20: Estimativas do modelo para a potência.

Gráfico 4 em 1

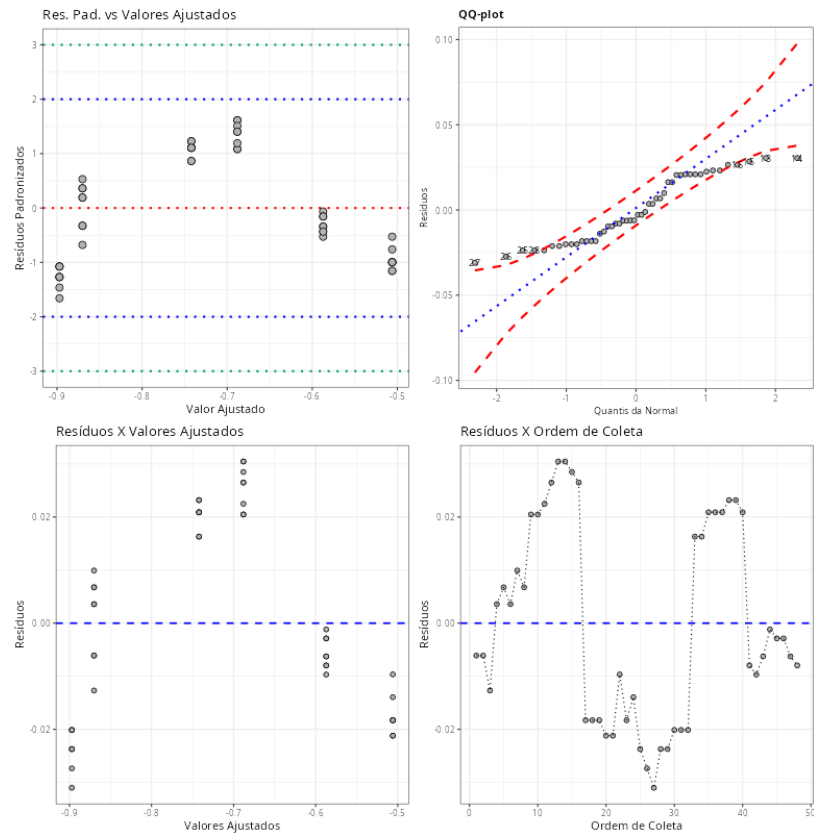


Figura 21: Gráfico 4 em 1 dos resíduos.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Teste de normalidade

	Estatística	P-valor
Shapiro-Wilk	0.918	0.003

Teste de Homocedasticidade

	Estatística	GL	P-valor
Breusch-Pagan	1.161	1	0.281

Teste de Independência

	Estatística	P-valor
Durbin-Watson	0.317	0

Figura 22: Testes de normalidade, homocedasticidade e independência.

Gráfico de Comparação das Curvas

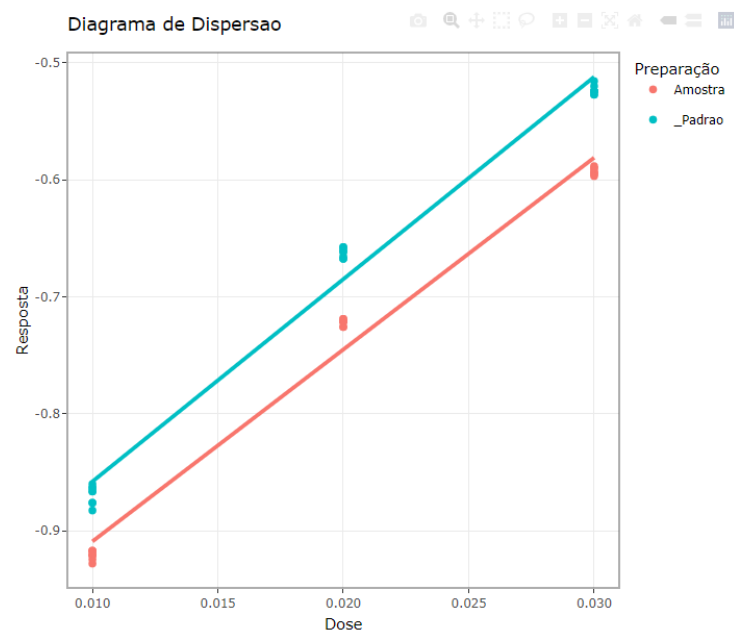


Figura 23: Gráfico de dispersão.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Estimativa da Potência

	Estimativa	Limite inferior	Limite superior
Razão de betas	0.851	0.829	0.874
Potência relativa (%)	85.136	82.9	87.396

Figura 24: Estimativa da potência.

	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

Referências

- [1] BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 49, 31/10/2013 . Guia para produtos biológicos - Outubro, 2013.
- [2] BRASIL, M. S. Farmacopéia brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.
- [3] European Pharmacopeia, fifth ed., European Directorate for the Quality of Medicines, Strasbourg Cedex, France, 2005.
- [4] Helrich, Kenneth. "Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Virginia USA: Association of Official Analytical Chemists." (1990).
- [5] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Guia: Validação e Controle de Qualidade Analítica (Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários), Brasília, 2011.
- [6] Guedes, Terezinha Aparecida, Ivan Ludgero Ivanqui, and Ana Beatriz Tozzo Martins. "Comparando equações de regressão em dados de saúde." Acta Scientiarum. Technology 23 (2008): 1531-1535.
- [7] González, A. Gustavo, and M. Ángeles Herrador. "A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles." TrAC Trends in Analytical Chemistry 26.3 (2007): 227-238.
- [8] Russell V Lenth. Quick and easy analysis of unreplicated factorials. Technometrics, 31(4):469-473, 1989.
- [9] Isabela da Costa César and Gerson Antônio Pianetti. Robustness evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefantrine using youden's test. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 45(2):235-240, 2009.
- [10] Douglas C. Montgomery and Elizabeth A. Peck (1992) - Introduction to Linear Regression Analysis, 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [11] John Neter, William Wasserman and Michael H. Kutner (1985) - Applied linear statistical models: regression, analysis of variance, and experimental designs, 2nd ed., Homewood, Ill. : R.D. Irwin.
- [12] Raymond H. Myers (1990) - Classical and Modern Regression with Applications, 2th Ed., Duxbury Press, California USA, p.488.
- [13] D. W. Hosmer and S. Lemeshow (1985) - Applied Logistic Regression, Second Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [14] S. Weisberg (2005) - Applied Linear Regression, 3ª Edição, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [15] J. Durbin & G.S. Watson (1950), Testing for Serial Correlation in Least Squares Regression I. Biometrika 37, 409-428.
- [16] J. Durbin & G.S. Watson (1951), Testing for Serial Correlation in Least Squares Regression II. Biometrika 38, 159-178.
- [17] J. Durbin & G.S. Watson (1971), Testing for Serial Correlation in Least Squares Regression III. Biometrika 58, 1-19.
- [18] R.W. Farebrother (1980), Pan's Procedure for the Tail Probabilities of the Durbin-Watson Statistic (Corr: 81V30 p189; AS R52: 84V33 p363- 366; AS R53: 84V33 p366-369). Applied Statistics 29, 224-227.

GRUPO ESTATCAMP	PROTOCOLO ESTATÍSTICO		Data de Emissão: 03 de abril de 2023
	EC.PRO-005.01	Sistema: Action Stat Doseamento Versão 4.1	
		Doseamento Biológico	

- [19] R. W. Farebrother (1984), [AS R53] A Remark on Algorithms AS 106 (77V26 p92-98), AS 153 (80V29 p224-227) and AS 155: The Distribution of a Linear Combination of χ^2 Random Variables (80V29 p323-333) Applied Statistics 33, 366-369.
- [20] Godfrey, L.G. (1978): ‘Testing Against General Autoregressive and Moving Average Error Models when the Regressors Include Lagged Dependent Variables’, Econometrica, 46, 1293-1302.
- [21] Breusch, T.S. (1979): ‘Testing for Autocorrelation in Dynamic Linear Models’, Australian Economic Papers, 17, 334-355.
- [22] R.W. Farebrother (1980), Pan’s Procedure for the Tail Probabilities of the Durbin-Watson Statistic (Corr: 81V30 p189; AS R52: 84V33 p363- 366; AS R53: 84V33 p366- 369). Applied Statistics 29, 224-227