

As hipóteses estatísticas a serem testadas são:

$$H_0 : P_{RS} = P_{SC}$$

$$H_1 : P_{RS} \neq P_{SC}$$

Com base nestas informações,

$$C = 0,5 (1/110 + 1/310) = 0,0062$$

$$p_0 = \frac{x_A + x_B}{n_A + n_B} = \frac{2 + 130}{110 + 310} = 0,31 \text{ e } q_0 = 1 - 0,31 = 0,69$$

$$z_{calc} = \frac{|0,02 - 0,42| - 0,0062}{\sqrt{0,31 \times 0,69 (1/110 + 1/310)}} = \frac{0,3938}{0,0513} = 7,676.$$

Como $|z_{calc}| = 7,676 > z_{0,001} = 3,29$, rejeita-se a hipótese de igualdade entre as proporções populacionais e conclui-se que, ao menos nas formas juvenis, os gastrópodos do Rio Grande do Sul são mais resistentes ao esquistossoma que os de Santa Catarina.

15

Distribuição qui-quadrado

Nos exemplos analisados no capítulo anterior, as variáveis estudadas eram dicotômicas, compreendendo apenas dois estados ou categorias. Um número grande de variáveis qualitativas, no entanto, é politômica, como a situação de um paciente após um tratamento (melhora, piora, sem alteração), os conceitos após uma avaliação (A, B, C, D), os tipos no sistema sanguíneo ABO. Tais variáveis não podem ser tratadas pelos métodos de análise vistos, a não ser transformando-as em dicotômicas por reunião de categorias, havendo, nesse caso, perda de informação. Karl Pearson, em 1899, desenvolveu uma técnica estatística mais geral, adequada para variáveis qualitativas com duas ou mais categorias, denominada teste qui-quadrado (χ^2). Com essa técnica podem ser resolvidos vários problemas, entre eles os seguintes:

- (1) Verificar se uma distribuição observada de dados ajusta-se a uma distribuição esperada (teórica): o teste é chamado *teste χ^2 de aderência* ou *de ajustamento*;
- (2) Comparar duas ou mais populações com relação a uma variável categórica: o teste denomina-se *teste χ^2 de comparação de proporções* (ou, *teste χ^2 de heterogeneidade* entre populações);
- (3) Verificar se existe associação entre duas variáveis qualitativas: o teste é chamado de *teste χ^2 de associação*.

ESTATÍSTICA χ^2 DE PEARSON

A estatística χ^2 foi criada por K. Pearson para medir o grau de discrepância entre um conjunto de frequências observadas (O) e o conjunto de frequências esperada segundo determinada hipótese (E). Para compreender as bases de seu cálculo, considere o exemplo didático a seguir.

Exemplo 1. Imagine a situação na qual um investigador está estudando a presença dos antígenos R e S (fictícios) em tecido humano. O assunto é de grande importância, pois seriam antígenos relacionados com a histocompatibilidade e qualquer informação relativa à herança desses antígenos é de grande valia nos

casos de transfusões e transplante de tecidos e órgãos. Imagine que existam três tipos de pessoas:

- Tipo R: pessoas que só possuem o antígeno R.
- Tipo S: pessoas que só possuem o antígeno S.
- Tipo RS: pessoas que possuem os dois antígenos.

O pesquisador faz a hipótese de que estes tipos são determinados geneticamente por um par de genes *R* e *S* autossômicos co-dominantes, isto é, que estão no mesmo loco cromossômico e se expressam ambos, independentemente, no heterozigoto. No caso, os genótipos para cada tipo seriam: genótipo RR (determinando o fenótipo R); genótipo SS (fenótipo S); genótipo RS (fenótipo RS).

Se esta hipótese estiver correta, então filhos resultantes de cruzamentos de mulheres RS com homens RS devem apresentar os três genótipos possíveis, nas proporções 1/4 para R, 1/2 para RS e 1/4 para S, conforme determina a Primeira Lei de Mendel, ilustrada na Figura 15.1.

Desejando testar a hipótese de que os alelos *R* e *S* são co-dominantes, o pesquisador então estudou 24 filhos de casamentos do tipo RS×RS, escolhidos aleatoriamente, e obteve 6 indivíduos do tipo R, 15 do tipo RS e 3 do tipo S. Aparentemente, os dados não estão de acordo com a idéia de herança co-dominante, pois em 24 pessoas deveria haver 6 do tipo R (1/4 de 24), 12 do tipo RS (1/2 de 24) e 6 do tipo S (1/4 de 24). No entanto, os resultados obtidos em amostras podem diferir do que seria esperado devido ao erro de amostragem. A questão é: até que ponto as diferenças podem ser atribuídas ao acaso?

Para responder a esta pergunta, é preciso primeiro haver uma medida da diferença entre as frequências observadas (*O*) e as esperadas (*E*) segundo a hipótese feita. Uma boa idéia seria usar as diferenças entre *O* e *E*, elevando-as ao quadrado para que sua soma não seja zero. A soma das diferenças (*O* - *E*)² poderia ser usada como a medida que se deseja. No entanto, ela não leva em conta que a diferença de um indivíduo em relação a um número esperado de 5 indivíduos (1/5) é proporcionalmente maior do que a diferença de um indivíduo em relação a um esperado de 10 (1/10). Por isso, cada diferença (*O* - *E*)² é dividida pelo número esperado (*E*). A soma dessas quantidades constitui a medida desejada e denomina-se χ^2 .

Em resumo, a fórmula para calcular o χ^2 é:

$$\chi^2_{calc} = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

e o cálculo, para os dados do Exemplo 1, está efetuado na Tabela 15.1. Note que a soma $\sum(O - E)$ deve ser igual a zero (ou muito próxima de zero se tiverem sido

Genótipos do casal:	Mulher: RS	Homem: RS	
Gametas possíveis:	R e S	R e S	
Genótipos possíveis nos filhos:	RR	RS ou SR	SS
Fenótipos correspondentes aos genótipos:	R	RS	S
Proporção esperada para cada fenótipo:	1/4	2/4	1/4

FIGURA 15.1 Esquema mostrando tipos e proporções esperadas em um cruzamento de dois indivíduos heterozigotos para os genes co-dominantes R e S.

TABELA 15.1 Cálculo do χ^2 para as frequências observadas dos tipos R, RS e S, na suposição de que os antígenos deste sistema são determinados por genes co-dominantes

Categorias	Nº Observado (O)	Proporção esperada	Nº Esperado (E)	O - E	(O - E) ²	(O - E) ² /E
R	6	1/4	6	0	0	0
RS	15	2/4	12	3	9	0,75
S	3	1/4	6	-3	9	1,50
Σ	24	1	24	0		2,25

feitas aproximações nos valores de *E*), pois a falta de indivíduos em uma categoria é compensada pelo excesso em outra e vice-versa.

O χ^2 calculado é 2,25 e mede a diferença geral entre os números observados e os que deveriam ser obtidos se a herança dos tipos R, RS e S fosse co-dominante.

DISTRIBUIÇÃO χ^2

O pesquisador deve agora decidir-se por uma das duas conclusões a seguir:

- (1) As diferenças ocorridas entre as frequências observadas *O* e as esperadas *E* são casuais e pode-se dizer que os tipos R, RS e S são determinados por genes co-dominantes;
- (2) As diferenças observadas entre *O* e *E* não são casuais, tendo ocorrido porque os tipos R, RS e S não são determinados da maneira suposta.

Devido ao modo como é calculado, o χ^2 será zero quando não houver diferença entre os números observados e os esperados, ficando maior à medida que aumentam as discrepâncias entre *O* e *E*. Diferenças grandes são pouco prováveis quando a hipótese que norteou a obtenção de *E* for verdadeira. Com este raciocí-

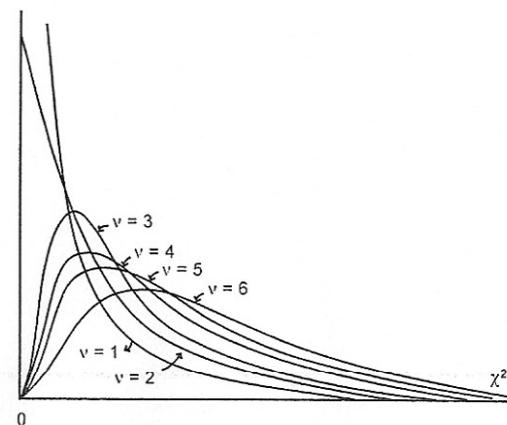


FIGURA 15.2 Distribuição χ^2 para vários graus de liberdade, aqui indicados por *v*. (Fonte: Hoel, 1963; p. 201.)

nio, somente se espera um valor de χ^2 alto quando os dados não apoiarem a hipótese formulada. No teste qui-quadrado, como em qualquer teste estatístico, um valor calculado será considerado "excessivamente grande" quando cair na região de significância de uma distribuição teórica, no caso a do χ^2 .

A forma da distribuição χ^2 depende do número de categorias que compõem a variável qualitativa. Via de regra ela é assimétrica, começando no zero e apresentando apenas valores positivos. A assimetria diminui à medida que aumenta o número de categorias (Figura 15.2), as quais determinam o número de graus de liberdade, como será visto mais adiante. Para simplificar, a distribuição χ^2 será apresentada neste texto por meio de uma curva assimétrica geral, sem a preocupação de detalhar sua forma conforme o número de graus de liberdade. A Figura 15.3 mostra o esquema da distribuição χ^2 para $gl = 2$, que será usada para analisar os dados do Exemplo 1, referente à herança dos antígenos R e S.

Na distribuição χ^2 , a região de significância é unilateral e está localizada na extremidade direita da curva, uma vez que os valores de χ^2 próximos de zero, por indicarem diferenças pequenas, não interessam na rejeição da hipótese nula. O valor crítico deve ser procurado na Tabela A.6, para o nível de significância desejado (α) e, no caso de tabelas de entrada simples, um número de graus de liberdade dado por:

$$gl = (\text{n}^\circ \text{ de categorias} - \text{n}^\circ \text{ de parâmetros independentes estimados a partir da amostra} - 1).$$

Na grande maioria das vezes, porém, não há necessidade de se estimarem parâmetros a partir da amostra, de modo que o cálculo do número de graus de liberdade fica simplesmente

$$gl = \text{número de categorias} - 1.$$

OBSERVAÇÕES: 1. A estimativa dos parâmetros ocorre quando se deseja verificar o ajustamento de uma distribuição empírica de dados a uma distribuição teórica, por exemplo, uma normal. Neste caso, é necessário estimar μ e σ e calcular o número esperado de indivíduos em vários intervalos da variável x .

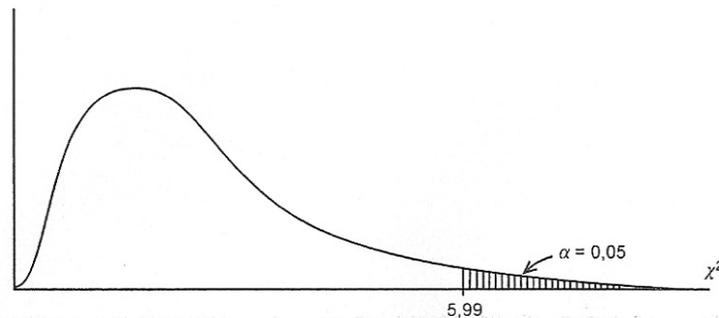


FIGURA 15.3 Forma geral da distribuição χ^2 para $gl=2$, com a região de significância ($\alpha = 0,05$) sombreada.

(2) Em genética de populações, é comum desejar-se um teste para a lei de equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências gênicas (parâmetros) são inicialmente estimadas na amostra, para depois se realizar o teste. Neste caso, o número de graus de liberdade deve seguir a primeira fórmula apresentada e não a simplificada, sendo: $gl = (\text{n}^\circ \text{ de categorias} - \text{n}^\circ \text{ de alelos independentes} - 1)$ ou $gl = (\text{n}^\circ \text{ de categorias} - \text{n}^\circ \text{ de alelos})$.

TESTE DE ADERÊNCIA OU DE AJUSTAMENTO

O teste χ^2 de aderência ou de ajustamento foi o utilizado pelo pesquisador interessado na herança dos antígenos R e S. Os dados são classificados em tabelas simples, de uma entrada apenas. O objetivo é verificar se uma distribuição observada de frequências (O) ajusta-se a uma distribuição de valores esperados segundo determinada teoria (E). A seqüência dos procedimentos, exemplificada com os dados do Exemplo 1, é:

(1) Elaboração das hipóteses estatísticas:

H_0 : A distribuição de frequências observadas (O) é igual à distribuição de frequências esperadas segundo a hipótese que se está testando (E). Abreviadamente, $H_0: O = E$

$H_A: O \neq E$

(2) Escolha do nível de significância:

$$\alpha = 0,05$$

(3) Determinação do valor crítico do teste:

$$gl = (\text{número de categorias} - 1) = (3 - 1) = 2, \text{ então, } \chi^2_{0,05;2} = 5,99.$$

(4) Determinação do valor calculado do teste:

$$\chi^2_{\text{calc}} = \sum \frac{(O - E)^2}{E} = 2,25.$$

(5) Decisão

Como $\chi^2_{\text{calc}} = 2,25 < \chi^2_{0,05;2} = 5,99$, não se rejeita H_0 .

(6) Conclusão

A distribuição de frequências observadas não difere da distribuição esperada; as diferenças observadas foram casuais. Então, não há evidências que contradigam a hipótese de que o mecanismo genético que determina os tipos R, RS e S é o de herança simples com co-dominância.

TESTE DE COMPARAÇÃO DE PROPORÇÕES

O teste χ^2 de comparação (ou de heterogeneidade) entre proporções é usado para comparar duas ou mais populações quanto a uma variável qualitativa. Os dados são organizados em tabelas de contingência, nas quais as linhas representam as várias amostras e as colunas, as categorias da variável (pode-se também colocar as amostras nas colunas e as categorias nas linhas). Nesse tipo de estudo, os tamanhos das amostras são fixos, isto é, o pesquisador decide, para cada amos-

tra, quando termina o levantamento dos dados. Ele não controla a frequência nas categorias, sendo estas, portanto, variáveis aleatórias.

A hipótese que se deseja verificar, neste teste, é a de que a proporção de indivíduos em cada categoria é a mesma nas diferentes populações amostradas, isto é, as populações não diferem com relação à variável estudada. O exemplo abaixo ilustra esta aplicação do χ^2 .

Exemplo 2. O coleóptero *Chauliognathus flavipes* pode apresentar 10 diferentes padrões para as manchas pretas que ocorrem sobre os élitros¹, que são amarelos. Machado e Araújo (1994) coletaram insetos dessa espécie em várias localidades do Rio Grande do Sul, nos anos de 1989 e 1990. A Tabela 15.2 apresenta dados obtidos para as localidades de Porto Alegre, São Leopoldo e Caxias do Sul, com respeito aos padrões 2 (claro), 3 (intermediário) e 10 (escuro), com o objetivo de comparar as frequências de tais padrões nas três populações.

Os padrões de manchas nos élitros não são categorias de uma variável dicotômica, de modo que os procedimentos utilizados para comparação de proporções por meio de um teste z não podem ser aqui aplicados. Poder-se-ia pensar em dicotomizar a variável, reunindo os padrões claro e intermediário em uma categoria e deixando o escuro em outra, e realizar três testes de comparação entre percentagens, tomando-se as amostras duas a duas. Entretanto, tal procedimento, além de acarretar perda de informação, é mais trabalhoso, além de não ser correto do ponto de vista estatístico, já que realizando vários testes com os mesmos dados está-se aumentando o risco de obter uma significância espúria. O teste χ^2 de heterogeneidade compara as três amostras simultaneamente, sem a necessidade de reunir as categorias, evitando-se, assim, tais problemas.

O cálculo das frequências esperadas agora é feito de modo diferente do usado no teste χ^2 de ajustamento. Aqui parte-se da pressuposição de que não existe diferença entre localidades quanto às frequências dos padrões dos élitros. Chamando de P a proporção populacional para o padrão claro, isto equivale a dizer que $P_{\text{Porto Alegre}} = P_{\text{S. Leopoldo}} = P_{\text{Caxias do Sul}}$. Essa mesma igualdade vale também para os demais padrões, de modo que se poderia generalizar afirmando, em H_0 , que as proporções relativas aos três padrões são as mesmas nas três populações.

Se as localidades não diferem quanto às frequências desses padrões, pode-se considerar que elas constituem uma população única no que se refere a essa variável. Neste caso, a melhor estimativa para a proporção, por exemplo, do padrão claro, nesta população, deve reunir os dados das três amostras, sendo $161/242 = 0,665$ (ou 66,5 %).

TABELA 15.2 Número de indivíduos da espécie *Chauliognathus flavipes* com diferentes padrões de manchas nos élitros, coletados em três localidades do Rio Grande do Sul

Localidade	Padrão dos élitros			Total
	Claro	Intermediário	Escuro	
Porto Alegre	67 (60,5)	20 (19,6)	4 (10,9)	91
São Leopoldo	68 (77,2)	29 (24,9)	19 (13,9)	116
Caxias do Sul	26 (23,3)	3 (7,5)	6 (4,2)	35
Total	161	52	29	242

Entre parênteses: número esperado segundo o postulado em H_0 .
Fonte: Machado e Araújo, 1994.

¹ Élitros são asas coriáceas que ficam sobrepostas às asas membranosas, protegendo-as.

Assim, considerando verdadeira a hipótese de que as populações não diferem, o número esperado de indivíduos com élitros claros na amostra de Porto Alegre é 66,5% de 91, isto é, 60,5 indivíduos (use uma decimal no cálculo do valor esperado). Pode-se também pensar em usar uma "regra de três" simples, do seguinte modo: se em 242 indivíduos foram observados 161 com élitros claros, em uma amostra de 91 coleópteros coletados em Porto Alegre espera-se encontrar:

$$\begin{array}{l} 242 \rightarrow 161 \\ 91 \rightarrow E \end{array} \quad E = \frac{161 \times 91}{242} = 60,5 \text{ coleópteros com élitros claros.}$$

Note que 161 é o total da coluna "Claro", 91 é o total da linha "Porto Alegre" e 242 é o total geral.

Assim, a fórmula geral para o número esperado em cada casela² da tabela de contingência, é:

$$E = \frac{\text{total da coluna} \times \text{total da linha}}{\text{total geral}} = \frac{TC \times TL}{TG}$$

Aplicando esta fórmula, o número esperado de insetos com padrão intermediário, em Porto Alegre, é:

$$E = \frac{52 \times 91}{242} = 19,6.$$

O número esperado para o padrão escuro, na amostra, pode ser obtido do mesmo modo ou então calculando-se a diferença para atingir o total 91.

Igual raciocínio vale para a obtenção dos valores de E para as outras amostras.

Os números que estão entre parênteses na Tabela 15.2 são os esperados (E) em cada casela, calculados conforme explicado, isto é, supondo que as populações não diferem entre si. Os números observados (O) podem agora ser comparados com os esperados (E) pela fórmula do χ^2 . Se as diferenças forem pequenas, podem ser explicadas pelo acaso e, portanto, a conclusão será a de que não há diferença entre localidades quanto ao padrão dos élitros. Se as diferenças forem grandes, a conclusão será de que existe diferença entre locais de coleta. A decisão sobre a significância das diferenças entre números observados e números esperados é tomada fazendo uso da distribuição χ^2 , com graus de liberdade = $(L - 1)(C - 1)$, em que L e C são o número de categorias nas linhas e colunas, respectivamente.

O cálculo do χ^2 é feito em uma tabela separada, como na Tabela 15.3.

Etapas do teste χ^2 de comparação entre proporções

- (1) Elaboração das hipóteses estatísticas:

H_0 : $O = E$, sendo que E foi calculado supondo que a proporção de élitros escuros, intermediários e claros é a mesma nas três populações. Ou seja, E foi calculado supondo que não há diferença entre locais quanto ao padrão dos élitros.

H_1 : $O \neq E$

² Casela ou cela é o encontro de uma linha com uma coluna.

TABELA 15.3 Padrão dos élitros em *Chauliognathus flavipes*: cálculo do qui-quadrado para o teste de heterogeneidade entre localidades

O	E	(O - E)	(O - E) ²	(O - E) ² /E
67	60,5	6,5	42,25	0,698
68	77,2	-9,2	86,64	1,096
26	23,3	2,7	7,29	0,313
20	19,6	0,4	0,16	0,008
29	24,9	4,1	16,81	0,675
3	7,5	-4,5	20,25	2,700
4	10,9	-6,9	47,61	4,368
19	13,9	5,1	26,01	1,871
6	4,2	1,8	3,24	0,771
Σ 242	242,0	0	12,500 =	χ^2_{calc}

- (2) Escolha do nível de significância:

$$\alpha = 0,05.$$

- (3) Determinação do valor crítico do teste:

O número de graus de liberdade nas tabelas de contingência é

$$gl = (L - 1)(C - 1), \text{ onde}$$

L = número de categorias-linhas, isto é, número de categorias da variável que está nas linhas da tabela (no exemplo, L = 3 localidades);

C = número de categorias-colunas, isto é, número de categorias da variável que está nas colunas (C = 3 padrões de élitros).

No Exemplo 2, $gl = (3 - 1)(3 - 1) = 4$, o que leva ao valor crítico $\chi^2_{0,05;4} = 9,49$.

- (4) Determinação do valor calculado do teste:

$$\chi^2_{calc} = \sum \frac{(O - E)^2}{E}, \text{ sendo } E = \frac{TC \times TL}{TG}$$

O valor de χ^2 obtido para os dados do Exemplo 2 foi 12,500.

- (5) Decisão

Como $\chi^2_{calc} = 12,500 > \chi^2_{0,05;4} = 9,49$, rejeita-se H_0 .(Note que o nível crítico amostral para $\chi^2_{calc} = 12,5$ é $0,02 > P > 0,01$, portanto é muito baixa a probabilidade de se obter, ao acaso, um valor de χ^2_{calc} igual ou maior do que 12,5 se as populações não diferirem entre si).

- (6) Conclusão

As freqüências observadas diferem significativamente das esperadas quanto a freqüência dos padrões nos élitros. Portanto, as três populações de *Chauliognathus flavipes* diferem quanto a esta característica ($\alpha = 0,05$).

Uma interpretação mais adequada dos resultados deve ser feita usando a análise de resíduos, conforme será explicado mais adiante. Pode-se, entretanto, elaborar uma conclusão provisória, examinando, em cada amostra, as percentagens observadas para cada categoria (Tabela 15.4). Assim, parece que a freqüência de élitros escuros é menor em Porto Alegre, o padrão claro é menos freqüente em coleópteros de São Leopoldo, enquanto na amostra de Caxias do Sul há uma redução na percentagem da categoria "Intermediário".

TABELA 15.4 Percentagem de indivíduos na espécie *Chauliognathus flavipes* com diferentes padrões de manchas nos élitros

Localidade	N	Padrão			Total
		Claro	Intermediário	Escuro	
Porto Alegre	91	74%	22%	4%	100%
São Leopoldo	116	59%	25%	16%	100%
Caxias do Sul	35	74%	9%	17%	100%
Todas	242	67%	21%	12%	100%

O teste de comparação de proporções usando χ^2 compara várias amostras quanto a uma variável qualitativa, com duas ou mais categorias. A comparação de duas amostras quanto a uma variável dicotômica (tabelas 2x2), portanto, é um caso particular deste teste. Viu-se que tal situação pode ser analisada por um teste z de comparação entre duas proporções, mas pode-se também realizar um teste χ^2 , com $gl = 1$, como será exemplificado mais adiante. Os dois procedimentos levam à mesma conclusão.³

TESTE DE ASSOCIAÇÃO OU DE INDEPENDÊNCIA

O teste χ^2 de associação (ou teste de independência) é utilizado para testar a correlação entre variáveis categóricas, assim como o coeficiente r é calculado e testado com o mesmo fim para variáveis quantitativas. Para realizar um teste χ^2 de associação, os indivíduos de uma amostra são estudados quanto a duas variáveis qualitativas e os dados são organizados em uma tabela de contingência, na qual as linhas e as colunas representam as categorias das duas variáveis em análise. Neste teste, o único total fixo (controlado pelo pesquisador) é o total de indivíduos estudados.

Exemplo 3. Vieira e Prolla (1979) estudaram uma amostra de 384 pacientes com problemas pulmonares, classificando-os segundo a presença ou não de eosinófilos no escarro e o tipo de pneumopatia diagnosticada (Tabela 15.5). Poder-se-ia perguntar: "Constituem os dados obtidos evidência suficiente de associação entre estas duas variáveis"?

Quando se pensa em associação entre duas variáveis categóricas, o raciocínio para o cálculo do número esperado (E) pressupõe que não há associação entre elas. No Exemplo 3, parte-se do pressuposto de que a presença de eosinófilos no escarro e o tipo de pneumopatia são variáveis independentes. Ora, se essas duas variáveis forem independentes, a probabilidade de se observar eosinófilos no escarro de uma pessoa do Grupo 1 (com asma) deve ser calculada pela regra do produto:

$$\Pr(\text{eosinófilos no escarro e asma}) = \Pr(\text{eosinófilos no escarro}) \times \Pr(\text{asma})$$

$$\Pr(\text{eosinófilos no escarro e asma}) = \frac{228}{384} \times \frac{197}{384} = 0,305.$$

³ É interessante notar que se gl é igual a 1, $z^2 = \chi^2$.

TABELA 15.5 Presença de eosinófilos no escarro e tipo de doença pulmonar em 384 pacientes porto-alegrenses

Eosinófilos no escarro	Grupo quanto ao tipo de pneumopatia*				Total
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	
Sim	142 (72%)	26 (58%)	32 (44%)	28 (41%)	228 (59%)
Não	55 (28%)	19 (42%)	41 (56%)	41 (59%)	156 (41%)
Total	197 (100%)	45 (100%)	73 (100%)	69 (100%)	384

*Grupo 1: asma; Grupo 2: bronquite crônica com broncoespasmo; Grupo 3: bronquite crônica ou enfisema sem broncoespasmo; Grupo 4: outras doenças pulmonares. Fonte: Vieira e Prolla, 1979.

Assim, se não houver associação entre pneumopatia e presença de eosinófilos no escarro, espera-se que 30,5% dos 384 pacientes estudados apresentem esses leucócitos no escarro e sejam asmáticos, correspondendo a 117 pacientes (0,305 × 384 = 117,1).

Reunindo os cálculos feitos para obter o valor esperado, tem-se:

$$E = \frac{284}{384} \times \frac{197}{384} \times 384 = \frac{228 \times 197}{384} = 117,1$$

Note que 228 é o total da linha referente a "Eosinófilos = sim", 197 é o total da coluna "Grupo 1" e 384 é o total geral. Substituindo na fórmula acima os valores por "total da linha correspondente à casela (TL)", "total da coluna correspondente à casela (TC)" e "total geral (TG)" e efetuando uma simplificação, verifica-se que o número esperado em qualquer casela pode ser calculado, como no teste χ^2 de comparação entre proporções, por

$$E = \frac{TC \times TL}{TG}$$

Uma vez obtidos os números esperados, calcula-se $\chi^2_{calc} = \sum(O - E)^2/E$. O número de graus de liberdade também é $(L - 1)(C - 1)$, onde L = número de categorias-linhas e C = número de categorias-colunas.

A hipótese nula deste teste é a de que não existe associação entre as variáveis em estudo (ou $H_0: O = E$ supondo independência). Se o χ^2_{calc} for um valor pequeno, não se rejeita H_0 e interpretam-se as diferenças entre os números observados (O) e os esperados (E) como casuais. Se o χ^2_{calc} for um número significativamente grande, estará indicando associação (ou não-independência) entre as variáveis.

Para os dados do Exemplo 3, o χ^2_{calc} é 30,439 e $gl = (2 - 1)(4 - 1) = 3$. Por inspeção da Tabela A.6, verifica-se que a este valor de χ^2 está associado um nível crítico amostral $P < 0,001$. Logo, rejeita-se H_0 e conclui-se que existe associação entre o tipo de pneumopatia e a ocorrência de eosinófilos no escarro.

Uma conclusão simples de existência de associação é em geral insatisfatória para os pesquisadores, que gostariam de entender melhor o tipo de associação observada. Para responder a esta indagação, existem várias técnicas estatísticas; a análise de resíduos é uma das mais interessantes.

ANÁLISE DE RESÍDUOS EM TABELAS L × C

A análise de resíduos é usada como auxiliar na interpretação de dados organizados em tabelas L × C. Por seu intermédio, é possível avaliar como as diferentes caselas contribuem para o valor do χ^2_{calc} .

Calcula-se inicialmente o *resíduo padronizado* (R_p) para cada casela:

$$R_p = \frac{O - E}{\sqrt{E}}$$

A seguir, cada resíduo deve sofrer uma correção, passando a denominar-se *resíduo ajustado* (R_{aj}):

$$R_{aj} = \frac{R_p}{\sqrt{\left(1 - \frac{TC}{TG}\right)\left(1 - \frac{TL}{TG}\right)}}$$

Finalmente, os valores de R_{aj} são comparados com valores críticos da distribuição normal, por exemplo $z = 1,96$ para um nível de 0,05 de significância. Se R_{aj} for maior do que z_{α} , conclui-se que o valor observado na casela (O) desvia-se significativamente (para mais ou para menos, conforme o sinal de R_{aj}) do valor esperado (E).

O resíduos ajustados obtidos para os dados da Tabela 15.5 estão apresentados na Tabela 15.6. Na primeira casela, o resíduo ajustado foi obtido do seguinte modo:

$$R_p(\text{sim; grupo 1}) = \frac{O - E}{\sqrt{E}} = \frac{142 - 117,0}{\sqrt{117,0}} = +2,311$$

$$R_{aj}(\text{sim; grupo 1}) = \frac{R_p}{\sqrt{\left(1 - \frac{TC}{TG}\right)\left(1 - \frac{TL}{TG}\right)}} = \frac{+2,311}{\sqrt{\left(1 - \frac{197}{384}\right)\left(1 - \frac{228}{384}\right)}} = +5,20$$

Como $R_{aj} = | +5,20 | > z_{0,05} = 1,96$, conclui-se que o número de asmáticos que apresentam eosinófilos no escarro foi significativamente maior (pois R_{aj} é positivo) do que o esperado se as variáveis fossem independentes. Portanto, existe associação positiva entre asma e presença de eosinófilos no escarro.

A interpretação dos demais resíduos ajustados é feita do mesmo modo, após compará-los com z_{α} . Por exemplo, no Grupo 3 a frequência de indivíduos com eosinófilos no escarro é significativamente menor do que o esperado ao acaso ($|R_{aj} = -3| > 1,96$).

TABELA 15.6 Resíduos ajustados (R_{aj}) obtidos para os dados da Tabela 15.4. Os valores em itálico são significativos ao nível 0,05

Eosinófilos no escarro	Grupo quanto ao tipo de pneumopatia*			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Sim	<i>5,20</i>	-0,23	-3,00	-3,51
Não	-5,20	0,23	3,00	3,51

* Grupo 1: asma; Grupo 2: bronquite crônica com broncoespasmo; Grupo 3: bronquite crônica ou enfisema sem broncoespasmo; Grupo 4: outras doenças pulmonares.

Na Tabela 15.6 há seis resíduos significativos. Combinando este resultado com as porcentagens observadas na Tabela 15.5, a conclusão geral é a de que indivíduos com eosinófilos no escarro são mais freqüentes entre os asmáticos (72%) e menos comuns em pacientes dos Grupos 3 (44%) e 4 (41%). Em pacientes do Grupo 2, a porcentagem de pessoas com eosinófilos no escarro (58%) não difere significativamente daquela observada para o total da amostra (59%)⁴.

CONDIÇÕES PARA O USO DO χ^2

O teste χ^2 deve ser realizado com freqüências observadas absolutas, isto é, número de casos. Informações na forma de porcentagens somente podem ser utilizadas modificando-se a fórmula de cálculo do χ^2 .

Além disso, é necessário lembrar que a distribuição teórica do χ^2 é uma distribuição contínua de valores. Quando $gl = 1$, porém, a distribuição empírica do χ^2_{calc} não se aproxima suficientemente da distribuição teórica do χ^2 para permitir testes adequados. Para aproximar melhor estas duas distribuições, usa-se a correção para continuidade proposta por F. Yates, que será apresentada na próxima seção.

Finalmente, o uso da distribuição teórica do χ^2 pressupõe que os valores esperados (E) não sejam excessivamente pequenos. Classicamente, as exigências relativas a este aspecto eram:

- (1) O total da amostra devia ser superior a 25 (ou 30, segundo alguns autores).
- (2) No máximo 20% dos valores esperados nas categorias (E) poderiam ser inferiores a 5 e nenhum E poderia ser menor do que 1.

Estudos recentes, porém, sugerem que estas exigências quanto às freqüências esperadas são rigorosas demais, sendo que muitos valores de E podem ser iguais a 1 sem afetar de modo importante o teste (ver, por exemplo, revisões em Everitt, 1992; p. 39, e Zar, 1999; p. 470 e 504). Assim, uma abordagem mais moderna respeitaria as seguintes condições:

- (1) **Em testes de ajustamento** (tabelas de entrada única, $n > 25$):
 - (a) Tabelas com apenas duas categorias ($k = 2$): E deve ser 5 ou mais em cada categoria e usa-se a correção de Yates para o cálculo do χ^2_{calc} ; como será explicado a seguir. Se algum $E < 5$, é preferível obter diretamente o valor- P associado ao teste de hipóteses pela distribuição binomial.
 - (b) Tabelas com $k > 2$ e todos os esperados iguais: para testes usando $\alpha = 0,05$, os valores de E devem ser iguais ou maiores do que 1,0; para $\alpha = 0,01$, E deve ser igual ou maior do que 2,0.
 - (c) Tabelas com $k > 2$ e esperados diferentes: aplica-se o teste χ^2 se forem satisfeitas três exigências: $n \geq 10$ e $n^2/k \geq 10$ e $n/k \geq 2$ para testes com $\alpha = 0,05$ (para $\alpha = 0,01$, a última exigência fica $n/k \geq 4$).

⁴ Note que 59% é a porcentagem esperada de indivíduos com eosinófilos no escarro em cada grupo se não houver associação entre presença de eosinófilos no escarro e tipo de pneumopatia.

(2) Em tabelas de contingência (dupla entrada, $n > 25$):

- (a) Tabelas 2×2 (com duas linhas e duas colunas): nenhum E pode ser menor do que 5. Além disso, deve-se utilizar a correção de Yates (ver adiante) no cálculo do χ^2_{calc} . Se o esperado mínimo não for alcançado, usar o teste Exato de Fisher.
- (b) Tabelas $2 \times C$ (com duas linhas e mais de duas colunas): o χ^2 pode ser calculado se todos os E forem ≥ 1 .
- (c) Tabelas $L \times C$ (com mais de duas linhas e mais de duas colunas): o teste χ^2 é um procedimento seguro se o número Esperado Médio for 6,0 ou maior para testes com $\alpha = 0,05$, e 10,0 ou maior para testes com $\alpha = 0,01$. O Esperado Médio pode ser obtido dividindo-se o total de indivíduos estudados pelo número de caselas.

OBSERVAÇÕES: (1) Já foi sugerido que o teste G, baseado na razão de verossimilhanças, fosse usado como uma alternativa para solucionar o problema dos “esperados pequenos”, mas os autores não são unânimes em preferi-lo como substituto do χ^2 neste caso.

(2) Com o moderno desenvolvimento dos computadores pessoais e programas estatísticos, não é difícil, obter atualmente, o nível crítico amostral exato do χ^2_{calc} para amostras que apresentam valores de E pequenos demais.

CORREÇÃO PARA CONTINUIDADE DE YATES

Correções para continuidade são rotineiramente recomendadas nos testes χ^2 com $gl = 1$ (somente nestes casos). O número de graus de liberdade é 1 em tabelas de entrada simples com duas categorias e em tabelas 2×2 . A correção para continuidade mais conhecida para este teste é a correção de Yates, embora sejam encontradas várias outras propostas na literatura⁵. A correção de Yates consiste em subtrair 0,5 de cada diferença absoluta entre números observados e esperados, antes de calcular o quadrado da diferença. O χ^2_{calc} com esta correção é obtido do seguinte modo:

$$\chi^2_{Yates} = \sum \frac{(|O - E| - 0,5)^2}{E}$$

TABELA 15.7 Enzima glicoxalase (GLO) em duas populações de *Saimiri sciureus ustus* do rio Jamari, Rondônia. À esquerda: números observados; à direita: cálculo do χ^2 com a correção de Yates

Tipo	Margem		O	E	O-E	O-E -0,5	(O-E -0,5) ² /E
	Esquerda	Direita					
GLO 2	72	74	72	80,3	-8,3	7,8	0,758
GLO 2-3	22	3	22	13,7	8,3	7,8	4,441
Total	94	77	74	65,7	8,3	7,8	0,926
%GLO 2	77%	96%	3	11,3	-8,3	7,8	5,348
			171	171,0	0		11,473

Fonte: Silva e colaboradores, 1993.

⁵ Zar (1999; p. 494) mostra como empregar a correção de Haber, melhor que a de Yates, mas de cálculo menos simples.

A aplicação da correção de Yates em um teste de comparação de proporções pode ser visto no Exemplo a seguir.

Exemplo 4. Em um estudo genético realizado em macacos amazônicos da subespécie *Saimiri sciureus ustus*, Silva e colaboradores (1993) encontraram variação nas frequências de dois tipos da enzima glioxalase (GLO) em animais que vivem nas margens do rio Jamari, em Rondônia. Na Tabela 15.7 estão os números observados de animais com diferentes tipos enzimáticos, coletados nas margens esquerda e direita desse rio. A tabela ilustra também como se calcula o χ^2 com correção de Yates para esses dados.

O χ^2_{Yates} para os dados de Silva e colaboradores (1993) foi 11,473, com $gl = 1$, sendo estatisticamente significativo ao nível 0,001. Concluíram, corretamente, os autores que existe diferença entre as populações das duas margens do rio Jamari, sendo que o tipo GLO 2 é mais freqüente nos animais que vivem na margem direita deste rio.

FÓRMULA ALTERNATIVA PARA O CÁLCULO DO χ^2 EM TABELAS 2x2

Em tabelas 2x2, pode-se indicar as caselas por A , B , C , D e o total geral por N , como mostrado na Tabela 15.8. O χ^2 para tabelas desse tipo, com correção de Yates, pode ser obtido pela fórmula a seguir, computacionalmente mais conveniente (não se esqueça de verificar antes se algum $E < 5$). Para um cálculo sem a correção de Yates, retira-se do numerador a quantidade $N/2$.

$$\chi^2_{\text{Yates}} = \frac{N \left(|AD - BC| - \frac{N}{2} \right)^2}{(A+B)(C+D)(A+C)(B+D)}$$

Exemplo 5. Stein (1984) estudou 73 pacientes diabéticos, atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com o objetivo de avaliar a associação entre proteinúria (excreção excessiva de proteínas na urina) e presença ou não de retinopatia (doença degenerativa não-inflamatória da retina). Os pacientes com uma taxa de proteínas menor do que 1g/L na urina foram reunidos no grupo denominado "sem proteinúria" e aqueles com valores mais altos, no grupo "com proteinúria". Os dados obtidos em cada grupo estão apresentados na Tabela 15.8.

O menor valor esperado nesta tabela é $17 \times 36 / 73 = 8,4$ e já que este valor é maior do que 5, pode-se aplicar um teste χ^2 de associação. Usando para o cálculo a fórmula alternativa apresentada acima, obtém-se:

$$\chi^2_{\text{Yates}} = \frac{N \left(|AD - BC| - \frac{N}{2} \right)^2}{(A+B)(C+D)(A+C)(B+D)} = \frac{73 \left(|33 \times 13 - 4 \times 23| - \frac{73}{2} \right)^2}{37 \times 36 \times 56 \times 17} = \frac{6591918,3}{1268064} = 5,20.$$

O $\chi^2_{\text{Yates}} = 5,20$ excede o valor crítico para $gl = 1$ e $\alpha = 0,05$ (3,84), rejeitando-se, assim, a independência entre presença de proteinúria e de retinopatia. Conclui-se, então, que os pacientes que têm proteinúria apresentam uma freqüência maior de retinopatia (33/37 ou 89%) do que aqueles que não têm proteinúria (64%). O valor- P associado a esta conclusão é $0,02 < P < 0,05$.

TABELA 15.8 Presença de retinopatia em diabéticos com e sem proteinúria

Pacientes	Presença de retinopatia		Total
	Sim	Não	
Com proteinúria	33 (A)	4 (B)	37
Sem proteinúria	23 (C)	13 (D)	36
Total	56	17	73 (N)

Fonte: Stein, 1984.