centro panamericano de fiebre aftosa

SERIE DE MANUALES DIDACTICOS

Nº 8

METODOS ESTADISTICOS

PARA ENSAYOS BIOLOGICOS

organización panamericana de la salud
oficina sanitaria panamericana, oficina regional
de la organización mundial de la salud

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA
CAIXA POSTAL 589 - ZC/00 - RIO DE JANEIRO, BRASIL

METODOS ESTADISTICOS PARA ENSAYOS BIOLOGICOS

por

Vicente M. Astudillo
y
Melba Wanderley

1976

INTRODUCCION

Estas páginas constituyen un intento de aportar una ayuda al personal de los laboratorios que desempeñan tareas de investigación o control como apoyo a los programas de salud animal. Se entrega un conjunto de herramientas estadísticas que se espera sean de utilidad en la práctica de ensayos biológicos.

Se intenta que la exposición de estos métodos sea comprensible. Por tal razón se ha resuelto iniciar este volumen con el capítulo de logaritmos. Además, cuando es pertinente, en el texto se comentan aspectos de estadística básica que faciliten la comprensión de lo tratado. A pesar de esto y considerando que este fascículo sobre ensayo biológico forma parte de un conjunto de fascículos sobre matemática y estadística aplicada al campo de salud animal, se recomienda la lectura previa de otros fascículos más básicos.

LOGARITMOS

Se llama logaritmo de un número positivo N, en una base B, al exponente x al que se debe elevar B para obtener N.

Si $$N = B^x$$

entonces el logaritmo, base B, de N es x

$$x = \log_B N$$

donde

$$B = \text{base}$$

$$x = \text{logaritmo}$$

$$N = \text{número logaritmado o antilogaritmo de } x$$

$$x = \log_B N \longrightarrow N = \text{antilog}_B\, x$$

Los números negativos y el cero no tienen logaritmo.

Sistemas de logaritmos

Existe un número prácticamente indefinido de sistema de logaritmos. Se entiende por sistema de logaritmos base B, al conjunto de los logaritmos de todos los números positivos en la base B.

$\log_3 9 = 2$ porque $3^2 = 9$

$\log_2 16 = 4$ porque $2^4 = 16$

$\log_{10} 1000 = 3$ porque $10^3 = 1000$

$\log_2 1/2 = -1$ porque $2^{-1} = 1/2$

Como se observa, la base B debe ser positiva y además distinta de uno, ya que

$\log_0 2$ no existe porque $0^x = 0$

$\log_1 2$ no existe porque $1^x = 1$

por tanto $0 < B \neq 1$ por lo que resulta $N = B^x > 0$

De todos los posibles sistemas de logaritmos existen algunos más utilizados. Estos son:

a) Los logaritmos decimales, comunes o de Briggs. En ellos la base es 10 y se simbolizan por "log", entendiéndose que la base es 10.

Son los más utilizados en la aplicación de las matemáticas, como ser en el campo de la salud animal.

b) Los logaritmos naturales o neperianos. En ellos la base es el número irracional e = 2,71828... Se utiliza en el análisis matemático y su uso en la práctica es poco frecuente. Se le simboliza por "ln", entendiéndose que la base es e.

Operaciones con logaritmos

Los logaritmos tienen algunas propiedades que tornan ventajosa su utilización en la realización de ciertos cálculos.

1. Logaritmo de un producto

El logaritmo de un producto, cualquiera sea la base, es igual a la suma de los logaritmos de los factores.

Si A.B

entonces $\log (A.B) = \log A + \log B$

$\log (10 \times 100) = \log 10 + \log 100$

2. Logaritmo de un cuociente

El logaritmo de un cuociente es igual a la diferencia entre el logaritmo del numerador o dividendo y el logaritmo del denominador o divisor.

Si A/B

entonces $\log (A/B) = \log A - \log B$

$\log (100/10) = \log 100 - \log 10$

3. Logaritmo de una potencia

El logaritmo de una potencia es igual al exponente multiplicado por ei logaritmo de la base de la potencia.

Si $A = B^x$

entonces $\log A = \log B^x = x \log B$

Dado $100 = 10^2$ $\log 100 = 2. \log 10$

4. Logaritmo de una raíz

El logaritmo de una raíz es igual al logaritmo de la cantidad subradical dividida por el índice.

Si $$A = \sqrt[x]{B}$$

entonces $$\log A = \frac{\log B}{x} = \frac{1}{x} \cdot \log B$$

Dado $$10 = \sqrt[2]{100} \qquad \log 10 = \frac{\log 100}{2}$$

Cologaritmos

Se llama cologaritmo base B, de un número positivo N, al logaritmo base B del recíproco de N o al opuesto del logaritmo de N base B. Esto se simboliza así:

$$\mathrm{Colog}_B\ N = \log_B \frac{1}{N} = -\log_B N$$

$$\mathrm{Colog}_{10}\ 10\ 000 = \log_{10} 1/10\ 000 = -\log_{10} 10\ 000 = -4$$

Cambios de base

Se puede pasar el logaritmo de un número N en una cierta base B, al logaritmo del mismo número, en otra base A, lo que se llama cambio de base. En la práctica se presentan algunas situaciones que es conveniente tener en cuenta.

i) Suponiendo conocido el logaritmo decimal de un número, obtener el logaritmo del mismo número en la base e.

$$\log_{10} 100 = 2$$

Se quiere tener el ln 100. Para tener el ln 100 ($\log_e 100$), teniendo $\log_{10} 100$, se puede multiplicar el logaritmo decimal de 100 (2) por la constante 2,3026

$$\ln 100 = 2{,}3026 \times 2 = 4{,}6052$$

ii) Suponiendo conocido el logaritmo natural de un número, obtener el logaritmo decimal del mismo número

$$\ln 100 = 4{,}6052$$

Se quiere tener el log 100. Para obtener el $\log_{10} 100$, teniendo el ln 100, se puede multiplicar el ln 100 por la constante 0,43429

$$\log 100 = (0{,}43429)(4{,}6052) = 2{,}000$$

Logaritmos decimales o comunes

Estos logaritmos, como se ha dicho, son los más utilizados en la práctica. Tienen como base 10. Se simbolizan por log simplemente.

Se puede apreciar que existe una relación entre ciertos números y el logaritmo decimal de esos números.

Número: N	$10^x = N$	$\log N = x$
1	$10^0 = 1$	$\log 1 = 0$
10	$10^1 = 10$	$\log 10 = 1$
100	$10^2 = 100$	$\log 100 = 2$
1000	$10^3 = 1000$	$\log 1000 = 3$
0,1	$10^{-1} = 1/10^1 = 0,1$	$\log 0,1 = -1$
0,01	$10^{-2} = 1/10^2 = 0,01$	$\log 0,01 = -2$
0,001	$10^{-3} = 1/10^3 = 0,001$	$\log 0,001 = -3$
0,0001	$10^{-4} = 1/10^4 = 0,0001$	$\log 0,0001 = -4$

Como se observa, no hay problemas para encontrar los logaritmos decimales de números que sean potencias enteras de 10. Las dificultades aparecen cuando se trata de conocer el logaritmo decimal de un número que no es potencia entera de 10. En este caso es conveniente hacer uso de las "tablas de logaritmos decimales". En ellas aparecen tabuladas una cantidad de cifras decimales que corresponden a una parte de la estructura del log de un número. De ahí que sea conveniente revisar brevemente dicha estructura.

Estructura de un logaritmo decimal

$$\log N = \text{un entero} + (0 \leq \text{fracción decimal} < 1)$$

$$\log N = \text{característica} + \text{mantisa}$$

$$\log N = c + (0,m) \qquad 0 \leq (0,m) < 1$$

La parte entera del logaritmo se llama <u>característica</u>, la que debe ser calculada por el operador.

La parte decimal del logaritmo se llama <u>mantisa</u>, la cual se lee en la tabla de logaritmos. Las tablas <u>sólo</u> proporcionan mantisas, que son números positivos y menores que uno.

Números	N	← Negativos	Positivos →		
		0	1	10	100
Logaritmos	Log N	No definidos	0,	1,	2,
			Neg.	Positivos	

La forma de determinar la característica es simple y obedece a dos sencillas reglas:

a) Si el número $N > 1$, la característica tiene una unidad menos que el número de cifras enteras de N.

$$\log 100 = 2 + \quad (0 \leqslant 0{,}m < 1)$$
$$\log 10 = 1 + \quad (0 \leqslant 0{,}m < 1)$$
$$\log 20 = 1 + \quad (0 \leqslant 0{,}m < 1)$$

b) Si el número N es mayor que cero pero menor que uno $(0 < N < 1)$, la característica es igual al número de ceros a la izquierda que tenga N, incluyendo el cero entero. En este caso la característica es negativa:

$$\log 0{,}01 = -2 + \ldots$$
$$\log 0{,}001 = -3 + \ldots$$
$$\log 0{,}0005 = -4 + \ldots$$

Característica de algunos números:

N	característica
1 462,52	3
371,35	2
40,00	1
1,50	0
0,05	-2 ó 8 - 10
0,008	-3 ó 7 - 10

Dado que la mantisa de un logaritmo siempre es positiva, cuando la característica es negativa el signo negativo se escribe sobre el valor de la característica para indicar que sólo ella es negativa:

N		
0,08	=	$\bar{2}$ + $(0 \leq 0,m < 1)$
0,005	=	$\bar{3}$ + $(0 \leq 0,m < 1)$

En estos casos otra forma de escribirla es:

0,5	=	9,	m	-10
0,07	=	8,	m	-10
0,002	=	7,	m	-10

Obtención del logaritmo de un número

Ejemplos:

i)

Número	Caracte-rística	Mantisa	Logaritmo completo
2	0	0,30103	0,30103
20	1	0,30103	1,30103
200	2	0,30103	2,30103
2 000	3	0,30103	3,30103
0,2	-1	0,30103	$\bar{1}$,30103 ó 9,30103 -10
0,02	-2	0,30103	$\bar{2}$,30103 ó 8,30103 -10
0,002	-3	0,30103	$\bar{3}$,30103 ó 7,30103 -10

ii)

Número	Caracte-rística	Mantisa	Logaritmo completo
4,298	0	0,6333	0,6333
42,98	1	0,6333	1,6333
429,8	2	0,6333	2,6333
4298	3	0,6333	3,6333
0,4298	-1	0,6333	$\bar{1}$,6333 ó 9,6333 -10
0,04298	-2	0,6333	$\bar{2}$,6333 ó 8,6333 -10

De los ejemplos anteriores se desprende que los logaritmos de dos números, cuya representación difiere sólo por la posición de la coma decimal, tienen mantisas iguales (Tabla Nº 1, de Log decimales).

Cómputos usando logaritmos decimales y obtención de antilogaritmos

Para hacer cálculos numéricos con logaritmos decimales se debe tener siempre en cuenta las reglas de operación con logaritmos. Mientras la característica puede ser positiva o negativa, la mantisa es siempre positiva. Esta última debe ser leída en la tabla de logaritmos.

a) Calcular el resultado de 10,38 x 0,173 x 3,75

N		log N
10,38		1,0162
0,173	+	9,2380 -10
3,75		0,5740
	=	10,8282 -10
6,733	=	0,8282 ← logaritmo del producto

Si se busca este valor ahora en el cuerpo de la tabla y una vez encontrado se lee en los márgenes de ella el número (N) a que corresponde tendremos el resultado de la multiplicación dada (6,733).

Esta operación de tener el logaritmo y encontrar el número a que corresponde ese logaritmo es la opuesta de la desarrollada hasta aquí. El antilogaritmo (antilog) de un logaritmo es el número (N) a que corresponde este último.

b) Calcular el logaritmo del cuociente 0,247/3,84

N		log N
0,247		9,3927 -10
3,84	-	0,5843
	=	8,8084 -10 logaritmo del cuociente

El antilogaritmo 8,8084 -10 (ó $\bar{2}$,8084) es 0,0642.

c) Obtener el resultado de $(0,165)^5$

$$\log 0{,}165 = 9{,}2175 - 10$$

$$(9{,}2175 - 10) \times 5 = 46{,}0875 - 50$$
$$= 6{,}0875 - 10$$

$$\text{antilog } 6{,}0875 - 10 = 0{,}000122$$

d) Obtener el logaritmo de la raíz $\sqrt[2]{0,0049}$

$$\frac{\log 0,0049}{2}$$

$\log 0,0049 = 7,6902 - 10$
$= 17,6902 - 20$

$$\frac{17,6902 - 20}{2} = 8,8451 - 10$$

El antilogaritmo de 8,8451 -10 es 0,07.

Se habrá observado que en los dos últimos ejemplos ("c" y "d") se han practicado operaciones en que ha participado un logaritmo y un número. En el ejemplo "c" se multiplicó y en el ejemplo "d" se dividió, de acuerdo con las propiedades de los logaritmos. En ambos casos el logaritmo se expresó en forma mixta, es decir, mantisa positiva y característica negativa.

Ejemplo	caracte-rística	mantisa
c	9 - 10	0,2175
d	7 - 10	0,6902

Para ambos casos existe otro procedimiento para operar que vale la pena mencionar. Se trata de utilizar, en esta nueva modalidad, los logaritmos en forma de logaritmo negativo. En este caso aparece toda la expresión del logaritmo como negativa, lo que es un subterfugio sólo de tipo operacional.

Para el ejemplo "c":

$\log 0,165 = 9,2175 - 10 = -0,7825$
$-0,7825 \times 5 = -3,9125$

Para retornarlo a la forma mixta, es decir a la forma como se debe expresar, se resta la expresión negativa de 10,0000 -10

$$\begin{array}{rr} 10,0000 & -10 \\ -\ 3,9125 & \\ \hline = 6,0875 & -10 \end{array}$$

El resultado coincide con el del ejemplo "c".

Para el ejemplo "d":

$\log 0,0049 = 7,6902 - 10 = -2,3098$
$-2,3098 : 2 = -1,1549$

Para expresarlo en su forma mixta se resta este último valor de 10,0000 -10

$$\begin{array}{r} 10{,}0000\ -10 \\ -\ 1{,}1549 \\ \hline 8{,}8451\ -10 \end{array}$$

Este resultado es el mismo alcanzado en el ejemplo "d".

Otro ejemplo interesante en relación al cálculo de dosis medianas efectiva es el siguiente:

$$\log 10^{-5,3} = \underbrace{4{,}7000-10 \ \text{ó}\ \bar{6}{,}7000}_{\text{expresiones mixtas}} \ \text{ó}\ \underbrace{-5{,}3000}_{\text{expresión negativa}}$$

$$\begin{array}{r} 10{,}0000\ -10 \\ -\ 5{,}3000 \\ \hline =\ 4{,}7000\ -10 \end{array}$$

$$\begin{aligned} -5{,}3000 &= -5\ -0{,}3000 \\ &= -5\ -1\ +1\ -0{,}3000 \\ &= -6\ +\ 0{,}7000 \\ &= \bar{6}{,}7000 \end{aligned}$$

$$10^{-5,3} = \frac{1}{10^{5,3}} = \frac{1}{199\ 526\ *} = 0{,}000005012$$

$$\log 0{,}000005012 = 4{,}7000\ -10 \ \text{ó}\ \bar{6}{,}7000 \ \text{ó}\ -5{,}3000$$

---

* $10^{5,3} = 199\ 526$ ya que

$\log 10^{5,3} = (5{,}3)(\log 10) = 5{,}3 \times 1 = 5{,}30000$

Antilog $5{,}30000 \longrightarrow 199\ 526$

ENSAYO BIOLOGICO

Uno de los aspectos de la investigación biológica aplicada que se lleva a cabo en laboratorios veterinarios, se refiere al conocimiento de los efectos que en la población animal produce la inoculación de ciertos estímulos como drogas, hormonas, vitaminas, vacunas, sueros etc. En el campo de la Sanidad Animal, asume especial importancia el poder medir sea la potencia, sea la eficacia, de estímulos como las vacunas. A través del "ensayo biológico", utilizando métodos estadísticos, se puede estimar cualquiera de las dos características anotadas de una vacuna, mediante la reacción que sigue a su aplicación en los animales susceptibles. De manera que hoy prácticamente se conoce al "ensayo biológico" como una rama de la estadística aplicada al estudio de los problemas dosis-respuesta.

Uno de los problemas típicos que se le presentan a los laboratorios que realizan tareas de apoyo a los programas de Sanidad Animal, es el relacionado con el control de las vacunas en cuanto a su eficacia. Por tanto, uno de los objetivos de estos laboratorios es poder establecer un cierto nivel necesario de la vacuna para alcanzar una respuesta conveniente en un porcentaje dado de la población animal susceptible. Naturalmente que trás la aplicación de una vacuna va a seguir un cambio de alguna característica medible de los animales vacunados. La magnitud de ese cambio, independiente de la intensidad del estímulo, constituye la respuesta.

La relación entre la dosis del estímulo aplicado y la respuesta alcanzada no es exacta, ya que generalmente es enmascarada por variaciones al azar entre los animales inoculados. Sin embargo, esta relación puede ser utilizada para estimar la eficacia de una vacuna, a partir del conocimiento estadístico de las respuestas que ella produce en los animales sometidos a prueba.

Dentro de los llamados "ensayos biológicos" interesan obviamente los ensayos de tipo cuantitativos. Estos dan una valoración numérica de la "potencia" del material ensayado. El "ensayo biológico" es una forma de experimentación biológica, en la cual el interés radica en medir la potencia de un estímulo, sobre una escala acordada, en lugar de conocer la magnitud de los efectos de diferentes estímulos.

El "ensayo biológico" tiene una estructura compuesta por tres elementos: el estímulo (vacuna), el sujeto (animal susceptible) y la respuesta (protección frente a un agente etiológico).

El estímulo es algún tipo de material (biológico, químico o compuesto) que se aplica a los animales. La intensidad del estímulo puede ser variada, como es el caso de diferentes dosis, titulaciones, diluciones, etc. Lo importante es que la variación del estímulo pueda ser medida. Tras la aplicación del estímulo se produce algún cambio en los animales que la reciben, cambio que se debe manifestar a través de un carácter cuantificable. Esta manifestación puede ser en una escala intervalar (graduaciones) o una escala nominal de tipo dicotómica (SI/NO).

La medida del cambio que experimentan los animales receptores del estímulo constituye la respuesta, cuya magnitud depende de la dosis de estímulo.

En "ensayo biológico" se llama tolerancia de un sujeto a aquella dosis que es suficiente para producir la respuesta característica. Para cualquier sujeto (animal o vegetal), bajo condiciones controladas, habrá un cierto nivel de intensidad del estímulo detrás del cual la respuesta no ocurrirá y delante del cual la respuesta ocurrirá. Tal valor es conocido como tolerancia, y al tomarse un conjunto de sujetos da origen a una distribución de frecuencias de tolerancias.

En estos apuntes se presentan algunas técnicas estadísticas apropiadas para tratar este tipo de respuestas como consecuencia de la aplicación de un estímulo. Nos referimos a las respuestas cuánticas, de todo o nada o de tipo dicotómico. Si bien es cierto que es preferible contar con respuestas individuales que se expresen a través de mediciones cuantitativas continuas, en ciertos casos no es practicable, ya que la respuesta no permite una graducación sobre una escala sino que solamente puede ser expresada como sí o no, como existente o no existente. En las respuestas cuánticas la estimación de la "potencia" se hace a través de la relación entre el porcentaje de respuesta y el nivel de la dosis.

Curva dosis-respuesta. Distribución de frecuencias de tolerancias

La tolerancia varía de un sujeto a otro en la población. Supongamos que se está estudiando la titulación de un virus de la fiebre aftosa, utilizando ratas como organismos de prueba.

El estímulo puede estar dado por una serie de diluciones de una suspensión vírica de fiebre aftosa. Estas diluciones son las llamadas dosis. Los valores que se consideran son: 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} y 10^{-8}. Los sujetos a los cuales se les aplica son un cierto número (por ahora indefinido) de ratas por cada dilución. La respuesta está dada por la reacción (muerte) de cada rata frente a la inoculación, es decir, por las tolerancias de cada rata. Para representar las diluciones en el eje de abscisas y la tolerancia en el eje de ordenadas se utiliza un eje de coordenadas rectangulares. Se supone que para las dosis bajas (alta dilución) el porcentaje de ratas muertas sea pequeño; en las dosis medianas (diluciones intermedias) el porcentaje de ratas muertas sea semejante al de sobrevivientes y para las dosis altas (baja dilución) el porcentaje de ratas muertas sea alto.

Frecuentemente en estos casos la relación entre dosis y porcentaje de respuesta asume una forma curvilínea de tipo sigmoideo.

La curva dosis-respuesta de tipo sigmoideo es muy semejante a la curva de la distribución normal acumulada. De ahí que se pueda considerar el conjunto de respuestas como una población de unidades de respuestas, cuya sensibilidad a la droga tiene una distribución Normal con respecto a las dosis.

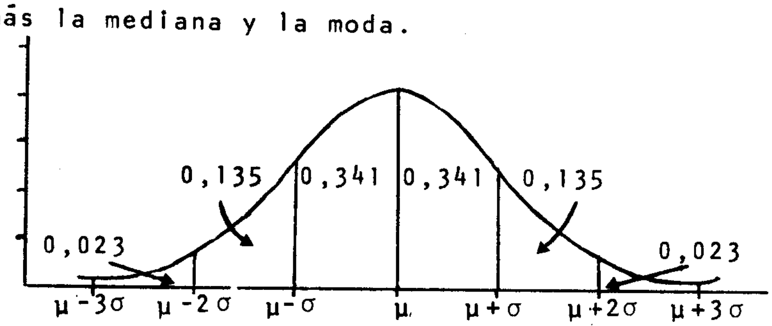
Al aumentar la dosis, las unidades de respuesta van siendo progresivamente activadas de manera que, a una dosis dada, todas las unidades sensibles a aquella dosis o a cualquiera otra más pequeña responden. De esto resulta aquella curva sigmoidea que consideramos representa gráficamente la distribución acumulativa de áreas bajo la Curva Normal.

Para tener una imagen del problema recordaremos algunas propiedades de la distribución Normal (no acumulada). Tiene la forma de una curva simétrica, en la cual la probabilidad con que una variable (distintas dosis) toma valores entre dos puntos cualesquiera, es igual al área bajo la Curva Normal, entre esos dos puntos sobre el eje de abscisas. La expresión algebraica que representa la Curva Normal se define completamente a través de dos parámetros:

la media aritmética $\left(\mu = \sum_{i=1}^{N} X_i / N \right)$

y la desviación típica $\left(\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} (X_i - \mu)^2 / N} \right)$

El área total bajo la curva es igual a la unidad y el área (probabilidad) entre dos puntos cualquiera de la variable (dosis) es igual a la proporción esperada de casos que caen entre esos dos puntos. La Curva Normal es simétrica en torno a un eje vertical que pasa por μ y separa el área bajo la curva en dos sectores de área igual a 0,50 cada uno. En el punto correspondiente a la media aritmética, coinciden además la mediana y la moda.



El área (probabilidad) bajo la curva entre $\mu \pm \sigma = 0,682$

entre $\mu \pm 2\sigma = 0,952$

entre $\mu \pm 3\sigma = 0,998$

En la práctica, el área fuera de los límites $\pm 3\sigma$ es despreciable (0,26%) (Tabla Nº 2. Area bajo la Curva Normal).

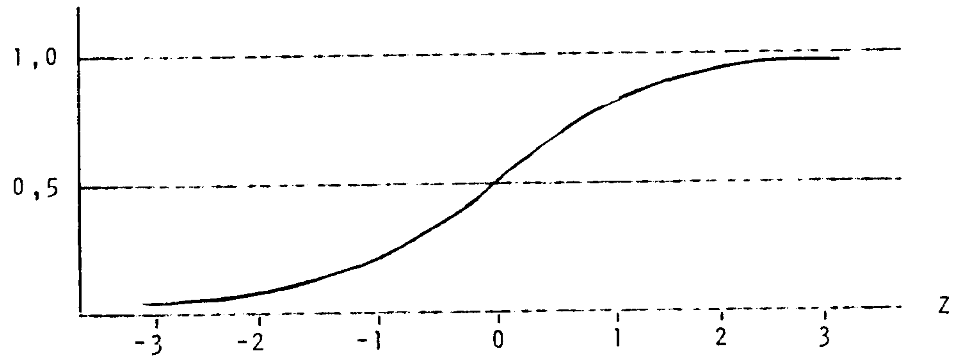
Sería muy difícil que cada vez que fuese necesario calcular una probabilidad (el área entre dos puntos), hubiese que obtener el resultado partiendo de la ecuación de la Curva Normal. De ahí la necesidad de contar con una tabla de áreas bajo la Curva Normal. Cada **universo** que tiene una distribución Normal posee una media aritmética (μ) y una desviación típica (σ), por lo que debería existir un número ilimitado de tablas para cada par de valores μ y σ. Sin embargo, utilizando la transformación Z para cualquier variable X con distribución Normal, se genera un nuevo conjunto de valores de la variable normal estandardizada Z, que tiene media aritmética 0 y desviación típica 1.

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

La distribución de la variable Z, con $\mu = 0$ y $\sigma = 1$, es llamada distribución Normal estandardizada.

Esto permite contar con una sola tabla de áreas bajo la Curva Normal, para conocer la probabilidad que una observación tiene de caer entre cualquier par de valores de Z de la distribución Normal estandardizada.

Al considerar la distribución Normal en forma acumulativa, como modelo teórico de una curva dosis-respuesta, es posible obtener la probabilidad (área) con que una observación cae detrás de un cierto valor Z. En términos prácticos, esta probabilidad está representada por el área bajo la curva (Sigmoidea) desde Z = -3 hasta el valor especificado.



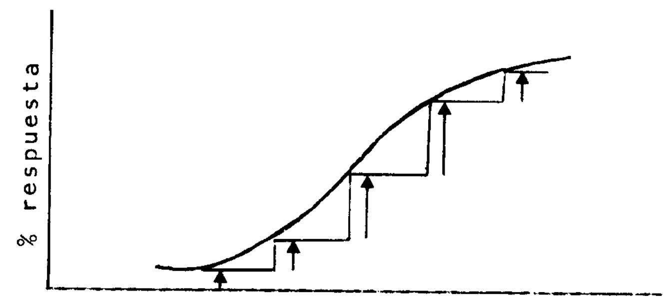
Z	Probabilidad acumulada % (área)
- 3	0,13
- 2	2,27
- 1	15,87
0	50,00
1	84,13
2	97,73
3	99,87

(Tabla Nº 3. Distribución normal de frecuencias acumuladas.)

Se supone que la tolerancia a las dosis, al no ser expresada en forma acumulada, se distribuye en forma simétrica semejante a la Curva Normal. Sin embargo, este supuesto no siempre es válido ya que la distribución de frecuencias de las tolerancias suele ser asimétrica en ocasiones. Por esta razón es frecuente que en "ensayo biológico" se recurra a transformar la escala de medida de las dosis a una nueva escala: logaritmos de las dosis. Esto se hace con el objeto de convertir la distribución de tolerancias en una lo más aproximadamente semejante a la forma de la Curva Normal.

La nueva escala de logaritmos de las dosis, sobre la cual la distribución de tolerancias se distribuye normalmente es conocida como escala "metamétrica". Con una finalidad práctica es conveniente utilizar logaritmos decimales.

Si la tolerancia puede ser claramente definida, cada animal, cuya tolerancia es menor que un valor dado de logaritmo de la dosis, responderá a aquella dosis. El gráfico resultante toma la forma de la curva normal sigmoidea, cuando el porcentaje de respuesta se considera contra la escala "metamétrica". Cuando esta curva toma valores próximos a 0% y 100% tiene una tasa de incremento lento; en cambio, esta tasa es muy alta en la región intermedia.



Dosis mediana efectiva

La dosis mínima efectiva de un estímulo es aquella dosis suficiente para hacer reaccionar a un animal de una especie con la menor tolerancia posible. La dosis máxima no efectiva es aquella dosis que fracasa en hacer reaccionar al más resistente animal de aquella especie. La dosis mediana efectiva es aquella dosis que hace reaccionar a la mitad de la población. Se simboliza como DE_{50}. Si la respuesta de los animales es la muerte se llama dosis mediana letal (DL_{50}); si la respuesta es la protección se llama dosis mediana protectora (DP_{50}); si la respuesta es la infección se llama dosis mediana infectante (DI_{50}), etc. Una simbología semejante se utiliza para dosis efectivas en otras proporciones de la población; por ejemplo, DE_{75} es aquella dosis que produce un 75% de respuestas. La estimación de la DE_{50} es más precisa que la de porcentajes más extremos.

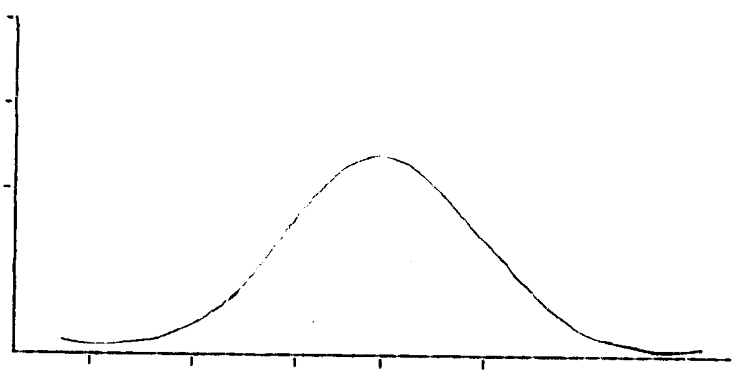
La DE_{50} es la mediana de la distribución de tolerancias, o sea, un nivel de tolerancia tal que la mitad de los individuos de la población cae a cada lado de ella. Dado que se utiliza una escala metamétrica (log dosis), la distribución de tolerancias tiene una forma simétrica acampanada, por lo cual la media aritmética y la mediana llegan a coincidir en un mismo punto. El log DE_{50} es igual a la media en la escala metamétrica.

La efectividad de un estímulo no queda completamente definido con la DE_{50}. Es conveniente conocer la dispersión de la distribución de tolerancias a través de algunos de los parámetros estadísticos específicos.

Estimación de la DE_{50}

Existen algunos métodos para estimar la dosis mediana efectiva cuando las respuestas de los animales son de tipo cuánticas, para cada uno de los varios niveles de las dosis. Cada animal es clasificado como respondiendo o no respondiendo a una dosis dada y el efecto de la dosis es expresado como el porcentaje de animales que responden. En la medida que la dosis aumenta un mayor número de animales responde. La dosis mediana efectiva se refiere al nivel del estímulo al cual se alcanzará una respuesta en el 50% de los animales de la población. Para cualquiera de estos animales hay un cierto nivel del estímulo detrás del cual la respuesta no ocurre y delante del cual la respuesta ocurre. Supongamos que se está estudiando titulación de un virus de la fiebre aftosa usando ratas como organismos de prueba.

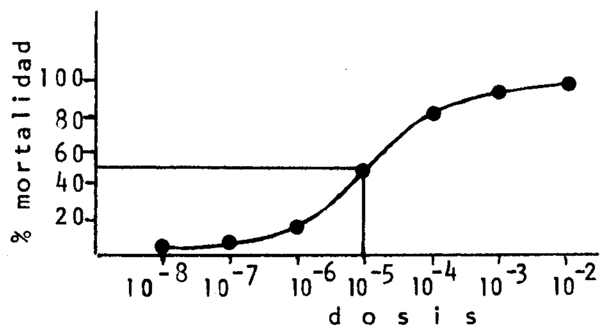
Se utilizan diluciones (dosis) que varían desde 10^{-8} a 10^{-2} de la suspensión de virus. Se parte del supuesto de que la distribución de respuestas tiene una forma Normal.



Se trataría de una distribución Normal de respuestas con una $DL_{50} = 10^{-5}$ y σ (desviación típica de la población) de 10^{-1}, que mide la dispersión de la distribución de respuestas.

En este caso en que la respuesta buscada en las ratas es la muerte, el valor de la $DL_{50} = 10^{-5}$ significa que la dilución 10^{-5} mata al 50% de las ratas de la población. Debe observarse que se habla de una población de ratas, es decir, de un número prácticamente indeterminado de individuos, lo que constituye una situación hipotética que, sin embargo, facilita la explicación.

Si para cada dosis se representa en un gráfico el correspondiente porcentaje de mortalidad, el resultado es una curva sigmoidea que se corresponde con las áreas de la Curva Normal Acumulada.



Una dilución de 10^{-8} está a 3 desviaciones típicas a la izquierda de la mediana por tanto z = -3. Para esta dilución el 0,13% de las ratas podrán ser muertas. En cambio para la dosis 10^{-7}, el 2,27% de las ratas morirán (Tabla de áreas bajo la Curva Normal Acumulada).

A partir de la gráfica de la curva sigmoidea la DL_{50} puede ser leída, determinado el valor para el eje de abscisas, dosis a la cual le corresponde el 50% en el eje de ordenadas (respuestas).

Entre los métodos utilizados para estimar la DL_{50} está el análisis de Probits basado en la línea de regresión y otros métodos aproximados como el Reed-Muench, método de Spearman y Kärber y otros.

Análisis de Probits

Debido a que las relaciones de tipo curvilíneo no son siempre fáciles de trabajar es conveniente tener en cuenta la posibilidad de realizar una transformación de escala en las respuestas. Se persigue que en la nueva escala la relación existente entre el estímulo (diluciones de virus de fiebre aftosa) y la respuesta (sobrevivencia o muerte) sea de tipo rectilíneo.

La transformación de escalas más utilizada en este tipo de estudio es la conversión de los porcentajes de respuesta en "Probits" (z + 5) lo cual permite trabajar sólo con valores positivos, si se parte del supuesto de que las respuestas se distribuyen de acuerdo con la Curva Normal.

La relación entre el probit de la proporción de respuestas esperadas (Y) y el log de la dosis (X) se expresa a través de la ecuación lineal

$$Y = 5 + \frac{(x - \mu)}{\sigma}$$

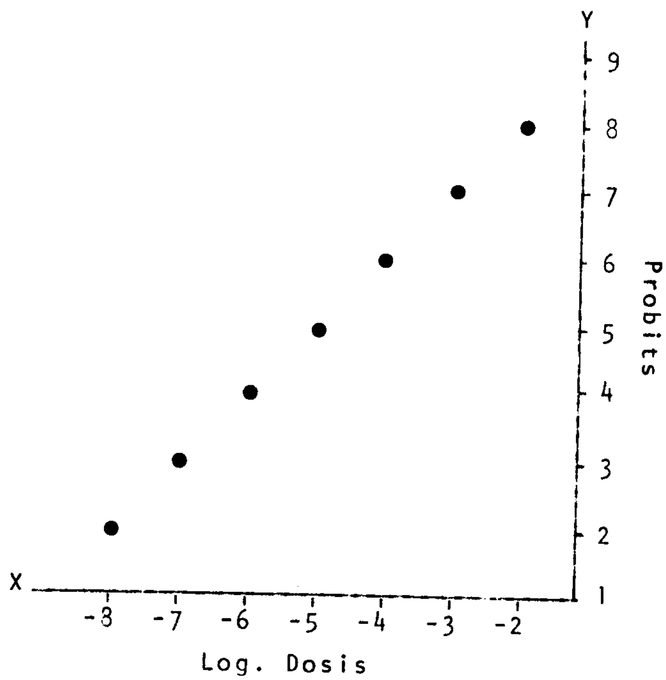
$$= 5 + \frac{1}{\sigma}(x - \mu)$$

Los resultados experimentales nos pueden llevar a resolver esta ecuación, con lo cual los parámetros de la distribución de tolerancia pueden ser estimados, especialmente la mediana (DE_{50}), que es el valor de X que corresponde a Y = 5.

Logaritmo diluciones X	% de muertos *	Z	Probits (z + 5) Y
-8	0,30	-3	2
-7	2,27	-2	3
-6	15,87	-1	4
-5	50,00,	0	5
-4	84,13	1	6
-3	97,73	2	7
-2	99,87	3	8

* De acuerdo con tabla de áreas de la Curva Normal Acumulada.

Con esta nueva escala podemos construir un gráfico en el cual se observa la relación entre el log de diluciones (X) y el probits (Y). Al valor log DL_{50}, en el eje de abscisas, le corresponde un probit de 5 en el eje de las ordenadas



Cuando la relación entre el log dosis y los probits de las respuestas de los datos experimentales ha sido establecida, es conveniente estimar los parámetros de la distribución de tolerancias, valiéndose de los probits. Se pueden emplear dos métodos, uno gráfico y otro basado en los mínimos cuadrados (regresión lineal).

a) Método gráfico

Es una aproximación práctica, rápida y suficientemente buena para una serie de propósitos. No es conveniente cuando se requiere tener seguridad en la precisión de una estimación o en casos complejos.

El porcentaje de respuestas observado es convertido a probits (Y) a través de la tabla Nº 4. Como se dijo, los probits se representan en el eje de ordenadas y los log de las dosis (X) en el eje de abscisas. El diagrama de dispersión resultante muestra una figura de puntos dispuestos en forma semejante a una línea recta. A través de estos puntos se puede trazar una línea recta "a ojo" de la manera más satisfactoria posible. Para juzgar el grado de acuerdo entre los puntos y esta recta es conveniente tener en cuenta solamente las desviaciones verticales, ya que se trata de que las diferencias entre los probits observados (% respuesta transformado a probit) y los probits dados por la línea recta, sean lo más pequeñas posible. Esta línea recta debe ser considerada como una aproximación gráfica a una línea de regresión de probits sobre log dosis. Además, esta línea puede ser usada como el paso inicial para aplicar el método de los mínimos cuadrados y encontrar la línea de regresión de mejor ajuste.

Si la estimación "a ojo" (aproximación gráfica) se va a usar como método, entonces es necesario detallar los pasos a seguir para el cálculo de la DL_{50}.

Al log DL_{50} estimado se le llama $\widehat{\log DL_{50}} = m$, y corresponde, en el eje de abscisas, al valor de $Y = 5$. La pendiente de la recta se llama "b", la cual es estimada por $1/\sigma$ y equivale al incremento en Y (probits de respuesta) por cada unidad de aumento en X (log dosis).

Se debe tener cuidado con la ponderación que se le de a los distintos puntos del diagrama de dispersión. Los puntos correspondientes a dosis próximas al valor estimado del log DL_{50} deberían tener una mayor ponderación que los puntos correspondientes a dosis altas y bajas, de manera que se le debe dar mayor importancia a las dosis centrales en la determinación de la pendiente de la línea recta (b). Los puntos extremos son ignorados o deben tener una influencia leve.

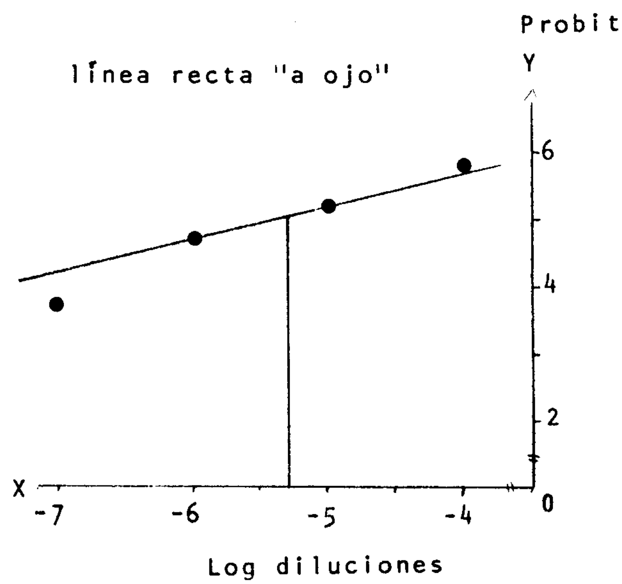
Trazada de esta manera, la línea recta se puede estimar gráficamente el valor del log DL_{50}.

diluciones		n	Muer-tos	Vi-vos	Prop. muer-tos	Probit Y
Nº	Log X (1)					
10^{-3}	-3,000	10	10	0	1,00	*
10^{-4}	-4,000	10	8	2	0,80	5,84
10^{-5}	-5,000	10	6	4	0,60	5,25
10^{-6}	-6,000	10	4	6	0,40	4,75
10^{-7}	-7,000	10	1	9	0,10	3,72
10^{-8}	-8,000	10	0	10	0	*

* No existe probit para proporciones 1 y 0.

(1) En este trabajo transformaremos los logaritmos con característica negativa en logaritmos negativos para facilitar los cálculos.

Ejemplo: $\text{Log } 10^{-3} = \bar{3},0000 = 7,0000 - 10$
$= -3,0000$



Sin embargo, este es un método aproximado ya que la línea recta ha sido obtenida a "ojo", dando más ponderación a los puntos centrales que a los extremos. Hay un factor subjetivo ya que distintos individuos pueden obtener distintas líneas rectas y por ende las estimaciones del log DL_{50} ser diferentes. En el gráfico mostrado el valor del $\widehat{\log DL_{50}}$ es aproximadamente m = -5,3, que es el valor del log de dilución que corresponde a un probit de 5.

Para esta línea recta es conveniente calcular el valor de la pendiente "b" para estimar así la tasa de incremento de probits por unidad de aumento del log dosis.

$$b = 1/\sigma = 0,58$$

Donde σ es estimado por $\hat{\sigma} = s = 1,72$. Esta es la desviación típica del log dosis (x). Por tanto, la relación entre probit y log dosis puede ser escrita de acuerdo con $Y = 5 + 1/\sigma\ (X - \mu)$ es

$$Y = 5 + 0,58 \left[X - (-5,3) \right]$$

lo que llevado a la ecuación de una recta $\hat{Y} = a + bX$ es

$$\hat{Y} = 8,07 + 0,58X$$

donde X = (-8, -7, -6, ...-3)

Para un probit Y = 5 resolviendo se puede encontrar el valor de X que corresponde a $\widehat{DL}_{50}$

$$5 = 8,07 + 0,58X$$
$$X \cong -5,3 \quad = \widehat{DL}_{50}$$

Al utilizar la fórmula $\hat{Y} = 8,07 + 0,58X$, subtituyendo X por los valores que tomó en el experimento, se pueden obtener los llamados "probits esperados o calculados" ($\hat{Y}$). A través de la tabla de probits se obtienen las "proporciones esperadas". Multiplicando cada proporción esperada por el número de animales inoculados se obtiene el "número esperado de muertos".

En este punto se podría llevar a cabo, a través de la distribución de "ji cuadrado", una prueba de "bondad del ajuste" entre la mortalidad observada y la mortalidad esperada, con la finalidad de conocer si las discrepancias entre ambos son significativas. La línea recta trazada "a ojo" nos da una serie de valores de $\hat{Y}$ (probits de respuesta esperados). Cada uno de estos valores tiene un determinado coeficiente de ponderación "W". Al trazar "a ojo" la línea recta se dijo que debía darle más importancia, para trazarla, a los valores centrales (dosis correspondientes a respuestas próximas al 50%) y poco a los valores extremos (dosis con porcentajes de respuestas próximos a 0% y 100%). Las respuestas porcentuales (transformadas a probits,Y) que están próximas al 50%, tienen una varianza mayor (PQ/n), donde P sería la proporción de muertos, Q = 1 - P y n el número de individuos inoculados con esa dosis.

En cambio, la varianza es pequeña cuando los porcentajes de respuestas son bajos o altos, o sea, próximos a 0% y 100%. Es decir, existe heterogeneidad entre las varianzas de las respuestas para las distintas dosis del experimento. La transformación a probits no corrige y no hace más homogéneas las varianzas. Teniendo en cuenta esto es que se utilizan los llamados "coeficientes de ponderación" w que dan mayor importancia relativa a los valores centrales y menos a los extremos, tal como se puede apreciar en la tabla respectiva (Tabla Nº 5).

Para cada X (log dosis) se multiplica el coeficiente de ponderación w, que le corresponde de acuerdo con el respectivo valor de Y (probits), por n, el número de animales inoculados con esa dosis. Esto da el producto W.n, el cual se suma para todas las dosis.

$$\sum_{\text{primera dosis}}^{\text{última dosis}} W.n$$

donde el signo Σ significa sumatoria.

<u>Cálculo del error típico del log $\widehat{DL}_{50}$. Precisión</u>

Es necesario tener en cuenta que por razones prácticas, generalmente, el número de animales (n) que es inoculado por cada dosis no puede ser muy grande. Lo corriente es que sea un número más bien pequeño de animales, llegando a darse el caso frecuente de utilizar 4 animales por dosis. Es conveniente tener en cuenta que n influye en el grado de confianza que se pueda tener en $\widehat{DL}_{50}$ (estimación de DL_{50}). Si se utiliza un número mayor de animales por dosis se puede tener una mayor confianza en la estimación, con lo cual aumenta la precisión ya que reduce el error típico de la mediana (DL_{50}) en este caso. Ocurre que al aumentar n disminuye la longitud del intervalo de confianza en la estimación de DL_{50}.

La estimación más segura del parámetro DL_{50} sería posible si un número indefinido de animales fueran inoculados con cada dosis. Por razones prácticas, como se ha dicho, no se puede tan siquiera utilizar un número grande de individuos por dosis. Se utilizan pequeñas muestras para estimar la DL_{50} en la realidad. Se supone que la distribución de tolerancias en la población (número indefinido de animales por dosis) es de tipo Normal. En el centro de ella coinciden la mediana y la media aritmética. Si se tomara una serie de sucesivas muestras con un número (n) pequeño de animales por dosis se tendría una distribución de muestreo de log $\widehat{DL}_{50}$. Esta distribución también la vamos a suponer que es de tipo normal. Tiene una media aritmética que es la misma de la población original (por tanto coincide con la mediana DL_{50}) y tiene una dispersión que se mide a través del error típico. Si DL_{50} en la población es un valor exacto, los valores de DL_{50} de las muestras son sólo aproximaciones con un determinado error típico. Cuanto mayor sea n, menor será el error típico.

El error típico de log $\widehat{DL}_{50}$ se define de la manera siguiente:

Si el log $\widehat{DL}_{50}$ = m no es muy diferente de la media de log dosis, o sea de $\bar{X}$, su error típico es aproximado a través de la siguiente expresión:

$$S_m = 1/b \sqrt{\Sigma n W}$$

Esta expresión puede subestimar en forma importante el error típico, en la medida que log $\widehat{DL}_{50}$ = m se aleja de

$$\bar{x} = \Sigma nwx / \Sigma nw$$

la media ponderada de log dosis.

En esos casos, una expresión apropiada pero más compleja de S_m, es

$$S_m = \sqrt{\frac{1}{b^2} \left\{ \frac{1}{\Sigma nw} + \frac{(m-\bar{x})^2}{\Sigma nw(x-\bar{x})^2} \right\}}$$

En esta expresión se ha reemplazado log $\hat{DL}_{50}$ por m, y se ha considerado que la varianza de b es

$$1/\Sigma\, nw(x - \bar{x})^2$$

Se puede hacer una aplicación de la expresión aproximada utilizando la siguiente tabulación:

log dosis x	n	Probits esperado y	w	wn
- 3,00	10	-		
- 4,00	10	5,75	0,5171	5,171
- 5,00	10	5,17	0,6295	6,296
- 6,00	10	4,59	0,5986	5,986
- 7,00	10	4,01	0,4419	4,419
- 8,00	10	-		
				21,87

$$S_m = 1 \Big/ (0,58)\sqrt{21,87} = 0,3687$$

Límites de confianza de log DL_{50}: Estimación

Cuando un parámetro como log DL_{50} ha sido estimado, el siguiente paso es intentar conocer el valor verdadero, es decir, el valor del log DL_{50} en la población. Como este valor no se puede conocer en forma exacta, se trata de inducir o inferir cuales son los límites dentro de los que se puede "esperar" en forma razonable que caiga el verdadero valor de log DL_{50}. Para ello se utiliza el valor muestral estimado "a ojo" log DL_{50} desde el experimento, además del error típico de éste valor (S_m). Para ello es necesario definir de antemano un cierto nivel de error, es decir, un riesgo máximo de error en la estimación, en términos de probabilidad.

Con el objeto de simplificar la determinación de los límites de confianza se puede considerar el error típico en relación a la distribución Normal (supuesto ya establecido) de tolerancias. Entonces, para operar se utilizará la tabla de áreas bajo la Curva Normal (estandarizada). Si el riesgo de error se fija en 5%, esto quiere decir que hay una probabilidad de 5% que una desviación desde el verdadero valor de log DL_{50} sea al menos de ± 1,96 veces el error típico. Dicho de otra manera, que hay un 2,5% de probabilidad que la estimación será al menos $1{,}96S_m$ menor que el verdadero valor de log DL_{50} y que hay un 2,5% de probabilidad que la estimación será al menos $1{,}96S_m$ más grande que el verdadero valor de log DL_{50}. El valor ± 1,96, es el valor de $Z = \frac{x-\mu}{\sigma}$ que delimita el área de $\leqslant 5\%$ en la tabla de áreas bajo la Curva Normal.

La expresión de los límites de confianza es la siguiente:

$$LC(\text{Log}DL_{50}) = m \pm 1{,}96\ S_m \quad \text{ó} \quad \log DL_{50} \pm 1{,}96\ S_{\log DL50}$$

$$= -5{,}3 \pm 1{,}96\ (0{,}37)$$

$$= -5{,}3 \pm 0{,}73 = -6{,}03 \text{ a } -4{,}57$$

Existe una confianza de 95% que el verdadero valor de log DL_{50} esté entre -6,0 y -4,6. Es decir, si se hubieran obtenido 100 muestras al azar de ratas a partir de la población correspondiente, como máximo solamente en el 5% de ellas se hubiera encontrado un log DL_{50} inferior a -6,0 o superior a -4,6.

Estos valores pueden pasar a la escala original obteniendo los antilogaritmos correspondientes:

$DL_{50} = -5{,}3 = 4{,}7000-10 = \bar{6}{,}700$ Antilog = 0,000005012

$LI(\text{Log}DL_{50}) = -6{,}03 = 3{,}9700-10 = \bar{7}{,}97$ Antilog = 0,0000009333

$LS(\text{Log}DL_{50}) = -4{,}57 = 5{,}4300-10 = \bar{5}{,}43$ Antilog = 0,000023692

b) <u>Método de los mínimos cuadrados: Regresión rectilínea con probits</u>

En este método se trata de estimar el log DL_{50}, basado en el conocimiento de la variación conjunta de las respuestas (probits) y del estímulo (log dosis). Esta variación conjunta es suceptible de medición, en este caso, de expresar matemáticamente la forma de la relación entre los probits (y) y las dosis (x) a través de una ecuación que conecte ambas variables. Entonces, existe una ecuación capaz de representar la relación entre x e y. La metodología estadística que permite obtener estas ecuaciones se llama Regresión. En este caso se trata de una regresión simple ya que sólo participan dos variables (x e y) y es de tipo rectilíneo porque la forma que asume el diagrama de dispersión de los datos experimentales es semejante a una línea recta, según ya se observó anteriormente.

Conociendo la ecuación, es posible estimar el comportamiento de la variable objeto del estudio (porcentaje de respuestas en probits, Y), de acuerdo con las variaciones de la variable estímulo (diluciones de virus expresadas como log dosis, X).

A la primera (Y) se le denomina variable dependiente y a la segunda (X) se le llama variable independiente.

La ecuación que liga la relación de dependencia de Y con respecto a X se define así

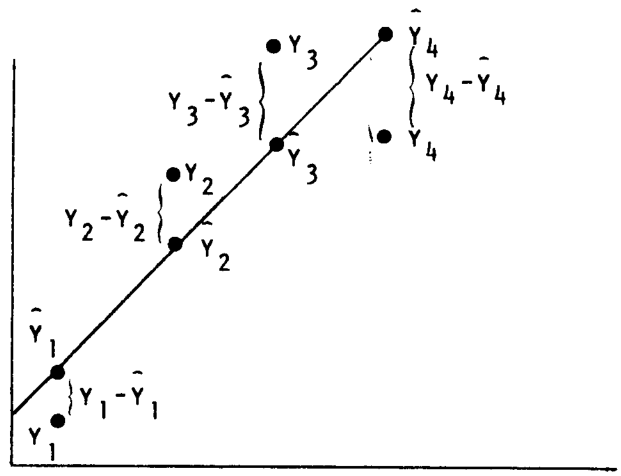
$$\hat{Y} = a + bX$$

Una vez decidida cuál es la ecuación adecuada para al ajuste de la regresión es necesario calcular los parámetros de esta ecuación "a" y "b", donde "a" es la ordenada en el origen y "b" es el coeficiente de regresión. Para determinar estos valores se recurre al método de los mínimos cuadrados. Este método cumple con la condición de minimizar la sumatoría de los cuadrados de las discrepancias entre los valores calculados por la línea de regresión $\hat{Y}$ y los valores observados en el experimento Y.

$$\Sigma (Y - \hat{Y})^2 = \text{Mínimo}$$

Una propiedad del método de los mínimos cuadrados es que la suma de los cuadrados de las distancias verticales entre los puntos del diagrama y la línea de regresión sea menor que la suma de los cuadrados de distancias con respecto a cualquier otra línea.

Esto justifica la utilización de $\hat{Y} = a + bX$



Si en $\Sigma(Y - \hat{Y})^2$ = mínimo, se reemplaza $\hat{Y}$ por a + bX, derivando esta expresión se llega a encontrar un sistema de dos ecuaciones simultáneas que permiten resolver "a" y "b".

$$\Sigma Y = n.a + (\Sigma X)b$$
$$\Sigma XY = (\Sigma X)a + (\Sigma X^2)b$$

En muchos textos aparecen expresiones de "a" y "b" que son de fácil resolución

$$b = \frac{\Sigma XY - (\Sigma X)(\Sigma Y)/n}{\Sigma X^2 - (\Sigma X)^2/n} = \frac{n \Sigma XY - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

$$a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

Los pasos que vienen más adelante son bastante semejantes a la secuencia descrita en el método gráfico. Una de las diferencias es que a partir de los probits esperados $\hat{Y}$, tomados de una línea de regresión provisoria trazada a ojo, se determinan los llamados probits de trabajo, mediante la ayuda de una tabla específica. Con estos probits de trabajo como variable dependiente (log dosis como independiente) se calculan los valores de "b" y "a", utilizando la ponderación "wn". El cálculo del error típico para determinar los límites de confianza puede hacerse a través de las mismas expresiones dadas en el método gráfico, lo que constituye una forma aproximada. Este método no es exacto aunque en la práctica con frecuencia es suficientemente adecuado. En el caso de existir discrepancias significativas entre Y e $\hat{Y}$ será necesario consultar a un estadístico. La expresión exacta para calcular los límites de confianza están dados por una aplicación del Teorema de Fieller.

METODOS APROXIMADOS PARA ESTIMAR DE_{50} Y ERROR TIPICO

Hemos visto que el análisis de probits implica cumplir con una serie de supuestos para poder hacer inferencia estadística, por ejemplo, para estimar la verdadera DL_{50} a partir de una muestra de animales. Además, desde el punto de vista operacional requieren de mucho tiempo para poder llevar a cabo los cálculos.

De ahí que se hayan popularizado algunos métodos aproximados para estimar la dosis mediana efectiva. Estos métodos son menos consistentes desde el punto de vista de herramientas de estimación; sin embargo, tienen a su favor su mayor sencillez de cálculo y su aproximación a métodos más rigurosos en muchos casos. Asumen una relación de forma lineal entre los porcentajes de respuestas y las dosis metamétricas y frecuentemente dan respuestas muy semejantes a las del análisis de probits. Sin embargo, hay que estar alerta a ciertas distorsiones o equívocos a los que pueden conducir sus resultados, especialmente cuando el intervalo de dosis utilizado es marcadamente asimétrico con respecto al log DE_{50}.

Al ser simétrica la distribución de tolerancia, los métodos de Reed-Muench, Spearman-Kärber, Dragsted-Behrens y promedios móviles, así como otros, estiman la misma cantidad, la media aritmética o la mediana de la distribución.

REED-MUENCH

Es uno de los métodos más utilizados. Se trata de interpolar en la escala metamétrica para encontrar un valor de X en el cual la suma acumulada de reaccionantes se espera que sea igual a la suma acumulada de no reaccionantes en sentido opuesto. Si se trazara un gráfico, la intersección de ambas variables sumas daría la respuesta en el eje de log dosis (X)*. Desde el punto de vista operativo el método de Reed-Muench requiere de un mínimo de cálculos y no necesita tablas de ayuda. Sin embargo, para su utilización es conveniente tener en cuenta que el valor de X = log DL_{50} debe caer en un punto central. Se debe utilizar un número igual de animales por dosis y que el intervalo entre dosis sea de igual tamaño en la escala de log dosis. Es decir, en la escala original las dosis deben estar en progresión geométrica.

En este método se asume que cualquier individuo que responde a una dosis dada de un estímulo, responderá también a todas las dosis más altas. De la misma forma que cualquier individuo que no responde a una dosis dada, no responderá a dosis más bajas. De ahí que el método emplee un mecanismo de aumentar artificialmente el número de animales expuestos a un nivel dado de un estímulo.

Para ilustrar la aplicación del método de Reed-Muench en la estimación de la dosis mediana efectiva, utilizaremos los mismos datos, sobre titulación de virus de la fiebre aftosa, empleados en el análisis de probits.

---

* Gráfico Nº 1. Curvas de porcentajes de mortalidad y sobrevivencia en relación a log dosis.

Dilu- ciones	Log di- lución x	n	Respuesta muer- tos	vi- vos	Acumulados muer- tos	vi- vos	to- tal	% morta- lidad a- cumulada
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
10^{-3}	-3,000	10	10	0	29	0	29	100,0
10^{-4}	-4,000	10	8	2	19	2	21	90,5
10^{-5}	-5,000	10	6	4	11	6	17	64,7
10^{-6}	-6,000	10	4	6	5	12	17	29,4
10^{-7}	-7,000	10	1	9	1	21	22	4,5
10^{-8}	-8,000	10	0	10	0	31	31	0,0

Una observación comparativa de los porcentajes de mortalidad de la columna (9) con los log dosis de la columna (2) nos indica que el $\widehat{\log DL}_{50}$ debe estar entre -5,000 y -6,000. La estimación exacta por medios aritméticos se hace por interpolación, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\widehat{\log DL}_{50} = \text{log dosis inferior} + \left[\frac{50\% - \text{\% de log dosis inferior}}{\text{\% de log dosis superior} - \text{\% de log dosis inferior}}\right] \cdot \left[\text{log dosis superior} - \text{log dosis inferior}\right]$$

$$= -6 + \frac{50 - 29{,}4}{64{,}7 - 29{,}4} \cdot \left[-5 - (-6)\right]$$

$$= -6 + 0{,}58 \qquad = -5{,}42$$

También se podría estimar el log DL_{50}, interpolando a partir del log dosis superior:

$$\widehat{\log DL}_{50} = \text{log dosis superior} + \left[\frac{\text{\% de log dosis superior} - 50\%}{\text{\% log dosis superior} - \text{\% log dosis inferior}}\right] \cdot \left[\text{log dosis superior} - \text{log dosis inferior}\right]$$

$$= -5 - \frac{64{,}7 - 50}{64{,}7 - 29{,}4} \left[-5 - (-6)\right]$$

$$= -5{,}42$$

Error típico

Pizzi (1) ha desarrollado una fórmula práctica para dar una solución aproximada a la determinación del error típico de la DL_{50}. Para ello hizo un análisis de una distribución de frecuencias de DL_{50}, haciendo una comparación de las estimaciones de DL_{50} hechas por el método Reed-Muench con aquellas obtenidas por análisis de probits con los datos de 50 experimentos en que se consideraron entre 27 y 120 animales por experimento. En esta comparación se observó que las DL_{50} calculadas por ambos métodos no difieren significativamente. Se producen vicios que repercuten en el error típico cuando hay asimetría. Son mucho más marcados aún cuando el número de animales por dosis es pequeño.

La fórmula de Pizzi es la siguiente

$$S_{LD_{50}} = \sqrt{\frac{0,79 \cdot h \cdot R}{n}}$$ donde,

0,79 es una constante

h = intervalo entre dosis

R = intervalo intercuartiles (DL_{75} - DL_{25})

n = número de animales por dosis

Si los intervalos entre dosis y n no son constantes se pueden obtener promedios como una estimación de h y n.

(1) Pizzi, M. 1950. Sampling variation of the 50% end-point, determined by the Reed-Muench methods. Human Biology. Vol. 22, Nº 3. The John Hopkins Press. Baltimore.

Aplicación a los datos de titulación de virus de la fiebre aftosa:

$$DL_{75} = \begin{matrix}\text{log dosis}\\ \text{menor}\end{matrix} + \left[\frac{75\% - \begin{matrix}\text{\% respuesta}\\ \text{dosis menor}\end{matrix}}{\begin{matrix}\text{\% respuesta}\\ \text{dosis mayor}\end{matrix} - \begin{matrix}\text{\% respuesta}\\ \text{dosis menor}\end{matrix}}\right] \cdot \left[\begin{matrix}\text{log dosis}\\ \text{mayor - log}\\ \text{dosis menor}\end{matrix}\right]$$

$$= -5 + \frac{75 - 64,7}{90,5 - 64,7} \cdot \left[-4 - (-5)\right]$$

$$= -5 + 0,40$$

$$= -4,6$$

$$DL_{25} = \begin{matrix}\text{log dosis}\\ \text{menor}\end{matrix} + \left[\frac{25\% - \begin{matrix}\text{\% respuesta}\\ \text{dosis menor}\end{matrix}}{\begin{matrix}\text{\% respuesta}\\ \text{dosis mayor}\end{matrix} - \begin{matrix}\text{\% respuesta}\\ \text{dosis menor}\end{matrix}}\right] \cdot \left[\begin{matrix}\text{log dosis}\\ \text{mayor - log}\\ \text{dosis menor}\end{matrix}\right]$$

$$= -7 + \left[\frac{25 - 4,5}{29,4 - 4,5}\right] \cdot \left[-6 - (-7)\right]$$

$$= -7 + 0,82$$

$$= -6,18$$

$$R = DL_{75} - DL_{25}$$

$$= -4,6 - (-6,18)$$

$$= 1,58$$

$$h = \frac{\left(\begin{matrix}\text{log dosis}\\ \text{más alta}\end{matrix} - \begin{matrix}\text{log dosis}\\ \text{más baja}\end{matrix}\right)}{\text{número dosis} - 1}$$

$$= \frac{-3 - (-8)}{5}$$

$$= 1$$

$$S_{DL_{50}} = \sqrt{\frac{0,79 \cdot 1,58}{10}}$$

$$= \sqrt{0,1248}$$

$$= 0,35$$

Asumiendo de que se trata de una muestra grande, se calcula el límite de confianza al 95% para log DL_{50}. La expresión es la siguiente:

$$LC\ (DL_{50}) = \log DL_{50} \pm 1,96\ S_{DL_{50}}$$

donde $\pm$ 1,96 es el valor de la variable normal Z, que delimita el área bajo la curva normal entre un 95% y un 5%.

$$LC(DL_{50}) = -5,42 \pm (1,96)(0,35)$$
$$= -5,42 - 0,69 = -6,11$$
$$= -5,42 + 0,69 = -4,73$$

Encontrando el antilogaritmo pasamos estos valores a la escala original.

Log DL_{50}	$= -5,42 = 4,5800-10 = \bar{6},58$	Antilog = 0,000003802
LI(Log DL_{50})	$= -6,11 = 3,8900-10 = \bar{7},89$	Antilog = 0,0000007762
LS(Log DL_{50})	$= -4,73 = 5,2700-10 = \bar{5},27$	Antilog = 0,00001862

SPEARMAN-KÄRBER

Es otro de los métodos aproximados para estimar la DL_{50}. Este método parte del supuesto siguiente: en las dosis inferiores a la menor del experimento (x_1), si fueran consideradas, las respuestas serían iguales a cero (ningún muerto) y las dosis superiores a la mayor del experimento (x_k), si fueran consideradas, presentarían respuesta en la totalidad de los animales (todos muertos).

Si las proporciones reales $p(x_1)$ y $p(x_k)$ son diferentes de 0 y 1 respectivamente, se debe asumir que las proporciones correspondientes a x extremos alcanzan esos valores, de ahí que los valores esperados sean $p(x_1) = 0$ y $p(x_k) = 1$. La serie así se alarga con la "fabricación" de nuevos datos, aun cuando no se hayan considerado en el experimento.

La expresión de Spearman-Kärber que permite estimar log DL_{50} es la siguiente:

$$\log \widehat{DL}_{50} = \left\{ \sum_{i=1}^{k} (p_{i+1} - p_i) \frac{(x_i + x_{i+1})}{2} \right\}$$

donde:

k = número de dosis

p_i = proporción de muertos en la dosis i

x_i = logaritmo de la dosis i

diluciones	log dosis x_i	n	muer-tos	proporción muertos p_i	$p_i q_i$	$(p_{i+1}-p_i)$ $(x_{i+1}+x_i)/2$
1/100000000	-8,00	10	0	0,00	0	(7,5)(0,1) = 0,75
1/10000000	-7,00	10	1	0,10	0,09	(6,5)(0,3) = -1,95
1/1000000	-6,00	10	4	0,40	0,24	(5,5)(0,2) = -1,1
1/100000	-5,00	10	6	0,60	0,24	(4,5)(0,2) = -0,9
1/10000	-4,00	10	8	0,80	0,16	(3,5)(0,2) = -0,7
1/1000	-3,00	10	10	1,00	0	
					Σ0,73	-5,4

$\log \widehat{DL}_{50} = -5,4$

El error típico del log DL_{50} puede ser computado a través de la siguiente expresión:

$$S_{\log DL_{50}} = d\sqrt{\Sigma\, p_i q_i/(n-1)}$$

donde:

$d = x_{i+1} - x_i$

p_i = proporción de muertos en la dosis i

$q_i = 1 - p_i$

$$S_{\log DL_{50}} = \sqrt{0,73/9}$$

$$= 0,28$$

Si utilizamos una aproximación basada en la distribución normal podríamos determinar los límites de confianza al 95% para muestra grande.

$$LC(\log DL_{50}) = -5,4 \pm 1,96\ (0,28)$$
$$= -5,4 - 0,55 = -5,95$$
$$= -5,4 + 0,55 = -4,85$$

El antilogaritmo de estas cantidades es el siguiente:

$\mathrm{Log}DL_{50} = -5,4 = 4,6000-10 = \bar{6},6000$ Antilog = 0,000003981

$LI(\mathrm{Log}DL_{50}) = -5,95 = 4,05000-10 = \bar{6},05000$ Antilog = 0,000001122

$LS(\mathrm{Log}DL_{50}) = -4,85 = 5,15000-10 = \bar{5},15000$ Antilog = 0,00001412

GRAFICO Nº 1. Curvas de mortalidad y sobrevivencia en relación a log dosis

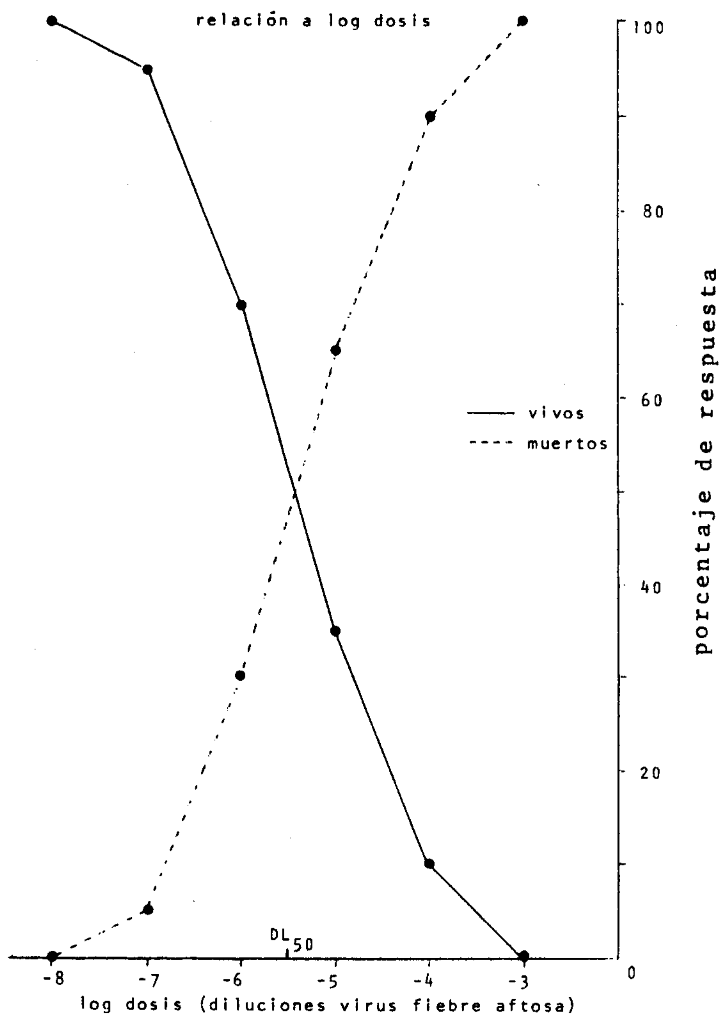


Tabla nº 1 - LOGARITMOS DECIMALES*

N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.0	.0000	.0043	.0086	.0128	.0170	.0212	.0253	.0294	.0334	.0374
1.1	.0414	.0453	.0492	.0531	.0569	.0607	.0645	.0682	.0719	.0755
1.2	.0792	.0828	.0864	.0899	.0934	.0969	.1004	.1038	.1072	.1106
1.3	.1139	.1173	.1206	.1239	.1271	.1303	.1335	.1367	.1399	.1430
1.4	.1461	.1492	.1523	.1553	.1584	.1614	.1644	.1673	.1703	.1732
1.5	.1761	.1790	.1818	.1847	.1875	.1903	.1931	.1959	.1987	.2014
1.6	.2041	.2068	.2095	.2122	.2148	.2175	.2201	.2227	.2253	.2279
1.7	.2304	.2330	.2355	.2380	.2405	.2430	.2455	.2480	.2504	.2529
1.8	.2553	.2577	.2601	.2625	.2648	.2672	.2695	.2718	.2742	.2765
1.9	.2788	.2810	.2833	.2856	.2878	.2900	.2923	.2945	.2967	.2989
2.0	.3010	.3032	.3054	.3075	.3096	.3118	.3139	.3160	.3181	.3201
2.1	.3222	.3243	.3263	.3284	.3304	.3324	.3345	.3365	.3385	.3404
2.2	.3424	.3444	.3464	.3483	.3502	.3522	.3541	.3560	.3579	.3598
2.3	.3617	.3636	.3655	.3674	.3692	.3711	.3729	.3747	.3766	.3784
2.4	.3802	.3820	.3838	.3856	.3874	.3892	.3909	.3927	.3945	.3962
2.5	.3979	.3997	.4014	.4031	.4048	.4065	.4082	.4099	.4116	.4133
2.6	.4150	.4166	.4183	.4200	.4216	.4232	.4249	.4265	.4281	.4298
2.7	.4314	.4330	.4346	.4362	.4378	.4393	.4409	.4425	.4440	.4456
2.8	.4472	.4487	.4502	.4518	.4533	.4548	.4564	.4579	.4594	.4609
2.9	.4624	.4639	.4654	.4669	.4683	.4698	.4713	.4728	.4742	.4757
3.0	.4771	.4786	.4800	.4814	.4829	.4843	.4857	.4871	.4886	.4900
3.1	.4914	.4928	.4942	.4955	.4969	.4983	.4997	.5011	.5024	.5038
3.2	.5051	.5065	.5079	.5092	.5105	.5119	.5132	.5145	.5159	.5172
3.3	.5185	.5198	.5211	.5224	.5237	.5250	.5263	.5276	.5289	.5302
3.4	.5315	.5328	.5340	.5353	.5366	.5378	.5391	.5403	.5416	.5428
3.5	.5441	.5453	.5465	.5478	.5490	.5502	.5514	.5527	.5539	.5551
3.6	.5563	.5575	.5587	.5599	.5611	.5623	.5635	.5647	.5658	.5670
3.7	.5682	.5694	.5705	.5717	.5729	.5740	.5752	.5763	.5775	.5786
3.8	.5798	.5809	.5821	.5832	.5843	.5855	.5866	.5877	.5888	.5899
3.9	.5911	.5922	.5933	.5944	.5955	.5966	.5977	.5988	.5999	.6010
4.0	.6021	.6031	.6042	.6053	.6064	.6075	.6085	.6096	.6107	.6117
4.1	.6128	.6138	.6149	.6160	.6170	.6180	.6191	.6201	.6212	.6222
4.2	.6232	.6243	.6253	.6263	.6274	.6284	.6294	.6304	.6314	.6325
4.3	.6335	.6345	.6355	.6365	.6375	.6385	.6395	.6405	.6415	.6425
4.4	.6435	.6444	.6454	.6464	.6474	.6484	.6493	.6503	.6513	.6522
4.5	.6532	.6542	.6551	.6561	.6571	.6580	.6590	.6599	.6609	.6618
4.6	.6628	.6637	.6646	.6656	.6665	.6675	.6684	.6693	.6702	.6712
4.7	.6721	.6730	.6739	.6749	.6758	.6767	.6776	.6785	.6794	.6803
4.8	.6812	.6821	.6830	.6839	.6848	.6857	.6866	.6875	.6884	.6893
4.9	.6902	.6911	.6920	.6928	.6937	.6946	.6955	.6964	.6972	.6981
5.0	.6990	.6998	.7007	.7016	.7024	.7033	.7042	.7050	.7059	.7067
5.1	.7076	.7084	.7093	.7101	.7110	.7118	.7126	.7135	.7143	.7152
5.2	.7160	.7168	.7177	.7185	.7193	.7202	.7210	.7218	.7226	.7235
5.3	.7243	.7251	.7259	.7267	.7275	.7284	.7292	.7300	.7308	.7316
5.4	.7324	.7332	.7340	.7348	.7356	.7364	.7372	.7380	.7388	.7396
N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

* Tabla de mantisas. La característica debe ser calculada.

LOGARITMOS DECIMALES. cont.

N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5.5	.7404	.7412	.7419	.7427	.7435	.7443	.7451	.7459	.7466	.7474
5.6	.7482	.7490	.7497	.7505	.7513	.7520	.7528	.7536	.7543	.7551
5.7	.7559	.7566	.7574	.7582	.7589	.7597	.7604	.7612	.7619	.7627
5.8	.7634	.7642	.7649	.7657	.7664	.7672	.7679	.7686	.7694	.7701
5.9	.7709	.7716	.7723	.7731	.7738	.7745	.7752	.7760	.7767	.7774
6.0	.7782	.7789	.7796	.7803	.7810	.7818	.7825	.7832	.7839	.7846
6.1	.7853	.7860	.7868	.7875	.7882	.7889	.7896	.7903	.7910	.7917
6.2	.7924	.7931	.7938	.7945	.7952	.7959	.7966	.7973	.7980	.7987
6.3	.7993	.8000	.8007	.8014	.8021	.8028	.8035	.8041	.8048	.8055
6.4	.8062	.8069	.8075	.8082	.8089	.8096	.8102	.8109	.8116	.8122
6.5	.8129	.8136	.8142	.8149	.8156	.8162	.8169	.8176	.8182	.8189
6.6	.8195	.8202	.8209	.8215	.8222	.8228	.8235	.8241	.8248	.8254
6.7	.8261	.8267	.8274	.8280	.8287	.8293	.8299	.8306	.8312	.8319
6.8	.8325	.8331	.8338	.8344	.8351	.8357	.8363	.8370	.8376	.8382
6.9	.8388	.8395	.8401	.8407	.8414	.8420	.8426	.8432	.8439	.8445
7.0	.8451	.8457	.8463	.8470	.8476	.8482	.8488	.8494	.8500	.8506
7.1	.8513	.8519	.8525	.8531	.8537	.8543	.8549	.8555	.8561	.8567
7.2	.8573	.8579	.8585	.8591	.8597	.8603	.8609	.8615	.8621	.8627
7.3	.8633	.8639	.8645	.8651	.8657	.8663	.8669	.8675	.8681	.8686
7.4	.8692	.8698	.8704	.8710	.8716	.8722	.8727	.8733	.8739	.8745
7.5	.8751	.8756	.8762	.8768	.8774	.8779	.8785	.8791	.8797	.8802
7.6	.8808	.8814	.8820	.8825	.8831	.8837	.8842	.8848	.8854	.8859
7.7	.8865	.8871	.8876	.8882	.8887	.8893	.8899	.8904	.8910	.8915
7.8	.8921	.8927	.8932	.8938	.8943	.8949	.8954	.8960	.8965	.8971
7.9	.8976	.8982	.8987	.8993	.8998	.9004	.9009	.9015	.9020	.9025
8.0	.9031	.9036	.9042	.9047	.9053	.9058	.9063	.9069	.9074	.9079
8.1	.9085	.9090	.9096	.9101	.9106	.9112	.9117	.9122	.9128	.9133
8.2	.9138	.9143	.9149	.9154	.9159	.9165	.9170	.9175	.9180	.9186
8.3	.9191	.9196	.9201	.9206	.9212	.9217	.9222	.9227	.9232	.9238
8.4	.9243	.9248	.9253	.9258	.9263	.9269	.9274	.9279	.9284	.9289
8.5	.9294	.9299	.9304	.9309	.9315	.9320	.9325	.9330	.9335	.9340
8.6	.9345	.9350	.9355	.9360	.9365	.9370	.9375	.9380	.9385	.9390
8.7	.9395	.9400	.9405	.9410	.9415	.9420	.9425	.9430	.9435	.9440
8.8	.9445	.9450	.9455	.9460	.9465	.9469	.9474	.9479	.9484	.9489
8.9	.9494	.9499	.9504	.9509	.9513	.9518	.9523	.9528	.9533	.9538
9.0	.9542	.9547	.9552	.9557	.9562	.9566	.9571	.9576	.9581	.9586
9.1	.9590	.9595	.9600	.9605	.9609	.9614	.9619	.9624	.9628	.9633
9.2	.9638	.9643	.9647	.9652	.9657	.9661	.9666	.9671	.9675	.9680
9.3	.9685	.9689	.9694	.9699	.9703	.9708	.9713	.9717	.9722	.9727
9.4	.9731	.9736	.9741	.9745	.9750	.9754	.9759	.9763	.9768	.9773
9.5	.9777	.9782	.9786	.9791	.9795	.9800	.9805	.9809	.9814	.9818
9.6	.9823	.9827	.9832	.9836	.9841	.9845	.9850	.9854	.9859	.9863
9.7	.9868	.9872	.9877	.9881	.9886	.9890	.9894	.9899	.9903	.9908
9.8	.9912	.9917	.9921	.9926	.9930	.9934	.9939	.9943	.9948	.9952
9.9	.9956	.9961	.9965	.9969	.9974	.9978	.9983	.9987	.9991	.9996
N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Tabla nº 2 - AREAS BAJO LA CURVA NORMAL (50%)

Z	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.0000	0.0040	0.0080	0.0120	0.0160	0.0199	0.0239	0.0279	0.0319	0.0359
0.1	.0398	.0438	.0478	.0517	.0557	.0596	.0636	.0675	.0714	.0753
0.2	.0793	.0832	.0871	.0910	.0948	.0987	.1026	.1064	.1103	.1141
0.3	.1179	.1217	.1255	.1293	.1331	.1368	.1406	.1443	.1480	.1517
0.4	.1554	.1591	.1628	.1664	.1700	.1736	.1772	.1808	.1844	.1879
0.5	.1915	.1950	.1985	.2019	.2054	.2088	.2123	.2157	.2190	.2224
0.6	.2257	.2291	.2324	.2357	.2389	.2422	.2454	.2486	.2517	.2549
0.7	.2580	.2611	.2642	.2673	.2704	.2734	.2764	.2794	.2823	.2852
0.8	.2881	.2910	.2939	.2967	.2995	.3023	.3051	.3078	.3106	.3133
0.9	.3159	.3186	.3212	.3238	.3264	.3289	.3315	.3340	.3365	.3389
1.0	.3413	.3438	.3461	.3485	.3508	.3531	.3554	.3577	.3599	.3621
1.1	.3643	.3665	.3686	.3708	.3729	.3749	.3770	.3790	.3810	.3830
1.2	.3849	.3869	.3888	.3907	.3925	.3944	.3962	.3980	.3997	.4015
1.3	.4032	.4049	.4066	.4082	.4099	.4115	.4131	.4147	.4162	.4177
1.4	.4192	.4207	.4222	.4236	.4251	.4265	.4279	.4292	.4306	.4319
1.5	.4332	.4345	.4357	.4370	.4382	.4394	.4406	.4418	.4429	.4441
1.6	.4452	.4463	.4474	.4484	.4495	.4505	.4515	.4525	.4535	.4545
1.7	.4554	.4564	.4573	.4582	.4591	.4599	.4608	.4616	.4625	.4633
1.8	.4641	.4649	.4656	.4664	.4671	.4678	.4686	.4693	.4699	.4706
1.9	.4713	.4719	.4726	.4732	.4738	.4744	.4750	.4756	.4761	.4767
2.0	.4772	.4778	.4783	.4788	.4793	.4798	.4803	.4808	.4812	.4817
2.1	.4821	.4826	.4830	.4834	.4838	.4842	.4846	.4850	.4854	.4857
2.2	.4861	.4864	.4868	.4871	.4875	.4878	.4881	.4884	.4887	.4890
2.3	.4893	.4896	.4898	.4901	.4904	.4906	.4909	.4911	.4913	.4916
2.4	.4918	.4920	.4922	.4925	.4927	.4929	.4931	.4932	.4934	.4936
2.5	.4938	.4940	.4941	.4943	.4945	.4946	.4948	.4949	.4951	.4952
2.6	.4953	.4955	.4956	.4957	.4959	.4960	.4961	.4962	.4963	.4964
2.7	.4965	.4966	.4967	.4968	.4969	.4970	.4971	.4972	.4973	.4974
2.8	.4974	.4975	.4976	.4977	.4977	.4978	.4979	.4979	.4980	.4981
2.9	.4981	.4982	.4982	.4983	.4984	.4984	.4985	.4985	.4986	.4986
3.0	.4987	.4987	.4987	.4988	.4988	.4989	.4989	.4989	.4990	.4990
3.1	.4990	.4991	.4991	.4991	.4992	.4992	.4992	.4992	.4993	.4993
3.2	.4993	.4993	.4994	.4994	.4994	.4994	.4994	.4995	.4995	.4995
3.3	.4995	.4995	.4995	.4996	.4996	.4996	.4996	.4996	.4996	.4997
3.4	.4997	.4997	.4997	.4997	.4997	.4997	.4997	.4997	.4997	.4998
3.6	.4998	.4998	.4999	.4999	.4999	.4999	.4999	.4999	.4999	.4999
3.9	.5000									

Tabla nº 3 - DISTRIBUCIÒN NORMAL DE FRECUENCIAS ACUMULADAS

c	Area	c	Area
−3.0	0.0013	0.1	0.5398
−2.9	0.0019	0.2	0.5793
−2.8	0.0026	0.3	0.6179
−2.7	0.0035	0.4	0.6554
−2.6	0.0047	0.5	0.6915
−2.5	0.0062	0.6	0.7258
−2.4	0.0082	0.7	0.7580
−2.3	0.0107	0.8	0.7881
−2.2	0.0139	0.9	0.8159
−2.1	0.0179	1.0	0.8413
−2.0	0.0227	1.1	0.8643
−1.9	0.0287	1.2	0.8849
−1.8	0.0359	1.3	0.9032
−1.7	0.0446	1.4	0.9192
−1.6	0.0548	1.5	0.9332
−1.5	0.0668	1.6	0.9452
−1.4	0.0808	1.7	0.9554
−1.3	0.0968	1.8	0.9641
−1.2	0.1151	1.9	0.9713
−1.1	0.1357	2.0	0.9773
−1.0	0.1587	2.1	0.9821
−0.9	0.1841	2.2	0.9861
−0.8	0.2119	2.3	0.9893
−0.7	0.2420	2.4	0.9918
−0.6	0.2742	2.5	0.9938
−0.5	0.3085	2.6	0.9953
−0.4	0.3446	2.7	0.9965
−0.3	0.3821	2.8	0.9974
−0.2	0.4207	2.9	0.9981
−0.1	0.4602	3.0	0.9987
0.0	0.5000		

Tabla nº 4 - CONVERSION DE PORCENTAJES A PROBITS

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

Tabla nº 5 - PROBITS DE TRABAJO Y COEFICIENTE DE PONDERACION

Probit esperado	Y_{max}	Y_{min}	Coeficiente de ponderación
1.1	5030.	0.85	0.00082
1.2	3430.	0.95	0.00118
1.3	2360.	1.05	0.00167
1.4	1640.	1.14	0.00235
1.5	1150.	1.23	0.00327
1.6	813.	1.33	0.00451
1.7	582.	1.42	0.00614
1.8	421.	1.51	0.00828
1.9	308.	1.60	0.0110
2.0	227.	1.69	0.0146
2.1	170.	1.79	0.0190
2.2	128.	1.88	0.0246
2.3	97.9	1.97	0.0314
2.4	75.7	2.06	0.0398
2.5	59.2	2.15	0.0498
2.6	46.9	2.23	0.0617
2.7	37.6	2.32	0.0756
2.8	30.6	2.41	0.0918
2.9	25.2	2.49	0.110
3.0	21.1	2.58	0.131
3.1	17.9	2.66	0.154
3.2	15.4	2.74	0.180
3.3	13.5	2.83	0.208
3.4	11.9	2.91	0.237
3.5	10.7	2.98	0.269
3.6	9.74	3.06	0.302
3.7	8.97	3.14	0.336
3.8	8.36	3.21	0.370
3.9	7.87	3.28	0.405
4.0	7.48	3.34	0.439

Tabla nº 5 - cont.

Probit esperado	Y_{max}	Y_{min}	Coeficiente de ponderación
4.1	7.17	3.41	0.471
4.2	6.92	3.47	0.503
4.3	6.73	3.53	0.532
4.4	6.58	3.58	0.558
4.5	6.46	3.62	0.581
4.6	6.38	3.66	0.601
4.7	6.32	3.70	0.616
4.8	6.28	3.72	0.627
4.9	6.26	3.74	0.634
5.0	6.25	3.75	0.637
5.1	6.26	3.74	0.634
5.2	6.28	3.72	0.627
5.3	6.30	3.68	0.616
5.4	6.34	3.62	0.601
5.5	6.38	3.54	0.581
5.6	6.42	3.42	0.558
5.7	6.47	3.27	0.532
5.8	6.53	3.08	0.503
5.9	6.59	2.83	0.471
6.0	6.66	2.52	0.439
6.1	6.72	2.13	0.405
6.2	6.79	1.64	0.370
6.3	6.86	1.03	0.336
6.4	6.94	0.261	0.302
6.5	7.02	−0.705	0.269
6.6	7.09	−1.92	0.238
6.7	7.17	−3.46	0.208
6.8	7.26	−5.41	0.180
6.9	7.34	−7.90	0.154
7.0	7.42	−11.1	0.131
7.1	7.51	−15.2	0.110
7.2	7.59	−20.6	0.0918
7.3	7.68	−27.6	0.0756
7.4	7.77	−36.9	0.0617
7.5	7.85	−49.2	0.0498
7.6	7.94	−65.7	0.0398
7.7	8.03	−87.9	0.0314
7.8	8.12	−118.	0.0246
7.9	8.21	−160.	0.0190
8.0	8.30	−217.	0.0146
8.1	8.40	−298.	0.0110
8.2	8.49	−411.	0.00828
8.3	8.58	−572.	0.00614
8.4	8.67	−803.	0.00451
8.5	8.77	−1140.	0.00327
8.6	8.86	−1620.	0.00235
8.7	8.95	−2340.	0.00167
8.8	9.05	−3420.	0.00118
8.9	9.14	−5020.	0.00082

Para obtener un probit de trabajo (y) procurar en la columna de los probits esperados (Y) el valor encontrado en la línea de regresión provisoria. Multiplique el valor correspondiente de la Y_{max} por la proporción observada (p) y la Y_{min} por (1-p). El probit de trabajo es la suma de estos dos productos. En la misma línea está el coeficiente de ponderación correspondiente.