

Diseño de Experimentos. Guía docente. Unidad 9

Introducción

Este guía docente está dedicada a la unidad 9 relacionada con el **Análisis de la covarianza** y los diseños en **bloques completamente aleatorizados**.

En el diseño experimental se usan varias técnicas para controlar la varianza del error experimental. Estas prácticas de control pretenden reducir el error experimental aumentando la precisión de las estimaciones para las medias de tratamientos e incrementar la potencia de las pruebas de hipótesis correspondientes.

Con frecuencia se usan variables **concomitantes** (también denominadas *covariables*) para seleccionar y agrupar unidades experimentales y de esta manera poder reducir la variabilidad del error experimental. Muchas variables concomitantes pueden medirse en cualquier momento durante el experimento y al analizar los resultados se puede evaluar su influencia sobre la variable respuesta. Hay que destacar el carácter **continuo** de las covariables en contraste con el carácter *categorico* de los factores de un ANOVA.

El análisis de covarianza combina los objetivos de los modelos de regresión con los del análisis de la varianza. Además de modelizar la relación entre la variable covariante con la variable respuesta permite al mismo tiempo comparar tratamientos con una base común relativa a los valores de la covariante.

A menudo en los experimentos diversos factores ajenos a los factores de interés influyen en la variable respuesta. El uso de **bloques**, según estos factores de influencia, es uno de los principales medios que usan los investigadores para controlar el error experimental. Cuando se construyen bloques de unidades con valores similares para los factores, los tratamientos del experimento se pueden comparar entre sí en un entorno más homogéneo. El agrupamiento en los bloques se trata en el siguiente apartado de esta unidad.

Análisis de la covarianza

En ciertas ocasiones las condiciones experimentales impiden la formación de bloques de unidades similares por distintos motivos. Por ejemplo, puede tenerse un conocimiento incompleto del material experimental, o bien que los efectos de factores externos no aparezcan hasta después de iniciado el experimento, o bien se dispone de pocas unidades o de pocos valores similares para completar los bloques. Finalmente, otra posibilidad es que el investigador conozca los factores susceptibles de influir en la variable respuesta pero el número de factores adicionales haga imposible usarlos a todos como criterios de formación de bloques.

En resumen, el uso de covariables en el modelo lineal permite comparaciones entre tratamientos más precisas al reducir la varianza del error, siendo una alternativa o un complemento al uso de bloques.

Ejemplo

Un método clínico común para evaluar la capacidad cardiovascular de los individuos es realizar una prueba de esfuerzo en una cinta rodante. Una de las medidas obtenidas durante las pruebas, el consumo máximo de oxígeno, se considera el mejor índice de capacidad de trabajo y la función cardiovascular máxima. La medida del consumo máximo de oxígeno de un individuo depende de varios factores, como el modo y el protocolo de prueba, además de la condición física y la edad del sujeto. Un protocolo de prueba común en la cinta es el protocolo de inclinación, donde el grado y velocidad se aumentan hasta que el sujeto queda exhausto.

Los investigadores de este estudio tenían la opinión de que las condiciones de la prueba en la cinta deberían simular lo más posible el tipo de entrenamiento cardiovascular del individuo, para lograr su máxima oxigenación durante la prueba. Se planteó la hipótesis de que el entrenamiento aeróbico con escalón se simulaba mejor con el protocolo de inclinación que con el régimen de carrera plana.

Los dos tratamientos seleccionados para el estudio fueron un programa de 12 semanas de entrenamiento aeróbico con escalón y 12 semanas de carrera plana al aire libre. Se probó a los sujetos en la cinta antes y después del periodo de 12 semanas con el protocolo de inclinación. Si la hipótesis fuera cierta, los individuos en el entrenamiento aeróbico con escalón mostrarían un mayor incremento en su oxigenación máxima que los del entrenamiento en terreno plano y éstos quizá estarían limitados por la fatiga de ciertos músculos en la prueba con protocolo de inclinación y no lograrían la oxigenación máxima antes de quedar exhaustos.

El diseño del experimento, consistió en seleccionar 12 hombres sanos que no participaban en programas de ejercicio regulares y se asignaron seis al azar a cada grupo en un diseño totalmente aleatorizado. Se registraron varias medidas respiratorias en la cinta antes del periodo de 12 semanas concluyendo que no había diferencias en las medidas respiratorias de los dos grupos de sujetos antes del tratamiento. La variable de interés es el cambio en la ventilación máxima (litros/minuto) de oxígeno para el periodo de 12 semanas. Las observaciones de los 12 sujetos y sus edades se muestran en la siguiente tabla.

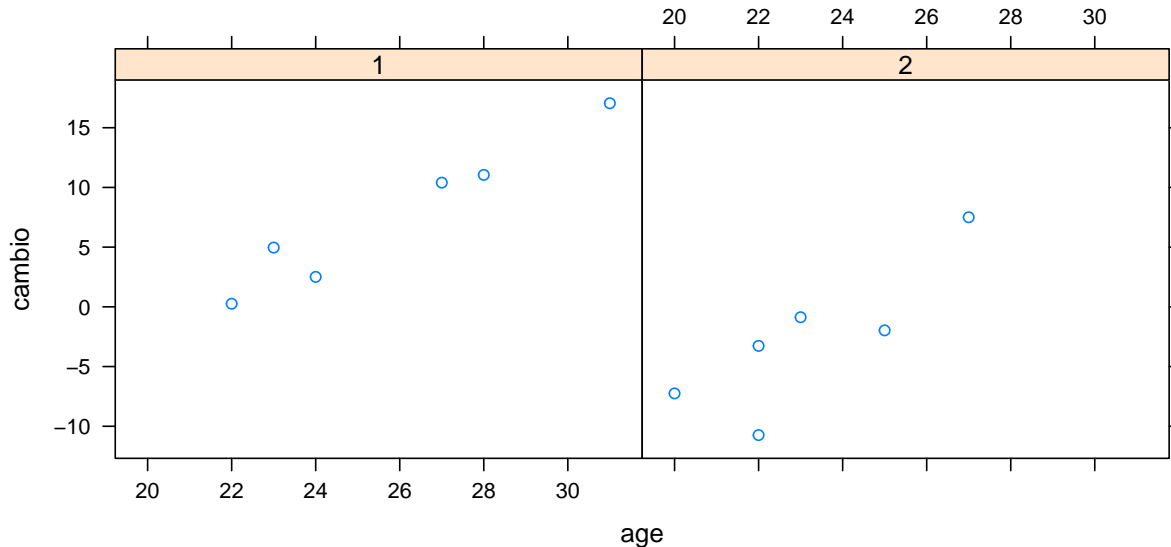
Aeróbicos		Carrera	
Edad	Cambio	Edad	Cambio
31	17.05	23	-0.87
23	4.96	22	-10.74
27	10.40	22	-3.27
28	11.05	25	-1.97
22	0.26	27	7.50
24	2.51	20	-7.25

```
age <- c(31,23,27,28,22,24,23,22,22,25,27,20)
cambio <- c(17.05,4.96,10.40,11.05,0.26,2.51,-0.87,-10.74,-3.27,-1.97,7.50,-7.25)
grupo <- as.factor(rep(1:2, each=6))
mydata <- data.frame(cambio,grupo,age)
summary(mydata)
```

```
##      cambio      grupo      age
##  Min.      :-10.740   1:6  Min.      :20.0
```

```
## 1st Qu.: -2.295    2:6    1st Qu.:22.0
## Median :  1.385           Median :23.5
## Mean   :  2.469           Mean   :24.5
## 3rd Qu.:  8.225           3rd Qu.:27.0
## Max.    : 17.050           Max.    :31.0
```

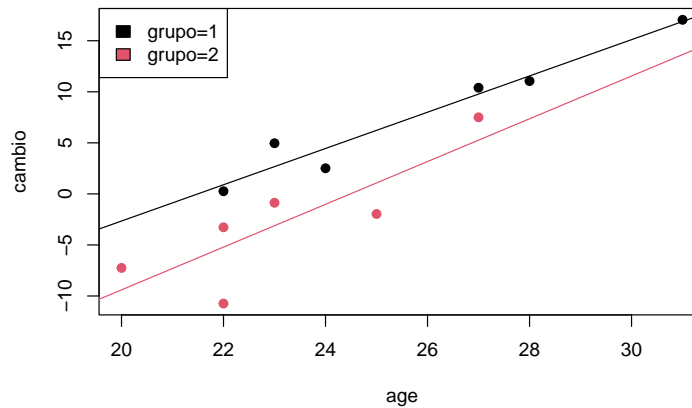
```
library(lattice)
xyplot(cambio ~ age | grupo, data=mydata)
```



Se muestra una gráfica del cambio en la ventilación máxima (y) para cada sujeto con su edad (x) en el eje horizontal. La gráfica sugiere una relación positiva fuerte entre la edad del sujeto y su cambio en la ventilación máxima en la caminadora, sin importar el grupo de tratamiento al que pertenecen. Así, parece haber una considerable variación dentro de cada grupo asociada con las diferencias de edad.

También se puede representar estos dos gráficos en uno sólo, diferenciando los puntos de cada grupo según color y dibujando una línea de regresión para cada grupo.

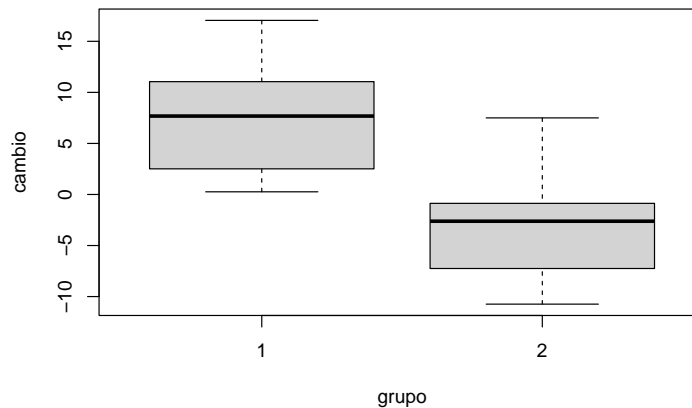
```
plot(cambio ~ age, col=grupo, data=mydata, pch=19)
abline(lm(cambio ~ age, subset = grupo==1), col=1)
abline(lm(cambio ~ age, subset = grupo==2), col=2)
legend("topleft", c("grupo=1", "grupo=2"), fill=1:2)
```



En este gráfico se aprecia mejor como la relación entre la edad y el cambio es positiva y similar entre los dos grupos. Asimismo, el grupo 1 parece tener un cambio mayor que el grupo 2.

Si analizamos las diferencias del cambio según el grupo con un ANOVA de un factor que no tiene en cuenta la información que aporta la edad, resulta la tabla siguiente:

```
boxplot(cambio ~ grupo, data=mydata)
```



```
res.aov <- aov(cambio ~ grupo, data=mydata)
anova(res.aov)
```

```
## Analysis of Variance Table
##
## Response: cambio
##           Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## grupo      1  328.97   328.97   8.4503 0.01565 *
## Residuals 10  389.30    38.93
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

El protocolo de estudio requería que los sujetos elegibles fueran hombres sanos entre los 20 y 35 años con un estilo de vida sedentario. Aunque los dos grupos de sujetos no difieren en medidas de ventilación máxima de la prueba, un análisis de varianza de un factor revela una diferencia significativa entre los dos grupos en el cambio después del entrenamiento. El grupo de ejercicio aeróbico tenía un cambio mayor en la tasa de ventilación que el grupo de carrera, pero el grupo aeróbico se compone de un grupo de hombres mayores. Debe determinarse si la diferencia es resultado del ejercicio o de las diferencias de edad en los dos grupos. Es decir, suponiendo que los cambios en la media de ventilación máxima se comparan dentro de la misma edad para ambos grupos, ¿será la media del grupo de aeróbicos significativamente mayor que la media del grupo de carrera? Se puede usar el análisis de covarianza para ayudar a responder la pregunta y para determinar si la relación entre el cambio de ventilación máxima y la edad contribuye de manera significativa a la variación.

Análisis de covarianza para diseños totalmente aleatorizados

El modelo lineal puede especificarse como:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta X_{ij} + e_{ij}$$

donde $\sum_i \alpha_i = 0$, β debe interpretarse como la pendiente de la regresión, y las e_{ij} , son errores experimentales aleatorios con distribución normal, con media 0 y varianza σ^2 . Dos suposiciones clave adicionales para este modelo son que el **coeficiente de regresión** β es el **mismo para todos los grupos** de tratamiento y que los tratamientos no influyen en la covariante X .

Una parametrización alternativa se consigue centrando los valores de X restando su promedio:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta(X_{ij} - \bar{X}) + e_{ij}$$

en esta segunda especificación μ sí representa el promedio global de la variable respuesta.

El modelo covariante para el tratamiento i es una recta de regresión con pendiente β que relaciona la variable respuesta con la covariante, que crea rectas paralelas con términos independientes (ordenadas al origen, *intercepts* en inglés) $\mu + \alpha_i$. Esto es un conjunto de rectas de regresión paralelas, una para cada tratamiento, con ordenadas al origen posiblemente diferentes.

Estamos interesados en contrastar el mismo tipo de hipótesis y estimar las mismas cantidades que en el caso del anova sin covariables. Se trata de testar la hipótesis nula de efectos no significativos (todas las α_i s iguales a cero) cuando el efecto de la covariable está presente, comparando el modelo que incorpora la covariante y el factor primero con un modelo reducido con sólo la covariante,

$$y_{ij} = \mu + \beta X_{ij} + e_{ij}$$

y también con un modelo reducido sin la covariante y solamente el factor

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

Se requiere el modelo reducido sin la covariante para evaluar la influencia de la covariante, y el modelo reducido sin efectos de tratamiento para la evaluación de la significación de los efectos de tratamiento en presencia de la covariante.

Ejemplo (continuación)

```
res.lm<-lm(cambio~age+grupo,data=mydata)
summary(res.lm)

##
## Call:
## lm(formula = cambio ~ age + grupo, data = mydata)
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
```

```
## -5.7731 -0.9902 0.1395 1.8254 3.0374
##
## Coefficients:
##             Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept) -41.0139      7.7144  -5.317 0.000483 ***
## age          1.8859      0.2953   6.386 0.000127 ***
## grupo2       -5.4426      1.7965  -3.030 0.014255 *
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 2.797 on 9 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.902, Adjusted R-squared:  0.8802
## F-statistic: 41.42 on 2 and 9 DF,  p-value: 2.887e-05
anova(res.lm)
```

```
## Analysis of Variance Table
##
## Response: cambio
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## age        1 576.09  576.09 73.6594 1.257e-05 ***
## grupo      1  71.79   71.79  9.1788  0.01425 *
## Residuals  9  70.39    7.82
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
Modelo para el grupo aerobico
```

$$\hat{y}_{1i} = \hat{\mu} + \hat{\beta}X_{1j} = -41.0139 + 1.8859X_{1j}$$

Modelo para el grupo carrera

$$\hat{y}_{2i} = \hat{\mu} + \hat{\alpha}_2 + \hat{\beta}X_{2j} = -41.0139 - 5.4426 + 1.8859X_{2j} = -46.4565 + 1.8859X_{2j}$$

Las medias de tratamiento ajustadas a la edad promedio $\bar{x} = 24.5$ son

$$\bar{y}_{1,ajust} = -41.0139 + 1.8859\bar{x} = -41.0139 + 1.8859 \cdot 24.5 = 5.19$$

y

$$\bar{y}_{2,ajust} = -46.4565 + 1.8859\bar{x} = -46.4565 + 1.8859 \cdot 24.5 = -0.26$$

La diferencia entre las medias de tratamiento no ajustadas $\bar{y}_{1.} - \bar{y}_{2.} = 7.71 - (-2.77) = 10.48$ era mucho mayor que la diferencia entre las medias de tratamiento ajustadas a una edad común, $\bar{y}_{1,ajust} - \bar{y}_{2,ajust} = 5.19 - (-0.26) = 5.45$. Parte de la diferencia entre las medias no ajustadas se debe a la diferencia de más de dos años en los promedios de edad de los individuos, en los dos grupos de tratamientos, $\bar{x}_1 = 25.83$ y $\bar{x}_2 = 23.17$. Las medias ajustadas son las estimaciones del

cambio medio de ventilación máxima a una edad común; de esta manera, la diferencia entre las medias ajustadas refleja sólo el efecto del ejercicio en el cambio de la tasa de ventilación máxima.

La tabla ANOVA del modelo es

```
library(car)
Anova(res.lm)

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: cambio
##           Sum Sq Df F value    Pr(>F)
## age       318.91  1 40.7759 0.0001274 ***
## grupo      71.79  1  9.1788 0.0142548 *
## Residuals  70.39  9
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Destaquemos que con la función `summary` aplicado a un modelo lineal: para los factores obtenemos el coeficiente de cada categoría respecto a la de referencia, que en este caso es `grupo==1`, y el p-valor testa si la la media del grupo es igual a la media del grupo de referencia. En el caso que el factor tuviera más de 2 categorías, aparecería un coeficiente para cada categoría menos de la referencia.

Así, con el uso de la función `Anova` del *package* `car` aplicado a un modelo lineal se obtiene un único p-valor para el factor aunque éste tenga más de dos categorías, el cual testa si $\alpha_1 = \dots = \alpha_a = 0$.

Nota: la función `anova` sobre un objeto de la clase `aov` también proporciona la suma de cuadrados y el p-valor del factor y de la covariante. No obstante, el resultado depende del orden en que se introducen los términos en la ecuación ya que `aov` calcula la **suma de cuadrados de tipo I**. Por esta razón se aconseja disponer en `aov` siempre primero la covariable y en segundo lugar el factor. Veamos a continuación las dos especificaciones para comprobar el efecto del orden de los términos en la ecuación:

```
anova(lm(cambio ~ grupo + age, data=mydata))

## Analysis of Variance Table
##
## Response: cambio
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## grupo      1 328.97  328.97  42.062 0.0001133 ***
## age        1 318.91  318.91  40.776 0.0001274 ***
## Residuals  9  70.39    7.82
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(lm(cambio ~ age + grupo, data=mydata))
```

```
## Analysis of Variance Table
##
## Response: cambio
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## age        1 576.09  576.09 73.6594 1.257e-05 ***
```



```
## grupo      1  71.79   71.79  9.1788   0.01425 *
## Residuals  9  70.39    7.82
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

¿Afectan los tratamientos a la covariante?

Cuando los tratamientos afectan a la covariante X al igual que a la variable respuesta principal Y , la variable respuesta resultante es bivalente y el ajuste de covarianza para las medias de tratamiento no es adecuado. En estos casos, debe realizarse un análisis de la respuesta bivariada (X , Y) mediante los métodos de análisis multivariante. El ajuste de covarianza es apropiado si la covariante se mide **antes** de la administración del tratamiento, ya que así los tratamientos todavía no han tenido oportunidad de afectar su valor. Si la covariante se mide al mismo tiempo que la variable respuesta entonces debe verificarse si pudo quedar afectada por los tratamientos, antes de considerar el ajuste del modelo de covarianza.

¿Todos los tratamientos tienen el mismo coeficiente de regresión?

Las comparaciones entre las medias de tratamientos ajustadas son independientes del valor de la covariante si las líneas de regresión para los grupos de tratamiento son paralelas. Si la relación entre Y y X difiere entre los grupos de tratamiento entonces las diferencias entre las medias de tratamiento ajustadas depende de manera crucial del valor de X que se elige para el ajuste. La heterogeneidad de los coeficientes de regresión entre los grupos de tratamiento se parece a la interacción entre los factores de un diseño de tratamiento factorial estándar. Es decir, si la interacción resulta significativa deberemos considerar el modelo de regresión con pendientes diferentes y buscar el óptimo en cada recta por separado para cada tratamiento.

Ejemplo (continuación)

Parar testar si hay interacción entre la covariante y el tratamiento

```
modelo.int <- lm(cambio ~ age*grupo, data=mydata)
Anova(modelo.int)
```

```
## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: cambio
##           Sum Sq Df F value    Pr(>F)
## age       318.91  1 37.3320 0.0002863 ***
## grupo      71.79  1  8.4035 0.0199258 *
## age:grupo   2.05  1  0.2399 0.6374575
## Residuals  68.34  8
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Vemos como el término de interacción no es significativo, con un p-valor de 0.6375. Así pues, se cumple una de las condiciones del análisis de la covarianza, la de que la pendiente entre la covariante y la variable respuesta es la misma para todos los tratamientos.

Comparaciones múltiples

En el caso de que no haya interacción entre la covariante y el factor tratamiento y se detecten diferencias significativas entre grupos, tendrá sentido preguntarse qué grupos difieren, obviamente siempre que el factor tenga más de dos niveles.

Continuando con el ejemplo, si el factor `grupo` tuviera más de dos niveles, se procedería de la misma manera que con los diseños de dos factores sin interacción. Ahora bien, el test de Tukey con la función `HSD.test` del *package* `agricolae` o su equivalente en el paquete base no gestionan correctamente la información del modelo cuando incluye covariables.

En su lugar hay que utilizar el método `glht` del paquete *multcomp*. Aunque en este ejemplo no tiene interés (ya hemos destacado que son solo dos niveles), la sentencia sería:

```
library(multcomp)
summary(glht(res.lm, linfct=mcp(grupo='Tukey')))
```

De forma correcta `glht` proporciona los promedios *lsmeans*, que corresponden a la media de las respuestas de cada nivel calculado en el valor promedio de la covariable mientras que *HSD.test* ignora la información de la concomitante.

Diseño en bloques completamente aleatorizados

En el análisis de la covarianza la media observada de la variable concomitante entre los grupos no será la misma ya que las muestras son finitas y no reproducirán exactamente la media poblacional. Para garantizar que la distribución de la variable concomitante (por ejemplo, la edad) sea exactamente la misma en todos los grupos se puede usar el diseño en bloques.

Este diseño tiene el mismo objetivo que el análisis de la covarianza, es decir, reducir la variabilidad residual y aumentar la potencia para detectar diferencias entre tratamientos. A diferencia del análisis de la covarianza, los tratamientos no son asignados al azar en toda la muestra sino aleatorizados **dentro** de cada **bloque**.

Los pasos que hay que seguir para conformar la muestra en un diseño en bloques son:

1. Definir grupos en la población de estudio: por ejemplo grupos de edad (>30 , $30-40$, $50-60$, $60-70$, >70).
2. Seleccionar a individuos para cada grupo o bloque.
3. Asignar al azar cada uno de los a tratamientos (por ejemplo “A”, “B” y “C”) a los a individuos escogidos de cada bloque.

bloque 1	bloque 2	...	bloque b
A	A	...	C
B	C	...	B
C	B	...	A

Destaquemos que los individuos no se asignan a uno de los bloques ya que en el ejemplo cada individuo tiene su propia edad y no se le puede cambiar en el experimento. Lo mismo pasaría en otros ejemplos que podemos considerar donde interviniera el sexo del paciente, o el hospital de ingreso, o que hubiera diferentes especies de organismo, etc.

Otros ejemplos de diseño en bloques completamente aleatorizados:

- Procesamiento en lotes de muestras: si no puede analizarse el resultado de un experimento en una sola tanda o con un solo aparato de lectura se aleatorizan las muestras dentro de las tandas (o entre los aparatos). En bioinformática se designa muchas veces este tipo de situación como efecto *batch*. Otra típicas situaciones en experimentos de laboratorio es que intervengan diferentes lotes de reactivos, diferentes días o diferentes equipos humanos que serían también tratados como bloques.
- Comparación de 3 procedimientos para el infarto agudo de miocardio (IAM): se elijen 4 hospitales al azar y para cada hospital se elijen 3 pacientes ingresados por IAM también al azar. Finalmente se aleatorizan los 3 procedimientos entre los 3 pacientes de cada hospital. En este caso los bloques son los hospitales.
- Comparación de 4 fertilizantes para la producción de manzanas: se divide el terreno en 6 parcelas homogéneas. Para cada parcela, se escogen al azar 4 manzanos y a cada uno de ellos se le asigna uno de los 4 fertilizantes al azar. Y hacemos lo mismo para cada parcela. Aquí la parcela hace el papel de bloque.
- Comparación de 3 tipos de entrenamiento para atletas de velocidad: se reclutan 10 atletas profesionales y cada atleta hace una prueba después de cada entrenamiento de tal manera

que todos los atletas realizan los 3 tratamientos una vez y en orden aleatorio (por ejemplo el primer atleta le toca primero el entrenamiento B, luego el A y por último el C, mientras que el segundo atleta le toca primero realizar el A, luego el B y finalmente el C). En este ejemplo, podemos considerar como bloque cada atleta. Ahora bien, en los estudios en ciencias de la vida donde un mismo individuo es medido varias veces en realidad se analizan con los denominados modelos de medidas repetidas que tratamos en la unidad 10.

Interacción en los diseños de un factor con bloques

En el diseño de **un factor en bloques completamente aleatorizados** se dispone de **un único dato** para cada combinación de bloque y tratamiento. Con este diseño se logra poder analizar los dos factores con el mínimo de muestras necesaria. Ahora bien, al disponer de una única réplica por condición experimental no se puede incluir la interacción en el modelo.

Se pueden considerar situaciones donde sea factible obtener más réplicas, por ejemplo reclutando el doble (o el triple, etc.) de individuos por bloque y asignar a cada dos de ellos (o a cada tres, etc.) a uno de los tratamientos. Los diseños de un factor en bloques completamente aleatorizado con réplicas pueden abordarse a nivel formal y técnico como los modelos mixtos que se han estudiado en la unidad 8. La eventual inclusión de la interacción en el modelo hace necesaria su interpretación y afectaría a cómo se construye la tabla ANOVA y cómo se estiman los parámetros del modelo dependiendo de si el factor es de efectos fijos o aleatorios.

Sin embargo muchos autores consideran que si se identifica una fuente de variabilidad como un factor bloque no debe incluirse su interacción en el modelo con ningún otro factor, aunque sea posible resolver dicha interacción al disponer de dos o más réplicas en cada celda. Según estos autores el argumento principal para no incluir la interacción es que su interpretación tienen dudosa utilidad práctica y prefieren sacrificarla aunque se incremente el error residual del modelo. Algunos de estos autores llegan incluso a aconsejar no testar su significación puesto que el bloque es en realidad un factor de interés secundario. Por tanto, en su opinión, los bloques deben incluirse en el modelo para lograr disminuir el residuo pero luego debe ignorarse cualquier test asociado a ellos.

Finalmente destacaremos que R.A.Fisher en su obra *The Design of Experiments* que ya hemos mencionado en otras unidades estableció el bloqueo como uno de los tres principios fundamentales del diseño de experimentos junto con la aleatorización y la replicación.

Ejemplo

Se considera que con el ejercicio físico el pH de la sangre tiende a disminuir a causa de la acumulación de CO_2 y de iones H^+ en la musculatura. Que el pH en sangre baje por debajo de 6,8 o que suba por encima de 7,4 puede provocar una crisis grave, con la posibilidad de muerte. Afortunadamente hay mecanismos de regulación que tienden a mantener el pH en niveles adecuados. En un estudio llevado a cabo en los Estados Unidos se quiere estudiar la relación entre el pH medio en sangre y el ejercicio físico. Se consideran tres regímenes de ejercicio intenso (A, B y C), y por cuestiones administrativas, los individuos del estudio fueron elegidos al azar de 6 hospitales elegidos también al azar. Los niveles de pH en sangre medidos en estos pacientes fueron:

Régimen de ejercicio	H1	H2	H3	H4	H5	H6
A	7,29	7,20	7,15	7,23	7,50	7,20
B	7,26	7,16	7,08	7,11	7,16	6,89
C	7,18	7,13	6,99	7,03	7,11	6,90

Modelo

- Diseño de un factor (régimen) en bloques (hospitales), los individuos aleatorizados dentro de los bloques, pero no globalmente (no es posible cambiarlos de hospital).
- Factor régimen: fijo con 3 niveles (sólo queremos estudiar estos regímenes).
- Factor hospital: aleatorio con 6 niveles.
- Variable respuesta: pH
- Modelo: $y_{ij} = \mu + \alpha_i + B_j + e_{ij}$, $i = 1, 2, 3$ (régimen), $j = 1, \dots, 6$ (hospitales)
- Restricción $\sum_{i=1}^3 \alpha_i = 0$
- Suposiciones: $B_j \sim N(0, \sigma_B^2)$ indep.

Tabla ANOVA

```
# entrada de datos
pH <- c(7.29, 7.20, 7.15, 7.23, 7.50, 7.20,
        7.26, 7.16, 7.08, 7.11, 7.16, 6.89,
        7.18, 7.13, 6.99, 7.03, 7.11, 6.90)
regim <- rep(1:3, each=6)
hosp <- rep(1:6, 3)
regim <- factor(regim, labels=c("A","B","C"))
hosp <- factor(hosp, labels=paste0("hosp",1:6))

# modelo
modelo<-aov(pH ~ regim + hosp)
anova(modelo)
```

```
## Analysis of Variance Table
##
## Response: pH
##          Df    Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## regim      2  0.135744  0.067872  11.6109  0.002471 **
## hosp       5  0.150161  0.030032   5.1376  0.013611 *
## Residuals 10  0.058456  0.005846
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

En un modelo de bloques como el de este ejemplo la tabla ANOVA es idéntica que si se consideran ambos factores de efectos fijos, aunque el hospital es claramente un factor de efectos aleatorios. Además, como hemos expuesto anteriormente, para algunos autores no va a interesar contrastar la hipótesis asociada a la significación del factor hospital: en un diseño de un factor con bloques completamente aleatorizado sólo les interesa comparar los tratamientos.

Como el p-valor del régimen es inferior a 0,05, diremos que el régimen es significativo y por lo tanto que hay diferencias entre alguno de los tres tratamientos.

Comparaciones múltiples

Llegado a este punto nos podemos preguntar entre qué regímenes hay diferencias. Podemos proceder de la misma manera que para los diseños de un factor. Por ejemplo, si usamos el método de Tukey:

```
library(agricolae)
HSD.test(modelo, "regim", console=TRUE)

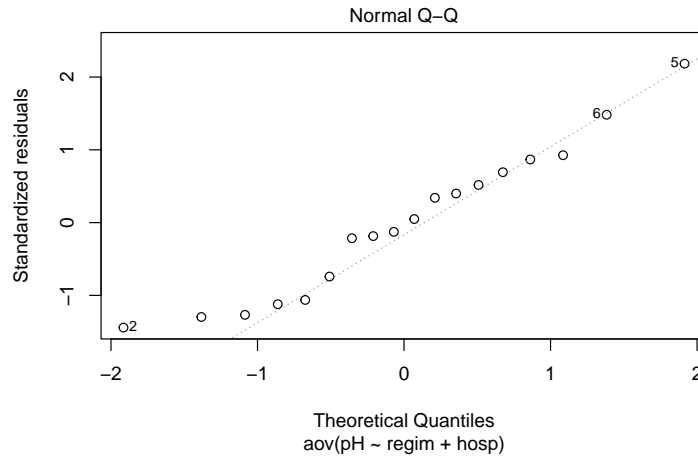
##
## Study: modelo ~ "regim"
##
## HSD Test for pH
##
## Mean Square Error:  0.005845556
##
## regim,  means
##
##      pH      std r  Min  Max
## A 7.261667 0.1254459 6 7.15 7.50
## B 7.110000 0.1239355 6 6.89 7.26
## C 7.056667 0.1030857 6 6.90 7.18
##
## Alpha: 0.05 ; DF Error: 10
## Critical Value of Studentized Range: 3.876777
##
## Minimum Significant Difference: 0.1210063
##
## Treatments with the same letter are not significantly different.
##
##      pH groups
## A 7.261667    a
## B 7.110000    b
## C 7.056667    b
```

El tratamiento A es el que proporciona una media más alta de pH, mientras que los regímenes B y C son equivalentes (no podemos decir que sean diferentes).

Validación del modelo

- Normalidad: Para testar si hay normalidad, se procede como en el caso de un factor, o sea, mediante un QQ-Plot para los residuos y/o el test de Shapiro-Wilks:

```
plot(modelo, which=2)
```



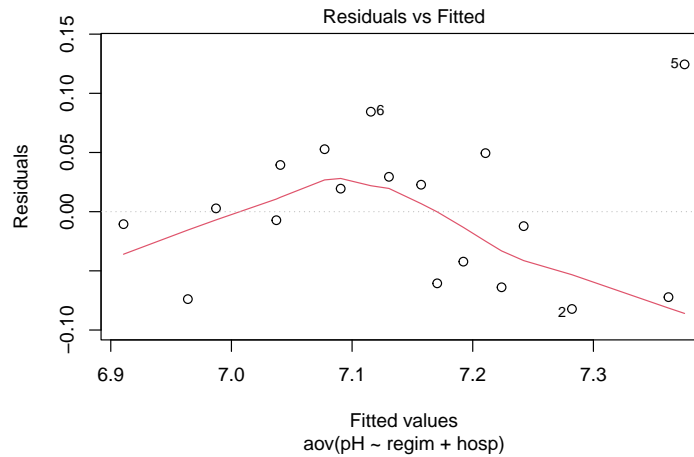
```
shapiro.test(modelo$residuals)
```

```
##  
## Shapiro-Wilk normality test  
##  
## data:  modelo$residuals  
## W = 0.95593, p-value = 0.5253
```

Tanto a partir del QQ-Plot (puntos alrededor de la diagonal), como el test de Shapiro-Wilks (p-valor $> 0,05$), concluimos que los residuos son normales.

- Homocedasticidad: En este diseño, como sólo tenemos una réplica, no se puede realizar el test de Levene que requiere de más de un dato por condición experimental. Así pues, sólo se puede verificar la premisa de homocedasticidad mediante el gráfico de residuos versus valores predichos.

```
plot(modelo, which=1)
```



Se intuye que la dispersión de los puntos es relativamente homogénea a lo largo del eje de las “x”. Por lo tanto, podemos concluir que no hay evidencias para dudar de la homocedasticidad.

- Independencia: asumiendo que el diseño está bien aleatorizado dentro del bloque y que las muestras son representativas de la población se puede garantizar esta premisa.

Temas

9.1 Modelo de un factor y una covariable: análisis de la covarianza.

9.2 Diseño de bloques completamente aleatorizados

Materiales de estudio

Temario del curso	Referencia bibliográfica (libro Oehlert)
9.1, y 9.2	Pags. 453-462
9.3	Pags. 315-324

Actividades complementarias

Resolver la actividad no evaluable de la unidad 9 publicada en el campus de la asignatura.