



ขนาดตัวอย่างสำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป (Sampling Sizes for Simple Comparative tests)

รศ.ดร.ภก.เพียรกิจ แดงประเสริฐ
วิทยาลัยเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

เพื่อให้ผู้อ่านสามารถ

1. อธิบายทฤษฎีที่ใช้ในการกำหนดขนาดของตัวอย่างสำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป
2. คำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป
3. นำวิธีการเลือกขนาดตัวอย่างไปใช้ได้เหมาะสม

บทคัดย่อ

การเลือกขนาดตัวอย่าง (sample size) เพื่อใช้สำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป (simple comparative tests) เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองว่าแตกต่างจากค่าที่กำหนดเป็นมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญมากหรือน้อยเพียงใด จำเป็นต้องอาศัยหลักสถิติความน่าจะเป็น (probability) ช่วยในการคำนวณหาขนาดของตัวอย่างที่มีจำนวนที่เหมาะสม เพื่อประกันได้ว่าสามารถแปลผลการทดลองได้อย่างแม่นยำ ที่ระดับความน่าจะเป็นที่มีค่าสูงพอตามที่กำหนดขึ้น ถ้าต้องการความแม่นยำในการเปรียบเทียบผลการทดลองมากขึ้น ก็จำเป็นต้องใช้ขนาดตัวอย่างจำนวนมากขึ้น การใช้หลักสถิติความน่าจะเป็น สามารถช่วยในการกำหนดจำนวนตัวอย่างที่ต้องการให้มีขนาดน้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ที่จะทำให้การแปลผลการทดลองมีความน่าจะเป็นสูงสุดตามต้องการ ขนาดของตัวอย่างที่กำหนดขึ้นจะมีจำนวนมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระดับความน่าจะเป็นที่ต้องการให้การแปลผลมีความแม่นยำ ตลอดจนค่าของความแตกต่างที่กำหนดขึ้นว่าถ้าเกินกว่านี้ถือว่ามีความสำคัญ (practically significant difference) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของประชากร ที่ทำการตรวจวัดซึ่งถือว่ามีกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) บทความนี้กล่าวถึงวิธีการคำนวณหาขนาดตัวอย่างสำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบโดยทั่วไป โดยอธิบายถึงที่มาของสูตรที่ใช้ใน

การกำหนดขนาดตัวอย่าง และตัวอย่างของการนำสูตรดังกล่าวไปใช้ในการทดลองเชิงเปรียบเทียบในกรณีต่าง ๆ

คำสำคัญ : ขนาดตัวอย่าง การทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป ความน่าจะเป็น

บทนำ

ในการทดลองทางวิทยาศาสตร์มักจะมีคำถามเรื่องขนาดของตัวอย่าง (sample size) ที่จะใช้ในการทดลอง เนื่องจากต้องการข้อมูลที่เพียงพอจากการทดลองโดยใช้จำนวนของตัวอย่างที่น้อยที่สุด เพื่อที่จะสามารถตอบคำถามของวัตถุประสงค์ของการทดลองได้ ซึ่งทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายและลดระยะเวลาในการดำเนินการทดลอง โดยทั่วไปการคำนวณหาขนาดของตัวอย่างในการทดลองเชิงเปรียบเทียบซึ่งเกี่ยวข้องกับกลุ่มตัวอย่าง 1 กลุ่มที่เปรียบเทียบผลการทดลองกับค่าที่กำหนดค่าหนึ่ง หรือ 2 กลุ่มที่เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างกลุ่มว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ สามารถทำได้โดยใช้ความรู้เกี่ยวกับค่าระดับความมีนัยสำคัญคือค่า α และ β ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และค่าความแตกต่างที่วัดได้ที่กำหนดขึ้นมามีนัยสำคัญในทางปฏิบัติ (practically significant, Δ) ในการคำนวณหาขนาดของตัวอย่าง

อย่างไรก็ตามในบางสถานการณ์การเลือกขนาดของตัวอย่างมีข้อจำกัด อาจเนื่องมาจากกำหนดไว้โดยข้อกำหนดที่เป็นทางการ (official specifications) ข้อบังคับ (regulations) ข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่าย และ/หรือการมีอยู่ของหน่วยตัวอย่าง (sample units) เช่น ผู้ป่วย จำนวนชิ้นที่ผลิตขึ้น (manufacturing items) สัตว์ทดลอง เป็นต้น ตัวอย่างของการทดสอบที่กำหนดขนาดตัวอย่างให้คงที่ได้แก่การทดสอบความสม่ำเสมอของตัวยา (content uniformity) ตาม USP

ในกรณีของการทดลองทางคลินิกที่มีค่าใช้จ่ายเป็นข้อจำกัดหลัก ทำให้จำเป็นต้องจำกัดจำนวนผู้ป่วยที่ใช้ในการทดลอง เป็นเหตุให้การทดลองมีความไว (sensitive) ต่อการจำแนกความแตกต่างลดลง และเป็นการยากที่จะจำแนกหาความแตกต่างทางสถิติของการเปรียบเทียบการรักษา (comparative treatment) ถ้าเกิดขึ้นจริง ดังนั้นการพิจารณาหาขนาดของตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองทางคลินิกแบบเปรียบเทียบ (comparative clinical trials) จึงมีความสำคัญ เพราะการทดลองที่มีขนาดใหญ่เกินไปอาจทำให้แปลผลความแตกต่างที่มีค่าน้อยซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางคลินิกว่ามีนัยสำคัญ ในขณะที่การทดลองมีขนาดเล็กมักจะแปลผลความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางคลินิกไปว่าไม่มีนัยสำคัญ ด้วยเหตุนี้การเลือกขนาดของตัวอย่างที่เหมาะสมจึงสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการทดลองทางคลินิก เพื่อให้มีทั้งความปลอดภัยและมีประสิทธิผล (efficacy)

หลักการเลือกขนาดตัวอย่างสำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป¹

ในการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไปจะตั้งสมมติฐานสำหรับการทดลองดังนี้

$$H_0: \Delta = 0$$

$$H_a: \Delta > 0$$

โดยที่ Δ คือความแตกต่างของผลการทดลองที่มีนัยสำคัญที่กำหนดขึ้นค่าหนึ่ง

ถ้ากำหนดว่าค่าความแตกต่างของการทดลองที่กำหนดขึ้น (Δ) ทำให้เกิดการยอมรับ H_0 คือยอมรับว่าความแตกต่างดังกล่าวไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จะมีโอกาสหรือความเสี่ยงเท่ากับ 5% ที่จะ

สรุปผิด คือสรุปว่าความแตกต่างของผลการทดลองที่กำหนดค่าขึ้นนั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความจริงแล้วไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระดับความน่าจะเป็นที่ยอมให้เกิดความเสี่ยงที่จะสรุปผิดคือค่าระดับ α [หมายถึง ค่าระดับนัยสำคัญ (significance level; α)] ซึ่งต้องการให้มีค่าความเสี่ยงน้อยที่สุด โดยทั่วไปจะกำหนดไว้ที่ 5%

จากนั้นกำหนดให้ความน่าจะเป็นที่ค่าความแตกต่างของการทดลองที่กำหนดขึ้นคือค่า Δ ดังกล่าวจะมีนัยสำคัญจริงที่ระดับความน่าจะเป็นสูง เช่น 90% ดังนั้นมีโอกาสหรือความเสี่ยงที่จะสรุปผิด คือสรุปว่าค่าความแตกต่างดังกล่าวไม่มีนัยสำคัญแต่ความจริงแล้วมีนัยสำคัญเท่ากับ 10% ระดับความเสี่ยงดังกล่าวคือค่าระดับ β ซึ่งต้องการให้มีค่าต่ำ สำหรับความน่าจะเป็นที่สรุปถูกต้องว่าค่าความแตกต่างของการทดลองที่กำหนดขึ้นมีนัยสำคัญจริงเรียกว่า power ซึ่งเท่ากับ $1 - \beta$

การที่จะกำหนดค่า Δ ที่จะให้ระดับค่า α และ β มีค่าต่ำตามที่ต้องการได้ จำเป็นต้องทราบค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (σ) ของผลการทดลอง เพื่อนำมาคำนวณหาว่าจำเป็นต้องเลือกขนาดของตัวอย่าง (n) เท่ากับเท่าไรเพื่อที่จะได้ค่า Δ , α และ β ตามที่กำหนด

การเลือกขนาดของตัวอย่างที่ถูกต้องสำหรับการทดลองเพื่อเปรียบเทียบอย่างง่ายนั้น จำเป็นต้องมีข้อมูล เพื่อใช้ในการคำนวณหาขนาดของตัวอย่างสำหรับตอบจุดประสงค์ของการทดลอง ข้อมูลดังกล่าวได้แก่

1. ต้องกำหนดค่าระดับ α คือ ความเสี่ยงในการสรุปว่าผลจากการทดลองที่เกิดขึ้น (treatment) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้ง ๆ ที่ในความเป็นจริงไม่แตกต่าง ระดับความมีนัยสำคัญนี้มักนิยามกำหนดไว้ที่ 5% ($\alpha = 5\%$)
2. กำหนดค่าความแตกต่างที่วัดได้ที่ถือว่ามีความสำคัญในทางปฏิบัติ (Δ) (practically significant difference, Δ) อย่างระมัดระวัง โดยดูจากขนาดของผลกระทบของความแตกต่างดังกล่าว เช่น ในการเปรียบเทียบเวลาที่ตัวอาสาละลาออกมา 90% จากตำรับยาเม็ด 2 ตำรับ ความแตกต่าง 1 หรือ 2 นาที ถือได้ว่าไม่มีความหมายอะไร แต่ความแตกต่าง 10 หรือ 20 นาที ถือได้ว่าจะมีผลกระทบตามมาในแง่ของการดูดซึมของยา
3. กำหนดค่าความผิดพลาดเท่ากับ β สำหรับค่า Δ ที่กำหนดขึ้น ถ้ามีความแตกต่างเท่ากับหรือมากกว่า Δ ขึ้นไปถือได้ว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความน่าจะเป็นเท่ากับ $1 - \beta$ ดังนั้น β คือความเสี่ยงหรือความน่าจะเป็นในการสรุปผิดว่าข้อมูลของการทดลองที่ทำกับหรือมากกว่าค่า Δ ดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้ง ๆ ที่ในความเป็นจริงแล้วข้อมูลทั้งสองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กำหนดค่า β และ Δ ก่อนเริ่มการทดลอง โดยมักจะกำหนดค่า β ไว้ที่ระหว่าง 5 และ 20% อย่างไรก็ตามถ้าผลจากการสรุปเกี่ยวกับความแตกต่างที่มีนัยสำคัญดังกล่าวนี้มีผลที่สำคัญตามมา เช่น อาจทำให้ละเลยต่อการรักษาในโรคร้ายแรง ใน

กรณีนี้อาจต้องกำหนดให้ค่า β มีค่าน้อยถึง 1% เพื่อให้ไม่เกิดความผิดพลาดในการละเลยถึงนัยสำคัญของความแตกต่าง

4. ความรู้เกี่ยวกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (σ) สำหรับการทดสอบนัยสำคัญ (significant test) เป็นสิ่งจำเป็น ถ้าไม่มีข้อมูลของความเบี่ยงเบน อาจต้องใช้การคาดคะเนที่เป็นผลจากการศึกษา

การพิจารณาขนาดตัวอย่างของการทดลองเปรียบเทียบทั่วไปสำหรับตัวแปรที่มีการกระจายแบบปกติ^{1,2,3}

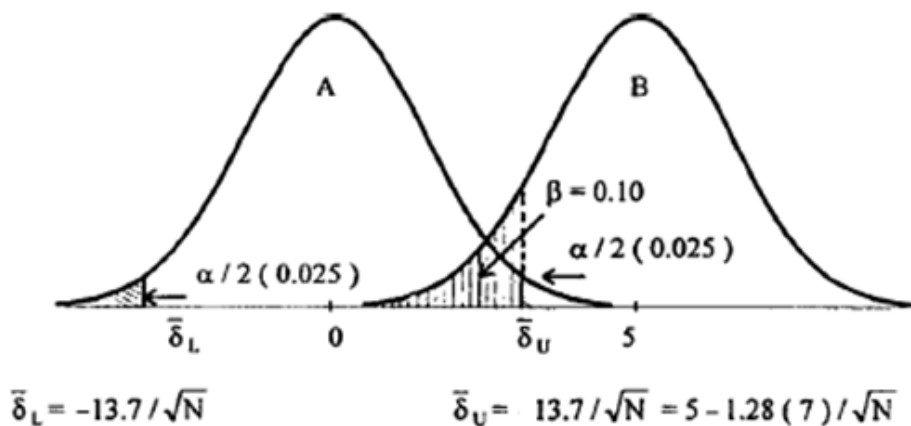
รูปที่ 1 แสดงความแตกต่างของความดันโลหิต (blood pressure) โดย Curve A เป็น H_0 โดยที่จะมีค่าความแตกต่างของความดันระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาจริง (test) กับ กลุ่มที่ให้ยาหลอก (placebo) เท่ากับ 0 และมีค่า $\sigma = 7$ mmHg ถ้ากำหนดค่า $\alpha = 0.05$ (ระดับความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ H_0 เท่ากับ 5%) จะได้ค่า ระดับความเชื่อมั่น (confidence level; Z) เท่ากับ 1.96 (รูปที่ 2) ซึ่งการที่จะได้ค่านี้นี้จำเป็นต้องมีค่าที่แตกต่างกันไปจากค่าเฉลี่ย (mean difference, $\bar{\delta}$) ที่สอดคล้องกับค่า Z ดังกล่าว ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$Z = \frac{\bar{\delta} - \Delta}{\sigma/\sqrt{N}} = \frac{\bar{\delta} - 0}{7/\sqrt{N}}$$

ดังนั้นคำนวณหาความแตกต่าง $\bar{\delta}$ ที่จะทำให้ได้ค่า $Z = 1.96$ ได้จากสูตร

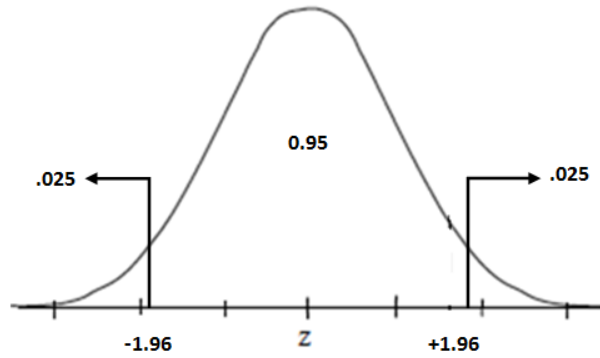
$$|\bar{\delta}| \geq \frac{\sigma Z}{\sqrt{N}} = \frac{7(1.96)}{\sqrt{N}} = \frac{13.7}{\sqrt{N}}$$

โดย $N =$ จำนวนตัวอย่าง



รูปที่ 1. แผนภาพอธิบายการคำนวณขนาดของตัวอย่าง โดยมีพื้นฐานจากการกำหนดค่า α , β , Δ และ σ :

$$\alpha = 0.05, \beta = 0.10, \Delta = 5, \text{ และ } \sigma = 7; H_0: \Delta = 0, H_a: \Delta = 5^1$$



รูปที่ 2. ค่า Z ที่สอดคล้องกับความน่าจะเป็นที่จะยอมรับ H_0 เท่ากับ 95% และความน่าจะเป็นที่จะปฏิเสธ H_0 เท่ากับ 5% เป็นลักษณะของ two-sided test²

ถ้าค่า $\bar{\delta}$ มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ $13.7/(\sqrt{N})$ หรือมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ $-13.7/(\sqrt{N})$ แล้วจะปฏิเสธ H_0 คือความแตกต่างที่สังเกตพบมีนัยสำคัญ

ถ้ากำหนดให้ในการทดลองนี้ยอมรับให้ความแตกต่างที่สังเกตพบ (Δ) เท่ากับ 5 mmHg เป็นระดับที่มีนัยสำคัญในทางปฏิบัติ Curve B แสดงถึงการกระจายของความแตกต่างของความดันที่ปฏิเสธ H_0 คือ alternative H_a : $\Delta = 5$ เป็นความจริง คือมีนัยสำคัญ

การยอมรับ H_a คือยอมรับว่าผลต่างของความดันเท่ากับ 5 mmHg มีนัยสำคัญจริง ที่ระดับความเชื่อมั่นหนึ่ง ในกรณีนี้กำหนดค่า β เท่ากับ 0.10 เท่ากับว่ามีความน่าจะเป็นเท่ากับ 90% ที่จะสรุปว่าค่าความแตกต่างของความดันเท่ากับ 5 mmHg มีนัยสำคัญจริง และมีความน่าจะเป็น 10% ที่จะเกิดความผิดพลาดในข้อสรุปดังกล่าว คือไม่ยอมรับ H_a ทั้งที่ในความจริงผลต่างของความดันเท่ากับ 5 mmHg นั้นมีนัยสำคัญ ดังนั้นถ้ากำหนดให้ความแตกต่างของความดันที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 5 mmHg เป็นผลที่ถือว่ามีความนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 90% ($1 - \beta$) แล้วโอกาสที่จะเกิดความผิดพลาดมีเพียง 10% ($\beta = 0.1$)

จากรูปที่ 1 พื้นที่ปฏิเสธ H_0 คือบริเวณที่พบว่าความแตกต่างของความดันที่เกิดขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($\Delta > 0$) ไปตกอยู่ในบริเวณที่ยอมรับว่าความแตกต่างระหว่างความดันที่ 5 mmHg ($\Delta = +5$) ถือว่ามีความนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 90% ($1 - \beta = 0.9$) ดังนั้นสามารถกำหนดค่าความดันที่เพิ่มขึ้น 5 mmHg ว่าเป็นขอบเขตที่แสดงถึงการเพิ่มความดันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 90% โดยมีค่า $\alpha = 0.05$ และ $\beta = 0.10$ ได้ โดยมีค่า $\bar{\delta}_U$ ในรูปเป็นค่าเดียวกันในเทอมของค่าสัมบูรณ์ $|\bar{\delta}|$

ถ้ากำหนดค่า β เท่ากับ 10% หรือ 0.10 ดังนั้นบริเวณที่ปฏิเสธ H_a แต่ยอมรับ H_0 จึงแทนด้วยพื้นที่ของ curve B ที่มีค่าน้อยกว่า $\bar{\delta}_U$ ของ curve A คือน้อยกว่า $13.7/\sqrt{N}$ เมื่อ $\Delta = 5$ จากการหาค่า Z สำหรับความ

น่าจะเป็นเท่ากับ 0.90 ที่จะยอมรับ H_a และความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.10 ที่จะปฏิเสธ H_a ซึ่งเป็น one-sided test พบว่าเท่ากับ -1.28 (รูปที่ 3)

จากสูตร

$$Z_\beta = \frac{\bar{\delta} - \Delta}{\sigma/\sqrt{N}}$$

$$\bar{\delta} = \Delta + Z_\beta \left(\frac{\sigma}{\sqrt{N}} \right)$$

Curve B มี mean difference (Δ) เท่ากับ 5 และ $\sigma = 7$ และค่า $Z_\beta = -1.28$

ดังนั้น

$$\bar{\delta} = 5 - 1.28(7/\sqrt{N})$$

ดังนั้นต้องการให้ค่า δ ของ curve A และ B เท่ากับค่าเดียวกันคือ $|\bar{\delta}|$ ซึ่งเท่ากับ $13.7/(\sqrt{N})$ ทำให้ได้ความสัมพันธ์ซึ่งใช้ในการคำนวณหาขนาดของตัวอย่าง (N) ได้ดังต่อไปนี้

$$\frac{13.7}{\sqrt{N}} = 5 - \frac{1.28(7)}{\sqrt{N}}$$

$$N = \frac{(13.7 + 8.96)^2}{5^2} = 20.5 \cong 21.$$

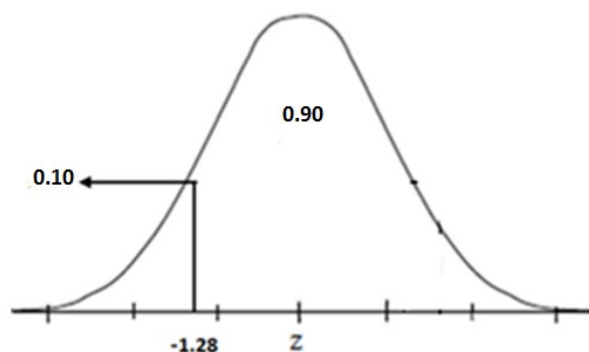
โดยสรุปจากความสัมพันธ์ข้างบน สามารถนำมาสร้างสมการหาค่าขนาดของตัวอย่าง (N) ได้ดังต่อไปนี้

$$\bar{\delta} = (\sigma Z)/\sqrt{N} = \Delta + Z_\beta (\sigma/\sqrt{N})$$

$$N = \left(\frac{\sigma}{\Delta} \right)^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2$$

สามารถใช้สมการนี้คำนวณหาค่า N ได้ ถ้าทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$N = (7/5)^2 \cdot (1.96 + 1.28)^2 = 20.58 \sim 21$$



รูปที่ 3. ค่า Z ที่สอดคล้องกับความน่าจะเป็นที่จะยอมรับ H_a เท่ากับ 90% และความน่าจะเป็นที่จะปฏิเสธ H_a เท่ากับ 10% เป็นลักษณะของ one-sided test²

ตารางที่ 1. ขนาดของตัวอย่างที่ขึ้นกับค่าของ β เมื่อ $\Delta = 5$ และ $\sigma = 7$ สำหรับ paired test ($\alpha = 0.05$)¹

| Beta (%) | Sample size, N |
|----------|----------------|
| 1 | 36 |
| 5 | 26 |
| 10 | 21 |
| 20 | 16 |

ดังนั้นการใช้ขนาดของตัวอย่างเท่ากับ 21 จะทำให้ได้การทดสอบทางสถิติ (statistical test) ที่มีค่า 90% power ($1-\beta = 90\%$) ต่อ alternative (H_a) มีค่าความแตกต่าง (Δ) เท่ากับ 5 ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 5% ($\alpha = 5\%$) การเลือกใช้ค่า β หรือ power ($1-\beta$) ที่ต่างกัน จะมีผลต่อจำนวนของตัวอย่างที่คำนวณได้ดังแสดงในตารางที่ 1

สรุปจากตัวอย่างนี้คือทำการทดสอบสมมติฐาน (H_0) ที่ว่าความแตกต่างของความดันโลหิตของกลุ่มตัวอย่างที่ให้ยาจริง (test) กับกลุ่มที่ให้ยาหลอก (placebo) เท่ากับ 0 โดยกำหนดระดับความเสี่ยงที่จะสรุปผิด (α) ไว้ที่ระดับต่ำ เช่น 5% และพิจารณาว่าความแตกต่างของระดับความดันเลือด 5 mmHg ($\Delta = 5$) ถือได้ว่ามากพอที่จะแปลผลได้ว่าเป็นความแตกต่างที่มีนัยสำคัญในทางปฏิบัติ (practical significance) ดังนั้นเท่ากับว่าอีกสมมติฐานทางเลือก (alternative) ของการทดสอบ คือ H_a คือสมมติฐานที่ว่าความแตกต่างของความดันโลหิต ≥ 5 mmHg มีนัยสำคัญ ดังนั้นกำหนดค่า $\Delta = 5$ และสามารถกำหนดระดับความเสี่ยงที่จะสรุปผิดของ H_a (β) ไว้ที่ระดับค่อนข้างต่ำ ซึ่งโดยทั่วไปมักอยู่ระหว่าง 5% ถึง 20% ในตัวอย่างกำหนดไว้ที่ 10% จากค่า α และ β ที่กำหนดสามารถหาค่า Z_α และ Z_β สำหรับ H_0 และ H_a ได้ตามลำดับ จากนั้นคำนวณหาค่าความแตกต่างของความดันโลหิตโดยเฉลี่ย (\bar{D}) ที่ทำให้ได้ค่า Z_α และ Z_β ดังกล่าว โดยใช้ข้อมูลของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่าง (σ) โดยค่า \bar{D} ทั้งคู่ต้องมีค่าเท่ากับ ทำให้สามารถคำนวณหาค่า N ในสมการของ \bar{D} ได้ว่าต้องมีค่าเท่าใดจึงทำให้ค่า \bar{D} เท่ากัน

ในสถานการณ์ส่วนมากแล้วไม่ทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จึงจำเป็นต้องทำการประมาณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมาก่อนเพื่อใช้ในการคำนวณหาขนาดของตัวอย่าง (N) ในกรณีนี้จะนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ประมาณได้ไปแทนค่า σ ในสมการ แต่จะทำให้ได้ค่าตัวเลขที่น้อยไปจากสมการ เนื่องจากค่าของ Z_α และ Z_β มีค่าน้อยกว่าค่า t-value ที่สอดคล้องกันซึ่งควรจะใช้ในสมการแทนค่า Z เมื่อไม่ทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่แท้จริง วิธีการแก้ไขทำได้โดยใช้ค่า Z ในการคำนวณตามสมการเช่นเดิมแต่ให้มีการเพิ่มตัวอย่างจำนวนหนึ่งขึ้นมาเพื่อชดเชยการที่ใช้ค่า Z แทนค่า t ในสมการ โดยเสนอให้มีค่าเท่ากับ $0.5Z\alpha^2$

ตัวอย่างสำหรับ single-sample test

ตัวอย่างที่ 1

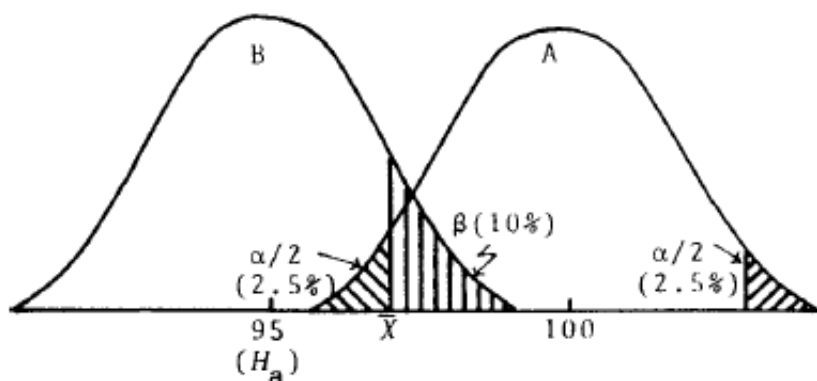
พิจารณาถึงการทดสอบปริมาณยาเฉลี่ยในยาเม็ดที่ผลิตขึ้นเทียบกับปริมาณที่ระบุบนฉลาก คือ 100 mg ต่อเม็ด โดยกำหนดค่า β เท่ากับ 10% สำหรับความแตกต่าง -5 mg ($\Delta = 5$) ซึ่งสอดคล้องกับ $Z_\beta = 1.28$ (one-sided test, ตารางที่ 2) โดยจะทดสอบสมมติฐาน H_0 แบบสองด้าน (two-sided test) ที่ระดับความมีนัยสำคัญเท่ากับ 95% ($\alpha = 5\%$) ซึ่งสอดคล้องกับ $Z_\alpha = 1.96$ (ตารางที่ 2) ถ้ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (σ) เท่ากับ 3 ต้องสุ่มยาเม็ดมาจำนวนกี่เม็ดมาวิเคราะห์หาปริมาณด้วยยาเฉลี่ยต่อเม็ด สรุปก็คือเมื่อทำการกำหนดค่า power (1- β) เป็น 90% เพื่อจะตรวจหาความแตกต่างของปริมาณยาที่แท้จริง (95 mg หรือน้อยกว่า) กับปริมาณที่ระบุบนฉลาก (100 mg) ว่าต้องใช้จำนวนตัวอย่างยาเม็ดจำนวนกี่เม็ด โดยทำการทดสอบแบบสองด้านที่ระดับความมีนัยสำคัญที่ 95% ($\alpha = 5\%$) ดังแสดงในรูปที่ 4

$$N = [3/5]^2 (1.96 + 1.28)^2 = 3.8$$

จากการคำนวณได้ว่าให้สุ่มยามา 4 เม็ดมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณยาในแต่ละเม็ด ก็จะเพียงพอที่จะสอดคล้องกับค่า α และ β ที่กำหนด

ตารางที่ 2. ค่าของ Z_α และ Z_β สำหรับการคำนวณหาขนาดตัวอย่าง ที่เรียกเก็บ¹

| | Z_α | | Z_β |
|-----|------------|-----------|-----------|
| | One-sided | Two-sided | One-sided |
| 1% | 2.32 | 2.58 | 2.32 |
| 5% | 1.65 | 1.96 | 1.65 |
| 10% | 1.28 | 1.65 | 1.28 |
| 20% | 0.84 | 1.28 | 1.84 |



รูปที่ 4. แผนภาพอธิบายการคำนวณขนาดของตัวอย่าง โดยมีพื้นฐานจากการกำหนดค่า α , β , Δ และ σ :

$$\alpha = 0.05, \beta = 0.10, \Delta = 5, \text{ และ } \sigma = 3; H_0: \Delta = 0, H_a: \Delta = 5^1$$

แต่ถ้าไม่ทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของยาเม็ดที่ผลิตทั้งหมด และใช้ค่าประมาณการของความเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 3 แทนในสมการ การหาจำนวนตัวอย่างของยาเม็ดที่ถูกต้องมากกว่าสามารถทำได้ โดยเพิ่มค่า $0.5Z\alpha^2$ ดังนั้น

$$N = 3.8 + 0.5(1.96)^2 = 3.8 + 1.92 = 5.2$$

กล่าวคือจำนวนตัวอย่างจะเป็น 6 เม็ด

ตัวอย่างที่ 2

ในกรณีที่จะตรวจน้ำหนักเฉลี่ยของยาเม็ดว่าความแตกต่างจากน้ำหนักเป้าหมาย โดยกำหนดให้ความแตกต่างดังกล่าวเท่ากับ 3 mg ขึ้นไปมีนัยสำคัญ ($\Delta = 3$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 90% ($\alpha = 0.10$) ทำให้มีโอกาสที่จะสรุปว่าความแตกต่าง 3 mg ขึ้นไปดังกล่าวเกิดขึ้นที่ รุนการผลิตยาเม็ดดังกล่าวได้น้ำหนักเป็นไปตามเป้าหมายควรจะกำหนดให้มีค่าน้อย เช่น 5% ($\beta = 0.05$) ถ้าทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานว่าเท่ากับ 10 ($\sigma = 10$) สามารถคำนวณว่าต้องสุ่มตัวอย่างจำนวนเท่าไรมาทำการทดสอบหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักยาเม็ดว่าเกินกว่าเป้าหมายเท่ากับ 3 mg ขึ้นไปหรือไม่ ถ้าไม่เกินก็ผ่านการทดสอบที่ระดับ $\alpha = 0.10$ และ $\beta = 0.05$

$$\begin{aligned} N &= (\sigma/\Delta)^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2 \\ &= (10/3)^2 (1.96 + 1.28)^2 \\ &= 116.64 \\ &= 117 \text{ เม็ด} \end{aligned}$$

ตัวอย่างการพิจารณาหาขนาดตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสองกลุ่ม¹

สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (mean) ของ 2 กลุ่มการทดลองที่เป็นอิสระต่อกันในกรณีนี้

$$Z_\alpha = \frac{\delta - 0}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}}} \text{ และ } \delta = Z_\alpha \left(\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}} \right)$$

$$Z_\beta = \frac{\delta - \Delta}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}}} \text{ และ } \delta = Z_\beta \left(\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}} \right) + \Delta$$

ดังนั้น

$$Z_\alpha \left(\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}} \right) = Z_\beta \left(\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}} \right) + \Delta$$

เมื่อมีจำนวนที่ทำการทดสอบของแต่ละกลุ่มที่เท่ากัน ($N_1 = N_2 = N$) ถ้าทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, $\sigma_1 = \sigma_2 = \sigma$) จะสามารถหาค่าจำนวนของตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม (N) ได้ดังนี้¹

$$Z_\alpha \left(\sqrt{\frac{\sigma^2}{N} + \frac{\sigma^2}{N}} \right) = Z_\beta \left(\sqrt{\frac{\sigma^2}{N} + \frac{\sigma^2}{N}} \right) + \Delta$$

เนื่องจากค่า Z_α เป็นบวก ส่วน Z_β เป็นลบ (รูปที่ 1) หรือค่า Z_α เป็นลบ ส่วน Z_β เป็นบวก (รูปที่ 4) ดังนั้น

$$(Z_\alpha + Z_\beta) \left(\sqrt{\frac{\sigma^2}{N} + \frac{\sigma^2}{N}} \right) = \Delta \text{ หรือ } -\Delta$$

$$(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \left(\frac{\sigma^2}{N} + \frac{\sigma^2}{N} \right) = (\Delta)^2 \text{ หรือ } (-\Delta)^2$$

$$(Z_\alpha + Z_\beta)^2 2 \left(\frac{\sigma^2}{N} \right) = \Delta^2$$

$$N = 2 \left(\frac{\sigma}{\Delta} \right)^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2$$

แต่ถ้าไม่ทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (σ) แต่มีการประเมินหาค่ามาก่อนแล้ว ให้ใช้ค่าที่ประเมินได้แทนค่า σ ในสมการในการคำนวณหาค่า N และให้เพิ่มค่าแก้ไขคือ $0.5Z_\alpha^2$ โดยมี 2 กลุ่มการทดลอง ดังนั้นจึงเติม $0.25Z_\alpha^2$ ลงไปในการคำนวณหาค่าจำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม

ตัวอย่างสำหรับ paired-sample test

ตัวอย่างที่ 3

พิจารณาหาขนาดของตัวอย่างสำหรับการออกแบบของสองกลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน จากการเปรียบเทียบดาร์บยาเม็ด 2 ตำรับที่ต่างกันในเรื่องของการละลาย (dissolution time) โดยที่ทั้ง 2 ตำรับแตกต่างกันที่สารช่วยลื่น (lubricant) ที่ใช้ ในกรณีนี้กำหนดเวลาที่แตกต่างกันในการที่ยาเม็ดปลดปล่อยตัวยาออกมา 80% เป็นตัวบ่งชี้ถึงความแตกต่างของตำรับ ถ้าเวลาดังกล่าวแตกต่างกัน 10 นาทีถือว่าดาร์บยาเม็ดทั้งสองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแง่การละลายของยาเม็ด ($\Delta = 10$) เนื่องจากการละลายของยาเม็ดเป็นเรื่องที่สำคัญมาก ดังนั้นจึงกำหนดค่า β error ต่ำมากที่สุดที่ 1% ข้อมูลจากการทดลองการละลายของยาเม็ดในขั้นตอนการพัฒนาตำรับ ประเมินค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างในเวลาดังกล่าวไว้ที่ 5 นาที จากข้อมูลที่มีอยู่และกำหนดค่า α ที่ 0.05 สามารถหาขนาดของตัวอย่างได้ดังนี้

$$N = 2 \left(\frac{\sigma}{\Delta} \right)^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2$$

กำหนดค่า $\alpha = 0.05$ ดังนั้น $Z = 1.96$

กำหนดค่า $\beta = 0.01$ ดังนั้น $Z = 2.32$ (ตารางที่ 2)

$$\sigma = 5, \Delta = 10$$

$$N = 2 [5/10]^2 (1.96+2.32)^2 = 9.16$$

เนื่องจากไม่ทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ดังนั้นจะเพิ่มเทอม $0.25Z\alpha^2$ ลงในสมการ

$$N = 9.16 + 0.25 (1.96)^2 = 10.12 = 11 \text{ เม็ด ต่อตำรับ}$$

ดังนั้นทำการทดสอบการละลายของยาเม็ดจำนวน 12 เม็ดต่อ 1 ตำรับ เนื่องจากเครื่องทดสอบการละลายทำการทดสอบ 6 เม็ดต่อ 1 ครั้งของการเดินเครื่อง

ตัวอย่างที่ 4

ทำการศึกษา bioequivalence เพื่อเปรียบเทียบ bioavailability ของยาเม็ดตำรับที่พัฒนาแล้วในรุ่นการผลิตจริง (production batch) กับตำรับที่ผลิตในรุ่นการผลิตขนาดต้นแบบ (pilot-sized batch) โดยเปรียบเทียบค่าพื้นที่ภายใต้เส้นโค้งของการปล่อยกราฟระหว่างระดับยาในเลือดกับเวลา (AUC) และระดับยาสูงสุดในเลือด (peak plasma concentration, C_{max}) ที่ได้จากการรับประทานยาเม็ด 2 ทั้งตำรับ ออกแบบให้การศึกษา มีค่า $\beta = 0.20$ (80% power) สำหรับการตรวจสอบความแตกต่างที่ 20% ($\Delta = 0.20$) ระหว่าง 2 ตำรับ การศึกษาดำเนินการที่ระดับความมีนัยสำคัญเท่ากับ 5% ($\alpha = 0.05$) ประเมินหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัดส่วนของแต่ละพารามิเตอร์ คือ AUC หรือ C_{max} ของรุ่นการผลิตจริงต่อรุ่นการผลิตต้นแบบ ซึ่งในแต่ละพารามิเตอร์จะให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ต่างกัน เนื่องจากไม่แน่ใจว่าค่าพารามิเตอร์ใดที่สำคัญกว่ากัน ทำให้ตัดสินใจเลือกค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่กว้างกว่ามาใช้ เพื่อพิจารณาให้ได้จำนวนตัวอย่างผู้ป่วยที่มากที่สุดจากการคำนวณ ในกรณีนี้เลือก C_{max} ซึ่งมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ประเมินได้มากกว่า คือค่าประมาณ 0.30 ด้วยเหตุที่การออกแบบการศึกษา bioequivalence เป็นลักษณะของ paired t-test โดยใช้ตัวอย่างกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นจึงใช้การคำนวณต่อไปนี้หาค่าจำนวนตัวอย่าง

$$N = (\sigma/\Delta)^2 (Z_\alpha + Z_\beta)^2$$

โดยมีการเพิ่มค่า $0.5Z\alpha^2$ ลงในสมการเนื่องจากไม่ทราบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่แท้จริง แต่ใช้การประเมินหาจากการทดลอง

$$N = [0.3/0.2]^2 (1.96+1.84)^2 + 0.5 (1.96)^2 = 19.6$$

ดังนั้นในการทดลองเปรียบเทียบ bioavailability ของ 2 ตำรับนี้จึงใช้จำนวนตัวอย่าง 20 คน

ในบางครั้งขนาดของตัวอย่างที่คำนวณเพื่อให้ได้ค่าระดับความผิดพลาด α และ β ตามต้องการนั้น อาจมีจำนวนมากจนเกินไปเมื่อต้องพิจารณาถึงเวลาและค่าใช้จ่ายในการทดสอบ ทำให้ต้องมีกรณีประนีประนอม (ตารางที่ 1) ซึ่งโดยมากทำได้โดยลดหย่อนความต้องการในค่า α และ β แต่โดยทั่วไปแล้วค่า α มักจะกำหนดให้คงที่โดยข้อบังคับต่าง ๆ ทำให้ทำการประนีประนอมได้เฉพาะค่า β เท่านั้น แต่การลดหย่อนดังกล่าวทำให้เพิ่มความน่าจะเป็นในการได้ข้อสรุปที่ไม่ถูกต้อง ในแง่ของการทดสอบเชิงสถิติแนวทางอื่น ๆ ในการลดจำนวนตัวอย่างได้แก่ การเพิ่มความแม่นยำ (precision) ของการทดสอบโดยการ

ปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์ หรือทำการควบคุมสถานะการทดลองภายนอกอื่น ๆ ให้คงที่ระหว่างการทดลอง นอกจากนั้นอีกแนวทางหนึ่งได้แก่การเพิ่มค่า Δ กล่าวคืออนุญาตให้ยอมรับค่าที่มากขึ้นสำหรับความแตกต่างที่ถือว่ามีนัยสำคัญในทางปฏิบัติ

ตารางที่ 3 ระบุค่าขนาดของตัวอย่างสำหรับการกำหนดค่า α/Δ , α และ β เมื่อมีการประเมินค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในกรณีของรูปที่ 1 ทดสอบสมมติฐานความแตกต่างของความดันโลหิตของกลุ่มตัวอย่างที่ให้ยาจริงกับกลุ่มที่ให้ยาหลอกเท่ากับ 0 โดยกำหนด α ไว้ที่ 0.05 และพิจารณาว่าความแตกต่างของระดับความดันโลหิต 5 mmHg ($\Delta = 5$) ถือได้ว่ามากพอที่จะแปลผลได้ว่าเป็นความแตกต่างที่มีนัยสำคัญในทางปฏิบัติ และกำหนดระดับ β ไว้ที่ 0.10 มีค่า $\sigma = 7$ ดังนั้นค่า $SD/\Delta = 7/5 = 1.4$ เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 3 เมื่อค่า estimate SD/Δ เท่ากับ 1.40 พบว่าอยู่ใกล้เคียงกับค่า 1.5 และกรณีของ one-sample test มีค่า β เท่ากับ 0.10 ค่า α เท่ากับ 0.05 จะระบุขนาดตัวอย่างเท่ากับ 26 ซึ่งถ้าใช้การคำนวณจากสูตรพบว่าได้ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 20.5 สำหรับค่า SD/Δ เท่ากับ 1.4

จากตัวอย่างที่ 3 หาขนาดของตัวอย่างสำหรับการเปรียบเทียบตำรับยาเม็ด 2 ตำรับที่ต่างกันในเรื่องของเวลาที่ยาเม็ดปลดปล่อยตัวยาออกมา 80% ถ้าแตกต่างกัน 10 นาทีถือว่าตำรับยาเม็ดทั้ง 2 ตำรับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($\Delta = 10$) กำหนดค่า β ที่ 0.01 ประเมินค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างในเวลาดังกล่าวไว้ที่ 5 นาที ค่า α ที่ 0.05 ดังนั้นค่า $SD/\Delta = 5/10 = 0.5$ เนื่องจาก 2 ตำรับเป็นอิสระจากกันจึงเป็น two-sample test ดังนั้นจากตารางที่ 3 ค่า estimate SD/Δ เท่ากับ 0.5 กรณีของ two-sample test มีค่า β เท่ากับ 0.01 ค่า α เท่ากับ 0.05 จะระบุขนาดตัวอย่างเท่ากับ 11 ตัวอย่างต่อกลุ่ม ซึ่งถ้าใช้การคำนวณจากสูตรพบว่าได้ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 10.12

ตารางที่ 3. ขนาดของตัวอย่างที่ต้องการสำหรับ two-sided t test ที่มีการประเมินค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน¹

| Estimated S/ Δ | One-sample test | | | | | | | | Two-sample test with N units per group | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------|------|------|------|--------------|------|------|------|--|------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Alpha = 0.05 | | | | Alpha = 0.01 | | | | Alpha = 0.05 | | | | Alpha = 0.01 | | | |
| | Beta = | | | | Beta = | | | | Beta = | | | | Beta = | | | |
| | 0.01 | 0.05 | 0.10 | 0.20 | 0.01 | 0.05 | 0.10 | 0.20 | 0.01 | 0.05 | 0.10 | 0.20 | 0.01 | 0.05 | 0.10 | 0.20 |
| 4.0 | 296 | 211 | 170 | 128 | 388 | 289 | 242 | 191 | 588 | 417 | 337 | 252 | 770 | 572 | 478 | 376 |
| 2.0 | 76 | 54 | 44 | 34 | 100 | 75 | 63 | 51 | 148 | 106 | 86 | 64 | 194 | 145 | 121 | 96 |
| 1.5 | 44 | 32 | 26 | 20 | 58 | 54 | 37 | 30 | 84 | 60 | 49 | 37 | 110 | 82 | 69 | 55 |
| 1.0 | 21 | 16 | 13 | 10 | 28 | 22 | 19 | 16 | 38 | 27 | 23 | 17 | 50 | 38 | 32 | 26 |
| 0.8 | 14 | 11 | 9 | 8 | 19 | 15 | 13 | 11 | 25 | 18 | 15 | 12 | 33 | 25 | 21 | 17 |
| 0.67 | 11 | 8 | 7 | 6 | 15 | 12 | 11 | 9 | 18 | 13 | 11 | 9 | 24 | 18 | 15 | 13 |
| 0.5 | 7 | 6 | 5 | 4 | 10 | 8 | 8 | 7 | 11 | 8 | 7 | 6 | 14 | 11 | 10 | 8 |
| 0.4 | 6 | 5 | 4 | 4 | 8 | 7 | 6 | 6 | 8 | 6 | 5 | 4 | 10 | 8 | 7 | 6 |
| 0.33 | 5 | 4 | 4 | 3 | 7 | 6 | 6 | 5 | 6 | 5 | 4 | 4 | 8 | 6 | 6 | 5 |

จากตัวอย่างที่ 4 เปรียบเทียบ bioavailability ของยาเม็ดตำรับที่พัฒนาแล้วในรุ่นการผลิตจริงกับรุ่นการผลิตขนาดต้นแบบ โดยเปรียบเทียบ C_{max} ที่ได้จากการรับประทานยาเม็ดทั้ง 2 ทั้งตำรับ ออกแบบให้

การศึกษาที่มีค่า $\beta = 0.20$ ค่า $\Delta = 0.20$ ศึกษาที่ระดับความมีนัยสำคัญเท่ากับ 5% ($\sigma = 0.05$) ประเมินหาค่า เบี่ยงเบนมาตรฐานของ C_{\max} เท่ากับ 0.30 ดังนั้นค่า $SD/\Delta = 0.30/0.20 = 1.5$ ด้วยเหตุที่การออกแบบการศึกษา เป็นลักษณะของ paired t-test ใช้ตัวอย่างกลุ่มเดียวกัน จึงเป็น one-sample test จากตารางที่ 3 ค่า estimate SD/Δ เท่ากับ 1.5 กรณีของ one-sample test มีค่า β เท่ากับ 0.20 ค่า α เท่ากับ 0.05 จะระบุขนาดตัวอย่าง เท่ากับ 20 ตัวอย่าง ซึ่งถ้าใช้การคำนวณจากสูตรพบว่าได้ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 19.6

สรุป

สามารถคำนวณหาจำนวนตัวอย่างที่จำเป็นต้องใช้สำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบทั่วไป เพื่อที่จะสรุปว่าค่าความแตกต่างที่ได้จากการทดลองแตกต่างจากค่าความแตกต่างที่กำหนดขึ้นสำหรับการเปรียบเทียบ (Δ) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่กำหนดขึ้นหรือไม่โดยอิงหลักความน่าจะเป็น ควรกำหนดให้มีความน่าจะเป็น (α) ต่ำที่จะสรุปผิดว่าค่าความแตกต่างที่ไม่เกินจากค่าที่กำหนดมีนัยสำคัญทั้ง ๆ ที่ไม่มีนัยสำคัญ รวมทั้งมีความน่าจะเป็น ($1 - \beta$) สูงที่จะสรุปว่าค่าความแตกต่างที่เกินจากค่าที่กำหนดจะมีนัยสำคัญจริง หรืออีกนัยหนึ่งคือมีความน่าจะเป็น (β) ต่ำที่จะสรุปผิดว่าค่าความแตกต่างที่เกินจากค่าที่กำหนดดังกล่าวไม่มีนัยสำคัญทั้ง ๆ ที่มีนัยสำคัญ โดยกำหนดค่า α และ β ที่ต่ำ และจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สามารถนำมาคำนวณหาจำนวนตัวอย่างที่ต้องการสำหรับการทดลองเชิงเปรียบเทียบได้

เอกสารอ้างอิง

1. Bolton S, Bon C. Pharmaceutical statistics. Practical and clinical applications. 5th ed. New York, Sanford Bolton, Informa Health Care. 2010; 102, 151-159.
2. De Muth JE. Basic statistics and pharmaceutical statistical applications. 3rd ed. New York, CRC Press. 2014; 181.
3. Khar RK, Vyas SP, Ahmad FJ, Jain GK. Lachman/Lieberman's the theory and practice of industrial pharmacy. 4th ed. New Delhi, CBS Publishers & Distributors. 2013; 331-332.