

Statistische Afdeling
van het
Mathematisch Centrum,
Amsterdam

Leiding: Prof. Dr D.van Dantzig
Chef van de Statistische Consultatie: Dr J.Hemelrijk Jr

Rapport S 88

Derde rapport over de vergelijking van voedings-
bodems voor coli-bacteriën.

door

L.C.A.van Leeuwen

en

Ph.van Elteren.

Mei 1952.

1. Het waarnemingsmateriaal.

In dit rapport wordt het statistisch onderzoek besproken van het waarnemingsmateriaal betreffende watermonsters, afkomstig uit Leiduin en Rotterdam, genomen in de zomermaanden van 1951. In aansluiting aan de watersoorten n^o 8 en 9 uit het Merwedekanaal bij Smal Weesp, waarover in het Tweede Rapport [2] ¹⁾ gesproken is, hebben wij deze watersoorten genummerd van 10 t/m 23. Voor nadere specificatie zie men tabel 1.

Tabel 1.
Watersoorten.

Watersgoort N ^o	Herkomst	Datum van monsterneming:
10	Leiduin,Oranjekom	28 Mei, 1951
11	Leiduin,Oranjekom	30 Mei, 1951
12	Leiduin,sluis N.O. kanaal	4 Juni, 1951
13	Leiduin,voorfiltraat	6 Juni, 1951
14	" "	11 Juni,1951
15	" "	13 Juni,1951
16	" "	18 Juni,1951
17	" "	20 Juni,1951
18	" "	25 Juni,1951
19	" "	27 Juni,1951
20	Nieuwe Maas,R'dam	11 Juli,1951
21	" " "	26 Juli,1951
22	Voorfiltraat,R'dam	9 Augustus,1951
23	" "	28 Augustus,1951

De monsters werden geënt op een aantal der volgende voedingsbodems:

- I Glutaminezuur
- II Mac Conkey N 1028
- III Difco Mac Conkey Broth
- V Endo vgl. Smit
- VII Mac Conkey Broomkresolpurper

De hummers I t/m V zijn in overeenstemming met de vorige rapporten [1] en [2] ; voedingsbodem VII is pas bij deze

¹⁾ Cijfers tussen teksthaken [] verwijzen naar de literatuurlijst.

serie experimenten geïntroduceerd. Voor de watersoorten 10 t/m 19 was het monstervolumen (vgl. [1]) telkens 10 cm^3 en werden steeds 10 monsters geënt op ieder der voedingsbodems I, II, V en VII; voor de watersoorten 20 t/m 23 bedroegen de monstervolumina in cm^3 resp. 0,01; 0,005; 0,0025; 20 monsters werden hier geënt op ieder der voedingsbodems II, III en VII.

Het waarnemingsmateriaal bestond evenals in de vorige gevallen (rapporten [1] en [2]) uit de aantallen monsters, die 24 resp. 48 u. na het inzetten van de proef gisting vertoonden; in een bevestigend onderzoek werd verder nagegaan of deze gistingen te wijten waren aan B-coli (positieve gistingen) dan wel aan *Baërogenes* of andere bacteriën (negative gistingen).

2. Statistisch onderzoek.

Bij het statistisch onderzoek van het waarnemingsmateriaal werden dezelfde methoden gebruikt als in het Eerste en Tweede Rapport [1] en [2] , zodat hiernaar verwezen kan worden.

Wij hebben bij het onderzoek de watersoorten in de volgende groepen samengenomen:

10 t/m 19
13 t/m 19
20 en 21
22 en 23 .

De groepen 13 t/m 19, (20,21) en (22,23) bestaan uit watersoorten die alleen verschillen in de datum van monster-neming. De watersoorten 10 en 11 (Oranjekom Leiduin) en 12 (sluis N.O.kanaal Leiduin) konden niet afzonderlijk onderzocht worden, omdat we van ieder slechts één monster hebben. Wij hebben daarom de groep 10 t/m 19 gevormd van alle watersoorten afkomstig uit Leiduin.

- a. Met de methode der rangschikkingen (zie [3]) werd de gevoeligheid na 24 en na 48 u., de selectiviteit en de reactiesnelheid (zie [1], § 3) voor de watersoorten 13 t/m 19 en voor de watersoorten 10 t/m 19 onderzocht. Hetzelfde geschiedde voor de watersoorten 20 en 21 en voor de watersoorten 22 en 23. De resultaten zijn in de volgende tabel verenigd.

Tabel 2.

Vergelijking van voedingsbodems door middel van de methode van m rangschikkingen.

m=het aantal rijen in het rangnummerschema,
k=overschrijdingskans.

Voedingsbodems	Watersoort N=		m	k	volgorde
I,II,V,VII	13 t/m 19	Gevoeligheid na 24 uur	7	0,095	VII II V I
	10 t/m 19		10	0,003	<u>VII II</u> V I
	13 t/m 19	Gevoeligheid na 48 uur	7	0,07	VII I II V
	10 t/m 19		10	0,016	<u>VII I II</u> V
	13 t/m 19	Selectiviteit na 48 uur	2	0,08	{ ^V _I VII II
	10 t/m 19		5	0,95	
	13 t/m 19	Reactiesnelheid	3	0,368	{ ^{VII} _{II} V I
	10 t/m 19		6	0,0099	
II,III en VII	(20,21)	Gevoeligheid na 24 uur	6	0,430	
	(22,23)		6	0,184	
	(20,21)	Gevoeligheid na 48 uur	6	0,430	
	(22,23)		6	0,184	
	(20,21)	Selectiviteit na 48 uur	6	0,029	VII III II
	(22,23)		5	0,252	
	(20,21)	Reactiesnelheid	6	0,430	
	(22,23)		6	0,74	

Als de overschrijdingskans klein is zijn de voedingsbodems in de kolom "volgorde" gerangschikt naar afdalende grootte van de kolomtotalen, optredende bij de methode van m rangschikkingen. Hierbij is de in het beschouwde opzicht "beste" voedingsbodem voorop geplaatst. Daarbij betekent: {^{VII}_{II}: de kolomtotalen in II en VII zijn gelijk en VII II: de kolomtotalen bij II en VII verschillen, doch het verschil is gering.

Rangschikkingen, corresponderende met waarnemingsreeksen, waarin onbepaalde grootheden ($\frac{0}{0}$) voorkwamen, werden bij de toepassing van de methode der m rangschikkingen weggelaten. Bij het onderzoek van de selectiviteit na 24 u. kwam dit te vaak voor, vandaar dat de corresponderende resultaten in Tabel 2 ontbreken.

Wij vinden bij de vergelijking van de gevoeligheid der voedingsbodems I,II,V en VII zowel na 24 als na 48 uur overschrijdingskansen kleiner dan 0,10; de resultaten zijn vooral duidelijk indien wij alle watersoorten uit Leiduin (10 t/m 19) samennemen (overschrijdingskansen < 0,05).

Het blijkt dat al deze resultaten het gunstigst zijn voor VII, gevolgd door II (na 24 u.) of I (na 48 u.).

Bij de vergelijking van de gevoeligheid der watersoorten II, III en VII vonden wij uitsluitend grote overschrijdingskansen, zodat er vermoedelijk geen grote verschillen bestaan in de gevoeligheid dezer voedingsbodems.

Bij het onderzoek van de selectiviteit na 48 u., vonden wij een overschrijdingskans 0,08 bij de vergelijking van I, II, V en VII in de watersoorten 13 t/m 19. Dit resultaat was het gunstigste voor V en I gevolgd door VII. Een duidelijker resultaat (overschrijdingskans 0,03) vonden we bij de vergelijking van VII, III en II in de watersoorten 20 en 21. Hier was de uitslag het gunstigst voor VII, gevolgd door III en II.

Het onderzoek naar de reactiesnelheid leverde eenmaal een kleine overschrijdingskans (0,01), nl. bij de vergelijking van I, II, V en VII in de watersoorten 10 t/m 19. Het gunstigste resultaat vertoonden hier VII en II.

Er zitten in dit materiaal dus vrij duidelijke aanwijzingen dat VII de gevoeligste voedingsbodem is. Minder duidelijk is de situatie bij de selectiviteit, er is een zwakke aanwijzing dat V en I selectiever en III en II minder selectief zijn dan VII. Ook over de reactiesnelheid valt niet zo veel te zeggen; één duidelijk geval geeft ons een aanwijzing dat VII en II sneller zijn dan V en I.

Bij al deze conclusies bedenke men, dat de bij de methode van de m rangschikkingen opgegeven volgorde slechts een schatting is. Indien we met deze toets een kleine overschrijdingskansen vinden, behoeven twee voedingsbodems die in de opgegeven volgorde niet samenvallen (dus de verschillende kolomtotalen hebben) niet werkelijkte verschillen. Daarom hebben wij een aantal voedingsbodems paarsgewijze onderzocht met de methode der dubbele dichotomie.

- b. Met behulp van de toets voor de hypothese $p_1=p_2$ (methode der dubbele dichotomie; zie [4]), hebben wij voedingsbodem VII met de voedingsbodems I, II en III afzonderlijk vergeleken.

Tabel 3.

Vergelijking van VII met I, met II en met III met behulp van dubbele dichotomie (tweezijdige overschrijdingskansen)

	Vergelijking I en VII		Vergelijking II en VII		Vergelijking III en VII	
	watersoorten: 13t/m19 10t/m19		watersoorten: 13t/m19 10t/m19		watersoorten: 20,21 22,23	
Gevoeligheid na 24 uur	0,014 (VII)	10^{-4} (VII)	0,48 (VII)	0,75 (VII)	0,90 (VII)	0,58 (III)
Gevoeligheid na 48 uur	0,45 (VII)	0,78 (VII)	0,18 (VII)	0,57 (VII)	0,31 (VII)	0,60 (III)
Selectiviteit na 24 uur	0,20 (VII)	0,125 (VII)	1	1	0,09 (VII)	1
Selectiviteit na 48 uur	1	0,07 (VII)	0,67 (VII)	1	0,38 (VII)	0,94 (VII)
Reactiesnel- heid	0,02 (VII)	$<10^{-6}$ (VII)	1	1	0,47 (III)	0,79 (III)

Wij gebruikten hierbij de volgende dichotomiën:

enerzijds: de voedingsbodems (I en VII, II en VII of III en VII)

anderzijds:

- voor de gevoeligheid: 1) monsters die gisting vertoonden 2) monsters die geen gisting vertoonden
- voor de selectiviteit: 1) positieve gistingen 2) negatieve gistingen
- voor de reactiesnelheid: 1) gistingen opgetreden tussen 0 en 24 uur na enting 2) gistingen opgetreden tussen 24 en 48 uur na enting.

In bovenstaande tabel 3 zijn de overschrijdingskansen van de diverse toetsen opgegeven, alsmede de voedingsbodem voor welke de uitslag van de toets het gunstigste was, wat betreft de in de eerste kolom vermelde hoedanigheid. Kleine overschrijdingskansen zijn onderstreept; overschrijdingskansen $< 0,05$ zijn dubbel onderstreept.

Duidelijke verschillen vonden we alléén bij de vergelijking van I en VII. Het blijkt dat voedingsbodem VII na 24 u. duidelijk gevoeliger is dan I; eveneens is VII duidelijk sneller dan I. De overige resultaten zijn bij de vergelijking van I en VII weliswaar op zichzelf niet overtuigend, doch vallen alle in het voordeel van VII uit.

Bij het onderzoek met de methode der m rangschikkingen (zie tabel 2) vonden we voor de selectiviteit na 48 u. bij de watersoorten 13 t/m 19 met een overschrijdingskans 0,08 de

volgorde $\begin{Bmatrix} V \\ I \end{Bmatrix}$ VII . II. We konden echter in dit geval bij deze methode slechts een klein gedeelte van de gegevens gebruiken (wegens het optreden van onbepaalde grootheden vgl. blz. 3), terwijl wij bij de methode der dubbele dichotomie alle waarnemingen in het onderzoek konden betrekken. Het blijkt dus uiteindelijk, dat VII in selectiviteit niet voor I hoeft onder te doen.

Bij de vergelijking van VII en II treden nergens verschillen van betekenis op, doch voorzover er verschil was, is de uitslag gunstiger voor VII.

Bij de vergelijking van VII en III, vinden wij eveneens nergens duidelijke resultaten. Een deel van de resultaten is gunstiger voor VII, een deel is gunstiger voor III.

3. Conclusies.

Samenvattend kunnen wij voor de gebruikte watersoorten concluderen, dat het gebruik van voedingsbodem VII de voorkeur verdient boven het gebruik van I, omdat VII gevoeliger is en sneller reageert, terwijl VII in selectiviteit in ieder geval niet voor I onderdoet. Er valt geen duidelijk verschil tussen VII en II of VII en III te constateren, doch mede op grond van het onderzoek met de methode der m rangschikkingen (Tabel 2) zijn er wel enige zwakke aanwijzingen dat VII nog iets gevoeliger is dan II. Op grond van dit materiaal kan moeilijk een keuze gemaakt worden tussen VII en III; deze voedingsbodems zullen vermoedelijk zeer weinig in kwaliteit verschillen; er zijn in ieder geval geen aanwijzingen dat III beter is dan VII, zodat VII vermoedelijk als vervangingsmiddel voor III zal kunnen worden gebruikt.

Literatuur:

- [1] Eerste rapport over vergelijking van voedingsbodems voor coli-bacteriën, door Ph. van Elteren, Rapport S 84 van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam 1952.
- [2] Tweede rapport over vergelijking van voedingsbodems voor coli-bacteriën, door L.C.A. van Leeuwen, Rapport S 87 van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam 1952.
- [3] Methode van de m rangschikkingen, Memorandum S 47 (M 14) van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam 1950. (Toegevoegd aan dit rapport.)
- [4] Toetsing van de hypothese $p_1 = p_2$ met behulp van een 2x2-tabel, Memorandum S 53 (M 23) van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam 1951. (Toegevoegd aan dit rapport.)

Methode der m rangschikkingen ¹⁾

Een duidelijk voorstelling van deze toetsingsmethode verkrijgt men door n elementen te beschouwen, die een bepaald kenmerk, eventueel in verschillende mate, bezitten. Dit kenmerk wordt door m waarnemers beoordeeld en ieder van deze waarnemers rangschikt deze n elementen volgens zijn beoordeeling naar opklimmende waardering. Op deze wijze ontstaan m rijen van rangschikkingen. We willen nu een maat aangeven voor de overeenstemming tussen deze rangschikkingen, m.a.w. een maat voor de overeenstemming tussen de m beoordeelingen. De hypothese H_0 , die met deze methode getoetst kan worden, houdt in dat er geen overeenstemming tussen de waarnemers bestaat; precieser gezegd, dat alle rangschikkingen onafhankelijk van elkaar op toevallige wijze zijn ontstaan. Dit is b.v. het geval, als het betrokken kenmerk in werkelijkheid voor alle elementen dezelfde waarde bezit.

We kunnen de afleiding voor de maat van overeenstemming het eenvoudigst geven aan de hand van een voorbeeld.

elementen		A	B	C	D	E	F
rangnummers toegekend door waarnemer	a	5	4	1	6	3	2
	b	2	3	1	5	6	4
	c	4	1	6	3	2	5
	d	4	3	2	5	1	6
		15	11	10	19	12	17

De som van alle rangnummers is $\frac{1}{2} n m (n+1)$. Onder de hypothese H_0 is het theoretische gemiddelde van iedere kolom:
 $\frac{1}{2} m (n+1)$

We beschouwen nu de afwijkingen van dit gemiddelde. In ons voorbeeld is het theoretisch kolomgemiddelde gelijk aan 14. De afwijkingen daarvan zijn

1 -3 -4 5 -2 3
 — — — — —

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid

De som der kwadraten van deze afwijkingen noemen wij S .

In ons voorbeeld is $S = 64$.

Als alle m rangschikkingen gelijk zijn wordt het maximum van S bereikt.

Dit maximum is $\frac{1}{12} m^2(n^3 - n)$.

We definiëren nu als coëfficiënt van overeenstemming

$$W = \frac{12 S}{m^2(n^3 - n)}$$

In ons voorbeeld is $W = \frac{12 \times 64}{16 \times 210} = 0,229$.

W varieert dus tussen 0 en 1.

De verdeling van S onder de hypothese H_0 is exact berekend voor een aantal waarden van n en m [1], terwijl voor grote m en n benaderingen bekend zijn.

De meest gebruikelijke benaderingen zijn de volgende.

1°. De χ^2 -benadering:

$\chi_r^2 = m(n-1)W = \frac{12 S}{mn(n+1)}$ heeft voor $m \rightarrow \infty$ een χ^2 -verdeling met $n-1$ vrijheidsgraden ([1] pg. 84 [2] pg. 36-37).

2°. De z -benadering:

$V = (m-1) \frac{W}{1-W}$ is bij benadering verdeeld als $F = e^{2z}$

(F is de F van Snedecor, z de z van Fisher) met

$$V_1 = n-1-\frac{2}{m}$$

$$V_2 = (m-1) V_1 \quad \text{vrijheidsgraden ([1] pg. 84 [2] pg. 33-36).}$$

Met behulp van de verdelingen van S of W onder de hypothese H_0 , kan deze hypothese getoetst worden, waarbij H_0 verworpen wordt als W waarden dichtbij 1 (resp. S dichtbij $\frac{1}{12} m^2(n^3 - n)$) aanneemt, de kritieke z ône is dus van de vorm $W \geq W_0$ (resp. $S \geq S_0$).

Het kan voorkomen dat de waarnemers geen onderscheid ontdekken in de mate waarin verschillende elementen het kenmerk bezitten. Ze geven deze elementen dan gelijke rangnummers.

Veronderstel, dat door een waarnemer geen onderscheid wordt gemaakt tussen de elementen, die de rangnummers 3 t/m 6 moeten dragen. Dan wordt als rangnummer van ieder van deze elementen het gemiddelde van de rangnummers $\frac{1}{4} (3 + 4 + 5 + 6) = 4\frac{1}{2}$ gebruikt.

Daar het maximum van S nu verandert, moeten wij een correctie op de formule voor W toepassen. Deze vindt men in [1] (pg. 82) en [2] (pg. 28-30). Eveneens veranderen dan de formules voor de χ^2 -benadering ([1] pg. 86, [2] pg. 37) en voor de z -benadering ([1] pg. 86 [2] pg. 34), doch deze correcties zijn van weinig betekenis, tenzij het aantal gelijken groot is.

Literatuur: [1]

M.G.Kendall, Rank correlation methods, London 1948, Hoofdstuk 6, pag. 80.

Tabel van de verdelingsfunctie van $\underline{S}$ voor:

$n = 3$ $m = 2$ t/m 10

$n = 4$ $m = 2$ t/m 6

$n = 5$ $m = 3$

op pag. 146-149.

Tabel van de waarden van S , waarvan de overschrijdingskansen onder de hypothese H_0 gelijk zijn aan 0,05 of 0,01, berekend met behulp van de z -benadering voor:

$n = 3$ $m = 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20$

$n = 4$ $m = 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20$

$n = 5$ t/m 7 $m = 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20$

op pag. 150.

[2]

Ph.van Elteren, Methode der m rangschikkingen, Cursus "Parametervrije Methoden", Hoofdstuk II, Rapport S 59, Mathematisch Centrum (1951), Blz. 18-45.

Toetsing van de hypothese $p_1 = p_2$ met behulp
van een 2 x 2-tabel¹⁾.

Wij beschouwen twee reeksen van onafhankelijke experimenten, waarbij ieder experiment van de ene reeks één van de twee resultaten A of $\bar{A}$ (non-A) heeft en ieder experiment van de tweede reeks één van de beide resultaten B of $\bar{B}$ (hierbij kan $A=B$ zijn). Daarbij wordt ondersteld, dat bij ieder der experimenten van de ene reeks de kans op A gelijk aan p_1 (en dus de kans op $\bar{A}$ gelijk aan $1-p_1$) is en bij ieder der experimenten van de tweede reeks de kans op B gelijk aan p_2 (en dus de kans op $\bar{B}$ gelijk aan $1-p_2$). De te toetsen hypothese luidt nu:

$$H_0: p_1 = p_2.$$

Indien de eerste reeks uit n en de tweede reeks uit m waarnemingen bestaat, waaronder n_1 (resp. m_1) maal A (resp. B) voorkomt, kunnen deze gegevens in de volgende 2 x 2-tabel worden samengevat:

	A resp. B	$\bar{A}$ resp. $\bar{B}$	totaal
eerste reeks	n_1	$n-n_1$	n
tweede reeks	m_1	$m-m_1$	m
totaal	r	$n+m-r$	$n+m$

Als toetsingsgrootte wordt n_1 , het aantal malen A in de eerste reeks waarnemingen, gebruikt. Indien H_0 juist is bezit deze grootte onder de voorwaarde, dat r de bij het experiment gevonden waarde aanneemt, de volgende waarschijnlijkheidsverdeling: de kans, dat een bepaalde waarde n_1 aangenomen wordt, is gelijk aan:

$$\frac{\binom{n}{n_1} \binom{m}{m_1}}{\binom{n+m}{r}}$$

Als kritieke zone worden de waarden van n_1 met de kleinste waarschijnlijkheden bijeengezocht, tot de gekozen betrouwbaarheidsdrempel het toevoegen van een nieuwe waarde verhindert (bij éénzijdige toetsing bestaat de kritieke zone uitsluitend uit grote of uitsluitend uit kleine waarden van n_1).

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid.

De overschrijdingskans, behorende bij de gevonden waarde van n_1 , is gedefiniëerd als de som van alle waarschijnlijkheden van bovenstaande verdeling, die hoogstens gelijk aan de waarschijnlijkheid van de gevonden waarde zijn (bij éézijdige toetsing echter gelijk aan de som van de waarschijnlijkheden van alle waarden die groter of gelijk aan de gevondene, of van alle waarden, die kleiner of gelijk aan de gevondene zijn). Deze exacte toetsingsmethode voor H_0 is afkomstig van R.A. Fisher.

Indien n en m zo groot zijn, dat deze exacte berekening te omslachtig wordt, maakt men gebruik van de volgende benadering:

Gemiddelde en spreiding van de grootheid n_1 zijn (indien H_0 juist is):

$$\frac{nr}{n+m} \quad \text{resp.} \quad \sqrt{\frac{n m r s}{(n+m)^2 (n+m-1)}} \quad (s = n + m - 1)$$

Men gebruikt dan in plaats van de exacte waarschijnlijkheidsverdeling van n_1 de normale verdeling met hetzelfde gemiddelde en dezelfde spreiding en in plaats van de gevonden waarde van n_1 neemt men het getal, dat $\frac{1}{2}$ dichter bij het gemiddelde ligt dan deze gevonden waarde (dit laatste is de z.g. "continuïteitscorrectie", die bij toenemende n en m weldra verwaarloosd kan worden). Met behulp van de benadering gaat men dan verder te werk als boven beschreven, daarbij gebruik makende van een tabel van de normale verdeling.

Litteratuur:

R.A.Fisher, Statistical Methods for Research Workers, London 1948, p. 96. Opmerking: Fisher gebruikt hier de éézijdige overschrijdingskans.

J.Hemelrijk, Waarschijnlijkheidsrekening en Statistiek, Vacantie cursus Mathematisch Centrum, Amsterdam 1950, § 4.