

Sample Size in Animal Studies

Yousef Alimohamadi¹  , Mojtaba Sepandi^{2*} 

1. Health Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Exercise Physiology Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 2021/11/27;

Accepted: 2022/01/14;

Published Online: 2022/02/10

Corresponding Information:

Mojtaba Sepandi, Exercise Physiology Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: msepandi@gmail.com



Copyright © 2022, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.



Use your device to scan and read the article online

Alimohamadi Y, Sepandi M. Sample Size in Animal Studies. Iran J Med Microbiol. 2022; 16 (2) :173-176

Download citation: [BibTeX](#) | [RIS](#) | [EndNote](#) | [Medlars](#) | [ProCite](#) | [Reference Manager](#) | [RefWorks](#) |

Send citation to:  [Mendeley](#)  [Zotero](#)  [RefWorks](#)

Dear Editor

Prior to initiating interventional clinical studies in humans, researchers usually conduct in-silico (computer simulation) in vitro and in vivo studies in order to evaluate the initial efficacy, dose determination and toxicity, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the interventions. Accurate determination of sample size in animal studies is essential both in terms of the validity of scientific inference and animal rights. Insufficient sample size reduces the probability of detecting the relationship between variables. Furthermore, excessive sample size imposes unnecessary costs and kills more animals (1). According to the paragraph 12 of the Helsinki Declaration the rights of laboratory animals in research need to be respected (2).

The main approach recommended for sample size determination is a method based on statistical power analysis. However, calculating the sample size with this approach, on the one hand, requires the researcher familiarity with the basic concepts of statistical knowledge such as statistical power, statistical errors, and the concept of effect size, and on the other hand, this approach requires the use of data either from previous studies or pilot study. Therefore, in cases where the use of this method is not feasible, the resource equation method introduced by Mead in 1988 (3) could be used. The resource equation method is based on analysis of variance (ANOVA) and is applicable to all studies that use animals. In this method, it is assumed that if the sample size is calculated correctly, the degree of freedom (DF) would be between 10 and 20. If the DF is less than 10,

as the sample size increases the probability of obtaining significant results would be increased; and when the DF is greater than 20, it means that an increase in the sample size may not increase the probability of detecting a significant result. Therefore, the general formula for the sample size determination in a study that aims to compare a quantitative variable in two (or more) groups would be as follows, where k represents the number of groups and n represents the sample size required:

$$n = (DF / k) + 1$$

For example, suppose in a study with the aim of comparing 4 groups of rats:

$$n = (10/4) + 1 = 3.5 = 4 \quad \text{assuming} \quad DF = 10$$

$$n = (20/4) + 1 = 6 \quad \text{assuming} \quad DF = 20$$

Therefore, in this study, we need at least 4 and at most 6 rats in each group. It is worth noting to say if there is a possibility of attrition in the study, the percentage of attrition in the final sample size must be considered. Although the resource equation method is a simple method, it is not as accurate as of the power analysis method. Therefore, it is recommended to use special software to calculate the sample size. One of the best options in this regard (for both clinical and animal studies) is the G-Power software (4). Using this software, the required sample size could be determined for studies in which various statistical methods such as correlation, mean difference test, regression, and other statistical methods, based on

different effect sizes (large, medium, and small) are used (4). Other advantages include a short manual, user-friendliness, and availability of the software (5).

Referance

1. Fitts DA. Ethics and animal numbers: informal analyses, uncertain sample sizes, inefficient replications, and type I errors. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011;50(4):445-53.
2. Organization WMAJBotWH. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. 2001;79(4):373.
3. Festing MF, Altman DGJlj. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. 2002;43(4):244-58. [[DOI:10.1093/ilar.43.4.244](https://doi.org/10.1093/ilar.43.4.244)] [[PMID](#)]
4. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007;39(2):175-91. [[DOI:10.3758/BF03193146](https://doi.org/10.3758/BF03193146)] [[PMID](#)]
5. Kang HJJoefhp. Sample size determination and power analysis using the G* Power software. 2021;18. [[DOI:10.3352/jeehp.2021.18.17](https://doi.org/10.3352/jeehp.2021.18.17)] [[PMID](#)] [[PMCID](#)]



حجم نمونه در مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی

یوسف علی محمدی^۱ مجتبی سپندی^۲

۱. مرکز تحقیقات بهداشت، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۶

پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۴

انتشار آنلاین: ۱۴۰۰/۱۱/۲۱

موضوع: یادگیری عمیق

نویسنده مسئول: مجتبی سپندی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه

علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران ایمیل: msepandi@gmail.com

کپی‌رایت © مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

سردبیر محترم

به‌دست‌آمده از مطالعه پایلوت است. لذا در مواردی که استفاده از روش مذکور میسر نباشد، می‌توان از روش معادله منابع که به‌وسیله Mead در ۱۹۸۸ معرفی شده است (۳)، استفاده نمود. روش معادله منابع بر اساس تحلیل واریانس (ANOVA) طراحی شده است، و برای همه مطالعاتی که در آنها از حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود، کاربرد دارد. در این روش فرض می‌شود که اگر حجم نمونه به درستی محاسبه شده باشد، مقدار درجه آزادی (DF) بین ۱۰ تا ۲۰ خواهد بود. چنانچه، عدد DF کمتر از ۱۰ محاسبه شود، بدین معناست که با افزایش حجم نمونه احتمال به دست آوردن نتایج معنادار بیشتر می‌شود و اگر عدد DF بیش از مقدار ۲۰ باشد، به این معناست که افزایش حجم نمونه، تأثیر چندانی در افزایش احتمال به دست آوردن نتایج معنادار نخواهد داشت. لذا فرمول کلی محاسبه حجم نمونه برای مطالعه‌ای که هدف آن مقایسه متغیر کمی در دو یا چند گروه با یکدیگر است، به شکل زیر خواهد بود که در آن k نشان‌دهنده تعداد گروه‌ها و n نشان‌دهنده حجم نمونه مورد نیاز است:

$$n = (DF/k) + 1$$

برای مثال فرض کنیم در یک پژوهش با هدف مقایسه ۴ گروه از رت‌ها خواهیم داشت:

قبل از شروع مطالعات بالینی مداخله‌ای روی انسان، معمولاً محققان برای بررسی اثربخشی اولیه، تعیین دوز و سمیت، فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک مداخلات، مطالعات *In Silico* (شبیه‌سازی کامپیوتری) انجام می‌دهند. سپس مطالعات در شرایط *in vitro* (آزمایشگاهی خارج از بدن حیوانات) و در نهایت در شرایط *in vivo* (آزمایشگاهی روی حیوانات) ادامه پیدا می‌کند. محاسبه حجم نمونه در شرایط *in vivo* به لحاظ اعتبار نتیجه‌گیری علمی و با رعایت حقوق حیوانات ضروری است. به‌طوری‌که حجم نمونه ناکافی منجر به کاهش احتمال کشف روابط بین متغیرهای تحقیق می‌شود و همچنین حجم نمونه اضافه، باعث افزایش غیرضروری هزینه‌ها و مرگ و میر اضافه حیوانات آزمایشگاهی است (۱). در بند ۱۲ از مفاد بیانیه هلسینکی بر لزوم رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش‌ها تأکید شده است (۲).

راهکار اصلی توصیه‌شده برای محاسبه حجم نمونه چه در مطالعات حیوانی و چه در سایر مطالعات، روش مبتنی بر تحلیل توان آماری است. اما محاسبه حجم نمونه با این رویکرد، از طرفی نیازمند آشنایی پژوهشگر با مفاهیم پایه دانش آمار از جمله توان آماری، خطاهای آماری و مفهوم اندازه اثر است. از طرف دیگر این رویکرد مستلزم استفاده از داده‌های مطالعات قبلی و یا داده‌های

کنند. یکی از بهترین گزینه های موجود در این خصوص (هم برای مطالعات بالینی و هم مطالعات حیوانی) نرم افزار رایگان G-Power است (۴). با استفاده از این نرم افزار می توان حجم نمونه لازم را برای مطالعاتی که در آن روش های مختلف آماری از جمله همبستگی، آزمون اختلاف میانگین ها، رگرسیون و سایر روش های آماری استفاده می شود را محاسبه کرد. این نرم افزار می تواند حجم نمونه را بر اساس اندازه اثرهای متفاوت (بزرگ، متوسط و کوچک) محاسبه کند (۴). از مزیت های دیگر آن می توان به داشتن راهنمای کوتاه، سادگی و در دسترس بودن اشاره نمود (۵).

$$\text{DF}=10 \text{ با فرض } \rightarrow n = (10/4) + 1 = 3.5 = 4$$

$$\text{DF}=20 \text{ با فرض } \rightarrow n = (20/4) + 1 = 6$$

بنابراین می توان گفت در این مطالعه به حداقل ۴ و حداکثر ۶ رت در هر گروه نیاز داریم. البته باید توجه کرد که چنانچه احتمال ریزش در تعداد نمونه ها وجود داشته باشد، درصد ریزش در حجم نمونه نهایی در نظر گرفته شود. هرچند روش معادله منابع، روش ساده ای است، اما دقت آن به اندازه روش تحلیل توان نیست. لذا توصیه می شود محققین محترم برای محاسبه حجم نمونه از نرم افزارهای مخصوص محاسبه حجم نمونه نیز استفاده