M2 Mycologie

Rappels biostatistiques

Université Paris Cité

Outline

Hasard, probabilités et statistiques

Estimation et test d'hypothèse

Quelques lois de probabilités utiles

Applications en biologie et bioinformatique

Statisticians are applied philosophers

Philosophers argue how many angels can dance on the head of a needle; statisticians count them. Or rather, count how many can probably dance. (...) We can predict nothing with certainty but we can predict how uncertain our predictions will be, on average that is. Statistics is the science that tells us how. – Stephen Senn [8]

Hasard, probabilités et statistiques

L'inférence en statistiques

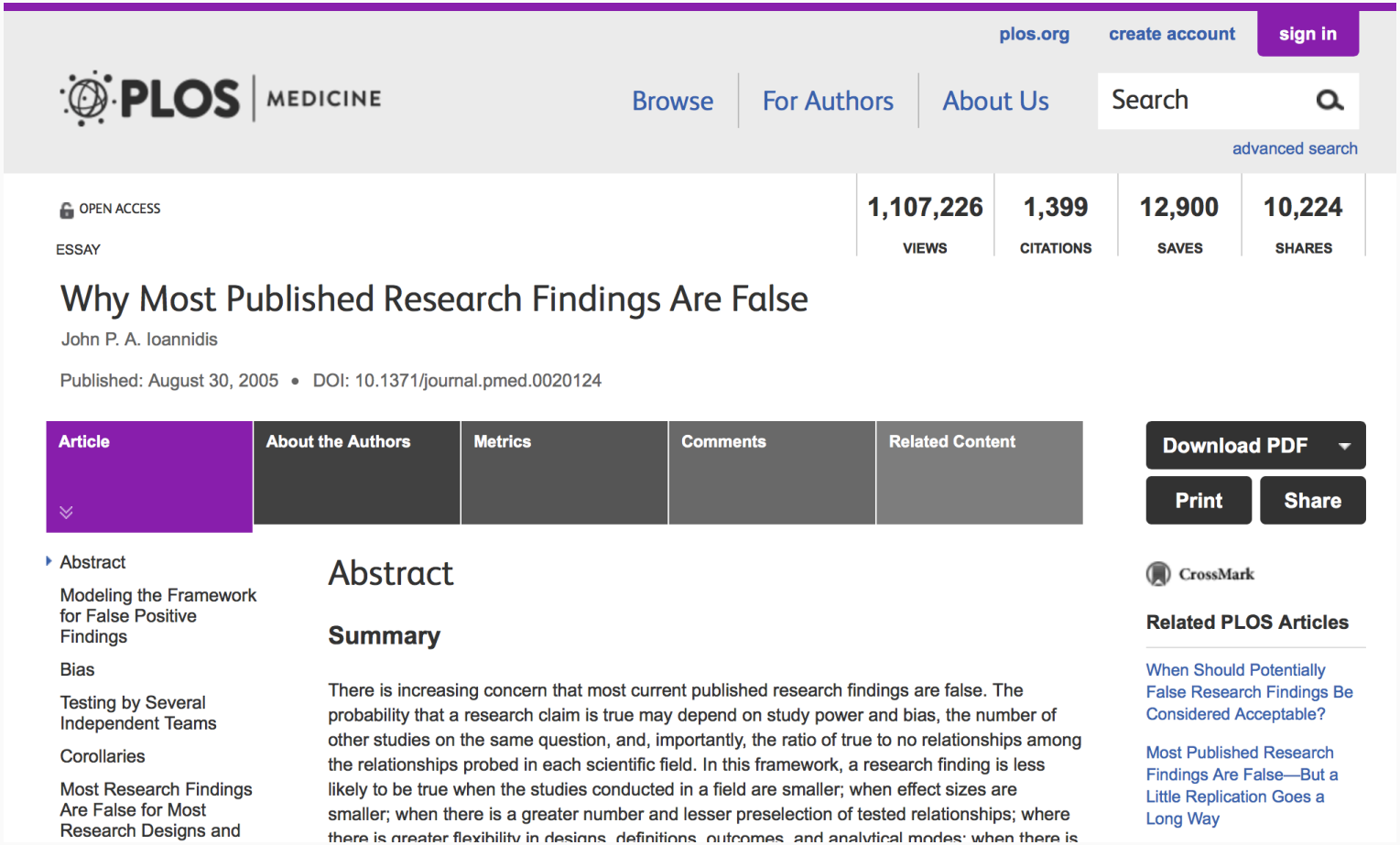
Deux questions récurrentes :

- Quelle est la meilleure manière de caractériser l'objet d'intérêt dans une étude scientifique ?
- Peut-on généraliser les effets observés au cours d'une expérience à une population plus vaste ?

La première question soulève le choix d'un estimateur efficace et consistant, la seconde celle de définir une statistique de test en lien avec une distribution de probabilité.

$$\underbrace{\text{variable mesurée}}_{\text{échantillon aléatoire}} = \underbrace{\text{vraie valeur}}_{\text{population théorique}} + \underbrace{\text{erreur de mesure}}_{\text{aléatoire et/ou systématique}}$$

Puissance statistique et erreur de mesure [6]



plos.org create account sign in

PLOS | MEDICINE

Browse For Authors About Us Search

advanced search

OPEN ACCESS

ESSAY

1,107,226	1,399	12,900	10,224
VIEWS	CITATIONS	SAVES	SHARES

Why Most Published Research Findings Are False

John P. A. Ioannidis

Published: August 30, 2005 • DOI: 10.1371/journal.pmed.0020124

Article | About the Authors | Metrics | Comments | Related Content

Download PDF

Print Share

- Abstract
- Modeling the Framework for False Positive Findings
- Bias
- Testing by Several Independent Teams
- Corollaries
- Most Research Findings Are False for Most Research Designs and

Abstract

Summary

There is increasing concern that most current published research findings are false. The probability that a research claim is true may depend on study power and bias, the number of other studies on the same question, and, importantly, the ratio of true to no relationships among the relationships probed in each scientific field. In this framework, a research finding is less likely to be true when the studies conducted in a field are smaller; when effect sizes are smaller; when there is a greater number and lesser preselection of tested relationships; where there is greater flexibility in designs, definitions, outcomes, and analytical modes; when there is

CrossMark

Related PLOS Articles

When Should Potentially False Research Findings Be Considered Acceptable?

Most Published Research Findings Are False—But a Little Replication Goes a Long Way

Reproductibilité des résultats scientifiques

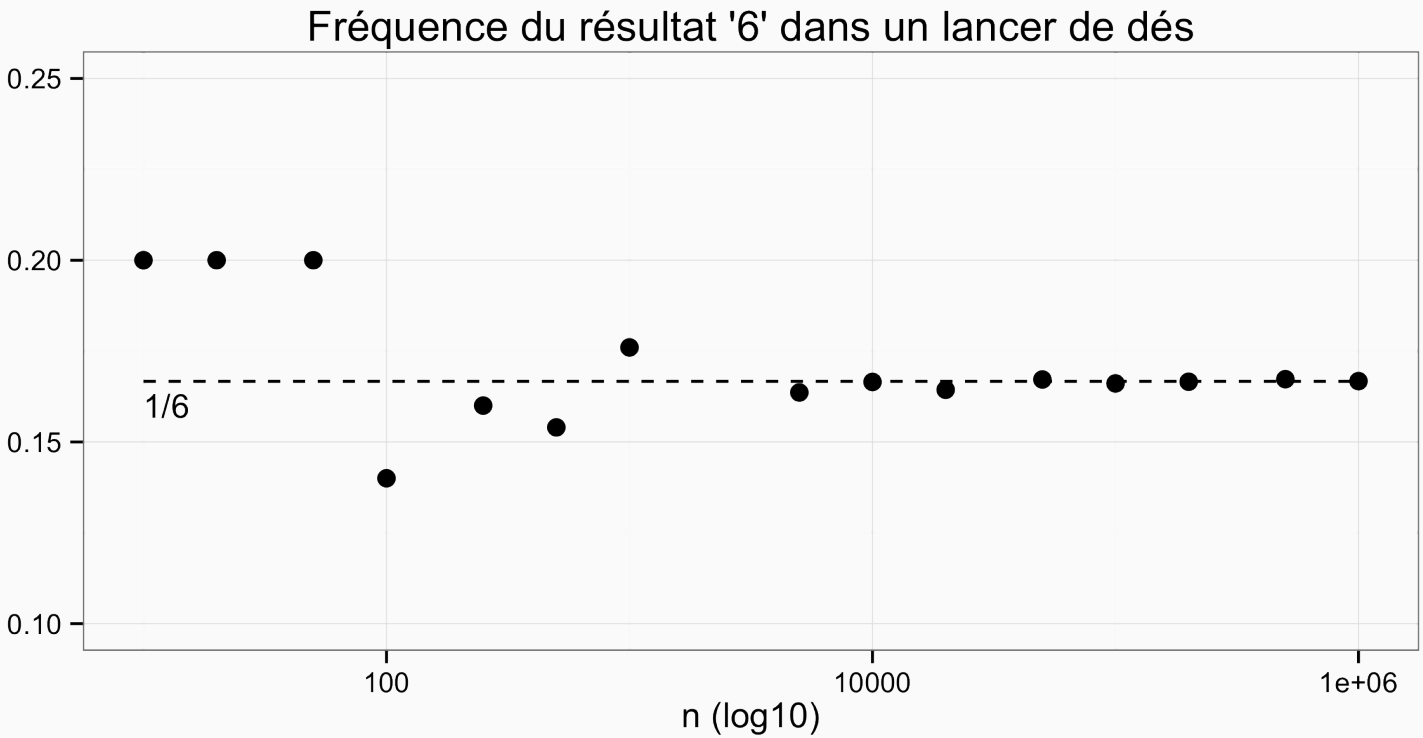
1. Peng, R. Reproducible research and Biostatistics. Biostatistics (2009), 10(3):405.
2. Prinz, F et al. Believe it or not: how much can we rely on published data on potential drug targets? Nature Reviews Drug Discovery (2011), 10:712.
3. Simmons, JP et al. False-Positive Psychology: Undisclosed Flexibility in Data Collection and Analysis Allows Presenting Anything as Significant. Psychological Science (2011), 22(11): 1359.

Hasard, probabilité et statistique

Lorsque l'on connaît exactement la loi qui gouverne la survenue d'événements, l'analyse combinatoire suffit dans la plupart des cas.

- Probabiliste : chaque face d'un dé a une probabilité 1/6 d'apparaître, donc je peux savoir quelles sont mes chances de succès à chaque tirage.
- Statisticien : regardons combien de fois chaque face apparaît après un certain nombre de tirage , et ensuite je déciderai si mes observations sont compatibles avec l'hypothèse d'un dé équilibré.

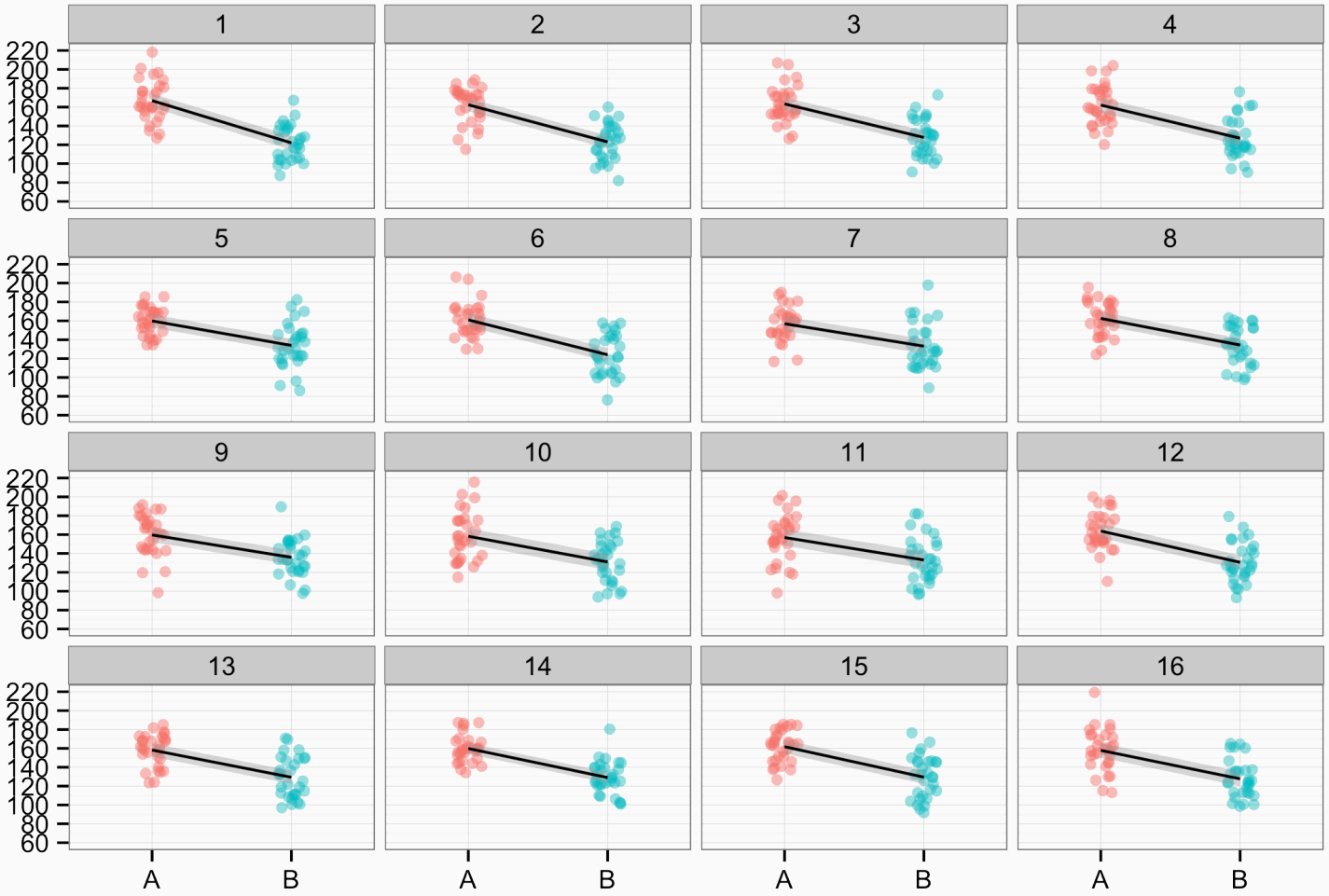
Hasard, probabilité et statistique (2)



Fluctuations d'échantillonnage

Considérons une expérience imaginaire où on simule des données de pression systolique dans deux échantillons tirés dans des populations où les moyennes sont de 160 et 130 mmHg. L'écart-type est le même dans les deux populations (20). La différence théorique est donc de 30 mmHg.

Fluctuations d'échantillonnage (2)



Taille d'effet et nombre de sujets nécessaires [2]

TABLE I—*Sample sizes required per group at the two sided 5% significance level for different values of d and power (d=expected mean difference/standard deviation)*

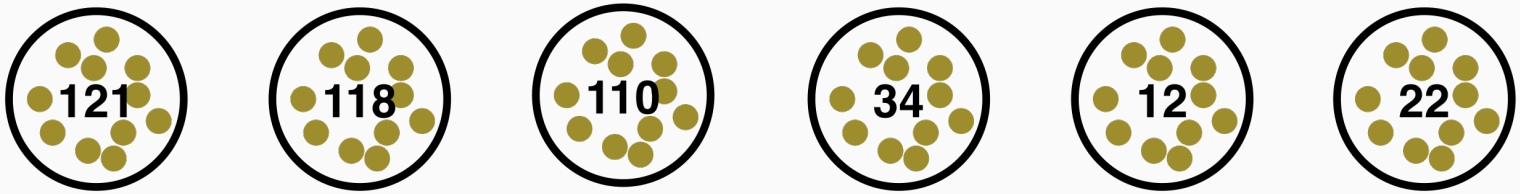
	Power (1-β)				
d	99	95	90	80	50
0·10	3676	2600	2103	1571	770
0·20	920	651	527	394	194
0·30	410	290	235	176	87
0·40	231	164	133	100	49
0·50	148	105	86	64	32
0·60	104	74	60	45	23
0·70	76	54	44	33	17
0·80	59	42	34	26	13
0·90	47	34	27	21	11
1·00	38	27	22	17	9
1·10	32	23	19	14	8
1·20	27	20	16	12	7
1·30	23	17	14	11	6
1·40	20	15	12	9	5
1·50	18	13	11	8	5

Estimation et test d'hypothèse

Construction d'un estimateur et d'un test d'hypothèse

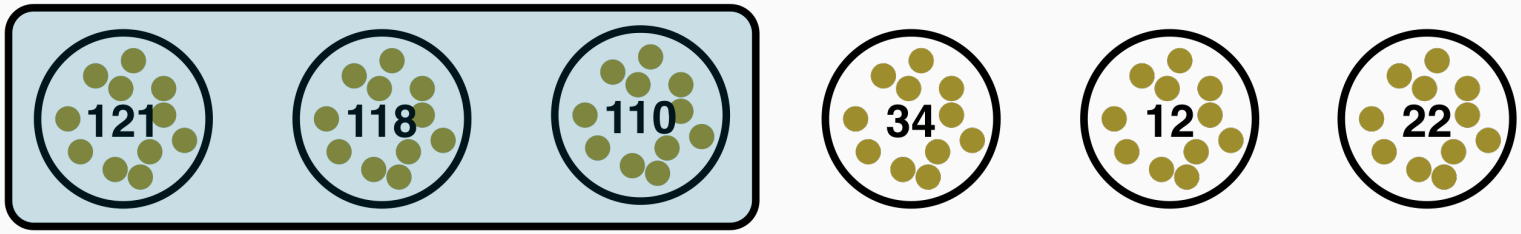
On dispose de 6 lots contenant des cellules en culture (pendant 24h), dont 3 ont reçu un supplément de vitamine E (groupe expérimental). Après 10 jours, on examine les auto-radiographies pour dénombrer le nombre total de cellules dans chaque lot.

Le technicien qui apporte les résultats rapporte au chercheur que les étiquettes permettant d'identifier quels lots ont été traités ont été égarées [5].



Formulation d'une hypothèse

Si les trois premiers lots correspondent au groupe traité à la vitamine E, alors *a priori* l'expérience semble concluante : quel que soit le lot, le nombre de cellules apparaît largement supérieur à n'importe lequel des trois derniers lots.



Est-il possible d'évaluer la plausibilité d'un tel résultat ?

Définition d'un cadre décisionnel

Il faut définir un cadre décisionnel comprenant une hypothèse à tester et un outil permettant de prendre une décision :

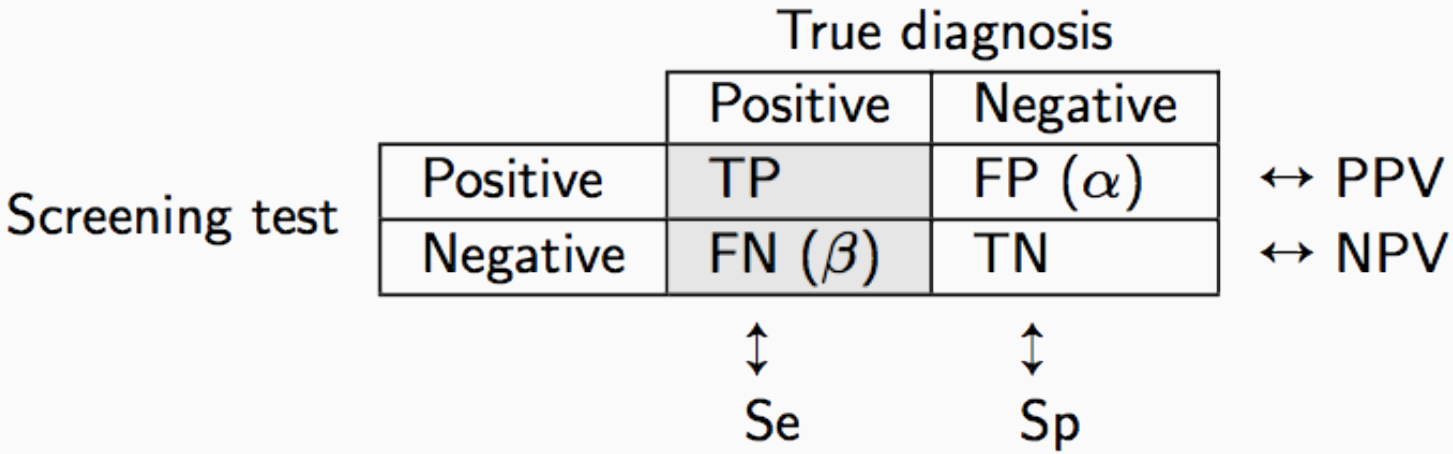
- Il nous faut un moyen de comparer l'effet de l'adjonction de vitamine E par rapport à la situation où les lots ne sont pas traités.
- Un test statistique judicieusement choisi nous permettra de tester l'invraisemblance d'une hypothèse, appelée hypothèse nulle et formulée dans un cadre hypothético-déductif.

Définition d'un cadre décisionnel (2)

Si la différence observée est suffisamment grande, et on considérera que c'est le cas s'il y a moins de 5 % de chance d'observer un résultat aussi extrême, alors on conclue que celle-ci ne peut vraisemblablement pas être expliquée par de simples fluctuations d'échantillonnage et que les données observées ne sont pas compatibles avec l'hypothèse nulle d'absence d'effet, appelée H_0.

On rejettera donc H_0 si la probabilité d'observer, du seul fait du hasard, une différence au moins aussi grande que celle observée entre les effets de A et B est inférieure à 5 %. Cette probabilité est appelée degré de signification. Ce seuil de signification est arbitraire, mais largement admis dans la communauté biomédicale. En somme, on accepte de se tromper dans 5 % des cas en rejetant l'hypothèse d'absence de différence.

Des risques d'erreur asymétriques



Démarche du test d'hypothèse

1. Définir une hypothèse nulle (H_0), une hypothèse alternative, et les risques associés à la prise d'une décision concernant le résultat observé à partir d'un échantillon.
2. Choisir une statistique de test, S.
3. Calculer la valeur de S.
4. Définir la distribution d'échantillonnage de S sous H_0.
5. Conclure à partir de cette distribution.

Construction d'un estimateur

Soit H_0 "la vitamine E ne modifie pas la croissance des cultures" ; en d'autres termes, les étiquettes "traité" ou "non traité" n'apportent aucune information du point de vue de la mesure considérée (tous les lots sont "échangeables"). Il y a $\binom{6}{3} = 20$ manières de définir un groupe composé de 3 éléments pris parmi 6. Considérons la somme de l'ensemble des cellules développées dans les 3 lots définissant un même groupe. Appelons la s. Ici, $s_{obs} = 121 + 118 + 110 = 349$.

Quelles sont les valeurs possibles de s lorsque l'on recombine les lots pour former deux groupes indépendants ?

Construction d'un estimateur (2)

	L1	L2	L3	s
1	121	118	110	349
2	121	118	34	273
3	121	118	12	251
–	–	–	–	–
18	110	34	22	166
19	110	12	22	144
20	34	12	22	68

Interprétation du test

Parmi les 20 résultats possibles, le résultat $s_{obs} = 349$ est le plus extrême et il y a exactement 1/20 = 5 % de chances d'observer un résultat aussi extrême.

Il est donc peu probable que les résultats observés (les trois premiers lots sont ceux qui ont été traités) puissent s'expliquer simplement par les fluctuations d'échantillonnage.

Un jeu de pile ou face

On lance une pièce 10 fois et on observe la séquence de résultats suivants :

P P P P F F F P F P

- Question générale : la pièce est-elle truquée ? (à reformuler sous forme d'hypothèse nulle)
- Question subsidiaire : combien de temps doit-on attendre, en moyenne, avant d'observer le premier événement "face" ?

Opérationnalisation

Si l'on suppose une pièce bien équilibrée et des lancers indépendants, le nombre attendu de "Pile" est $10 \times 0.5 = 5$. La fréquence observée de "Pile" dans l'expérience est de $4/10 = 0.4$.

Nous pouvons formuler une hypothèse nulle selon laquelle $p = 0.5$, et l'hypothèse alternative est $p \neq 0.5$. En utilisant un test binomial, il est possible de vérifier si la proportion observée diffère de celle attendue théoriquement, en considérant un risque de 5 % de prendre une mauvaise décision en rejetant l'hypothèse nulle.

Opérationnalisation (2)

Voici les résultats calculés à l'aide d'un logiciel statistique :

```
Pr(k ⩾ 4)              = 0.828125  (one-sided test)
Pr(k ⩽ 4)              = 0.376953  (one-sided test)
Pr(k ⩽ 4 or k ⩾ 6) = 0.753906  (two-sided test)
```

Le résultat suggère que cette séquence de Pile/Face n'est pas incompatible avec l'hypothèse d'équi-distribution des deux côtés de la pièce.

Plans d'expérience

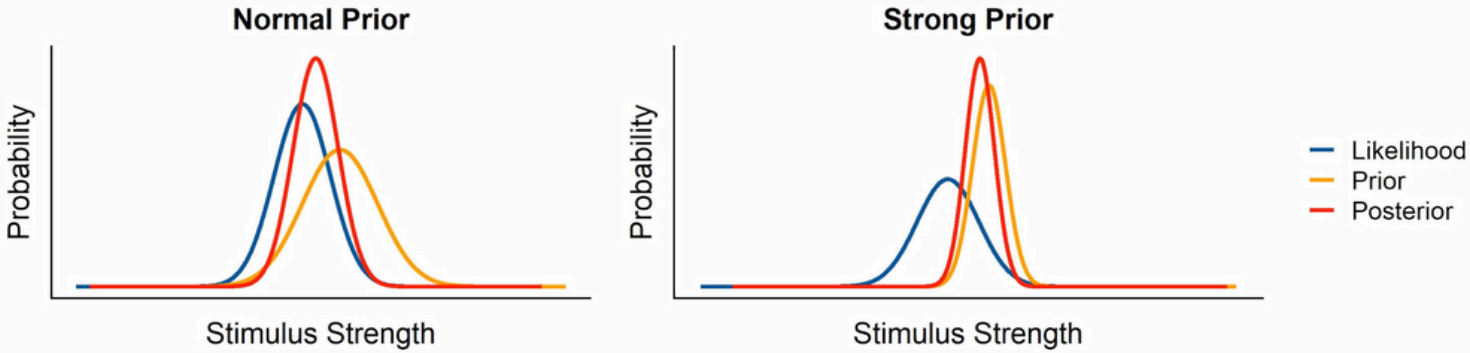
One of the principal uses of statistical models is to attempt to explain variation in measurements. This variation may be due to a variety of factors, including variation from the measurement system, variation due to environmental conditions which change over the course of a study, variation from individual to indi- vidual (or experimental unit to experimental unit), etc. Factors which are not controlled from observation to observation can introduce variation in measured values. In designed experiments, the experimenter deliberately changes the levels of experimental factors to induce variation in the measured quantities, to lead to a better understanding of the relationship between experimental factors and the response. – Armitage and Colton [1]

Différents cadres de raisonnement pour l'inférence

- approche fréquentiste : ce qui a été discuté jusqu'à présent (confronter une hypothèse unique, dans une expérience contrôlée, via un principe de falsification ; Fisher, puis Neyman & Pearson). Aucune information sur $P(H_0 \mid \text{data})$. [3]
- approche par vraisemblance : utilisation des données observées pour arbitrer entre deux modèles en compétition (vraisemblance des données pour un modèle donné).
- approche bayésienne : utilisation d'information externe pour évaluer *a priori* quel modèle est le plus vraisemblable (mise à jour d'une probabilité *a priori* par les données pour former une probabilité *a posteriori*) [7]

Approche bayésienne

Graphical illustration of likelihood, prior and posterior in a Bayesian framework, for both a normal, relatively shallow prior, and a strong, extremely precise prior.



doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236732.g001

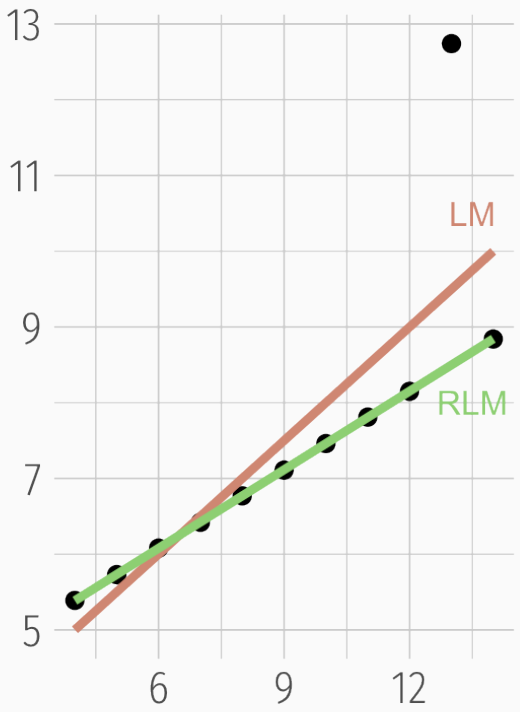
La description avant l'inférence

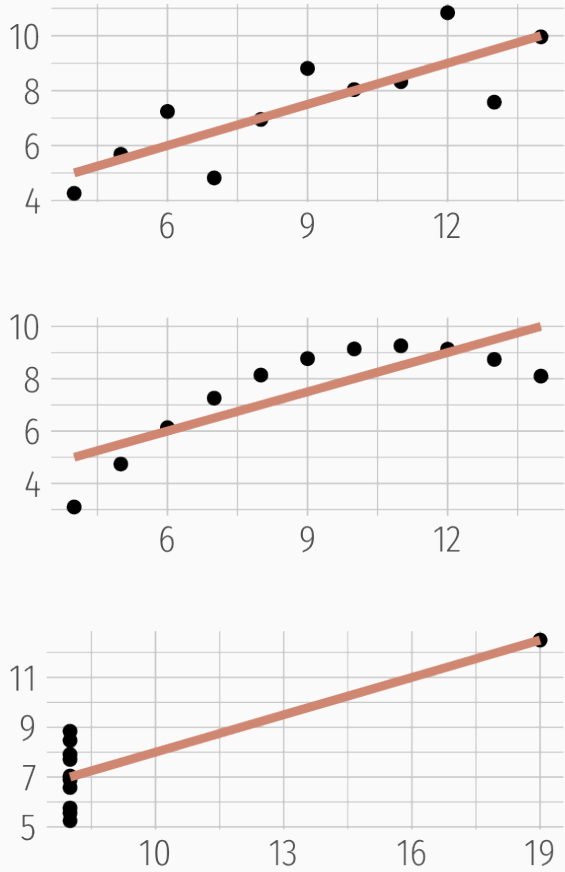
La démarche statistique ne se limite pas à l'inférence, mais inclut au préalable

- le recueil des données : collecte et pré-traitements de données numériques
- la description des données : résumés numérique et graphique synthétiques

Les petis échantillons sont plus susceptibles de présenter des valeurs extrêmes (observations influentes), ils rendent difficile la mise en évidence de "petites différences", et il est plus difficile de vérifier les conditions de validité des tests statistiques usuels.

La description avant l'inférence (2)





Quelques lois de probabilités utiles

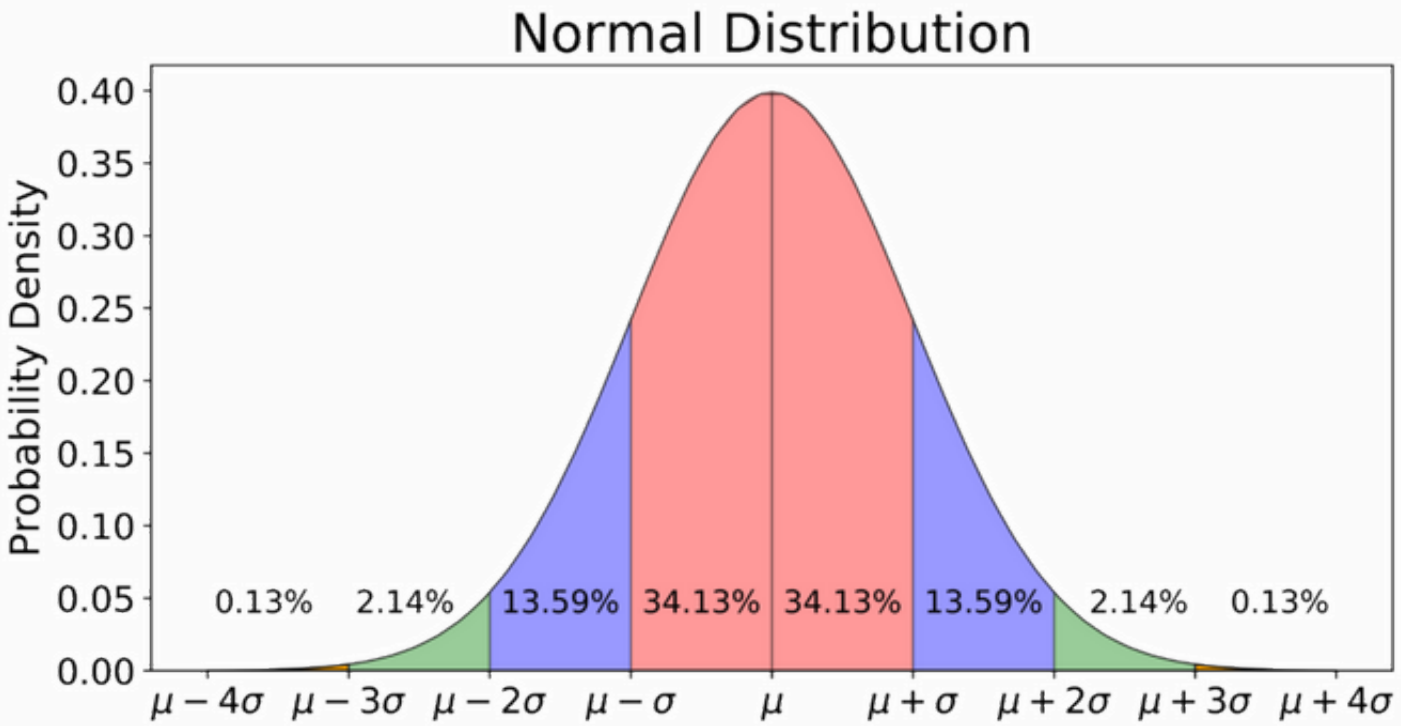
Variables discrètes

loi	espérance	variance	application
binomiale	np	npq	succession d'événements 0/1
Poisson	λ	λ	comptage
binomiale négative	n/p	nq/p^2	temps d'attente avant n succès
géométrique	$1/p$	q/p^2	temps d'attente avant 1 succès

Variables continues

loi	espérance	variance	application
uniforme	$(b + a)/2$	$(b - a)^2/12$	distribution p-valeurs H_0
gaussienne	μ	σ^2	cumul d'erreurs indépendantes
χ^2 (Pearson)	n	$2n$	tableau de contingence
Gamma	$k\theta$	$k\theta^2$	processus temps réel

Exemple de la loi normale



Tests exacts, approchés, paramétriques et non paramétriques

- Les tests paramétriques constituent de bonnes approximations aux tests exacts (permutation), en général.
- Les tests non-paramétriques ont, pour certains, une puissance relative ≥ 80 % par rapport aux tests paramétriques (c'est le cas du test de Mann-Whitney-Wilcoxon pour comparer deux échantillons).

Panorama des tests statistiques usuels

non paramétrique	prédicteur	réponse	paramétrique
Spearman (ρ)	quantitative	quantitative	Pearson (r)
Fisher	qualitative	qualitative	Pearson (χ^2)
Signe	qualitative	quantitative	Student 1 éch. (t)
Kruskal-Wallis (H)	qualitative	quantitative	ANOVA 1 grp. (F)
ANOSIM	qualitative	quantitative+	MANOVA
Mann-Whitney	qualitative	quantitative	Student grp. ind. (t)
Wilcoxon	qualitative	quantitative	Student grp. app. (t)

Applications en biologie et bioinformatique

Analyse de variance

Soit y_{ij} la j$^{\text{ème}}$ observation dans le groupe i. Le modèle d'ANOVA ou "effect model" s'écrit

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij},$$

où μ désigne la moyenne générale, α_i l'effet du groupe i, et $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ un terme d'erreur aléatoire. On impose généralement que $\sum_{i=1}^{k} \alpha_i = 0$.

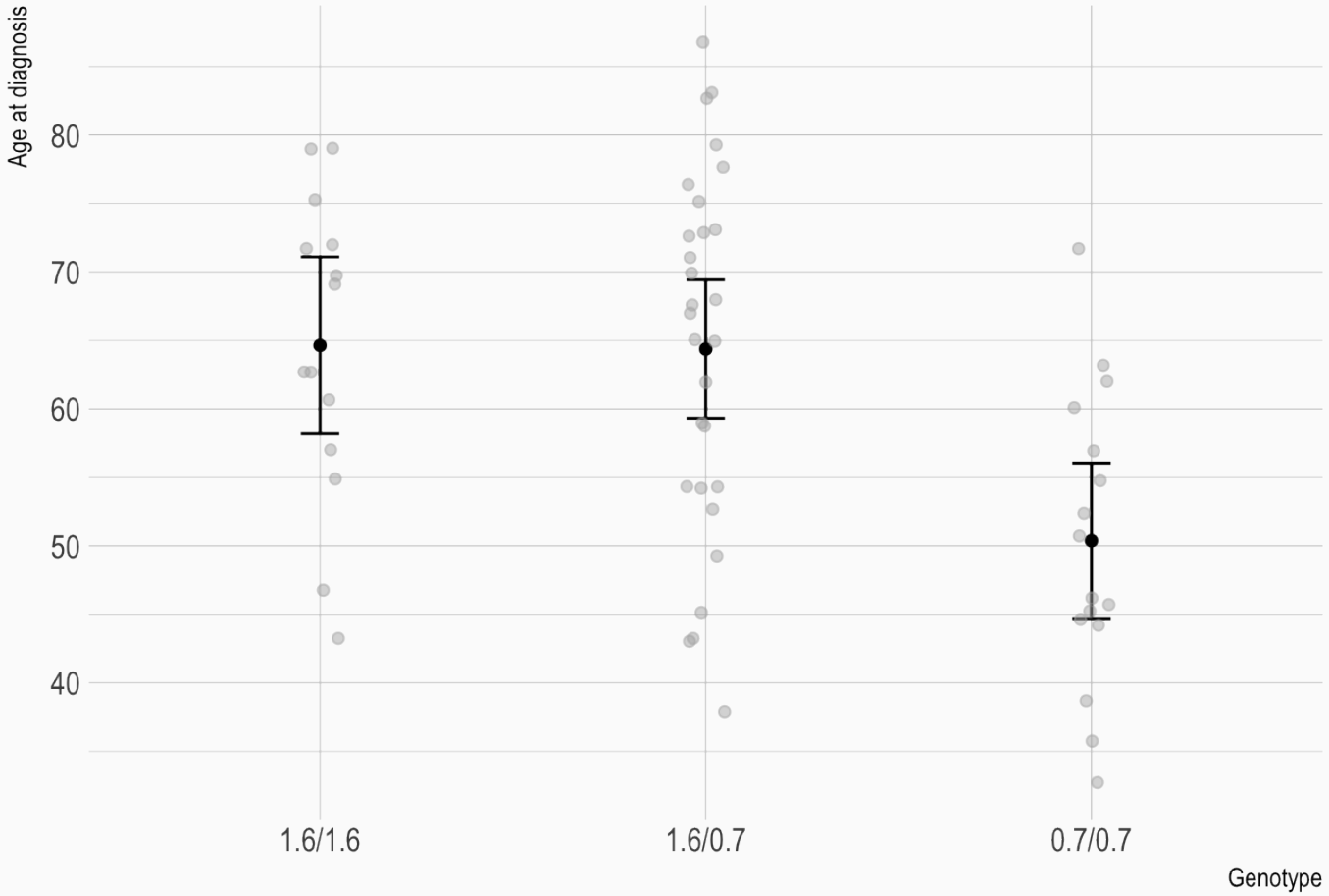
L'hypothèse nulle se lit $H_0 : \alpha_1 = \alpha_2 = \cdots = \alpha_k$. Sous cette hypothèse d'égalité des moyennes de groupe, la variance entre groupe ("between") et la variance propre à chaque groupe ("within") permettent d'estimer σ^2. D'où le test F d'égalité de ces deux variances. Sous H_0, le rapport entre les carrés moyens inter et intra-groupe (qui estiment les variances ci-dessus) suit une loi F de Fisher-Snedecor à $k - 1$ et $N - k$ degrés de liberté.

Analyse de variance (2)

On utilise des données collectées dans le cadre d'une étude sur le polymorphisme du gène du récepteur estrogène en fonction de l'âge de diagnostic des individus [4].

		N	Mean	SD
genotype	1.6/1.6	14	64.6429	11.1811
	1.6/0.7	29	64.3793	13.2595
	0.7/0.7	16	50.3750	10.6388
Overall		59	60.6441	13.4943

Analyse de variance (3)



Analyse de variance (4)

```
            Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
genotype     2   2316    1158    7.86 0.00098
Residuals   56   8246     147

 Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data:  age and genotype

        1.6/1.6 1.6/0.7
1.6/0.7 0.947   -
0.7/0.7 0.002   5e-04

P value adjustment method: none
```

Recherche de motifs

En faisant l'hypothèse (erronée) que tous les nucléotides sont indépendants les uns des autres, de sorte que la probabilité d'observer n'importe lequel des nucléotides vaut $1/4$, quelle est la probabilité de trouver une séquence d'ADN donnée dans une fenêtre de taille fixée à l'avance ?

Seconde loi de Mendel

Deux organismes hétérozygotes ont pour génotype Aa et Bb. Quelle est la probabilité que leur descendant ait le génotype aa BB ?[1]

	AB	Ab	aB	ab
AB	AA BB	AA Bb	Aa Bb	Aa Bb
Ab	AA bB	AA bb	Aa bB	Aa bb
aB	aA BB	aA Bb	aa BB	aa Bb
ab	aA bB	aA bb	aa bB	aa bb

Puisqu'il y indépendance, on a $P(\text{aa}) \times P(\text{BB}) = \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{16}$.

[1] Rosalind bioinformatics problems

Prolifération bactérienne

Une suspension bactérienne contient 5000 bactéries par litre. On ensemence à partir de cette suspension 50 boites de Pétri (1 cm^3 par boite). Si X représente le nombre de colonies par boite, X suit une loi de Poisson de paramètre 5, $P(\lambda = 5)$.[2]

Quelle est la probabilité qu'il n'y ait aucune colonie sur la boite de Pétri ?

[2] Benjamin Jourdain, Probabilités et statistique pour l'ingénieur (2018)

Le modèle de Jukes-Cantor en phylogénie

On souhaite comparer deux espèces (eucaryotes) ayant un ancêtre commun. Des mutations aléatoires intervenant sur le génome au cours de leur évolution, un alignement des deux séquences ne donnera pas 100 % d'identité.

Matrice de transition :

$$\begin{pmatrix} -0.886 & 0.190 & 0.633 & 0.063 \\ 0.253 & -0.696 & 0.127 & 0.316 \\ 1.266 & 0.190 & -1.519 & 0.063 \\ 0.253 & 0.949 & 0.127 & -1.329 \end{pmatrix}$$

Si l'on se trouve dans l'état A, on y restera un temps exponentiel de paramètre $-q_{ii} = 0.886$. La probabilité d'observer la transition $A \to C$ est donnée par $-q_{ij}/q_{ii} = \frac{0.190}{0.886}$.

PCR et processus de branchement

Considérons N_0 brins d'ADN au début du processus. Chacun de ces brins peut être vu comme un ancêtre d'un processus de Galton-Watson, ayant pour loi de probabilité $p_1 = 1 - p$, $p_2 = p$ et $p_k = 0$ pour $k \neq 1, 2$. Ici, p représente la probabilité de succès du cycle d'amplification. L'espérance mathématique de la reproduction vaut $m = 1 + p$, et sa variance $\sigma^2 = p(1 - p) = (m - 1)(2 - m)$, avec $q = 0$ (probabilité d'extinction). Le nombre attendu de brins d'ADN après n cycles vaut alors $N_0 m^n$.

Références i

[1] P. Armitage and E. Colton. *Encyclopedia of Biostatistics*. 2nd ed. Wiley, 2005.

[2] M. J. Campbell, S. A. Julious, and D. G. Altman. "Estimating Sample Sizes for Binary, Ordered Categorical, and Continuous Outcomes in Two Group Comparisons". In: *BMJ* 311 (1995), pp. 1145—1148.

[3] J Cohen. "The Earth is Round (p < .05)". In: *American Psychologist* 49.12 (1994), pp. 997–1003.

[4] W. D. Dupont. *Statistical Modeling for Biomedical Researchers*. 2nd. Cambridge University Press, 2009.

Références ii

[5] Phillip Good. *Permutation, Parametric, and Bootstrap Tests of Hypotheses*. New York: Springer-Verlag, 2005.

[6] J. P. A. Ioannidis. "Why Most Published Research Findings Are False". In: *PLoS Medicine* 2 (2005), e124.

[7] Fabricia F. Nascimento, Mario dos Reis, and Ziheng Yang. "A biologist's guide to Bayesian phylogenetic analysis". In: *Nature Ecology Evolution* 1 (2017), pp. 1446–1454.

[8] Stephen Senn. *Dicing with Death*. Cambridge University Press, 2003.