Лекция 3: Статистика в клеточной биологии и в клинических исследованиях

Тишков Артем Валерьевич

Никита Николаевич Хромов-Борисов

Кафедра физики, математики и информатики ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

Упорядоченный посев и пуассонер – высокоточная техника количественной микробиологии

МЕДИЦИНА. XXI ВЕК

№ 2 (11) 2008, с. 92-97

Распределение Пуассона

- **Распределение числа событий, происходящих в фиксированном временнóм или пространственном интервале (объеме),**
- **при условии,**
- **что эти события независимы и что**
- **вероятность совпадения (попадания в одну точку пространства) или одновременного наступления дв[illegible]ее событий пренебрежимо мала.**

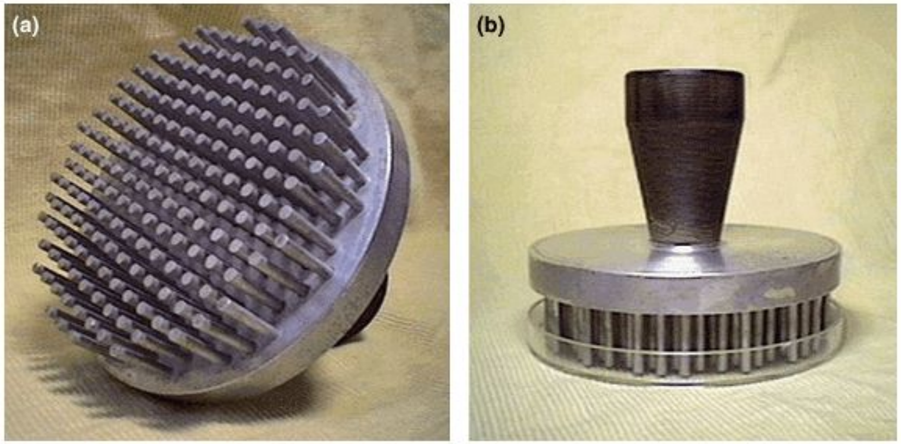
Симеон Дени Пуассон (*Siméon Denis Poisson*, 21.06.1781—25.04.1840)

Распределение Пуассона

- $P(k) = e^{-\lambda}\lambda^k/k!$
- e = 2,71828 – основание натурального логарифма
- $k! = 1\cdot 2\cdot \ldots (k-1)\cdot k$ – факториал
- Характеристическое свойство распределения Пуассона – его математическое ожидание (среднее значение) и дисперсия равны друг другу:
- $Ek^* = Dk^* = \lambda$,
- т.е. это распределение имеет всего лишь один параметр λ.

Пуассонер, упорядоченный посев

Н. Н. Хромов-Борисов, Jenifer Saffi , Joao A. P. Henriques
Упорядоченный посев и пуассонер – высокоточная техника количественной микробиологии



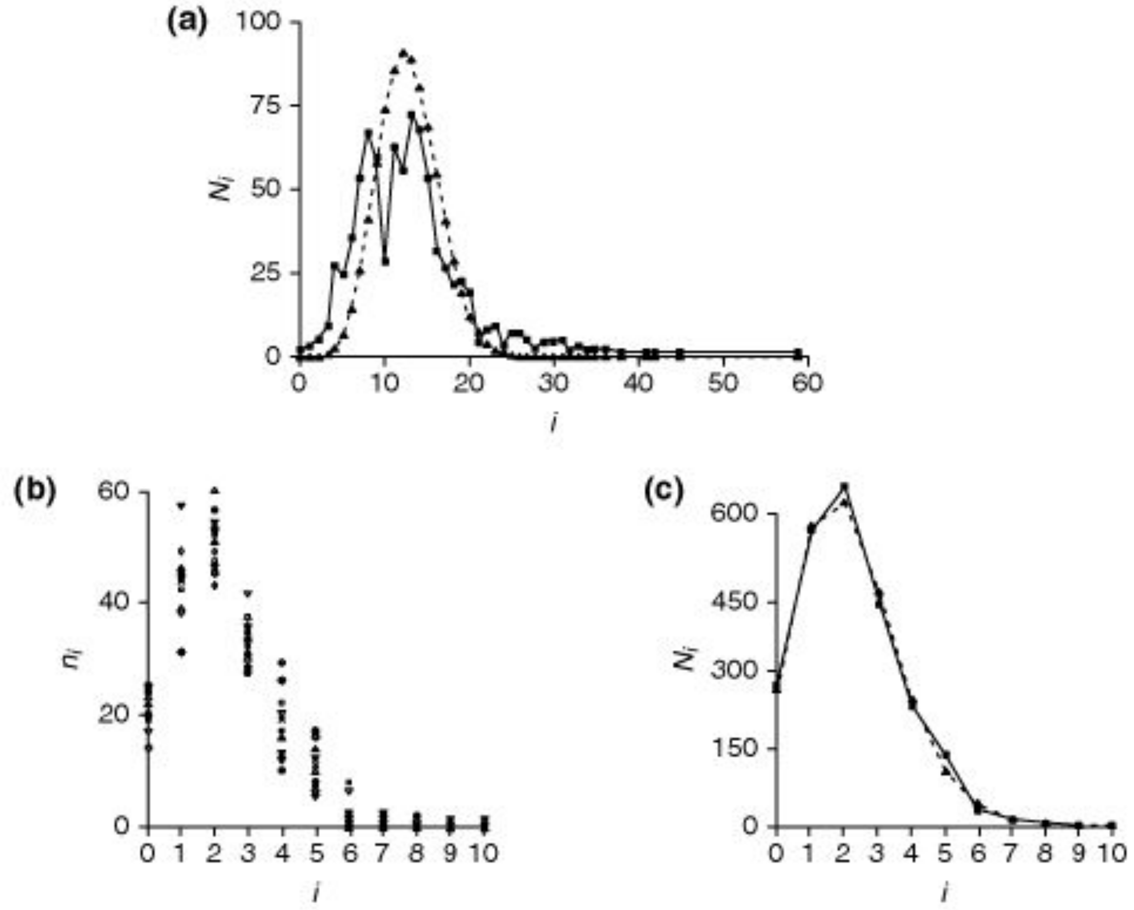
Сравнение упорядоченного посева с обычным методом

Воспроизводимость

Распределения числа колоний дрожжей на десяти чашках Петри, порожденные пуассонером, и их сравнение с распределением числа колоний, полученных традиционным методом посева

	Число следов (вмятин) с i колониями на каждой чашке Петри:										
i	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Всего
0	21	23	19	27	25	18	24	23	26	25	231
1	48	48	57	51	48	43	41	54	45	43	478
2	56	54	54	49	59	49	63	54	47	48	533
3	29	29	35	37	32	38	32	34	36	38	340
4	18	17	13	14	11	23	14	13	20	20	163
5	13	15	5	8	8	7	11	7	11	11	96
6	2	1	2	1	2	8	0	1	2	1	20
7	0	0	0	0	0	1	2	1	0	1	5
8	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2
9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Общее число следов	187	187	187	187	187	187	187	187	187	187	1870
Согласие с распределением Пуассона[a]	0,77	0,98	0,39	0,61	0,47	0,89	0,79	0,51	0,95	1,00	0,97
	Общее число колоний на чашке, полученных с применением пуассонера[b]										
PP = 0,66	396	392	378	362	374	437	388	364	394	401	3886
	Общее (с повышенной дисперсией) число колоний на чашке, полученное традиционным методом посева[c]										
PT ≈ 10–32	308	443	391	372	341	320	435	381	328	315	3634

Пуассоновость



Среднеквадратичное отклонение (стандартная ошибка среднего)

- Поскольку математическое ожидание (среднее значение) и дисперсия распределения Пуассона равны друг другу:
  - $\mathrm{E}k^* = \mathrm{D}k^* = \lambda,$
- то его среднеквадратичное отклонение есть:
  - $SE = \sqrt{\mathrm{D}k^*} = \sqrt{\lambda}$

Элементы планирования экспериментов

Счетная камера Горяева (гемацитометер)

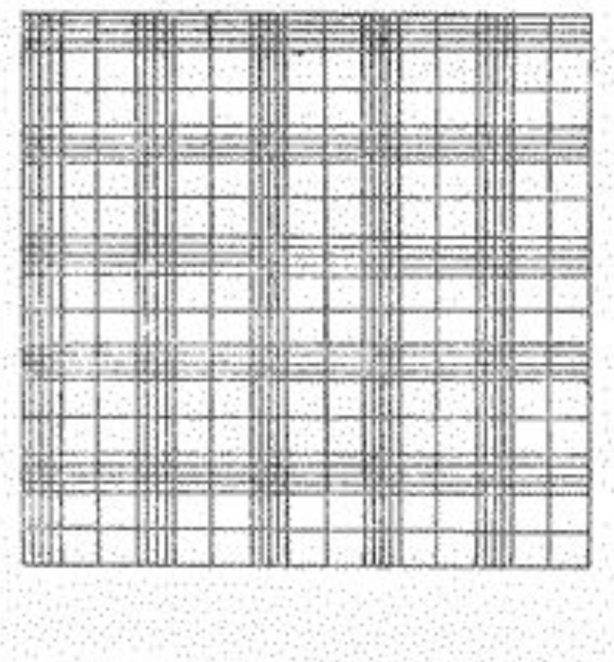
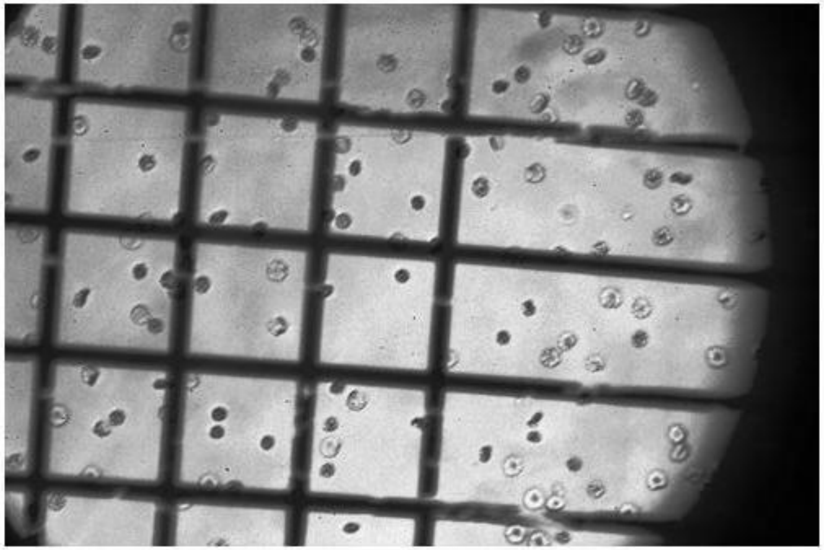
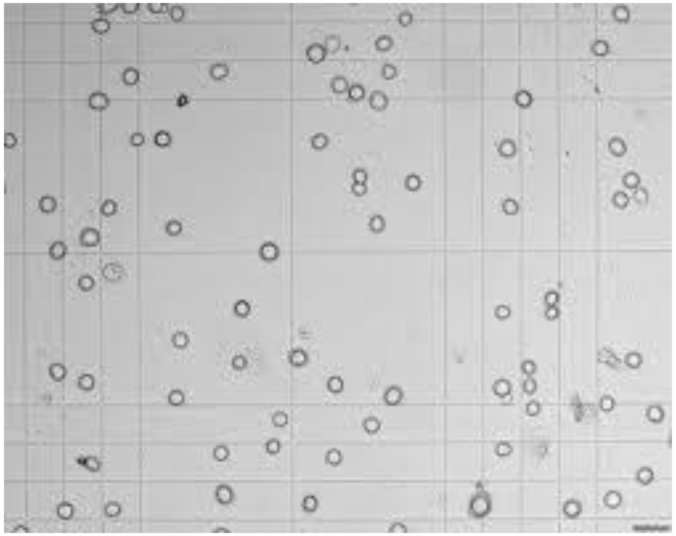
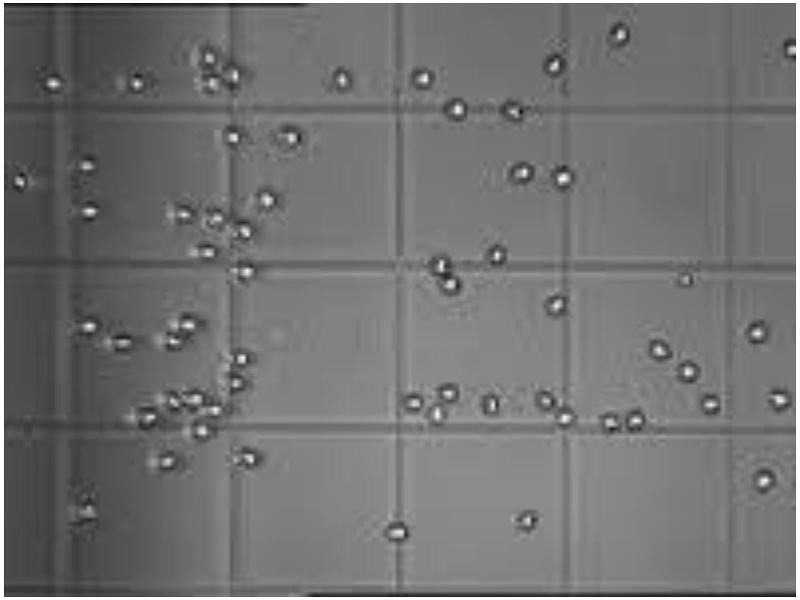


Рис. 1. Сетка камеры Горяева

Клетки в камере Горяева

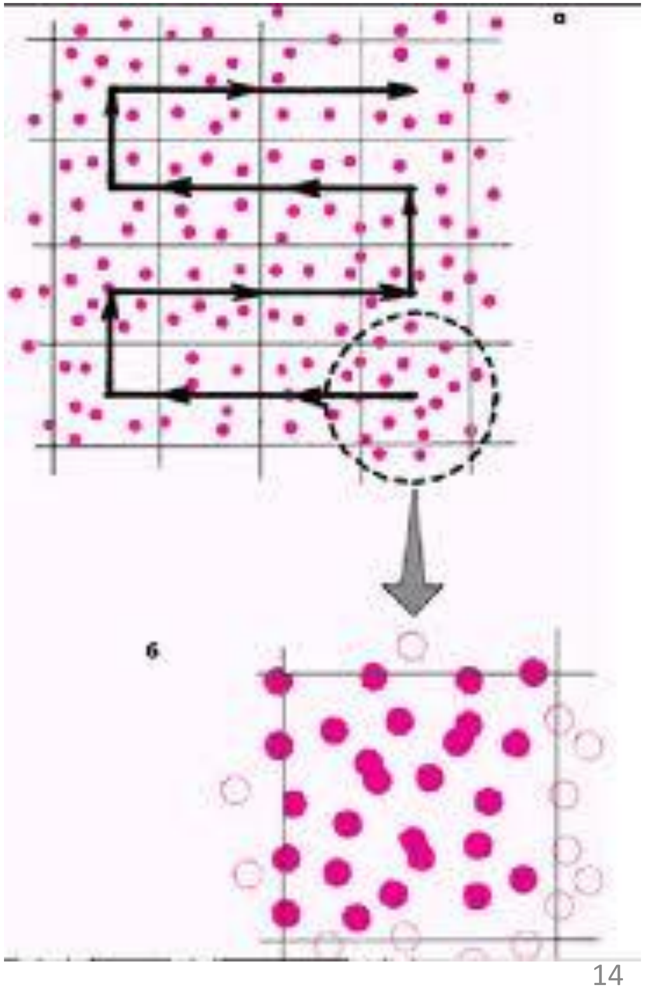






Как подсчитывать клетки в камере Горяева

- $N \pm \sqrt{N}$
- Сколько клеток надо подсчитать, чтобы относительная ошибка составила 5%?
- Ответ: ~ 400
- Решение:
- $SE = \sqrt{400} = 20$
- $20 : 400 = 0{,}05$



- **Так сколько же клеток надо подсчитать, чтобы относительная ошибка составила 1%?**
- **Ответ: ~ 10 000**
- **Решение:**
- **SE = $\sqrt{10\,000}$ = 100**
- **100 : 10 000 = 0,01**

Молитва и сепсис

Leonard Leibovici, Университет Тель-Авива, Израиль

- Основные научные интересы:
- Бактериальные инфекции и антибиотикотерапия;
- Компьютеризация медицинских исследований;
- Медицинская этика;
- Доказательная медицина.
-

Leonard Leibovici **Effects of remote, retroactive intercessory prayer on outcomes in patients with bloodstream infection: randomised controlled trial // *BMJ,* 2001. – Vol. 323. – P. 1450-1451.**

- ***Методы***
- **Выборку из 3393 пациентов с заражением крови (с сепсисом) рандомизированно, т.е. случайным образом разбили на две группы – контрольную (1702 пациента) и опытную (1691 пациент).**

- **Перечень имен пациентов во второй группе был передан человеку, который произносил краткую молитву за улучшение здоровья и полное выздоровление всей этой группы целиком.**

- **Пациенты, за которых молились, об этом не знали.**

Основные характеристики двух групп пациентов

Table 1 Baseline characteristics of patients. Values are percentages in each group, unless stated otherwise. None of the differences between the groups was significant

Characteristic	Intervention group (n=1691)	Control group (n=1702)
Women	46.3	48.5
Median (range) age (years)	72 (18-101)	72 (18-99)
Source of infection:		
Lungs	8.3	9.4
Urinary tract	31.3	28.9
Intra-abdominal	9.5	8.9
Soft tissues	7.5	7.6
Endocarditis	3.5	3.3
Neutropenic fever	3.5	2.7
Intravascular line	6.3	6.4
Other	7.8	9.6
Unknown	22.3	23.2
Septic shock	11.2	11.8
Neutropenia	5.7	5.8
Infected while in hospital	40.2	41.9
Median (range) creatinine (mg/dl)	1.2 (0.2-14.8)	1.2 (0.2-15.0)
Median (range) albumin (mg/dl)	3.8 (1.1-5.1)	3.8 (1.5-5.0)

Результаты

Группа	Умерло	Выжило	Всего
Без молитвы	514 ${}_{0,27}0,30_{0,34}$	1188	1702
С молитвой	475 ${}_{0,25}0,28_{0,32}$	1216	1691
Всего	989 ${}_{0,26}0,29_{0,31}$	2404	3393
Проверка независимости (однородности)			
Точное *P*-значение	$P_{exact} = 0,19$		
Бейзов фактор	$BF_{01} = 12,7$		

Связь между молитвой и смертностью от сепсиса статистически незначима ($P_{val} = 0,19 > 0,05$). Полученное значение бейзова фактора ($BF_{01} = 12,7$) показывает, что примерно в 13 раз более правдоподобно получить такие данные, когда эта связь действительно отсутствует, чем когда она есть. Молитва, скорее всего, не влияет на смертность при сепсисе.

Основные меры эффекта в таблицах 2x2

- **Разность долей (рисков) – *RD* (Risk Difference)**

- **Отношение рисков (долей) – *RR* (Risk Ratio)**

- **Отношение оддов (шансов за/против) – *OR* (Odds Ratio)**

- **Число подлежащих воздействию – *NNT* (Number Needed to Treat)**

Таблица 2×2

Группа	Исход (эффект)		Всего
	Неблагоприятный	Благоприятный	
Контроль	a	b	$a + b$
Опыт	c	d	$c + d$
Всего	$a + c$	$b + d$	N
Разность долей	$RD = [c/(c + d)] - [a/(a + b)]$		
Отношение долей	$RR = [c/(c + d)] : [a/(a + b)]$		
Отношение оддов	$OR = ad/bc$		
Число подлежащих	$NNT = 1/RD$		

Принципы построения бейзовских статистических оценок

Бейзовский Доверительный (правдоподобный) Интервал (ДИ)

$$\boldsymbol{P}\left(\varphi_{\boldsymbol{L}} \leq \widetilde{\varphi} \leq \varphi_{\boldsymbol{U}}\right) = 1 - \alpha$$

$$\boldsymbol{P}\left(\widetilde{\varphi} \leq \varphi_{\boldsymbol{L}}\right) = \frac{\alpha}{2}$$

$$\boldsymbol{P}\left(\widetilde{\varphi} \geq \varphi_{\boldsymbol{U}}\right) = \frac{\alpha}{2}$$

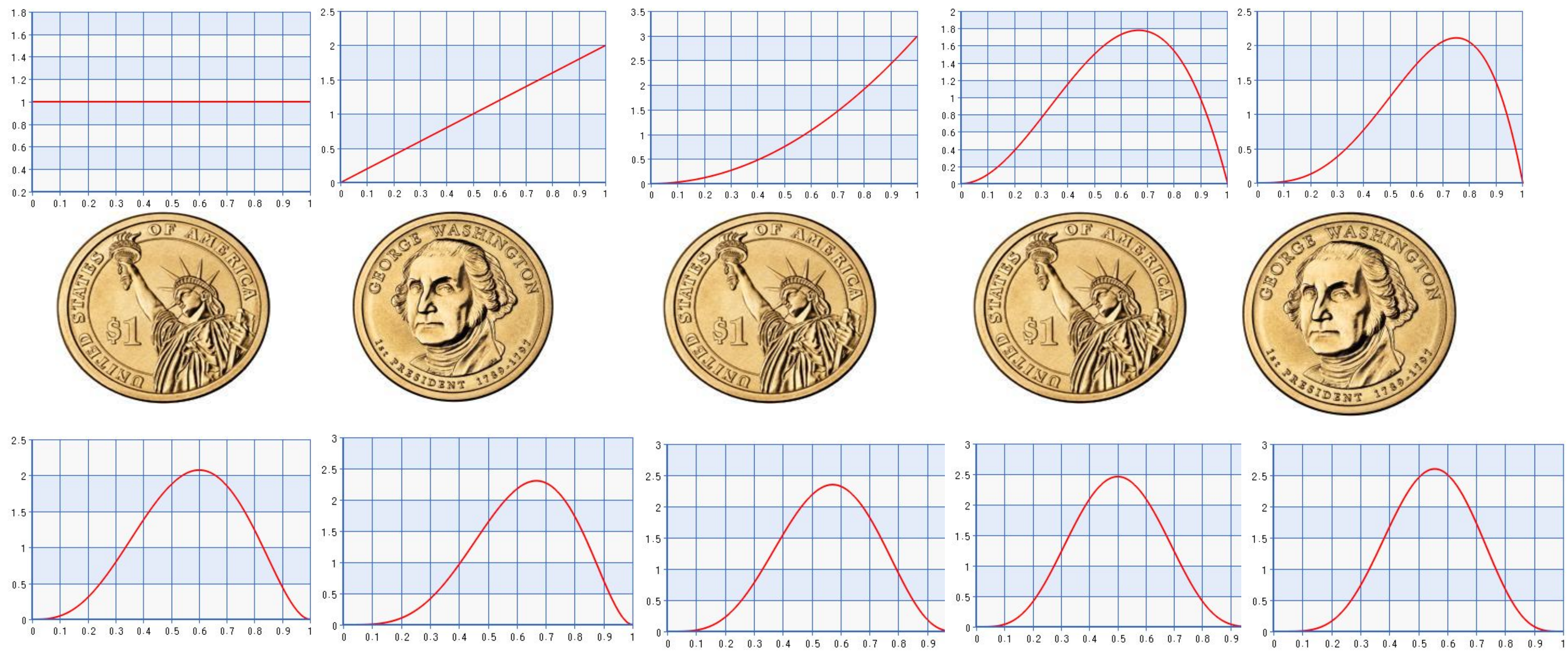
Использованные программы

- **Моделирование подбрасывания монет:**
- http://www.random.org/coins/
- **и**
- http://www.random.org/coins/
- **Построение графиков бета-распределения:**
- http://keisan.casio.com/has10/SpecExec.cgi
- **Вычисление бейзовских доверительных интервалов для долей:**
- **Программа LePAC version 2.0.38**
- http://www.univ-rouen.fr/LMRS/Persopage/Lecoutre/PAC.htm
- **и**
- http://www.causascientia.org/math_stat/ProportionCI.html

Порождение распределения для доли выпадения орлов φ(H)

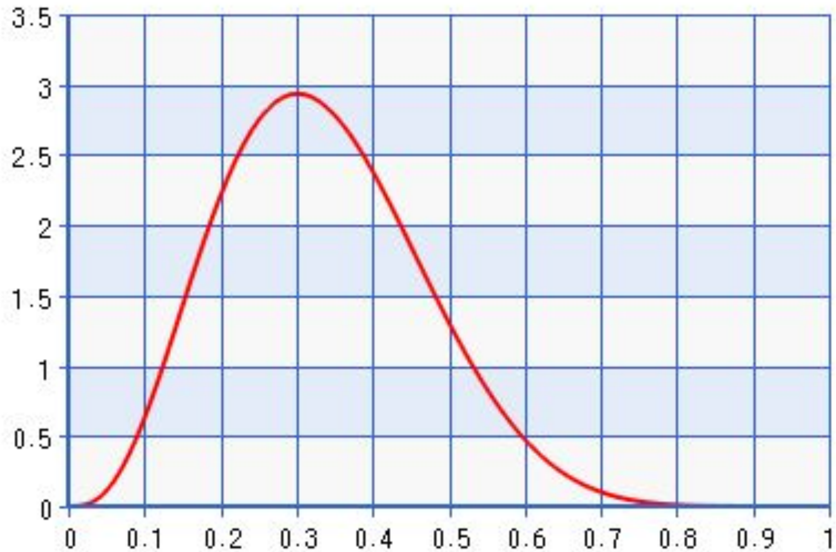
Нет информации

***Beta*(*a** = 1, *b** = 1)**



Точечные и интервальные статистические оценки доли выпадения орлов φ(H)

3 H : 7 T; n = 10 $Beta(a^* = 4, b^* = 8)$

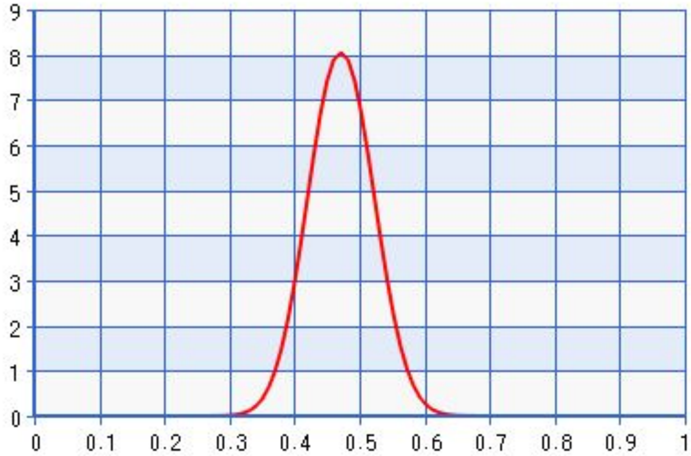


Плотность бета распределения
$Beta(a = 4, b = 8)$

Статистические оценки			Ширина ДИ	Уровни доверия
Точечные	Границы ДИ			
	Нижние	Верхние		
	0,11	0,61	0,50	95%
0,32	0,07	0,69	0,62	99%
	0,04	0,78	0,74	99,9%

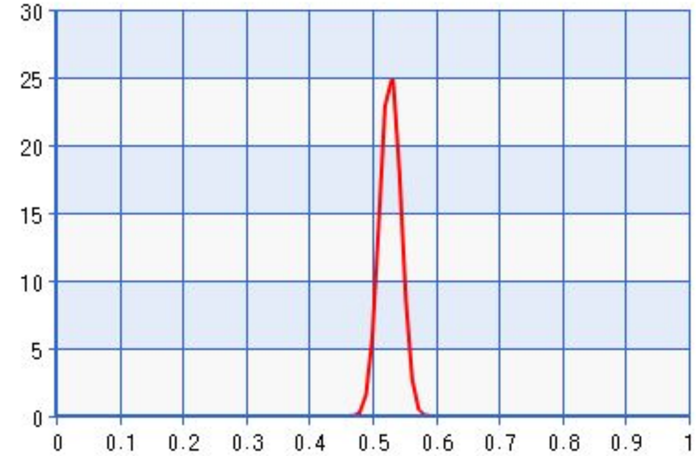
Точечные и интервальные статистические оценки доли выпадения орлов φ(H)

47 H : 53 T; *n* = 100; *Beta*(*a = 48, *b** = 54)**



Статистические оценки				Уровни доверия
Точечная	Границы ДИ		Ширина ДИ	
	Нижние	Верхние		
	0,38	0,58	0,20	95%
0,47	0,35	0,60	0,25	99%
	0,31	0,63	0,32	99,9%

527 H : 473 T; *n*=1000; *Beta*(*a = 528, *b** = 474)**

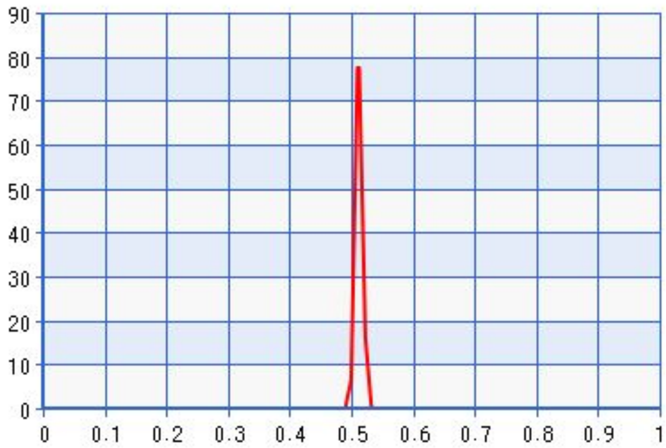


Статистические оценки				Уровни доверия
Точечная	Границы ДИ		Ширина ДИ	
	Нижние	Верхние		
	0,50	0,56	0,06	95%
0,53	0,49	0,57	0,08	99%
	0,48	0,58	0,10	99,9%

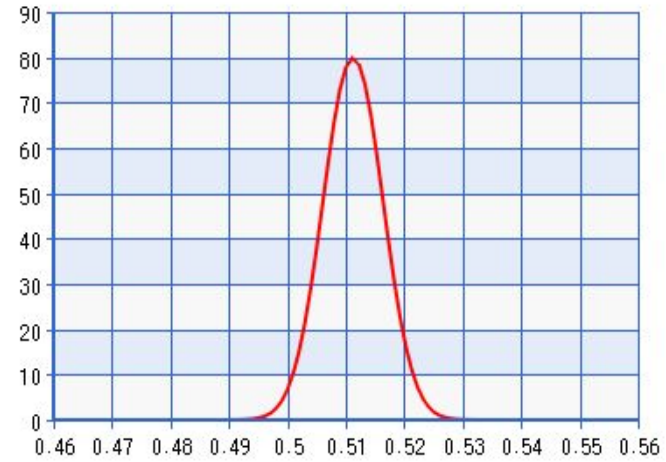
Точечные и интервальные статистические оценки доли выпадения орлов φ(H)

5111 H : 4889 T; n = 10 000;

$Beta(a^* = 5112, b^* = 4890)$



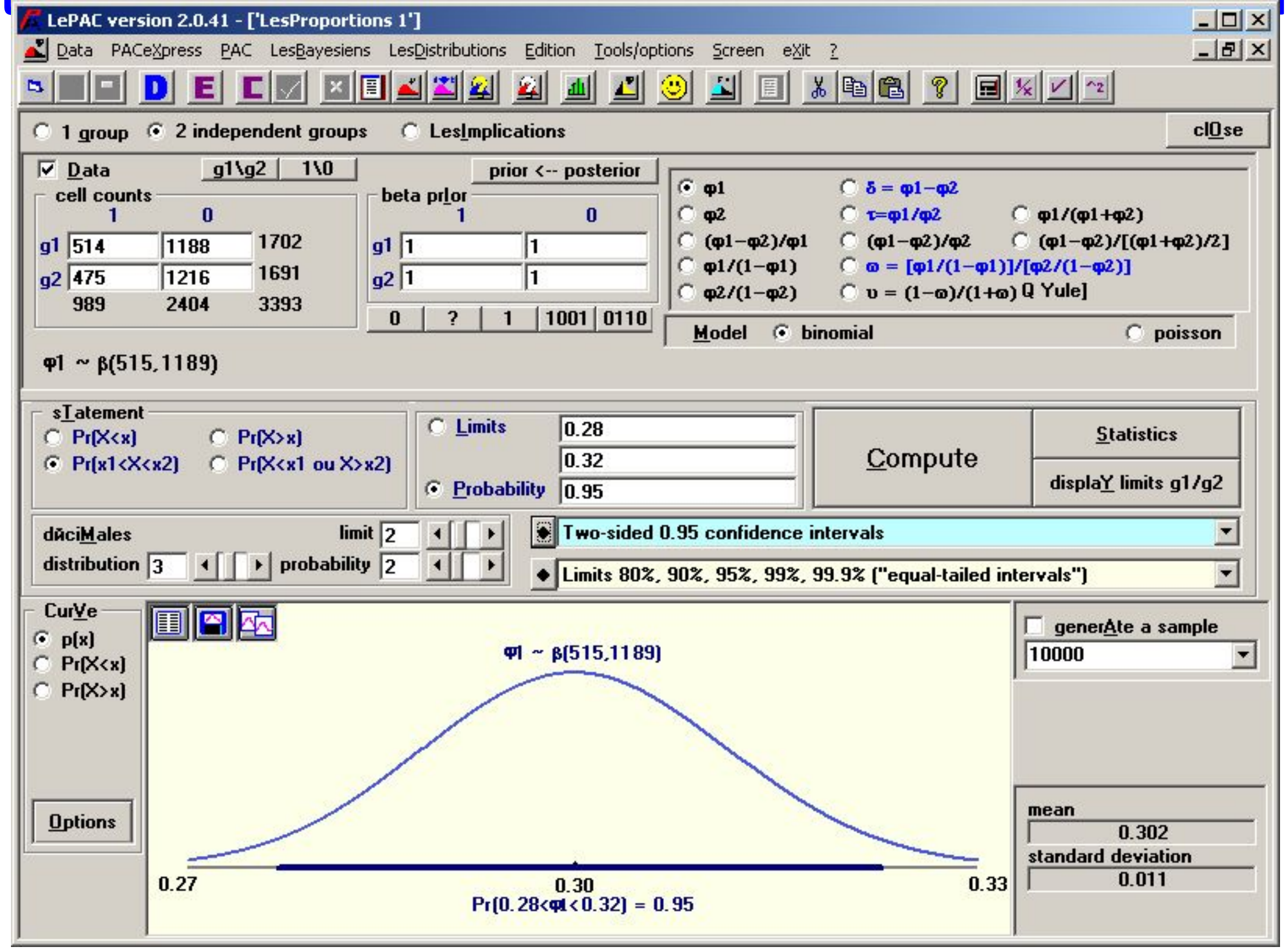
Более тонкий масштаб



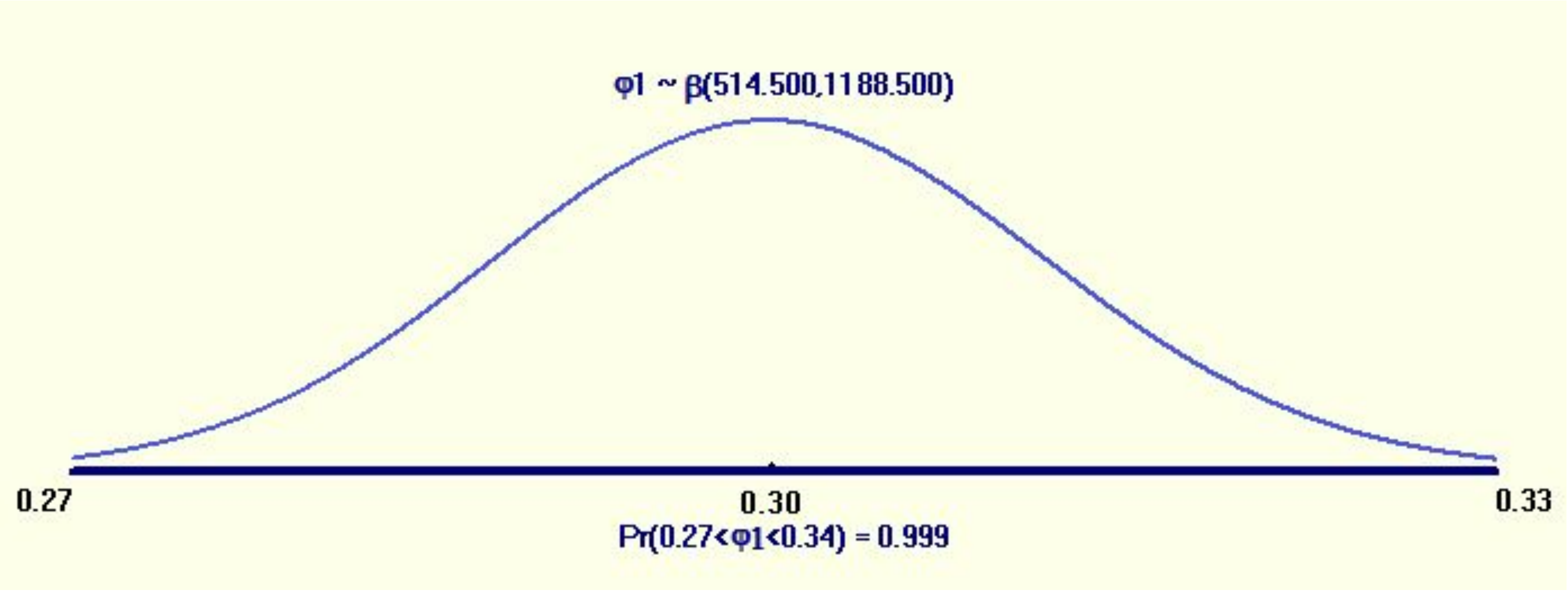
Статистические оценки				Уровни доверия
Точечная	Границы ДИ		Ширина ДИ	
	Нижние	Верхние		
	0,501	0,521	0,020	95%
0,511	0,498	0,524	0,026	99%
	0,495	0,528	0,033	99,9%

Оценка доли скончавшихся в контрольной группе, φ_1 в программе LePAC

http://www.univ-rouen.fr/LMRS/Persopage/Lecoutre/PAC.htm

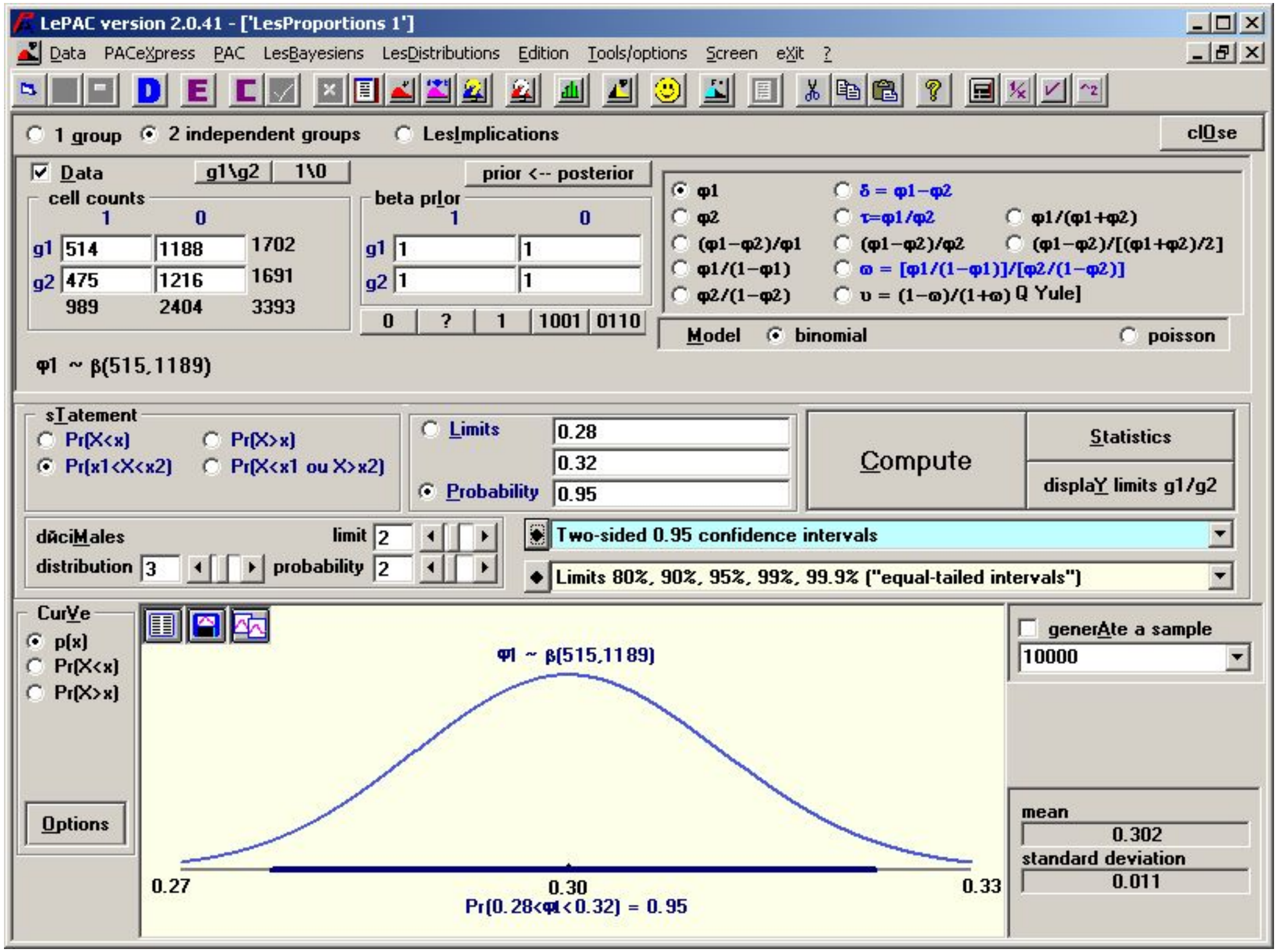


Плотность распределения и 99,9%-й ДИ для оцениваемой доли скончавшихся в контрольной группе, φ_1

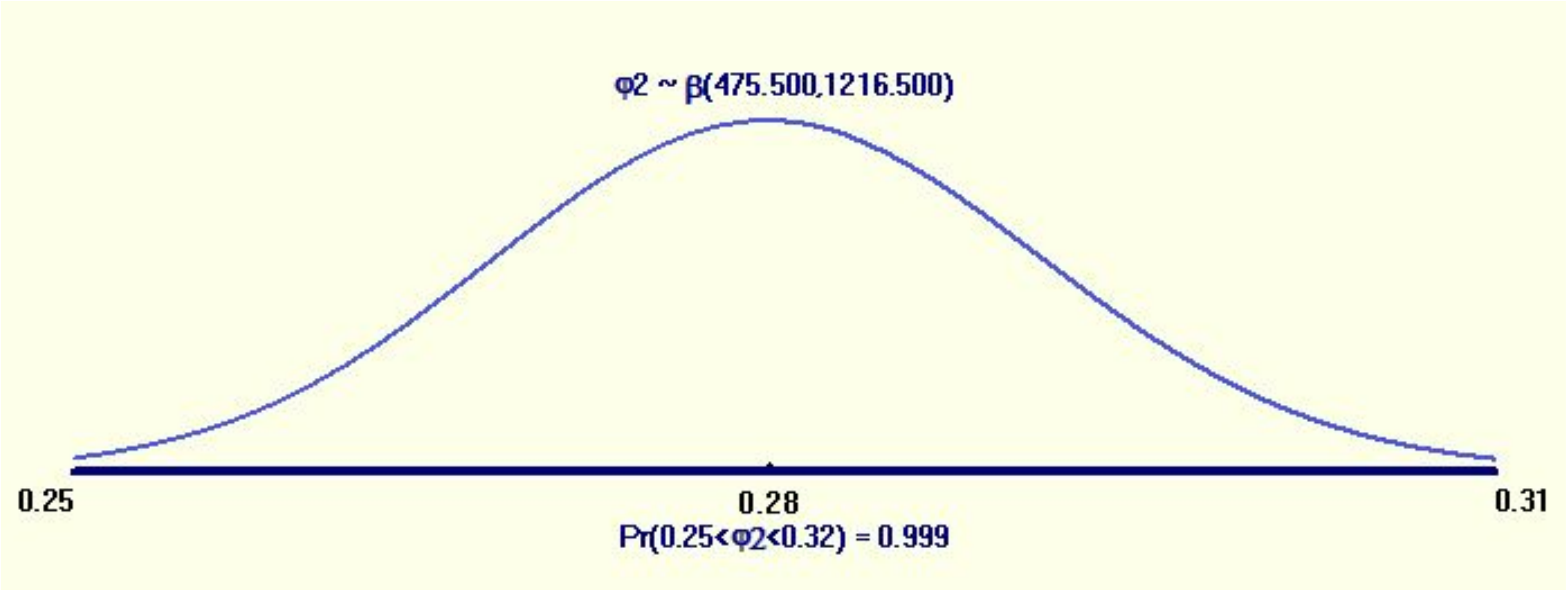


$$\varphi_1 = {}_{0,27}0{,}30_{0,34}$$

Оценка доли скончавшихся в группе подвергнутых воздействию молитвы φ_2 в программе LePAC

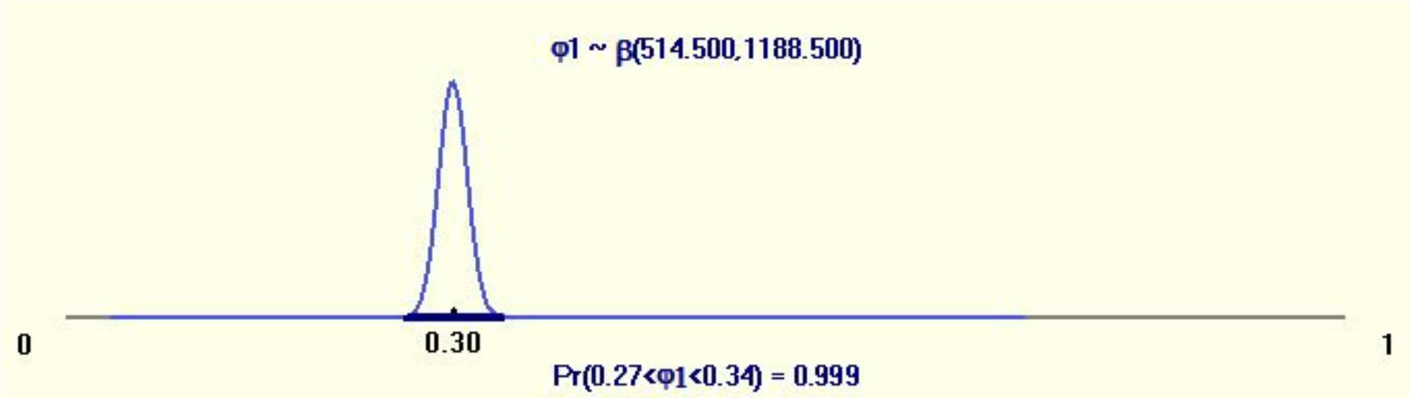


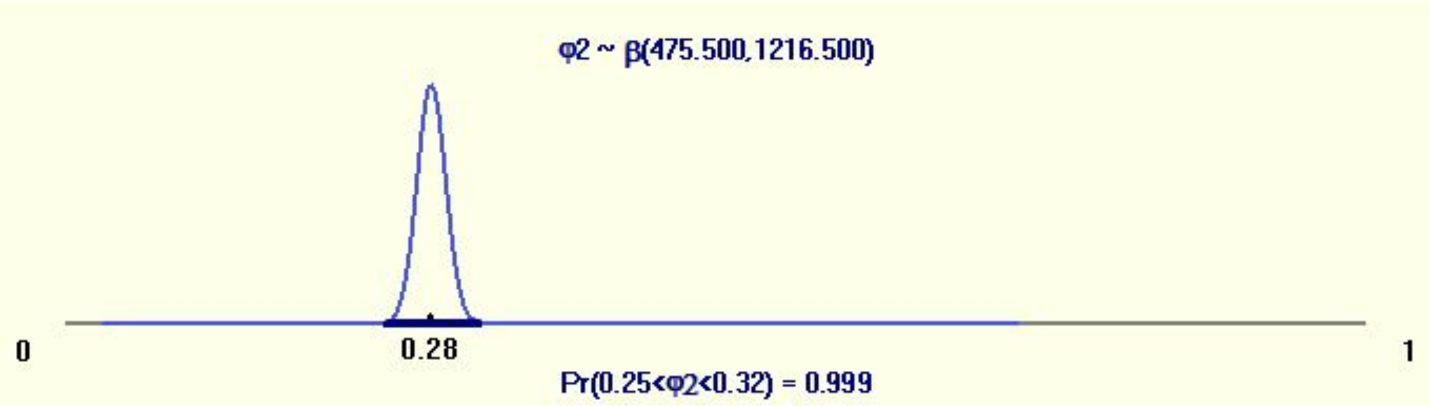
Плотность распределения и 99,9%-й ДИ для доли скончавшихся в группе подвергнутых воздействию молитвы, φ_2



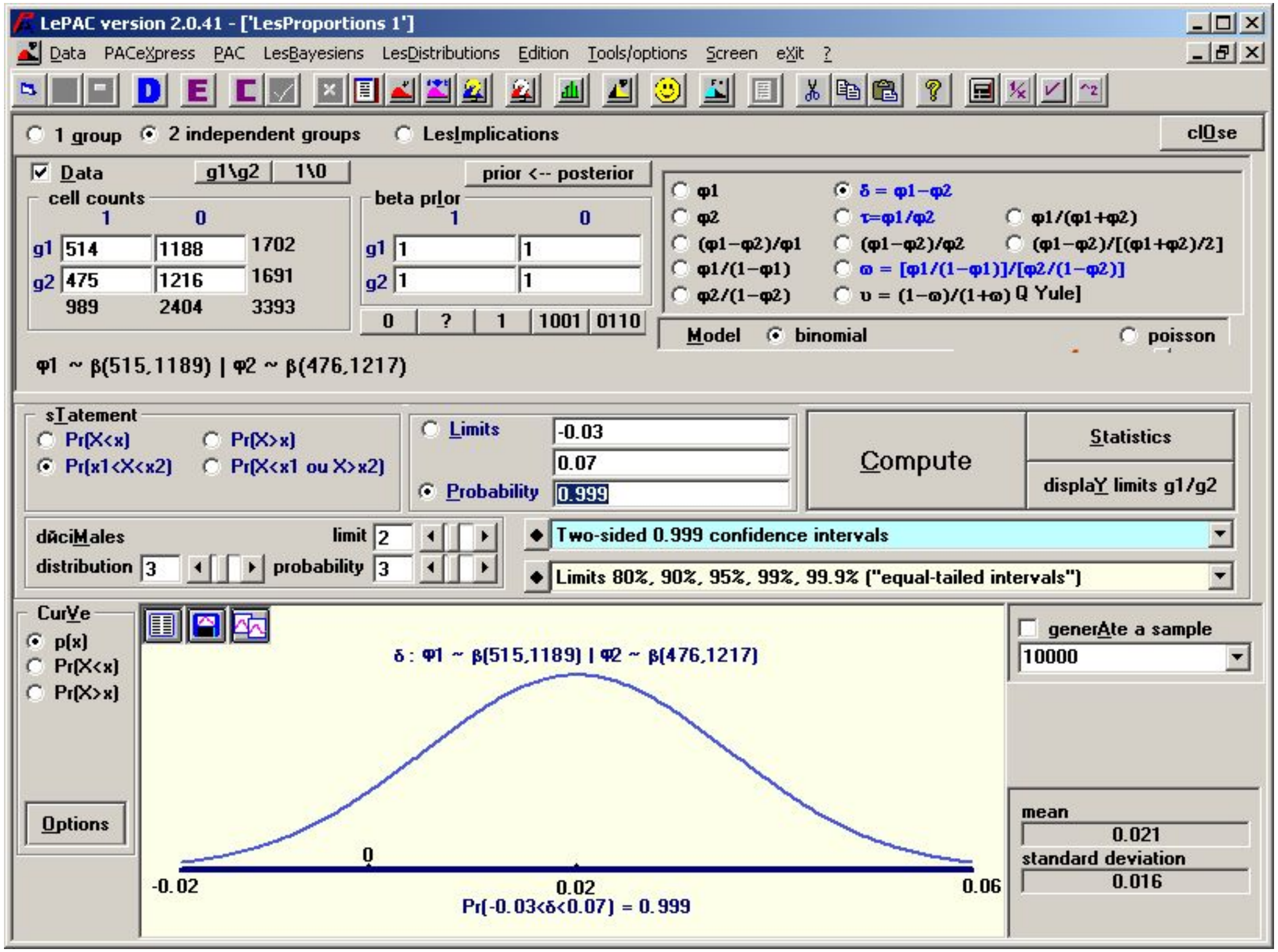
$$\varphi_2 = {}_{0,25}0{,}28_{0,32}$$

Плотности распределения для долей скончавшихся от сепсиса в группах пациентов, подвернутых (φ_1) и не подвергнутых молитве (φ_2)

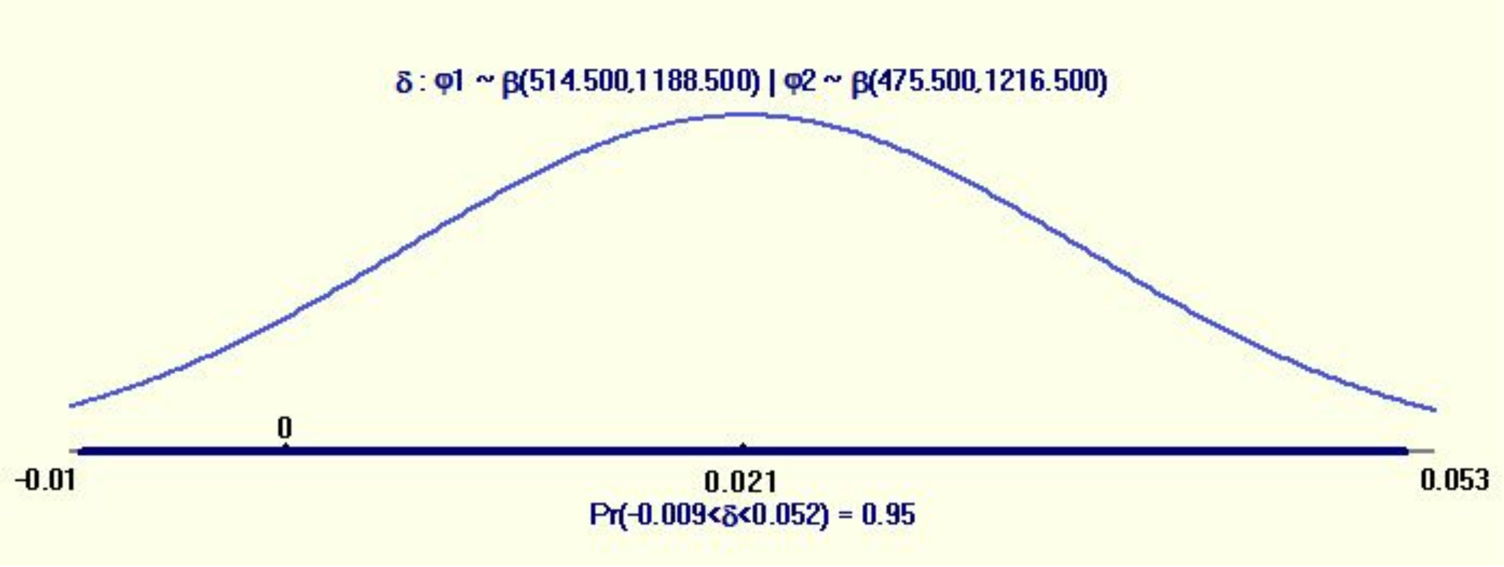




Оценка неизвестной разности долей $RD_{unkn} = \delta = \varphi_1 - \varphi_2$ в программе LePAC

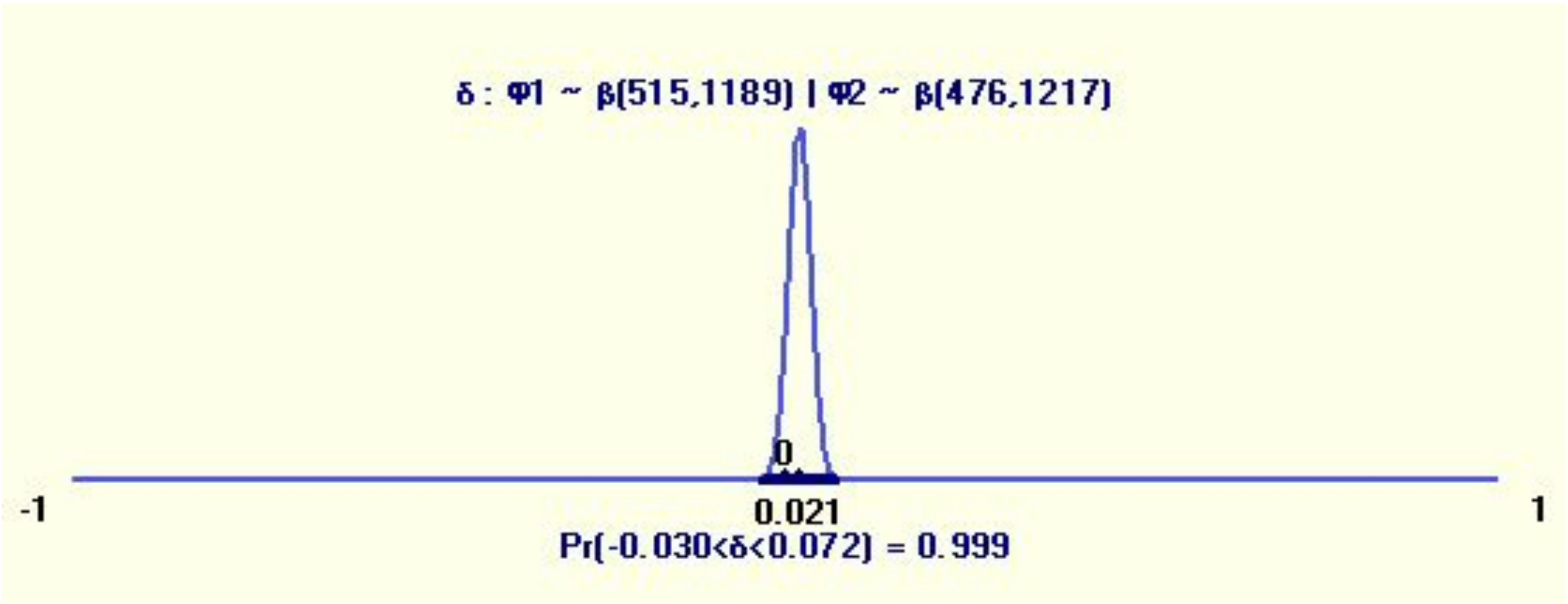


Плотность распределения и 95%-й ДИ для оцениваемой разности долей $RD_{unkn} = \delta = \varphi_1 - \varphi_2$



$$RD = {}_{-0,009}0,021_{0,052}$$

Плотность распределения для оцениваемой разности долей $\boldsymbol{\delta = \varphi_1 - \varphi_2 = RD}$ в допустимых границах от -1 до +1



95%, 99% и 99,9% ДИ для оцениваемой разности долей $RD_{unkn} = \delta = \varphi_1 - \varphi_2$

Уровень доверия	ДИ		
	Границы		Ширина
	Нижняя	Верхняя	
95%	- 0,009	0,052	0,061
99%	- 0,019	0,061	0,080
99,9%	- 0,030	0,072	0,102

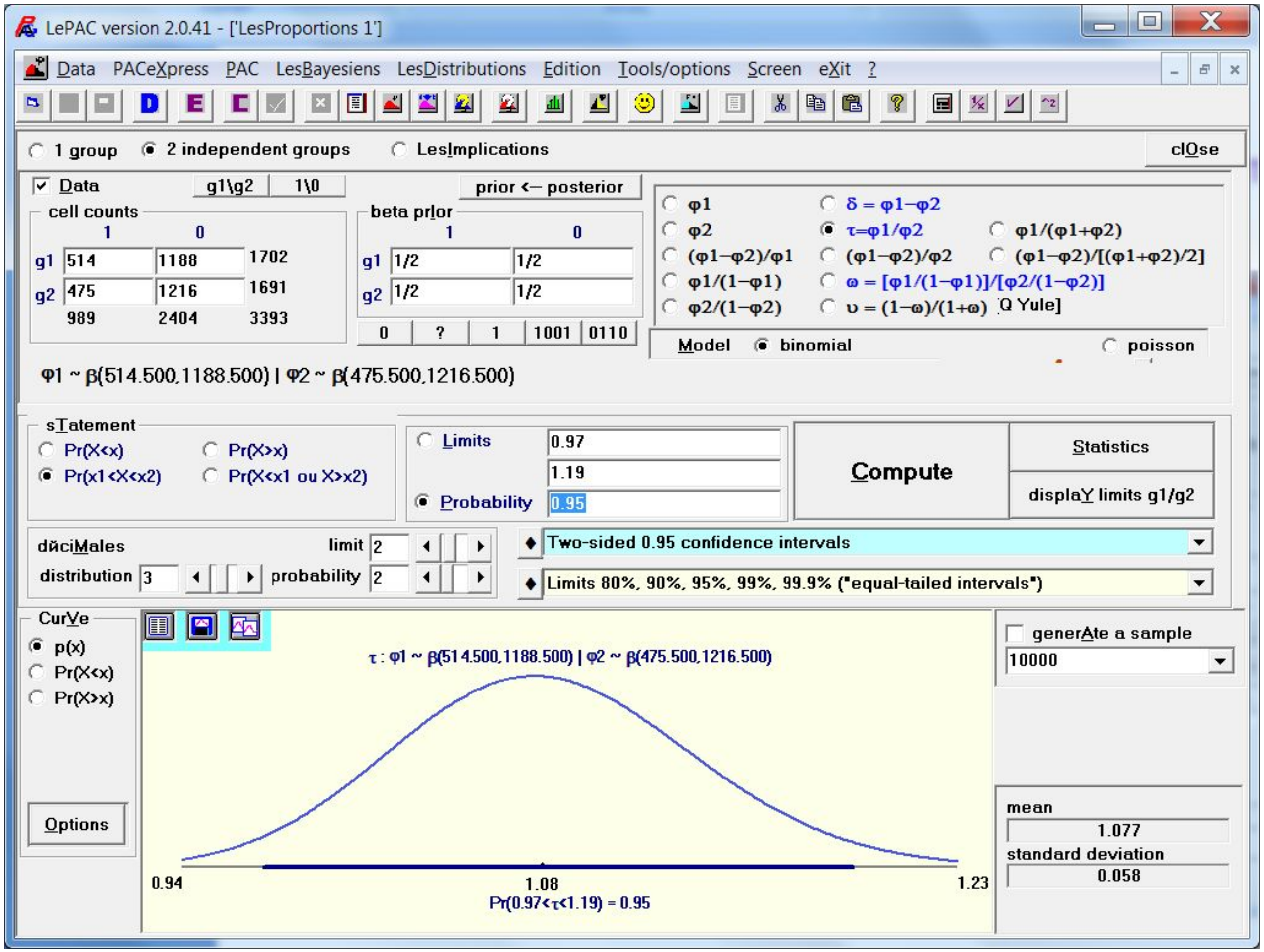
Когда доли равны ($\varphi_1 = \varphi_2$) , то их разность равна нулю: $RD = \delta = \varphi_1 - \varphi_2 = 0$.
Все три полученных ДИ для оцениваемой разности долей RD_{unkn} содержат значение $RD = 0$.
Это дает нам основание утверждать, что, скорее всего, оцениваемое этими интервалами неизвестное нам значение RD_{unkn} статистически не отличается от нуля и, соответственно, первая и вторая доли статистически одинаковы.
Основной вывод: Молитва, скорее всего, не влияет на смертность при сепсисе.

Что такое отношение рисков, $RR = \tau$?

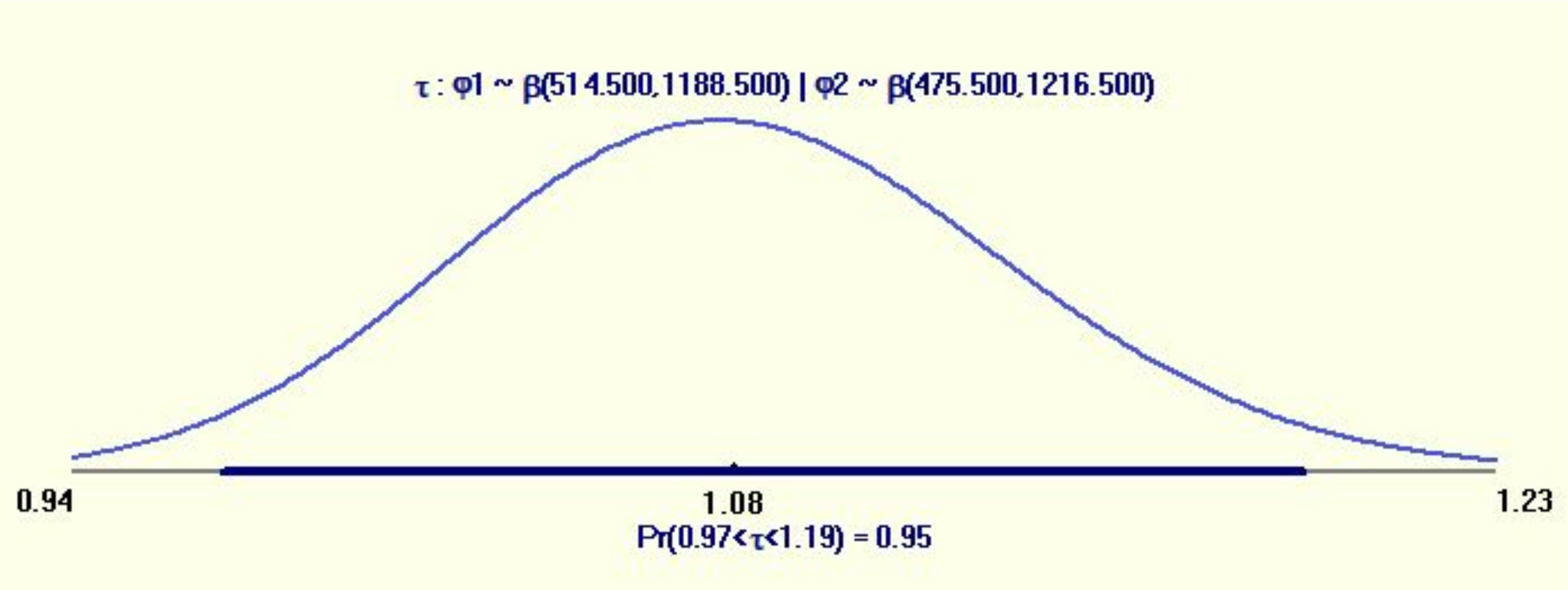
- Это есть отношение двух условных вероятностей (долей), например, доли скончавшихся в контрольной группе φ_1 к доле скончавшихся в опытной группе φ_2:

- $RR = \varphi_1 / \varphi_2$

Оценка неизвестного отношения долей (рисков) $RR_{unkn} = \tau = \varphi_1 / \varphi_2$ в программе LePAC



Плотность распределения и 95%-й ДИ для оцениваемого отношения долей (рисков) $RR_{unkn} = \tau = \varphi_1 / \varphi_2$



$$RR = {}_{0,97}1{,}08_{1,19}$$

95%, 99% и 99,9% ДИ для оцениваемого отношения долей $RR_{unkn} = \tau = \varphi_1 / \varphi_2$

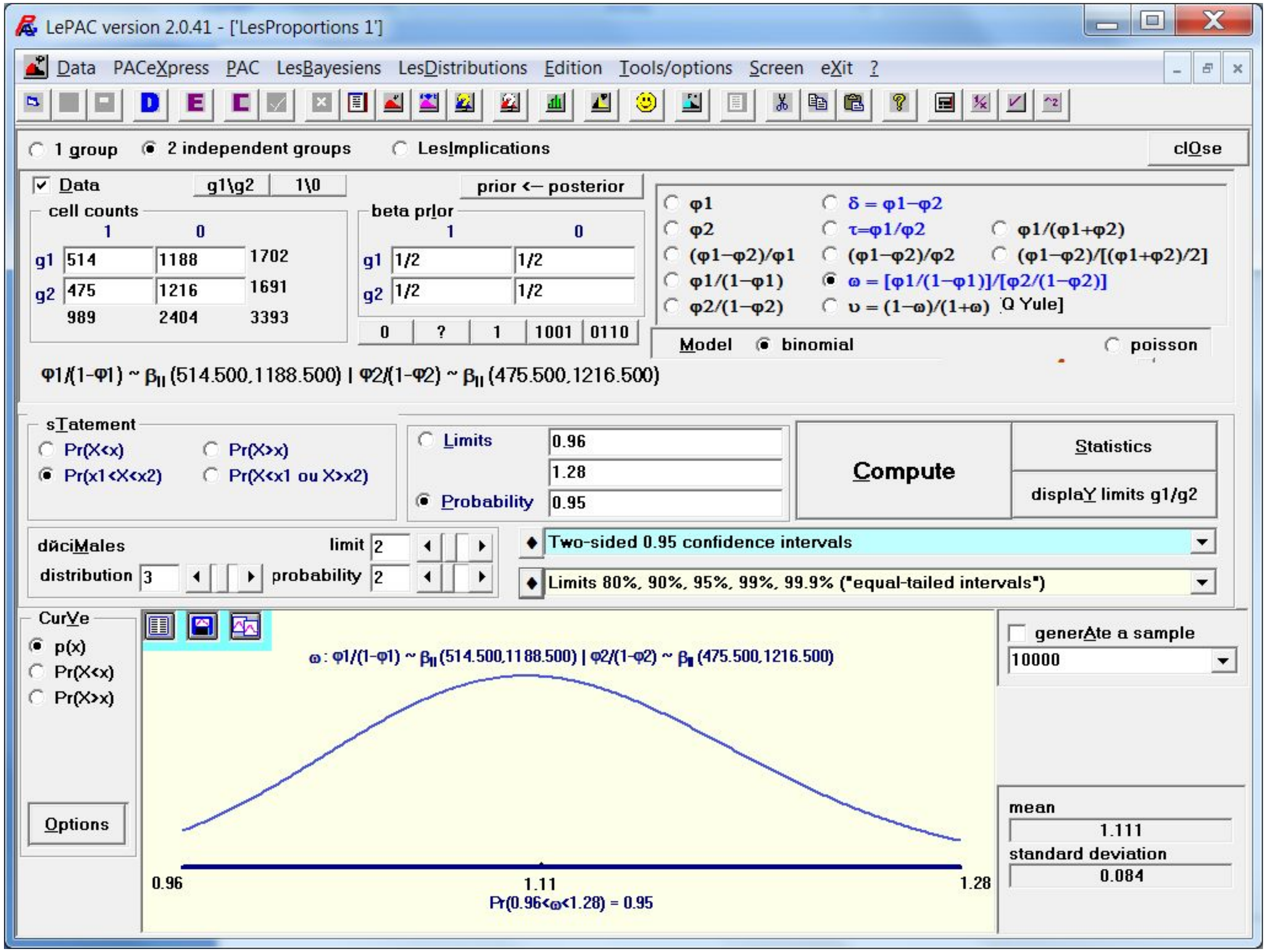
Уровень доверия	ДИ		
	Границы		Ширина
	Нижняя	Верхняя	
95%	0,97	1,19	0,061
99%	0,94	1,23	0,080
99,9%	0,90	1,28	0,102

Когда доли равны ($\varphi_1 = \varphi_2$), то их отношение равно единице:
$RR = \tau = \varphi_1 / \varphi_2 = 1$.
Все три полученных ДИ для оцениваемого отношения долей RR_{unkn} содержат значение $RR = 1$.
Это дает нам основание утверждать, что, скорее всего, оцениваемое этими интервалами неизвестное нам значение RR_{unkn} статистически не отличается от 1, соответственно, первая и вторая доли статистически одинаковы.
Основной вывод: Молитва, скорее всего, не влияет на смертность при сепсисе.

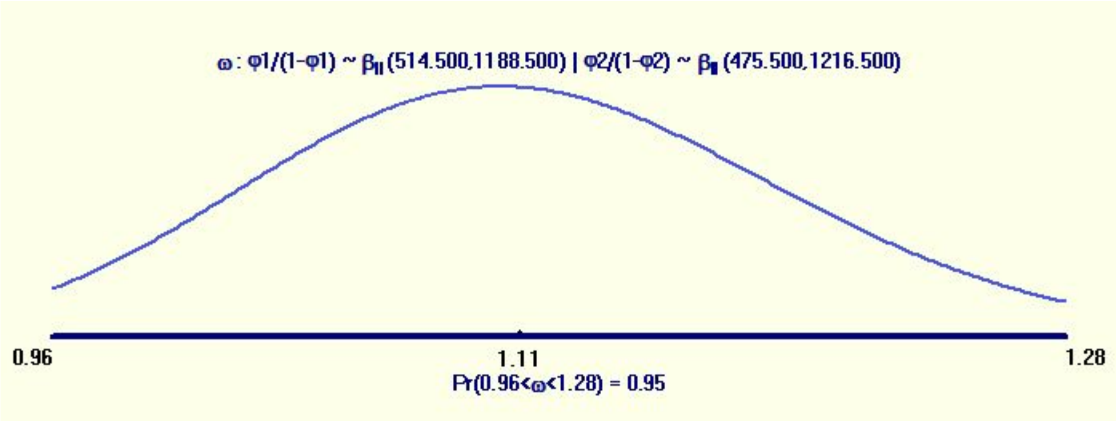
Что такое «отношение шансов», *OR*?

- **Это «трехэтажное» отношение:**
- **1. Вероятность есть отношение количества исходов *k*, благоприятствующих данному событию (*A*) к общему количеству исходов *N*:**
  - $P(A) = k / N$
- **2. Шансы (Odds) суть ставки за и против, т. е. отношение вероятности данного события *P*(*A*) к вероятности противоположного события *P*(non*A*) = 1 – *P*(A):**
  - $\text{Odds} = P(A) : [1 - P(A)] = k / (N - k)$
- **3. Отношение шансов (*OR* – Odds Ratio) есть отношение шансов за и против события *A* к шансам за и против события *B*:**
  - $OR = \{P(A) / [1 - P(A)]\} : \{P(B) / [1 - P(B)]\}$

Оценка неизвестного отношения оддов (шансов за/против) $OR_{unkn} = \omega = [\varphi_1 / (1 - \varphi_1)] : [\varphi_2 / (1 - \varphi_2)]$ в программе LePAC



Плотность распределения и 95%-й ДИ для оцениваемого отношения оддов (шансов за/против), $OR_{unkn} = \omega = [\varphi_1 / (1 - \varphi_1)] : [\varphi_2 / (1 - \varphi_2)]$



$$OR = {}_{0,96}1{,}11_{1,28}$$

95%, 99% и 99,9% ДИ для оцениваемого отношения оддов (шансов за/против) $OR = \omega = [\varphi_1 / (1 - \varphi_1)] : [\varphi_2 / (1 - \varphi_2)]$

Уровень доверия	ДИ		
	Границы		Ширина
	Нижняя	Верхняя	
95%	0,96	1,28	0,061
99%	0,91	1,35	0,080
99,9%	0,86	1,42	0,102

Когда доли равны, то отношение оддов равно единице: $OR = \omega = [\varphi_1 / (1 - \varphi_1)] : [\varphi_2 / (1 - \varphi_2)] = 1$.
Все три полученных ДИ для оцениваемого отношения оддов OR_{unkn} содержат значение $OR = 1$.
Это дает нам основание утверждать, что, скорее всего, оцениваемое этими интервалами неизвестное нам значение OR_{unkn} статистически не отличается от 1, соответственно, первая и вторая доли статистически одинаковы.
Основной вывод: Молитва, скорее всего, не влияет на смертность при сепсисе.

Результаты

- Смертность в опытной группе была примерно на 2% ниже, чем в контрольной, однако наблюдаемое различие между долями φ_1 и φ_2 является статистически незначимым, т.е. оказывается кажущимся.
- $\varphi_1 = {}_{0,27}0,30_{0,34}$
- $\varphi_2 = {}_{0,25}0,28_{0,32}$
- $RD = \delta = \varphi_1 - \varphi_2 = {}_{-0,030}0,021_{0,072}$ содержит значение 0.
- $RR = \tau = \varphi_1 / \varphi_2 = {}_{0,90}1,07_{1,28}$
- $OR = \omega = [\varphi_1(1- \varphi_1)] / [\varphi_2(1-\varphi_2)] = {}_{0,86}1,11_{1,42}$ – оба содержат значение 1.

Что такое *NNT* – количество подлежащих воздействию?

- **NNT – Number Needed to Treat**
- **Среднее количество пациентов, которых надо подвергнуть (данному) воздействию, дабы предотвратить один неблагоприятный исход**
- **(или получить один дополнительный благоприятный исход)**
- **по сравнению с контрольной группой (без данного воздействия).**

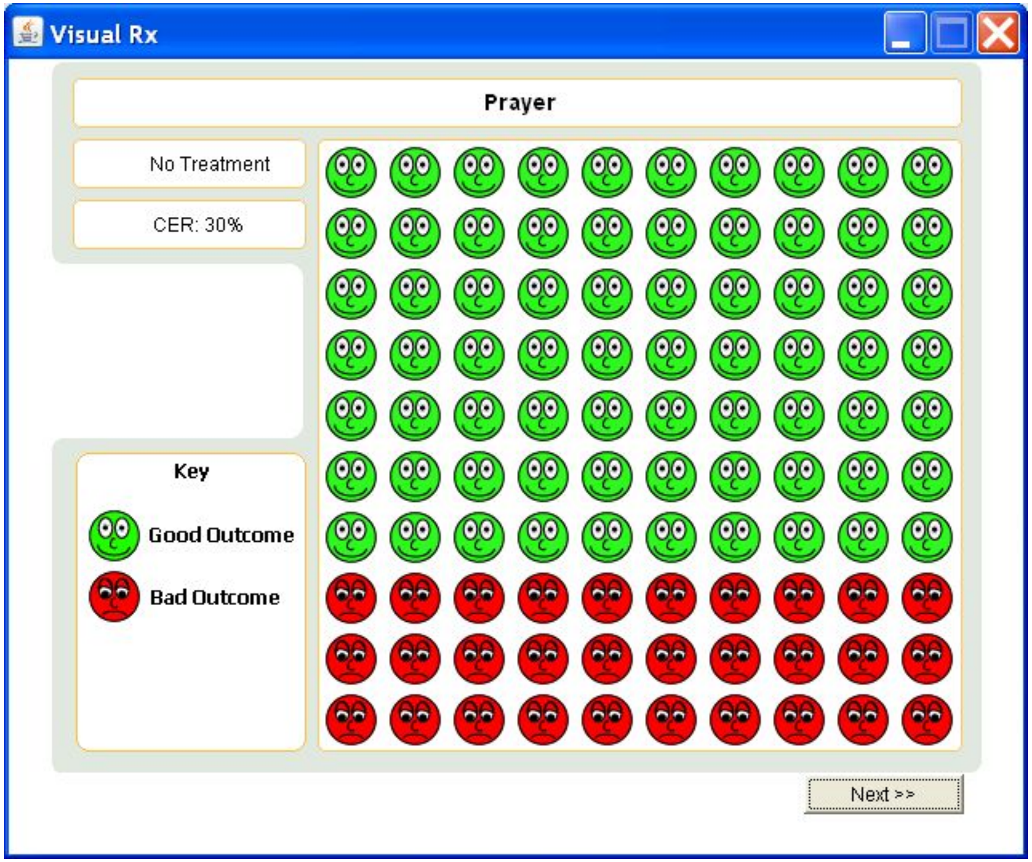
Прочувствуйте разницу

- Утверждение:
- «необходимо подвергнуть данному воздействию 50 пациентов, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход»
- информативнее и понятнее, нежели:
- «данное воздействие снижает риск неблагоприятного исхода на 0,02»

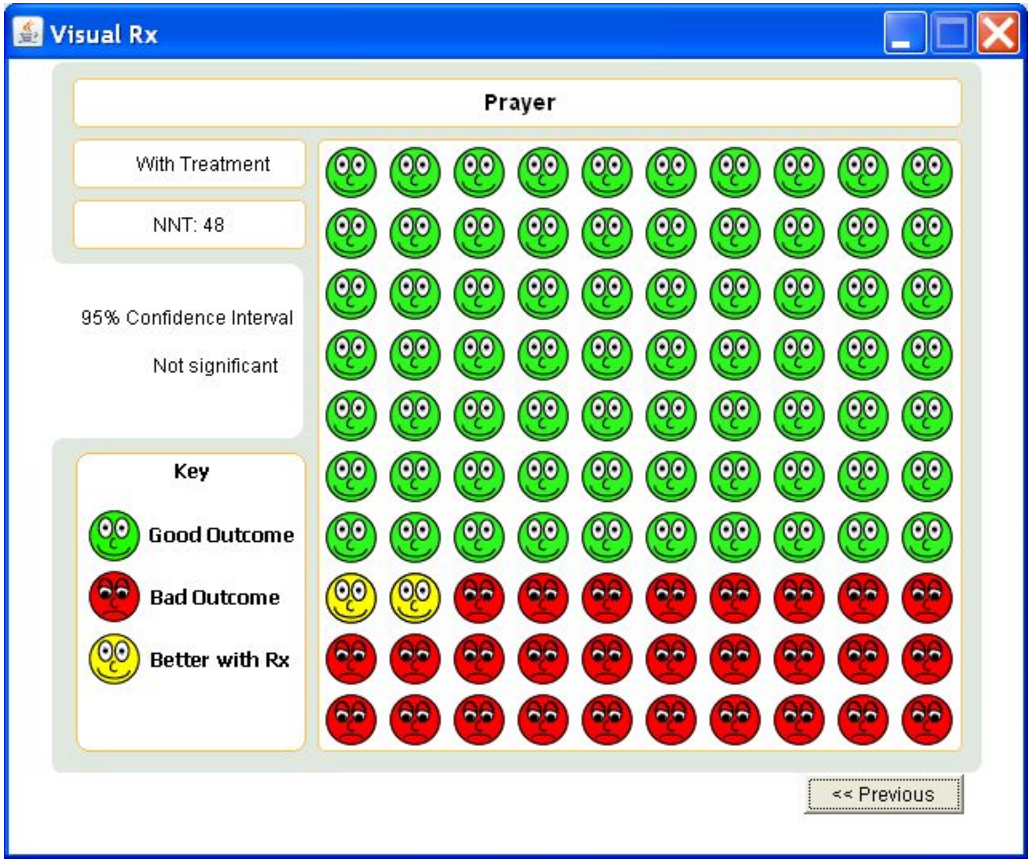
- **Относительные меры эффекта *OR*, *RR*, часто приводят к впечатляющим цифрам, даже когда абсолютные эффекты воздействия (*RD*) оказываются малыми**
- **Примеры:**
- **1. $\varphi_1 = 0{,}6$; $\varphi_2 = 0{,}1$; *RR* = 6; *OR* = 13,5;**
- ***RD* = 0,5; *NNT* = 2**
- **2. $\varphi_1 = 0{,}06$; $\varphi_2 = 0{,}01$; *RR* = 6; *OR* = 110,06; но**
- ***RD* = 0,05 и *NNT* = 20**

Программа Visual Rx

http://www.nntonline.net/visualrx/



Верхняя граница ДИ для *NNT* - неопределенная



Вербальные шкалы

Надежность доверительных интервалов (ДИ)

Уровень значимости α	Уровень доверия $100(1 - \alpha)\%$	Степень надёжности ДИ
0,05	95%	Низкая
0,01	99%	Средняя
0,001	99,9%	Высокая

Возможные словесные интерпретации для градаций *Se и Sp*

$Se = P(T+ \mid D+)$	Чувствительность «позитивов» к наличию болезни
0,0 – 0,5	Практически бесполезная
0,5 – 0,7	Низкая
0,7 – 0,9	Средняя
0,9 – 1,0	Высокая
$Sp = P(T- \mid D-)$	Специфичность «негативов» в отношении отсутствия болезни

Возможные словесные интерпретации для градаций *PPV и NPV*

PPV = *P*(D+ | T+)	Способность «позитивов» предсказывать наличие болезни
0,0 – 0,5	Практически бесполезная
0,5 – 0,7	Низкая
0,7 – 0,9	Средняя
0,9 – 1,0	Высокая
NPV = *P*(D-|T-)	Способность «негативов» предсказывать отсутствие болезни

Принятые словесные интерпретации для градаций *LR*[+] и *LR*[-]

LR[+]	Повышение посттестовых шансов за/против наличия болезни у субъекта с позитивом по сравнению с претестовыми шансами за/против наличия у него болезни
1 – 3	Практически ничтожное
3 – 10	Малое
10 – 33	Среднее
33 – 100	Высокое
100 – 1000	Очень высокое
> 1000	Практически идеальное
LR[-]	Повышение посттестовых шансов за/против отсутствия болезни у субъекта с негативом по сравнению с претестовыми шансами за/против отсутствия у него болезни

Словесные интерпретации для градаций *AUC*

Интервал *AUC*	Способность диагностического теста распознавать наличие или отсутствие болезни
1,0 – 0,9	Отличная
0,8 – 0,9	Хорошая
0,7 – 0,8	Удовлетворительная
0,6 – 0,7	Посредственная
0,5 – 0,6	Неудовлетворительная

Традиционная интерпретация значений P_{val} и шкала Michelin

Значение P_{val}	Статистическая значимость	Шкала Мишлена
> 0,05	Незначимо	
0,05 – 0,01	Умеренно значимо	*
0,01 – 0,001	Значимо	**
< 0,001	Высоко значимо	***

Калибровка *P*-значений

P-значение	Нижняя граница для вероятности нулевой гипотезы $P(H_0)$	Верхняя граница для вероятности воспроизведения P_{repr}
0,05	> 30%	< 50%
0,01	> 10%	< 73%
0,001	> 2%	< 90%

Для наглядности значения в таблице округлены до первой значащей цифры. Более точно значения для $P(H_0)$ (сверху вниз) равны 29%, 11% и 1,8%.

Posavac E.J. Using *p* values to estimate the probability of statistically significant replication // Understanding Statistics, 2002. – Vol. 1. – No. 2. – P. 101-112.

Интерпретация убедительности Бейзовых факторов, BF_{10} и BF_{01}

BF_{01}	Свидетельство в пользу гипотезы H_0 против гипотезы H_1
>100	Убедительное
30 – 100	Очень сильное
10 – 30	Сильное
3 – 10	Умеренное (слабое)
1 – 3	Пренебрежимо малое
BF_{10}	Свидетельство в пользу гипотезы H_1 против гипотезы H_0

Интерпретация стандартизированного размера эффекта по Коуэну d_c

http://www.sportsci.org/resource/stats/

Размер эффекта, d_c	Градация эффекта
0 – 0,2	Ничтожный
0,2 – 0,5	Малый
0,5 – 1,0	Средний
1,0 – 2,0	Большой
2,0 – 4,0	Очень большой
4,0 - ∞	Исключительно большой

Словесная интерпретация для градаций модуля разности долей |*RD*| и для числа субъектов, подлежащих воздействию *NNT*

|*RD*|	*NNT*	Интерпретация клинического эффекта
< 0,05	>20	Ничтожный
0,05 – 0,1	10 – 20	Малый
0,1 – 0,2	5 – 10	Умеренный
0,2 – 0,5	2 – 5	Высокий
> 0,5	< 2	Очень высокий

Словесная интерпретация (вербальная шкала) градаций для отношения долей *RR*

RR	Интерпретация клинического эффекта
1,0 – 3,0	Практически ничтожный
3,0 – 10	Слабый
10 – 33	Умеренный
33 – 100	Сильный
> 100	Очень сильный

Словесная интерпретация (вербальная шкала) градаций для отношения шансов *OR*

OR	Интерпретация силы статистической связи
1 – 1,5	Практически ничтожная
1,5 – 3,5	Очень слабая
3,5 – 9,0	Слабая
9,0 – 32	Умеренная
32 – 360	Сильная
> 360	Практически идеальная

Спасибо за внимание!
Слайды доступны для всех

Никита Николаевич Хромов-Борисов

Кафедра физики, математики и информатики ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

Nikita.KhromovBorisov@gmail.com

8-952-204-89-49