

REVUE DE STATISTIQUE APPLIQUÉE

PHILIPPE LAZAR

Les essais biologiques

Revue de statistique appliquée, tome 16, n° 3 (1968), p. 5-35

[<http://www.numdam.org/item?id=RSA_1968__16_3_5_0>](http://www.numdam.org/item?id=RSA_1968__16_3_5_0)

© Société française de statistique, 1968, tous droits réservés.

L'accès aux archives de la revue « Revue de statistique appliquée » (<http://www.sfds.asso.fr/publicat/rsa.htm>) implique l'accord avec les conditions générales d'utilisation (<http://www.numdam.org/conditions>). Toute utilisation commerciale ou impression systématique est constitutive d'une infraction pénale. Toute copie ou impression de ce fichier doit contenir la présente mention de copyright.

NUMDAM

Article numérisé dans le cadre du programme
Numérisation de documents anciens mathématiques
<http://www.numdam.org/>

LES ESSAIS BIOLOGIQUES

par Philippe LAZAR (1)

Professeur à l'Institut de Statistique de l'Université de Paris

Cet article est un exposé introductif à l'étude des méthodes statistiques utilisées pour organiser et analyser un essai biologique. Il ne constitue donc qu'un survol général de la question ; pour de plus amples détails on se reportera à la bibliographie. Il est divisé en quatre grandes parties : un exposé des principes, l'étude des techniques statistiques disponibles, leur application au problème central des essais - c'est-à-dire à la détermination de la puissance relative de deux substances et de sa précision - et des remarques sur l'organisation de l'expérience. On s'est efforcé de donner une présentation unifiée des problèmes, que la réponse des sujets soit quantitative ou en tout-ou-rien, afin de ne pas masquer les caractéristiques fondamentales des essais biologiques derrière des différences de technique statistique au demeurant légères, et pour éviter de fastidieuses répétitions.

Le titre et le langage adopté n'interdisent évidemment pas les extrapolations des méthodes à d'autres domaines que celui de la biologie.

1ère PARTIE : DEFINITION ET PRINCIPES GENERAUX DES ESSAIS BIOLOGIQUES

1 - LE PROBLEME POSE

Un "essai biologique quantitatif" est une expérience destinée à chiffrer l'efficacité d'une substance - ou plus généralement d'un stimulus quelconque - au moyen d'une réaction biologique ; on peut donc le définir comme un "dosage biologique".

On sait que du fait de la variabilité fondamentale des êtres vivants il ne peut être question de caractériser l'activité biologique d'une substance de façon absolue, grâce à ses seuls paramètres physicochimiques, et que, même lorsqu'on spécifie de façon aussi précise que possible les conditions d'emploi et le matériel utilisés, l'activité reste variable d'un moment ou d'un lieu à l'autre.

Cette difficulté, qui résulte de la diversité des circonstances expérimentales et des réponses des sujets, se double souvent d'une difficulté complémentaire du fait de la complexité des substances étudiées. Lors-

qu'on veut évaluer le pouvoir carcinogène sur la peau de souris d'une substance chimique très bien définie et cristallisable, comme le 3, 4 Benzopyrène, l'imprécision de l'évaluation ne dépend que de la variabilité du matériel biologique : le stimulus, lui, est parfaitement connu et reproductible. Par contre si l'on s'intéresse au pouvoir carcinogène d'un condensat de fumée de cigarette, cette substance est beaucoup trop complexe pour qu'on puisse l'analyser complètement par voie physico-chimique : dans ce cas le stimulus n'est lui-même défini que par les procédés qui l'ont créé ; l'expérimentation biologique peut néanmoins permettre de lui associer une mesure, en court-circuitant l'étape chimique.

De toute façon, que les substances étudiées soient de composition parfaitement définie ou au contraire partiellement ou totalement inconnue, il ne peut guère être question, du fait de l'inévitable variabilité des réponses, que de comparer des activités. On donne quelquefois des estimations absolues : ce sont, la plupart du temps, de simples ordres de grandeur. Dès qu'on veut arriver à une précision non illusoire, il faut parler en termes relatifs ; on est en particulier souvent amené à évaluer l'activité d'une substance inconnue par rapport à celle d'une substance de référence ou standard.

S'il est possible d'utiliser chacune des substances confrontées à des doses différentes, une façon satisfaisante de les comparer consiste à établir une relation d'équivalence entre certaines quantités de l'une et de l'autre. C'est particulièrement simple lorsque l'une des substances est (ou se comporte comme) une dilution de l'autre : il suffit en effet alors de déterminer la valeur du facteur de dilution permettant de rendre les substances parfaitement équivalentes pour résoudre complètement le problème de leur comparaison.

Bien entendu les mots "substance", "dose", "dilution" ne doivent introduire aucune restriction quant à la nature du stimulus étudié : il peut s'agir de n'importe quel facteur susceptible d'être utilisé de façon quantitative (hormone, vaccin, vitamine, carcinogène, radiation, etc...). Cette remarque étant faite, nous utiliserons les termes "substance" et "dose" afin de ne pas alourdir le langage. Nous appellerons S et P les deux substances comparées (c'est-à-dire respectivement, s'il y a lieu de les particulariser, S la substance de référence et P le produit inconnu). L'effet du traitement sur un sujet (ou unité expérimentale) sera appelé réponse de ce sujet.

2 - ESSAIS ANALYTIQUES ET ESSAIS COMPARATIFS

Dès lors qu'il s'agit d'établir une relation d'équivalence entre les activités de deux substances utilisées à des doses relatives convenables, on peut distinguer deux grands types de cas : ceux où les substances confrontées sont effectivement identiques dans leur partie active - c'est-à-dire où elles ne diffèrent que par leur teneur en cette partie active au sein d'un "excipient" inerte - et ceux où les substances ne sont que comparables dans leur effet - sans qu'il existe nécessairement une identité de composition fondamentale. Les essais correspondants ont respectivement reçu les noms d'essais analytiques et d'essais comparatifs.

Un essai analytique est un véritable dosage : il doit permettre de trouver le facteur de dilution, k , qui existe entre les deux substances comparées. L'un des deux produits doit alors se comporter exactement comme une dilution de l'autre, en particulier quelle que soit la dose à

laquelle on les utilise et quelles que soient les conditions expérimentales, voire même quel que soit le type de sujets utilisé ; si l'on a des doutes sur l'identité réelle des parties actives, on pourra faire varier les circonstances expérimentales afin de réunir un faisceau d'arguments permettant d'accepter ou de rejeter cette hypothèse (exemples : fabrication d'une hormone, d'un vaccin, etc...). On appelle puissance relative, ρ , l'inverse du facteur de dilution ($\rho = 1/k$) et l'on utilise indifféremment l'une ou l'autre de ces grandeurs pour caractériser le rapport entre les deux substances étudiées.

Un essai comparatif est moins ambitieux : il vise seulement à établir un parallélisme entre l'action de deux substances, en étudiant si l'une d'elles se comporte comme une dilution de l'autre dans certaines conditions expérimentales. Il est possible que cette similitude d'effet doive être limitée à certaines zones de doses, et qu'elle ne soit qualitativement ou quantitativement pas la même lorsque l'on change les conditions ou les sujets de l'expérience. On peut donc en général être moins sévère sur la vérification de l'assimilation de l'effet de l'une des substances à celui d'une dilution de l'autre : il ne faut pas oublier qu'il ne s'agit de toute façon dans ce cas que d'une approximation (exemples : comparaison de l'activité de deux antibiotiques différents sur diverses affections expérimentales, comparaison du pouvoir carcinogène de condensats de fumée de divers types de cigarettes, etc...). On parle volontiers alors de puissance relative plutôt que de facteur de dilution.

3 - PRINCIPE DE LA SOLUTION

a) Méthode directe

On pourrait d'abord songer à rechercher une solution directe du problème : il s'agirait de trouver quelles sont les doses (moyennes) de chacune des substances qui produisent le même effet. Mais quel effet doit-on choisir ? La réponse n'est claire que si la substance peut agir ou ne pas agir sur un sujet selon la dose employée, en d'autres termes si le résultat est qualitatif à deux classes, du type succès ou échec (on dit encore : en tout-ou-rien). La dose moyenne caractérisant chaque substance est alors la moyenne des doses juste nécessaires pour obtenir le succès sur chacun des sujets soumis à l'expérience. Mais, lorsque la réponse est quantitative, l'intensité de l'effet varie régulièrement pour un sujet donné avec la dose utilisée. A quelle intensité d'effet convient-il de s'arrêter ? Les résultats obtenus pour une intensité donnée seraient-ils encore valables à un autre niveau ?

En plus de ces difficultés de définition, les essais directs posent des problèmes techniques souvent insurmontables. Il faut en effet que la réponse soit nette et que la méthode d'administration du produit permette de déterminer exactement la dose qui la provoque. En particulier il ne faut pas qu'il y ait de retard entre l'administration et la réponse, ni d'effet de la durée de l'expérience si on administre progressivement des doses croissantes du produit, ni d'accoutumance (positive ou négative) si on recommence plusieurs fois l'opération sur un même sujet à la recherche de son seuil de sensibilité. Ces exigences rendent très souvent les essais de ce type impraticables.

b) Méthode indirecte

La solution qui est en général adoptée pour effectuer un essai est une solution indirecte, en ce sens qu'on y emploie des doses choisies par l'expérimentateur et qu'on déduit des résultats observés quelles auraient été les doses équivalentes de l'une et l'autre substances.

Les variations de l'effet moyen en fonction de la dose (cet effet moyen étant caractérisé par la moyenne des résultats lorsque la réponse est quantitative ou par le pourcentage de succès lorsqu'elle est en tout-ou-rien) sont décrites par la courbe de régression de y en x . On peut se ramener au cas où cette régression est linéaire soit en limitant la zone de doses utilisées, soit en procédant à des changements de variable convenables sur x ou sur y . En ce qui concerne les doses, on utilise de façon usuelle soit la dose elle-même, soit, plus fréquemment, son logarithme. Nous reviendrons plus loin sur les changements de variable concernant les réponses.

Etudions d'abord le cas où la régression est linéaire lorsqu'on prend comme paramètre-dose la dose elle-même. L'équation de la droite est :

$$y = c + b x \quad (1)$$

pour le produit S. La courbe de régression d'un produit S' obtenu à partir de S par dilution d'un facteur k est alors évidemment également une droite, d'équation

$$y = c + \frac{b}{k} x \quad (2)$$

puisque'il faut une dose k fois plus grande de S' pour obtenir le même effet qu'avec une dose donnée de S (fig. 1).

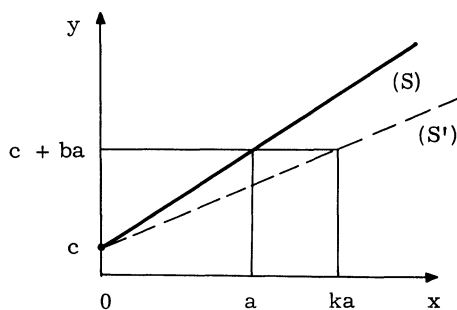


Fig. 1

Inversement, pour savoir si un produit P peut être assimilé à une dilution (ou une concentration) du produit S, il suffit d'essayer d'ajuster aux données expérimentales un système de deux droites concourant pour $x = 0$; si c'est possible, le rapport des pentes des deux droites fournit une évaluation du facteur de dilution.

Etudions maintenant le cas où la régression est linéaire lorsqu'on prend comme paramètre le logarithme de la dose. L'équation de la droite est alors :

$$y = c + b \log x \quad (3)$$

pour le produit S. Pour le produit S', dilution de S par un facteur k, on voit par un raisonnement analogue au précédent que la courbe de régression est encore une droite, parallèle à la précédente et décalée horizontalement de $\log k$ (fig. 2), d'équation

$$y = c + b \log x/k \quad (4)$$

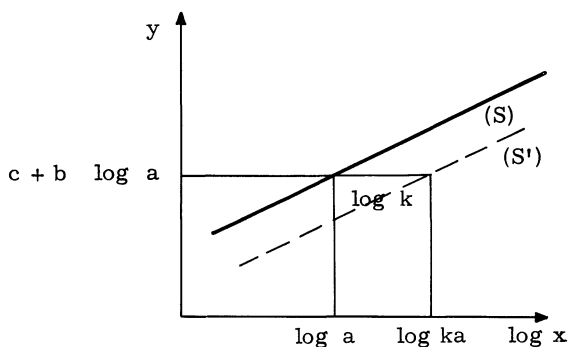


Fig. 2

Inversement, pour savoir si un produit P peut être assimilé à une dilution de S, il suffit d'essayer d'ajuster aux données expérimentales un système de deux droites parallèles : si c'est possible, la distance horizontale des deux droites est une estimation du logarithme du facteur de dilution.

2ème PARTIE : ETUDE DETAILLEE DE LA RELATION DOSE-EFFET POUR UNE SUBSTANCE

1 - ELEMENTS DE METHODOLOGIE

La méthode d'estimation de base est celle du maximum de vraisemblance. Toutefois lorsque les effectifs utilisés sont suffisamment grands pour qu'on puisse admettre la quasi-normalité des fluctuations de chaque réponse moyenne autour de sa valeur théorique, on sait que les résultats ainsi obtenus sont identiques à ceux que fournit la méthode des moindres carrés appliquée à ces réponses moyennes affectées de poids égaux aux inverses de leurs variances. Appelant x le paramètre dose utilisé, Y la réponse moyenne (nous reviendrons ci-dessous sur la définition de ce terme) et W l'inverse de la variance de Y , il s'agit alors de minimiser l'expression :

$$\sum W [Y - (bx + c)]^2 \quad (5)$$

ce qui conduit à l'équation de la droite de régression

$$(6) \quad Y - \bar{Y} = b (x - \bar{x})$$

$$\text{avec (7)} \quad b = \frac{\sum WxY}{\sum Wx^2}$$

$$\text{et (8)} \quad \bar{x} = \frac{\sum Wx}{\sum W} \quad \bar{Y} = \frac{\sum WY}{\sum W}$$

$$\text{en posant (9)} \quad \sum WxY = \sum W (x - \bar{x}) (Y - \bar{Y}) = \sum WxY - \frac{(\sum Wx)(\sum WY)}{\sum W}$$

$$\text{et (10)} \quad \sum Wx^2 = \sum W (x - \bar{x})^2 = \sum Wx^2 - \frac{(\sum Wx)^2}{\sum W}$$

La droite de régression passe donc par le centre de gravité de la distribution des réponses moyennes, et a la pente "pondérée" b .

Il convient d'insister sur le fait que les formules (6) à (10) s'appliquent aussi bien au cas où la réponse individuelle est quantitative (Y est alors la moyenne des réponses à chaque dose) qu'au cas où la réponse individuelle est qualitative (Y est alors le pourcentage de succès, ou une valeur obtenue à partir de ce pourcentage par changement de variable). Quand à l'expression (5), on montre facilement qu'elle prend, une fois minimisée, la valeur

$$(11) \quad E = \sum WY^2 - \frac{(\sum WxY)^2}{\sum Wx^2}$$

$$\text{en posant (12)} \quad \sum WY^2 = \sum WY (Y - \bar{Y})^2 = \sum WY^2 - \frac{(\sum WY)^2}{\sum W}$$

On se servira, ultérieurement, de cette expression pour tester la validité du modèle linéaire.

2 - CHANGEMENTS DE VARIABLE SUR LES REPONSES

a) Cas où la réponse est quantitative

L'emploi du logarithme de la dose comme paramètre-dose permet de façon très générale d'obtenir des régressions linéaires. Cependant il est quelquefois utile de pratiquer également un changement de variable sur les réponses. Cette deuxième transformation peut contribuer à linéariser la régression, mais aussi égaliser les variance liées. Le poids W affecté à chaque valeur Y est alors simplement n/σ^2 , où σ^2 est la valeur commune de la variance liée et n l'effectif utilisé à cette dose. Les transformations les plus couramment utilisées sont la transformation logarithme (si la réponse croît exponentiellement avec le paramètre-dose utilisé) ou la transformation racine carrée (si la réponse est Poissonnienne).

b) Cas où la réponse est en tout-ou-rien

On utilise rarement le pourcentage de succès p observé à chaque dose comme réponse moyenne : en effet sa variation ne peut en général être considérée comme linéaire que dans une zone assez étroite de doses ; on préfère procéder à un changement de variable, et utiliser soit l'arcsinus de $\sqrt{p}$, soit le probit de p , soit son logit.

L'utilisation de la transformation angulaire ($Y = \arcsin \sqrt{P}$) permet en général de traiter les problèmes où le pourcentage théorique P de succès varie dans une zone comprise entre environ 10 % et 90 %, et où l'effectif utilisé à chaque dose est de l'ordre d'une quinzaine de sujets au moins (table 1). On sait que la variance de Y vaut $1/4n$ (lorsque Y est exprimé en radians), c'est-à-dire qu'elle ne dépend pas du pourcentage P . Le poids W est alors simplement égal à $4n$.

Table 1.

Valeur de Arc Sin $\sqrt{P}$ (en radians) en fonction en P

P	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,00	0	0,100	0,142	0,174	0,201	0,225	0,247	0,268	0,287	0,305
0,10	0,322	0,338	0,354	0,369	0,383	0,398	0,411	0,425	0,438	0,451
0,20	0,464	0,476	0,488	0,500	0,512	0,523	0,535	0,546	0,557	0,569
0,30	0,580	0,591	0,601	0,612	0,622	0,633	0,643	0,654	0,664	0,674
0,40	0,685	0,695	0,705	0,715	0,725	0,735	0,745	0,755	0,765	0,775
0,50	0,785	0,795	0,805	0,815	0,825	0,835	0,845	0,856	0,866	0,876
0,60	0,886	0,896	0,906	0,917	0,927	0,938	0,948	0,959	0,969	0,980
0,70	0,991	1,002	1,013	1,024	1,036	1,047	1,059	1,071	1,082	1,095
0,80	1,107	1,120	1,132	1,146	1,159	1,173	1,187	1,202	1,217	1,233
0,90	1,249	1,266	1,284	1,303	1,323	1,345	1,369	1,397	1,429	1,471

$P = 1$, $\arcsin \sqrt{P} = 1,571$

La transformation probit repose, elle, sur une base biologique. On suppose qu'il existe pour chacun des sujets, dans les conditions de l'expérience, un seuil de réactivité, c'est-à-dire pour le sujet j une valeur x_j de la dose juste suffisante pour provoquer chez lui le succès de la réaction. Si la dose administrée est inférieure à ce seuil on observe un échec, si elle est supérieure on observe un succès : la courbe dose-effet s'identifie avec la courbe cumulative des seuils. Si la distribution des seuils est normale on peut donc représenter la courbe dose-effet par la droite de Henry, d'équation

$$Y = \frac{x - \mu}{\sigma} + 5 \quad (13)$$

où μ et σ sont respectivement la moyenne et l'écart-type de la distribution des seuils, et où Y est le "probit" du pourcentage de succès correspondant à la dose x (table 2). La variance de Y varie avec la valeur du pourcentage théorique de succès P , et le poids W est donné par $W = nw$ où $w = f(P)$.

La transformation probit repose, on vient de le voir, sur l'existence d'un seuil pour chaque sujet soumis à l'expérience - c'est-à-dire d'un facteur individuel très marqué. Or il est des cas où cette hypothèse est biologiquement peu vraisemblable : dans certains problèmes d'irradiation par exemple, on peut penser que si l'effet varie avec la dose ce n'est pas tant parce que certains individus sont plus sensibles que d'autres que parce que le nombre de "cibles" atteintes croît avec le

nombre de coups, et que par le seul fait du hasard certains individus sont plus touchés que d'autres. On pourrait trouver des exemples analogues s'agissant d'atteintes virales.

Table 2

Table des probits (Y ou Y') et des valeurs de $A = (Y' - \frac{P}{Z})$; $B = \frac{1}{Z}$ et $w = \frac{Z^2}{P \cdot Q}$

Pourcentage p(ou P)	Probit Y (ou Y')	$A = Y' - \frac{P}{Z}$	$B = \frac{1}{Z}$	$w = \frac{Z^2}{P \cdot Q}$
0,5	2,424	2,078	69,25	0,042
1	2,676	2,3	37,5	0,072
1,5	2,830	2,434	26,4	0,0975
2	2,946	2,534	20,6	0,1195
2,5	3,040	2,613	17,15	0,140
3	3,119	2,679	14,76	0,159
3,5	3,188	2,736	12,96	0,177
4	3,249	2,786	11,59	0,193
4,5	3,305	2,831	10,55	0,2085
5	3,355	2,870	9,70	0,223
5,5	3,402	2,908	8,99	0,238
6	3,445	2,942	8,38	0,251
6,5	3,486	2,974	7,89	0,265
7	3,524	3,003	7,46	0,277
7,5	3,560	3,031	7,08	0,288
8	3,595	3,057	6,73	0,3005
8,5	3,628	3,082	6,42	0,3115
9	3,659	3,105	6,15	0,322
9,5	3,689	3,127	5,91	0,332
10	3,718	3,148	5,70	0,342
10,5	3,746	3,168	5,50	0,352
11	3,773	3,187	5,32	0,361
11,5	3,799	3,206	5,16	0,3695
12	3,825	3,225	5,005	0,3785
12,5	3,850	3,242	4,86	0,387
13	3,874	3,259	4,73	0,3955
13,5	3,897	3,275	4,605	0,4035
14	3,920	3,290	4,49	0,4112
14,5	3,942	3,306	4,39	0,419
15	3,964	3,320	4,292	0,4262
15,5	3,985	3,334	4,195	0,433
16	4,006	3,348	4,107	0,440
16,5	4,026	3,361	4,022	0,447
17	4,046	3,374	3,945	0,4535
17,5	4,066	3,387	3,87	0,46
18	4,085	3,399	3,81	0,4665
18,5	4,104	3,411	3,745	0,4725
19	4,122	3,422	3,685	0,4785
19,5	4,140	3,433	3,625	0,484
20	4,158	3,444	3,57	0,4895

Table 2 (suite)

Pourcentage p(ou P)	Probit Y (ou Y')	$A = Y' - \frac{P}{Z}$	$B = \frac{1}{Z}$	$w = \frac{Z^2}{P Q}$
20,5	4,176	3,454	3,522	0,495
21	4,194	3,465	3,47	0,5007
21,5	4,211	3,475	3,425	0,506
22	4,228	3,485	3,38	0,511
22,5	4,245	3,494	3,337	0,5155
23	4,261	3,503	3,298	0,5205
23,5	4,278	3,512	3,259	0,525
24	4,294	3,521	3,222	0,5295
24,5	4,310	3,530	3,18	0,5340
25	4,326	3,539	3,143	0,5385
25,5	4,342	3,547	3,11	0,543
26	4,357	3,555	3,081	0,547
26,5	4,372	3,562	3,053	0,551
27	4,387	3,570	3,025	0,555
27,5	4,402	3,578	2,999	0,5585
28	4,417	3,586	2,972	0,562
28,5	4,432	3,593	2,947	0,5655
29	4,447	3,600	2,922	0,569
29,5	4,462	3,607	2,898	0,572
30	4,476	3,614	2,876	0,575
30,5	4,490	3,620	2,856	0,578
31	4,504	3,626	2,836	0,5819
31,5	4,518	3,632	2,816	0,5846
32	4,532	3,638	2,798	0,5873
32,5	4,546	3,644	2,779	0,5902
33	4,560	3,650	2,761	0,593
33,5	4,574	3,655	2,744	0,5957
34	4,587	3,660	2,729	0,5982
34,5	4,601	3,665	2,714	0,6007
35	4,615	3,670	2,699	0,6032
35,5	4,629	3,675	2,685	0,6056
36	4,642	3,679	2,672	0,6078
36,5	4,655	3,684	2,660	0,6097
37	4,668	3,688	2,648	0,6117
37,5	4,682	3,692	2,636	0,6137
38	4,695	3,696	2,626	0,6155
38,5	4,708	3,700	2,616	0,6172
39	4,721	3,704	2,607	0,6188
39,5	4,734	3,708	2,598	0,6204
40	4,747	3,712	2,59	0,6220
40,5	4,760	3,715	2,581	0,6234
41	4,773	3,718	2,573	0,6248
41,5	4,786	3,721	2,565	0,6261
42	4,798	3,724	2,558	0,6272
42,5	4,811	3,726	2,552	0,6284
43	4,824	3,729	2,546	0,6295
43,5	4,837	3,732	2,54	0,6305
44	4,849	3,734	2,535	0,6314
44,5	4,862	3,736	2,530	0,6322
45	4,874	3,738	2,526	0,6330

Table 2 (suite)

Pourcentage p(ou P)	Probit Y ou Y'	$A = Y' - \frac{P}{Z}$	$B = \frac{1}{Z}$	$w = \frac{Z^2}{P Q}$
45,5	4,887	3,7395	2,522	0,6337
46	4,900	3,741	2,519	0,6343
46,5	4,9125	3,7425	2,516	0,6348
47	4,925	3,744	2,514	0,6352
47,5	4,9375	3,745	2,512	0,6356
48	4,950	3,746	2,511	0,6359
48,5	4,9625	3,7465	2,510	0,6361
49	4,975	3,7467	2,509	0,6363
49,5	4,9875	3,7469	2,508	0,6365
50	5	3,747	2,507	0,6366
50,5	5,0125	3,7469	2,508	0,6365
51	5,025	3,7467	2,509	0,6363
51,5	5,0375	3,7465	2,510	0,6361
52	5,050	3,746	2,511	0,6359
52,5	5,0675	3,745	2,512	0,6356
53	5,075	3,744	2,514	0,6352
53,5	5,0875	3,742	2,516	0,6348
54	5,100	3,740	2,519	0,6343
54,5	5,113	3,738	2,522	0,6337
55	5,126	3,736	2,526	0,6330
55,5	5,138	3,734	2,530	0,6322
56	5,151	3,731	2,535	0,6314
56,5	5,163	3,728	2,540	0,6305
57	5,176	3,725	2,546	0,6295
57,5	5,189	3,722	2,552	0,6284
58	5,202	3,718	2,558	0,6272
58,5	5,214	3,714	2,565	0,6261
59	5,227	3,710	2,573	0,6248
59,5	5,240	3,705	2,581	0,6234
60	5,253	3,700	2,59	0,6220
60,5	5,266	3,695	2,598	0,6204
61	5,279	3,690	2,607	0,6188
61,5	5,292	3,684	2,616	0,6172
62	5,305	3,678	2,626	0,6155
62,5	5,318	3,672	2,636	0,6137
63	5,332	3,665	2,648	0,6117
63,5	5,345	3,657	2,660	0,6097
64	5,358	3,648	2,672	0,6078
64,5	5,371	3,640	2,685	0,6056
65	5,385	3,631	2,699	0,6032
65,5	5,399	3,621	2,714	0,6007
66	5,413	3,611	2,729	0,5982
66,5	5,426	3,600	2,744	0,5957
67	5,440	3,589	2,761	0,593
67,5	5,454	3,578	2,779	0,5902
68	5,468	3,566	2,798	0,5873

Table 2 (suite)

Pourcentage p(ou P)	Probit Y ou Y'	$A = Y' - \frac{P}{Z}$	$B = \frac{1}{Z}$	$w = \frac{Z^2}{P Q}$
68,5	5,482	3,554	2,816	0,5846
69	5,496	3,541	2,836	0,5819
69,5	5,510	3,527	2,856	0,578
70	5,524	3,512	2,876	0,575
70,5	5,5385	3,498	2,898	0,572
71	5,553	3,481	2,922	0,569
71,5	5,568	3,463	2,947	0,5655
72	5,583	3,444	2,972	0,562
72,5	5,598	3,425	2,999	0,5585
73	5,613	3,405	3,025	0,555
73,5	5,628	3,385	3,052	0,551
74	5,643	3,364	3,081	0,547
74,5	5,658	3,342	3,11	0,543
75	5,674	3,317	3,143	0,5385
75,5	5,690	3,291	3,18	0,534
76	5,706	3,26	3,222	0,5295
76,5	5,722	3,23	3,259	0,525
77	5,739	3,20	3,298	0,5205
77,5	5,755	3,17	3,337	0,5155
78	5,772	3,14	3,38	0,511
78,5	5,789	3,11	3,425	0,506
79	5,806	3,07	3,47	0,5007
79,5	5,824	3,03	3,522	0,495
80	5,842	2,99	3,57	0,4895
80,5	5,860	2,945	3,625	0,484
81	5,878	2,90	3,685	0,4785
81,5	5,896	2,85	3,745	0,4725
82	5,915	2,795	3,81	0,4665
82,5	5,934	2,74	3,87	0,460
83	5,954	2,678	3,945	0,4535
83,5	5,974	2,615	4,022	0,447
84	5,994	2,548	4,107	0,440
84,5	6,015	2,475	4,195	0,433
85	6,036	2,39	4,292	0,4262
85,5	6,058	2,305	4,39	0,419
86	6,080	2,215	4,49	0,4112
86,5	6,103	2,12	4,605	0,4035
87	6,126	2,02	4,73	0,3955
87,5	6,150	1,905	4,86	0,387
88	6,175	1,775	5,005	0,3785
88,5	6,201	1,638	5,16	0,3695
89	6,227	1,492	5,32	0,361
89,5	6,254	1,33	5,50	0,352
90	6,282	1,155	5,70	0,342
90,5	6,311	0,955	5,91	0,332
91	6,341	0,745	6,15	0,322
91,5	6,372	0,5	6,42	0,3115

Table 2 (suite)

Pourcentage p(ou P)	Probit Y ou Y'	$A = Y' - \frac{P}{Z}$	$B = \frac{1}{Z}$	$w = \frac{Z^2}{P Q}$
92	6,405	0,208	6,73	0,3005
92,5	6,440	0,100	7,08	0,288
93	6,476	- 0,450	7,46	0,277
93,5	6,514	- 0,850	7,89	0,265
94	6,555	- 1,330	8,38	0,251
94,5	6,598	- 1,890	8,99	0,238
95	6,645	- 2,600	9,70	0,223
95,5	6,695	- 3,37	10,55	0,2085
96	6,751	- 4,41	11,59	0,193
96,5	6,812	- 5,69	12,96	0,177
97	6,881	- 7,48	14,76	0,159
97,5	6,960	- 9,95	17,15	0,140
98	7,054	-13,18	20,6	0,1195
98,5	7,170	-18,95	26,4	0,0975
99	7,326	-29,9	37,5	0,072
99,5	7,576	-61,25	69,25	0,042

Il reste bien sûr possible d'affecter des seuils artificiels aux divers sujets de l'expérience, mais il est plus satisfaisant a priori d'adopter un modèle correspondant plus concrètement à la réalité. On peut montrer que ce modèle est fourni par la courbe logistique, qui fixe la relation entre le pourcentage théorique P de succès et la dose x selon l'expression

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \beta x)}} \quad (14)$$

On vérifie aisément que la courbe représentative de cette relation à une allure sigmoïde. De (14) on déduit immédiatement que

$$\text{Log } \frac{P}{Q} = \alpha + \beta x \quad (15)$$

Les variations de $\text{Log } P/Q$ (qu'on appelle le logit de P) en fonction de x sont donc linéaires. On conçoit qu'on puisse à partir de là donner aux logits un développement analogue à celui des probits. Cependant l'expérience montre que dans la majorité des cas les deux méthodes fournissent des résultats numériques très voisins. Aussi ne développons nous ici que la méthode des probits.

3 - EXECUTION DES CALCULS

Les calculs ne présentent aucune difficulté lorsque les poids sont connus ou peuvent être éliminés des formules (6) à (10). C'est en particulier le cas lorsque la réponse est quantitative et qu'on peut faire l'hypothèse d'homocédasticité : toutes les formules peuvent être simplifiées par la valeur commune de σ^2 . De même lorsqu'on peut appliquer

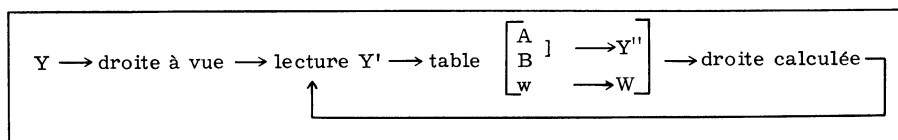
la transformation angulaire, toutes les formules peuvent être simplifiées par 4 puisque $W = 4n$. On peut encore simplifier les formules par n lorsque l'effectif utilisé n est le même à chaque dose.

Il n'en est pas de même par contre lorsque les poids sont inconnus et ne peuvent être évalués que par approximations successives. Tel est le cas lorsqu'on emploie la transformation probit. Force est alors de recourir à une méthode itérative. Le principe en est le suivant : on trace une première estimation, à vue, de la droite, passant d'autant plus près d'un point que son poids est plus grand (on constatera que les poids élémentaires w décroissent très vite en dehors de la zone des probits de 4 à 6). On procède ensuite aux calculs selon les formules (6) à (10), en utilisant, comme estimations des valeurs théoriques permettant d'entrer dans la table pour y trouver les poids, les valeurs Y' lues sur la première droite tracée (probits "attendus"). On définit ainsi une deuxième droite, et on peut recommencer le cycle des opérations jusqu'à ce que les résultats obtenus soient stabilisés.

La méthode ainsi décrite repose, ainsi qu'on l'a vu, sur le principe des moindres carrés et son emploi n'est donc justifié que dans la mesure où les effectifs utilisés à chaque dose sont suffisamment grands. On peut montrer que l'emploi de la méthode du maximum de vraisemblance, qui permet de s'affranchir de ces contraintes d'effectifs, ne complique guère la résolution du problème : il suffit de remplacer, dans les calculs, les probits observés Y par des probits "de travail" définis à chaque itération par la relation

$$Y'' = A + B p \quad (16)$$

où p est le pourcentage observé, $A = Y' - P/Z$ et $B = 1/Z$, Y' , P et Z étant respectivement le probit attendu, le pourcentage correspondant et l'ordonnée de la courbe normale réduite correspondant au pourcentage cumulé P . Les valeurs A et B sont fournies par la table 2. Le schéma ci-dessous résume le processus de calcul



En pratique il est souvent suffisant de procéder à un seul calcul, surtout si les points sont assez bien alignés sur le graphique - quelquefois à deux, exceptionnellement à plus de deux. Lorsqu'on utilise un ordinateur on n'est bien entendu pas limité dans le nombre des itérations, et on peut définir des règles d'arrêt moins économiques mais permettant d'atteindre une précision supérieure.

4 - DESCRIPTION DES RESULTATS

Sous réserve de vérification de la légitimité du modèle, l'équation de la droite de régression

$$Y(x) = \bar{Y} + b(x - \bar{x}) \quad (17)$$

définie par les calculs précédents décrit de façon exhaustive la variation de l'effet moyen en fonction de la dose - mais elle n'est pas très évocatrice. Aussi est-on amené à essayer d'exprimer de façon plus frappante les résultats. On calcule fréquemment dans ce but la valeur de la dose produisant un effet donné. Ainsi la dose produisant l'effet Y_d est, en posant $x(Y_d) = x_d$

$$x_d = \bar{x} + \frac{Y_d - \bar{Y}}{b} \quad (18)$$

Ce mode de description est notamment très employé lorsque la réponse est en tout-ou-rien. On définit alors la dose efficace D % comme étant la dose produisant D % de succès.

La plus courante des doses efficaces est la dose efficace 50 % ou encore DE 50 (ou encore dose-létale 50 %, DL 50, dans les problèmes de toxicité). En particulier lorsqu'on a utilisé la transformation probit, on a

$$DE\ 50 = \bar{x} + \frac{5 - \bar{Y}}{b} \quad (19)$$

Il faut naturellement un deuxième paramètre pour définir complètement la droite. On peut utiliser sa pente, ou encore une dose produisant un autre effet que Y_d . Dans le cas des réponses en tout-ou-rien, on peut par exemple utiliser une autre dose-efficace, comme la DE 90 %.

La variance de la réponse moyenne correspondant à une dose x est, d'après (17)

$$\text{Var } Y = \frac{1}{\sum W} + \frac{(x - \bar{x})^2}{SWx^2} \quad (20)$$

et celle de la dose x_d donnant une réponse donnée Y (approximativement, puisqu'il s'agit de la variance d'un rapport),

$$\text{Var } x_d \simeq \frac{1}{b^2} \left[\frac{1}{\sum W} + \frac{(x - \bar{x})^2}{SWx^2} \right] \quad (21)$$

On montre en effet aisément que

$$\text{Var } \bar{Y} = \frac{1}{\sum W} \quad (22) \quad \text{et} \quad \text{Var } b = \frac{1}{SWx^2} \quad (23)$$

Les intervalles de confiance sont établis en utilisant soit la distribution normale réduite (dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien), soit la distribution de Student à ν degrés de liberté, ν étant le nombre de degrés de liberté de l'estimation "intra-dose" s^2 de la variance résiduelle (dans le cas d'une réponse quantitative).

Une estimation plus satisfaisante des limites à attribuer à la valeur x est donnée par la formule ;

$$\boxed{x + \frac{1}{1 - g} \left[g (x - \bar{x}) \pm \frac{K\alpha}{b} \sqrt{\frac{1 - g}{\sum W} + \frac{(x - \bar{x})^2}{SWx^2}} \right]} \quad (24)$$

où K_α est selon les cas soit la variable normale réduite (tout-ou-rien) soit le t à ν d.d.l. (quantitatif) correspondant au risque α , et où g est le rapport de la valeur limite au risque α du F permettant de tester la régression à la valeur effectivement prise par ce F (g est donc d'autant plus petit que la signification est plus forte). Ce F a pour valeur $b^2/\text{var } b$. Π a pour degrés de liberté 1 et l'infini (tout-ou-rien) ou ν (quantitatif).

5 - LEGITIMITE DU MODELE LINEAIRE : FACTEUR D'HETEROGENEITE

Le principe d'un test de linéarité a été évoqué au début de la 2ème partie, lorsqu'on a établi l'expression

$$\boxed{E = SWY^2 - \frac{(SWxY)^2}{SWx^2}} \quad (11)$$

valeur minimale de l'écart entre les points moyens et une droite.

a) Dans le cas d'une réponse quantitative, les poids sont estimés par les valeurs n/s^2 où s^2 est à ν d.d.l. L'expression E s'écrit donc :

$$\boxed{E = \frac{SnY^2 - \frac{(SnxY)^2}{Snx^2}}{s^2}} \quad (25)$$

Le numérateur de cette expression est la somme des carrés des distances des points moyens à la droite (chaque point étant pondéré par l'effectif correspondant n) : c'est une estimation à $(L - 2)$ d.d.l., sous l'hypothèse de linéarité, de la variance σ^2 (L étant le nombre de points). L'expression

$$\boxed{F = \frac{E}{L - 2}} \quad (26)$$

est donc distribuée selon une loi de F à $(L - 2)$ et ν d.d.l.

b) Dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien, on peut montrer de même que l'expression $\frac{E}{L - 2}$ est distribuée, sous l'hypothèse de linéarité, selon une loi de F_{∞}^{L-2} , ce qui revient à dire que l'expression E est distribuée selon une loi de χ^2 à $(L - 2)$ d.d.l. Le calcul de ce χ^2 n'est lui-même légitime que pour autant que les effectifs théoriques correspondants soient suffisants. En pratique on l'effectue toujours dans un premier temps et ce n'est que lorsque le résultat est significatif qu'on détermine effectivement les valeurs des effectifs observés et calculés afin de pouvoir faire s'il y a lieu les regroupements nécessaires. Si on a utilisé des probits de travail ce sont eux que l'on emploie dans la formule (11).

Lorsque le test de linéarité est significatif, ce peut-être soit parce qu'avec les paramètres utilisés la relation entre la dose et l'effet n'est pas linéaire, soit parce qu'on a été obligé d'admettre dans l'expé-

rience des contraintes qui ont introduit des fluctuations aléatoires notables entre les doses. Tel peut-être le cas, par exemple, lorsque pour des raisons pratiques on est obligé de traiter en même temps tous les sujets soumis à une dose donnée. Dans ce dernier cas, et à condition qu'on ait procédé à un tirage au sort de l'ordre d'utilisation des diverses doses, on peut poursuivre l'analyse, mais en consentant une notable perte d'information : ainsi dans le cas d'une réponse quantitative suffit-il de substituer à l'estimation s^2 de la variance résiduelle l'estimation

alors seule valable $\frac{S_n Y^2 - \frac{(S_n x Y^2)}{S_n x^2}}{L - 2}$ (à $L - 2$ d.d.l.) des fluctuations autour de la droite. Cela revient à multiplier toutes les variances par la valeur du F ayant permis de mettre en évidence l'écart à la linéarité et à utiliser la table de t à $(L - 2)$ d.d.l. au lieu de la table v d.d.l. pour le calcul des intervalles de confiance. On procède exactement de la même façon (multipliant les variances par F) dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien. La valeur de g et le calcul des limites de confiance de x_0 doivent également être modifiés en conséquence.

6 - AUTRES METHODES

Les méthodes exposées dans les pages qui précèdent permettent de décrire de façon très générale les relations dose-effet. De nombreuses autres méthodes ont été mises au point pour résoudre de façon plus avantageuse des problèmes particuliers, et notamment celui de la détermination d'une dose-efficace 50 %. Nous en citerons simplement deux, renvoyant le lecteur à la bibliographie pour une revue plus générale.

a) Méthode des Kärber

Le principe de cette méthode est d'évaluer la moyenne des seuils de sensibilité en considérant que la différence des pourcentages de succès entre deux doses successives est une évaluation du pourcentage de seuils compris entre ces deux doses. La dose-efficace 50 %, égale à la moyenne des seuils si leur distribution est symétrique, vaut alors (en appelant x_1 la plus grande dose n'ayant donné aucun échec) :

$$DE\ 50 = \sum_{i=1}^{K-1} (p_{i+1} - p_i) \frac{(x_i + x_{i+1})}{2} \quad (27)$$

En particulier si les doses x_i sont équidistantes, la distance entre deux d'entre elles étant h , cette expression peut s'écrire plus simplement

$$DE\ 50 = x_K - h \left[\sum_{i=1}^K p_i - \frac{1}{2} \right] \quad (28)$$

C'est à ce cas que nous nous limiterons ci-dessous.

La variance de cette évaluation est, puisque les divers pourcentages observés sont indépendants, estimée par

$$Var\ DE\ 50 \simeq h^2 \sum_{i=1}^K \frac{p_i q_i}{n_i - 1} \quad (29)$$

Si l'intervalle couvert par l'expérience ne va pas jusqu'à 0 et 100 %, on peut, si les pourcentages observés se rapprochent suffisamment de ces valeurs, imaginer qu'une dose immédiatement inférieure ou immédiatement supérieure à celles qu'on a employées aurait permis de les observer ; on peut alors appliquer les formules précédentes.

Malgré les approximations qu'elle implique la méthode de Kärber donne en pratique d'excellents résultats par comparaison avec des méthodes plus raffinées, comme la méthode des probits. C'est qu'en réalité l'imprécision des estimations est très grande, même avec les méthodes recherchées.

b) Méthode "d'aller et retour"

Cette méthode est également connue sous le nom de méthode "up and down". C'est une méthode séquentielle, qui permet de concentrer les observations dans la zone de la DE 50 et d'arrêter l'expérience lorsqu'on atteint la précision recherchée. En contre partie elle implique qu'on attende la réponse de chaque sujet avant de traiter le sujet suivant, ce qui suppose évidemment que la réponse soit suffisamment rapide. Son principe est le suivant : on définit a priori une "grille" de doses régulièrement espacées. On traite un premier sujet avec une dose aussi proche que possible de la DE 50 %. Si l'on observe un succès on traite le sujet suivant avec une dose immédiatement inférieure ; si on observe un échec, on le traite avec une dose immédiatement supérieure, et ainsi de suite.

7 - CONCLUSION SUR LE CHOIX DES METHODES

Dans le cas d'une réponse quantitative, la simple application des formules (6) à (10) permet de définir la relation dose-effet, après d'éventuels changements de variable sur les doses et les réponses. Dans le cas d'un effet en tout-ou-rien, après un éventuel changement de variable sur la dose, on peut hésiter entre diverses méthodes. La méthode itérative du maximum de vraisemblance, appliquée aux probits des pourcentages de succès est de portée très générale, n'imposant aucune contrainte d'effectifs. C'est la méthode de choix quand on dispose de moyens de calcul suffisamment puissants. Lorsqu'on préfère sacrifier un peu de précision en contre partie d'un allègement considérable des calculs, on peut recommander l'emploi de la transformation angulaire (à condition que la zone expérimentale n'atteigne pas les régions de très faible ou très forte activité et que les effectifs utilisés à chaque dose soient de l'ordre de la quinzaine au moins), ou de la méthode de Kärber (lorsqu'au contraire les pourcentages 0 et 100 % de succès ont été observés et que l'on se contente d'une évaluation de la dose efficace 50 % et de sa précision).

3ème PARTIE : PUISSANCE RELATIVE DE DEUX SUBSTANCES

Le schéma de cette étude a été décrit dans la première partie de cet article, et les moyens techniques utilisables exposés dans la seconde. L'évaluation d'une puissance relative et de sa précision nécessite

l'analyse conjointe d'un ensemble de données expérimentales relatives à deux substances S et P, dans la perspective du tracé de deux droites parallèles (si le paramètre-dose est le logarithme) ou concourant pour $x = 0$ (si le paramètre-dose est la dose elle-même). Ces deux cas seront traités séparément.

A - CAS OU LE PARAMETRE-DOSE EST LE LOGARITHME

A - ESTIMATION

Nous nous placerons d'abord, comme dans le cas d'une seule droite, sous les hypothèses justifiant l'emploi de la méthode des moindres carrés.

Le système de droites parallèles à ajuster peut s'écrire

$$Y = bx + c_s \quad (30)$$

$$Y = bx + c_p \quad (31)$$

en appelant x le logarithme de la dose.

L'expression à minimiser est

$$E = \sum_s W [Y - (bx + c_s)]^2 + \sum_p W [Y - (bx + c_p)]^2 \quad (32)$$

où les sommes $\sum_s$ sont à prendre pour le produit S et $\sum_p$ pour le produit P.

Les deux droites ainsi obtenues ont pour pente commune

$$b = \frac{\sum SWxY}{\sum SWx^2} \quad (33)$$

où $\sum SWxY$ est la somme des expressions $SWxY$ relatives à chacun des deux produits et où $\sum SWx^2$ est de même la somme des SWx^2 .

Elles passent chacune par le centre de gravité qui lui est relatif, à savoir le point $(\bar{x}_s, \bar{y}_s)$ pour S, et le point $(\bar{x}_p, \bar{y}_p)$ pour P, où :

$$\bar{x}_s = \frac{\sum_s Wx}{\sum_s W}, \quad \bar{y}_s = \frac{\sum_s WY}{\sum_s W} \quad (34)$$

et où $\bar{x}_p$ et $\bar{y}_p$ ont des définitions analogues.

Leurs équations s'écrivent donc finalement

$$Y_s = \bar{y}_s + b (x - \bar{x}_s) \quad (35)$$

$$Y_p = \bar{y}_p + b (x - \bar{x}_p) \quad (36)$$

Cette solution est valable que la réponse soit quantitative ou qualitative, à condition d'adopter des poids convenables. Si l'on utilise des probits, on commence par une estimation graphique, ajustant "à vue" un système de deux droites parallèles qui respecte approximativement les poids des divers points ; on peut également recourir, dans les mêmes conditions que dans le cas d'une seule droite, à la méthode itérative du maximum de vraisemblance, ce qui revient à remplacer dans les calculs les probits observés par des probits de travail définis à chaque itération.

On calcule ensuite la distance horizontale M_{PS} des deux droites qui n'est autre, on le sait, qu'une estimation de la puissance relative ρ_{PS} de P par rapport à S.

$$M_{PS} = \bar{x}_S - \bar{x}_P - \frac{\bar{Y}_S - \bar{Y}_P}{b} \quad (37)$$

En particulier si la réponse est en tout-ou-rien, on peut calculer M_{PS} comme distance entre les doses donnant 50 % de succès. En d'autres termes

$$M_{PS} = m_S - m_P \quad (38)$$

si l'on appelle m_S et m_P les DE 50 (ou moyennes des seuils de sensibilité) relatives à S et à P.

Cette remarque permet notamment d'évaluer une puissance relative en estimant indépendamment m_S et m_P par une méthode rapide telle que la méthode de Kärber.

On calcule enfin une estimation R_{PS} de ρ_{PS} en prenant l'antilogarithme de M_{PS} .

2 - VALIDITE DU MODELE

L'expression E qu'on a minimisée peut s'écrire sous la forme

$$E = \sum SWY^2 - \frac{[\sum SWxY]^2}{\sum SWx} \quad (39)$$

On pourrait songer à s'en servir pour tester globalement la validité du modèle (linéarité et parallélisme des deux droites). En réalité il est très facile de la décomposer en deux termes, l'un relatif à la linéarité (E_1), l'autre au parallélisme (E_2),

$$\text{où} \quad E_1 = \sum SWY^2 - \sum \left[\frac{(SWxY)^2}{SWx^2} \right] \quad (40)$$

$$\text{et} \quad E_2 = \sum \left[\frac{(SWxY)^2}{SWx^2} \right] - \frac{[\sum SWxY]^2}{\sum SWx^2} \quad (41)$$

a) Test de linéarité

On peut constater que E_1 est la somme des termes $SWY^2 - \frac{(SWxY)^2}{SWx^2}$ relatif à chaque produit, termes qui permettraient de tester la linéarité de l'une et l'autre régressions. Leur somme permet de tester globalement la linéarité des deux régressions : divisée par le nombre de degrés de liberté ($L - 4$) c'est, sous l'hypothèse de linéarité, un F à $L - 4$ et K degrés de liberté, où K vaut v dans le cas d'une réponse quantitative (v est le nombre de degrés de liberté de la variance résiduelle s^2) et est infini dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien (en d'autres termes E_1 est alors un χ^2 à $(L - 4)$ d.d.l.), L étant le nombre total de points pour l'ensemble des deux substances.

Une discussion tout à fait analogue à celle qui a été menée dans le cas d'une seule droite peut alors être entreprise. En particulier il convient de s'interroger, si la réponse est en tout-ou-rien, sur la validité du test utilisé, et d'effectuer éventuellement le calcul complet des effets observés et théoriques, en procédant à des regroupements logiques si c'est nécessaire.

b) Test de parallélisme

Si l'hypothèse de linéarité est vérifiée, on peut tester le parallélisme des deux droites en étudiant la valeur de E_2 qui est, si l'hypothèse de parallélisme est vraie, distribuée selon une loi de F à 1 et K degrés de liberté, où K vaut v dans le cas d'une réponse quantitative et est infini dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien. On peut en effet constater aisément que E_2 n'est autre que le carré de la différence entre les deux pentes b_s et b_p , rapporté à sa variance. S'il existe un facteur d'hétérogénéité, le test de parallélisme doit en tenir compte et être effectué en calculant $\frac{E_2}{F} = \frac{E_2}{E_1/L - 4}$ distribué selon une loi de F à 1 et $(L - 4)$ d.d.l., et il est évidemment alors très peu puissant.

Si le test de parallélisme n'est pas significatif, rien ne s'oppose à l'idée que l'une des substances se comporte comme une dilution de l'autre. Par contre si ce test est significatif, le modèle n'est plus acceptable. Il convient alors de mener la discussion en distinguant les essais analytiques et les essais comparatifs (1ère partie).

En effet si l'essai est analytique, l'une des deux substances doit se comporter comme une dilution de l'autre. Si elle ne le fait pas, c'est que l'hypothèse fondamentale sur laquelle a été bâti l'essai est mise en cause. Cette constatation peut conduire à rejeter complètement l'expérience et même à se poser des questions sur la nature respective des deux substances confrontées.

Si au contraire l'essai est comparatif, le schéma théorique de parallélisme - c'est-à-dire d'assimilation d'une des substances à une dilution de l'autre - ne peut être retenu. Cependant il est possible qu'on ne s'en écarte pas trop pour que sa valeur descriptive dans une zone définie de doses doive être complètement négligée.

3 - PRECISION DE L'ESTIMATION

Par un procédé tout à fait analogue à celui qui a été employé dans le cas d'une seule droite, on montre que

$$\text{var } b = \frac{1}{\sum SWx^2} \quad (39)$$

et que de façon approchée

$$\text{var } M_{ps} \approx \frac{1}{b^2} \left[\frac{1}{\sum W} + \frac{[M_{ps} - (\bar{x}_s - \bar{x}_p)]^2}{\sum SWx^2} \right] \quad (40)$$

On en déduit l'intervalle de confiance de M_{ps} , et, en passant aux antilogarithmes, celui de ρ_{ps} .

Ces expressions ne sont valables que pour autant que le test de linéarité n'est pas significatif. S'il existe un facteur d'hétérogénéité, il convient de les multiplier par F, et d'utiliser la table de t à L - 4 d.d.l. pour établir les intervalles de confiance au lieu de la table de la loi normale réduite ou de celle de t à v d.d.l.

On pourrait tester la signification de la régression en calculant $\frac{b^2}{\text{var } b} = \frac{(\sum SWxY)^2}{\sum SWx^2}$ qui n'est autre qu'un F à 1 et (N-L) d.d.l. dans le cas d'une réponse quantitative et un F_{α}^1 (c'est-à-dire un χ^2 à 1 d.d.l.) dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien. En réalité ce test n'est pas intéressant en lui-même, car dans un problème d'essai biologique l'existence de la relation dose-effet n'est en général pas mise en cause - mais il permet d'apprécier le degré de validité de l'expression (40). Pour ce faire on calcule le rapport g de la valeur limite de signification du F au seuil α à la valeur effectivement observée. Si g ne dépasse pas quelques centièmes, l'expression (40) est valide. Sinon il vaut mieux calculer directement les limites de confiance de M_{ps} par l'expression

$$\bar{x}_s - \bar{x}_p + \frac{1}{1-g} \left[M_{ps} - (\bar{x}_s - \bar{x}_p) \pm \frac{K_{\alpha}}{b} \sqrt{(1-g) \left(\frac{1}{\sum W} + \frac{1}{\sum W} \right) + \frac{[M - (\bar{x}_s - \bar{x}_p)]^2}{\sum SWx^2}} \right]$$

où K_{α} est le t de Student à v d.d.l., si la réponse est quantitative et la variable normale réduite correspondant au seuil α si la réponse est en tout-ou-rien.

Bien entendu s'il existe un facteur d'hétérogénéité F, il faut en tenir compte d'une part dans le calcul de g (c'est un F à 1 et (L - 4) d.d.l. qui permet alors de tester la régression) et d'autre part dans la formule (41) en multipliant le terme sous radical par F et en utilisant pour K_{α} le t_{α} de Student à L - 4 d.d.l.

B - CAS OU LE PARAMETRE-DOSE EST LA DOSE ARITHMETIQUE

1 - ESTIMATION

Nous nous placerons d'abord, ici également, sous les hypothèses justifiant l'emploi de la méthode des moindres carrés.

Le système de droites concourant pour $x=0$ à ajuster peut s'écrire :

$$Y_s = b_s x + c \quad (42)$$

$$Y_p = b_p x + c \quad (43)$$

L'expression à minimiser est

$$E = W_0 (Y_0 - c)^2 + \sum_s W (Y - b_s x - c)^2 + \sum_p W (Y - b_p x - c)^2 \quad (44)$$

où l'indice 0 concerne le point observé pour $x = 0$, où les sommes $\sum_s$ et $\sum_p$ sont relatives aux autres points expérimentaux et où l'indice T est relatif à l'ensemble de tous les points.

Si l'on pose

$$\begin{aligned} S &= \sum_s W x^2 - \frac{(\sum_s W x)^2}{\sum_s W} & P &= \sum_p W x^2 - \frac{(\sum_p W x)^2}{\sum_p W} & T &= \frac{\sum_s W x \sum_p W x}{\sum_s W} \\ S' &= \sum_s W x Y - \frac{\sum_s W x \sum_s W Y}{\sum_s W} & P' &= \sum_p W x Y - \frac{\sum_p W x \sum_p W Y}{\sum_p W} \end{aligned} \quad (45)$$

on montre que la résolution du système d'équations conduit aux pentes

$$b_s = \frac{PS' + P'T}{PS - T^2} \quad (46)$$

$$b_p = \frac{SP' + S'T}{PS - T^2} \quad (47)$$

Quant à c , dont on n'a besoin que lorsqu'on emploie une méthode itérative, il vaut

$$c = \frac{\sum T W Y - b_s \sum_s W x - b_p \sum_p W x}{\sum T W} \quad (48)$$

On calcule ensuite une estimation R_{ps} de la puissance relative ρ_{ps} par

$$R_{ps} = \frac{b_p}{b_s} \quad (49)$$

2 - VALIDITE DU MODELE

L'expression E qu'on a minimisée prend la forme

$$E = U - b_s S' - b_p P' \quad (50)$$

$$U = \sum T W Y^2 - \frac{(\sum T W Y)^2}{\sum T W} \quad (51)$$

Si L est le nombre total de doses utilisées, cette expression est à $L - 3$ d.d.l.

On pourrait, comme dans le cas de deux droites parallèles, essayer de la décomposer en deux termes : l'un relatif à l'écart à la linéarité, l'autre à l'écart à la concourance des deux droites pour $x = 0$, afin de pouvoir distinguer ce qui peut n'être qu'écart aléatoire (facteur d'hétérogénéité) et ce qui peut remettre en cause le fondement même du modèle (non concourance des droites pour $x = 0$). Toutefois cette décomposition est ici plus délicate que dans le cas de deux droites parallèles ; on se contente souvent de tester globalement le modèle par

$$F = \frac{E}{L - 3} \quad (52)$$

qui est un F à $(L - 3)$ et K d.d.l., où K vaut ν , nombre de degré de l'estimation s^2 de la variance résiduelle si la réponse est quantitative et où K est infini dans le cas d'une réponse en tout-ou-rien.

3 - PRECISION DE L'ESTIMATION

La variance de R est donnée par la formule approximative

$$\text{var } R \sim \frac{1}{b_s^2} \frac{S - 2RT + R^2 P}{SP - T^2} \quad (53)$$

On en déduit l'intervalle de confiance en utilisant soit la variable normale réduite (réponse en tout-ou-rien) soit t de Student à ν degrés de liberté (réponse quantitative).

Remarque : La variance d'un rapport étant d'autant plus valide que le coefficient de variation de son dénominateur est plus petit, on aura intérêt à utiliser selon les cas soit R_{ps} soit R_{sp}

De toute façon la formule (53) est d'autant plus valide que $\frac{b_s^2}{\text{var } b_s^2}$ est plus grand. On calcule la valeur g , rapport entre la valeur limitée de signification au seuil α du F qui permettrait d'effectuer le test d'existence de la régression et sa valeur observée. On montre que $\text{var } b_s^2 = \frac{P}{SP - T^2}$ d'où $F = \frac{b_s^2}{\frac{P}{SP - T^2}} = \frac{(PS' + P'T)^2}{P(PS - T^2)}$. Il est à 1 et K d.d.l. K

valant ν ou étant infini selon la nature quantitative ou en tout-ou-rien de la variable. Si g dépasse quelques centièmes il vaut mieux calculer les limites de R par

$$\frac{1}{1 - g} \left[R - g \frac{T}{P} \pm \frac{t}{b_s} \sqrt{\frac{S - 2RT + R^2 P}{SP - T^2} - \frac{g}{P}} \right] \quad (54)$$

où t est le t de Student correspondant au seuil α , à K d.d.l. (K valant ν ou étant infini selon la nature de la variable).

4ème PARTIE : L'ORGANISATION DE L'EXPERIENCE

Comme dans toute expérimentation biologique, le problème de l'organisation de l'expérience se présente, dans les essais biologiques, sous un double aspect : aspect général relatif au respect des règles fondamentales d'une bonne expérimentation, aspect particulier concernant le problème posé.

Nous passerons rapidement sur le premier aspect, nous contentant de rappeler la nécessité d'affecter les traitements aux sujets (ou éventuellement groupes de sujets) par tirage au sort, de procéder à des observations "à l'aveugle" toutes les fois que des facteurs subjectifs peuvent intervenir, et l'intérêt qu'il y a à prendre en compte des variables concomitantes par des techniques de blocs complets ou incomplets, ou d'analyse de la covariance, toutes les fois que ces variables sont fortement liées à la réponse. (Entre notamment dans cette catégorie le poids du sujet traité. Les expérimentateurs ont trop tendance, en général, à ajuster systématiquement la dose utilisée au poids de chaque animal sans s'interroger sur la nécessité, voire l'utilité, de cet ajustement. Il ne faut en fait recourir à ce procédé que si une étude préliminaire a permis de montrer qu'il réduit notablement la variabilité des réponses, ce qui n'est pas du tout évident a priori).

Nous distinguerons ensuite, pour traiter des aspects spécifiques des essais biologiques, le cas des réponses quantitatives et celui des réponses en tout-ou-rien.

1 - ORGANISATION D'UNE EXPERIENCE LORSQUE LA REPONSE EST QUANTITATIVE

A - Nous commencerons par traiter le cas où n'intervient qu'un seul produit, S

a) Choix de la zone de doses et des paramètres dose et réponse

La zone à choisir est la zone où la réponse moyenne (mesurée par un paramètre convenable) varie linéairement avec la dose (mesurée elle aussi par un paramètre convenable). Il vaut mieux, si possible, définir les paramètres avant de faire l'expérience, compte tenu des connaissances qu'on peut avoir a priori sur le problème : on diminue ainsi le risque d'adopter des paramètres abusivement ajustés aux résultats de cette expérience particulière.

b) Choix des doses et répartition des N sujets

La variance de x pour Y donné ou de Y pour x donné dépend, on le sait, de

$$\frac{1}{\sum W} + \frac{(x - \bar{x})^2}{SWx^2} = \sigma^2 \left[\frac{1}{N} + \frac{(x - \bar{x})^2}{Sx^2} \right] \quad (55)$$

et celle de la pente b est

$$\frac{1}{SWx^2} = \frac{\sigma^2}{Sx^2} \quad (56)$$

On a donc intérêt, de façon générale, à augmenter S_{nx}^2 , c'est-à-dire la dispersion des doses, pour accroître la précision des divers paramètres qu'on peut avoir à mesurer. La façon la plus efficace de le faire est de répartir les sujets en deux groupes égaux, auxquels on attribue à l'un une dose aussi faible que possible, à l'autre une dose aussi forte que possible. Les deux doses doivent, de plus, avoir une valeur moyenne aussi proche que possible de la valeur x intervenant dans la formule (55).

Il est clair que ce procédé, pour efficace qu'il soit s'il réussit, est dangereux car il risque de faire sortir de la zone de linéarité - et en tout cas il ne donne aucun moyen de la contrôler. En pratique il est donc préférable, sauf si on a des connaissances a priori très sûres, d'utiliser au minimum 3 doses, auxquelles on attribue des effectifs égaux. Ce minimum de 3 doses permet de contrôler la linéarité, mais guère de rattraper les choses si un écart à la linéarité se manifeste (faut-il alors exclure une dose, et si oui laquelle - ou bien faut-il introduire un facteur d'hétérogénéité, ici catastrophique puisque $L - 2 = 1$?). Si donc on n'est pas très sûr de la zone de linéarité, il vaut mieux utiliser plus de 3 doses. On utilisera, sauf raison particulière, le même nombre de sujets par dose, soit N/L .

c) Choix du nombre de sujets

En ce qui concerne la valeur de N , tout dépend évidemment du problème posé. S'il s'agit de déterminer, avec une certaine précision, x pour Y fixé, on a (si g est assez petit),

$$\text{var } x = \frac{\sigma^2}{b^2} \left[\frac{1}{N} + \frac{(x - \bar{x})^2}{S_{nx}^2} \right] \quad (57)$$

On a donc à définir N pour que $(\text{var } x)$ ait une valeur donnée. σ^2/b^2 est déterminé par la nature et la structure de l'expérience. On peut essayer d'accroître b en changeant de sujet d'expérience (augmentation de la sensibilité). On peut essayer de diminuer σ^2 par le même procédé (encore que les deux exigences de sensibilité et de précision soient souvent contradictoires) ; on peut aussi, afin de réduire σ^2 , essayer d'introduire, comme on l'a vu ci-dessus, des "blocs" plus homogènes.

Pour évaluer N , il faut avoir une idée de la valeur de σ^2/b^2 (une expérience préliminaire est donc indispensable si on ne dispose pas de renseignements a priori).

On peut alors déterminer N en première approximation en négligeant le terme $\frac{(x - \bar{x})^2}{S_{nx}^2}$.

B - Venons en maintenant au cas où on s'intéresse à une puissance relative

Lorsque le paramètre-dose utilisé est le logarithme, la variance de la puissance relative est, si g est assez petit,

$$\text{Var } M_{ps} = \frac{\sigma^2}{b^2} \left[\frac{1}{N_s} + \frac{1}{N_p} + \frac{[M_{ps} - (\bar{x}_s - \bar{x}_p)]^2}{\sum S_{nx}^2} \right] \quad (58)$$

Toutes les considérations énoncées dans le cas d'une droite peuvent être transposées en ce qui concerne le choix des doses et l'amélioration du facteur σ^2/b^2 .

Il convient d'y ajouter les remarques suivantes :

a) Répartition des sujets entre S et P. On a intérêt à répartir les sujets de façon égale entre S et P, de façon à minimiser l'expression

$$\frac{1}{N_s} + \frac{1}{N_p}$$

b) Nombre du sujets nécessaires. En première approximation

$$\text{Var } M_{ps} \sim \frac{\sigma^2}{b^2} \frac{4}{N} \quad (59)$$

d'où N si on se fixe la précision désirée.

c) Réduction du 3ème terme du crochet. Le 3ème terme est d'autant plus petit que

$\alpha)$ $\sum S nx^2$ est plus grand. On accroît ce terme en accroissant la dispersion des doses, avec les mêmes risques et donc les mêmes limitations que dans le cas d'une droite.

$\beta)$ $[M_{ps} - (\bar{x}_s - \bar{x}_p)]$ est plus petit

or
$$[M_{ps} - (\bar{x}_s - \bar{x}_p)] = \frac{\bar{Y}_s - \bar{Y}_p}{b}$$

Pour b donné, ce terme est d'autant plus petit que les effets moyens $\bar{Y}_s$ et $\bar{Y}_p$ sont plus voisins. Il faut donc s'efforcer d'employer des doses moyennes des S et P (en échelle logarithmique) à peu près équivalentes.

d) Répartition des sujets entre les doses. On utilisera, sauf raison particulière, une répartition égale des sujets entre toutes les doses.

Dans le cas où le paramètre dose est la dose elle-même des considérations tout à fait analogues peuvent être développées. Un point mérite cependant une attention particulière : faut-il utiliser des sujets témoins ?

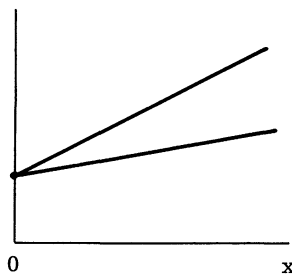


Fig. 3

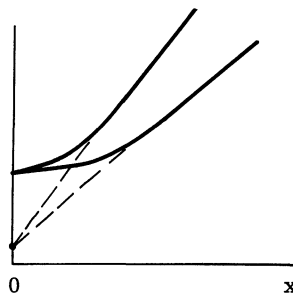


Fig. 4

La réponse dépend des connaissances que l'on a a priori sur la linéarité au voisinage de $x = 0$. Si la relation est effectivement linéaire dès $x = 0$ on a tout intérêt à utiliser une telle dose (fig. 3). Si par contre tel n'est pas le cas (fig. 4) ce serait tout à fait inutile puisque le point ne pourrait pas servir dans l'établissement de la puissance relative.

2 - ORGANISATION D'UNE EXPERIENCE LORSQUE LA REPONSE EST EN TOUT-OU-RIEN

Bien des éléments définis au paragraphe précédent peuvent être transposés sans grande modification. Mais il convient avant tout de s'interroger sur la façon dont on analysera les résultats. Nous ne discuterons ici des problèmes d'organisation qu'en ce qui concerne la méthode des probits. Signalons simplement que si l'on envisage d'utiliser la méthode de Kärber on a intérêt à répartir les sujets en "petits paquets" tout le long de l'intervalle de doses qui s'étend des doses inactives aux doses très actives.

Lorsqu'on cherche à évaluer une DE 50, m , la variance de l'estimation obtenue peut s'écrire (si g est négligeable)

$$v = \sigma^2 \left[\frac{1}{\sum W} + \frac{(m - \bar{x})^2}{\sum W x^2} \right] \quad (60)$$

où $\sigma = 1/b$ est l'inverse de la pente de la droite de Henry et en même temps l'écart-type de la distribution des seuils de sensibilité. On peut donc la mettre sous la forme

$$v = \frac{\sigma^2}{N} H \quad (61)$$

où

$$H = \left[\frac{1}{\sum W/N} + \frac{(m - \bar{x})^2}{\sum W x^2 / N} \right] \quad (62)$$

Le facteur H dépend de la dispersion des doses (fixée par l'expérimentateur) et de la distance entre la DE 50 trouvée et la dose moyenne utilisée (que l'expérimentateur a intérêt à minimiser). H mesure en quelque sorte le coefficient de perte par rapport à l'expérience directe idéale qui permettrait de mesurer la DE 50.

Le problème du choix des doses peut donc être guidé par l'examen des valeurs que prend H en fonction des deux paramètres évoqués ci-dessus.

Il suffit de consulter la table 3 pour constater que lorsque le nombre de doses est donné, on a tout intérêt à ne pas trop les resserrer autour de la valeur présumée de la DE 50 : dès que le résultat de l'expérience s'écarte un tant soit peu de cette valeur, le facteur H augmente très vite si l'écart entre les doses est faible, lentement seulement si cet écart est plus important. Un écart de l'ordre de l'écart-type des seuils paraît être en général une base de choix raisonnable.

Une démarche analogue peut être effectuée, s'agissant de la détermination d'une puissance relative.

Table 3

(Table pour l'estimation de la variance d'une DE 50)

Cette table suppose que les N sujets utilisés ont été également répartis entre les doses équidistantes. L'expérience est donc caractérisée par :

- le nombre de doses utilisées
- un paramètre de décentrage (distance entre la dose moyenne utilisée (moyenne arithmétique) et la DE 50 observée, exprimée en unités d'écart-type s des seuils)
- un paramètre de dispersion des doses utilisées, la distance entre 2 doses consécutives, exprimée en unités d'écart-type s.

Les tables donnent le facteur H par lequel il faut multiplier l'expression s^2/N (variance de la DE 50 dans le cas de l'expérience directe) pour avoir la variance de la DE 50 en fonction de ces 3 paramètres.

Exemple : une expérience en 4 doses, (2, 3, 4 et 5), portant sur 80 sujets au total, équirépartis, permet d'obtenir les estimations $m = 4,0$ et $s = 2,0$. La distance entre doses est donc $\frac{1,0}{2,0} = 0,5$, et, la dose moyenne utilisée étant 3,5, le paramètre de décentrage $\frac{4,0 - 3,5}{2,0} = 0,25$.

La table 3 (4 doses) donne un facteur $H = 2$, d'où la variance $\frac{4}{80} \times 2 = 0,1$.

Table 3 - (2 doses)

Distance entre 2 doses \ Décentrage	0	0,10	0,15	0,20	0,25	0,35	0,50	1,00	2,00
0,25	1,6	2,6	3,8	5,5	7,9	13,6	29	146	1950
0,40	1,6	2,0	2,5	3,1	4,0	6,5	12	57	786
0,50	1,6	1,9	2,1	2,5	3,0	4,7	8,2	37	495
0,75	1,7	1,8	2,0	2,2	2,3	3,0	4,4	16,6	228
1,00	1,7	1,8	1,8	1,9	2,0	2,3	3,1	9,6	135
1,50	1,9	1,9	1,9	2,0	2,0	2,1	2,4	4,7	52
2,00	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,4	3,1	25

Table 3 - (3 doses)

Distance entre 2 doses \ Décentrage	0	0,10	0,15	0,20	0,25	0,35	0,50	1,00	2,00
0,25	1,6	2,0	2,4	3,1	3,9	6,3	12	55	723
0,40	1,6	1,8	1,9	2,2	2,5	3,4	5,4	22	289
0,50	1,7	1,8	1,9	2,1	2,2	2,8	4,0	14	179
0,75	1,8	1,9	1,9	1,9	2,0	2,2	2,7	6,8	67
1,00	2,0	2,0	2,0	2,1	2,1	2,2	2,4	4,3	31
1,50	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	3,0	
2,00	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	

Table 3 - (4 doses)

Distance entre 2 doses \ Décentrage	0	0,25	0,50	1,00	2,00	0	0,25	0,50	1,00	2,00
0,25	1,6	2,9	6,9	30	384	1,6	2,4	4,9	18,9	234
0,50	1,8	2,0	2,9	8,0	46	1,9	2,0	2,5	5,4	44
0,75	2,0	2,1	2,4	4,2	27	2,3	2,3	2,5	3,3	
1,00	2,4	2,4	2,5	3,2		2,8	2,8	2,9	3,1	
1,50	3,3	3,3	3,3			4,0				
2,00	4,2									

Table 3 - (5 doses)

BIBLIOGRAPHIE

1/ Traités fondamentaux portant sur les essais biologiques

D.J. FINNEY - Statistical Method in Biological Assay. Ch. Griffin - London - Second Edition - 1964.

D.J. FINNEY - Probit Analysis. Cambridge University Press - Second Edition - 1952

C.I. BLISS - The Statistics of Bioassay. Academic Press Inc. - New-York - 1952

2/ Méthodologie statistique générale

- M.G. KENDALL - The Advanced Theory of Statistics. Ch. Griffin - London - Second Edition - 1963.
- D. SCHWARTZ - Méthodes Statistiques à l'usage des Médecins et des Biologistes - Ed. Médicales Flammarion - Paris - 1963.
- J. LELLOUCH et P. LAZAR - Méthodes générales de l'expérimentation Cours polycopié du C.E.S.A.M. (Institut de Statistique de l'Université de Paris)
- P. LAZAR et J. LELLOUCH - Application à la pharmacodynamie et à la microbiologie. Cours polycopié du C.E.S.A.M. (Institut de Statistique de l'Université de Paris).
- W.G. COCHRAN et G.M. COX - Experimental Designs. John Wiley and Sons - New-York - Second Edition - 1957.
- D.R. COX - Planning of Experiments. John Wiley and Sons - New-York-1958.

3/ Articles et revues générales

- J. BERKSON - Maximum Likelihood and Minimum Estimates of the Logistic Function. J.A.S.A. Vol. 50, March 1955.
- J. BERKSON - A Statistically Precise and Relatively Simple Method of Estimating the Bio-Assay with Quantal Response, Based on the Logistic Function. J.A.S.A. Vol. 48, September 1953.
- J. CORNFIELD - Comparative Bioassays and the Role of Parallelism J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol 144 May 1964.
- J. CORNFIELD et N. MANTEL - Some New Aspects of the Application of Maximum Likelihood to the Calculation of the Dosage Response Curve, J.A.S.A. Vol. 45, June 1950.
- D.J. FINNEY - The Meaning of Bioassay. Biometric Society, Vol. 21, December 1965.
- E.K. HARRIS - Confidence Limits for the LD Using the Moving Average-angle Method. Biometric Society, Vol. 15, September 1959.
- P.S. HEWLETT et R.L. PLACKETT - The Relation Between Quantal and Graded Responses to Drugs. Biometrics, March 1956.
- J.T. LITCHFIELD et F. WILCOXON - A simplified Method of Evaluating Dose-effect Experiments. J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics - Vol. 96, June 1949.
- B.L. MARKS - Some Optimal Sequential Schemes for Estimating the Mean of a Cumulative Normal Quantal Response Curve. J. of the Royal Statistical Society, Vol. 24, 1962.
- J. ULMO - Détermination Expérimentale de la Courbe Représentant les Variations, en Fonction d'un Paramètre, de la Probabilité d'un Phénomène se traduisant par une Alternative, quand celle-ci est une "Courbe en S de Galton", Annales des Mines - 1952 - n° III-IV.
- G.B. WETHERILL - Sequential Estimation of Quantal Response Curves J. of the Royal Statistical Society, Vol. 25, 1963.

4/ Le Problème de l'action conjointe de diverses substances

- E.J. ARIENS et A.M. SIMONIS - Drug-Receptor Interaction. Acta Physiol. Pharmacol. Neerlandica 11 - 1962.
- J.R. ASHFORD et C.S. SMITH - General Models for Quantal Response to the Joint Action of a Mixture of Drugs. Biometrika, 51 - 1954 .
- J.R. ASHFORD et C.S. SMITH - An Alternative System for the Classification of Mathematical Models for Quantal Responses to Mixtures of Drugs in Biological Assay, Biometrics, 21 - 1965.
- P.S. HEWLETT et R.L. PLACKETT - Models for Quantal Responses to Mixtures of two Drugs. Proc. Symp. quant. Methods in Pharmacol. Leyden, 1960, 1961, 328-336.
- R.L. PLACKETT et P.S. HEWLETT - A Comparison of two Approaches to the Construction of Models for Quantal Responses to Mixtures of Drugs. Biometrics, 23, March 1967.

Nous n'avons pas cherché dans cette bibliographie à être exhaustif mais à donner un certain nombre de points de repère essentiels destinés à faciliter une exploration plus complète. La plupart des justifications des méthodes exposées figurent dans les deux ouvrages cités de FINNEY.