



a 66562

EVALUATION DES EPREUVES IN VITRO DE PHARMACOSENSIBILITE
 DE PLASMODIUM FALCIPARUM : ANALYSE PAR PROBIT DE LA RELATION
 ENTRE DOSE LOGARITHMIQUE ET REPONSE LORS DE TITRAGES A 3-8 POINTS

par

B. Grab¹ & W. H. Wernsdorfer²

Table des matières



	<u>Pages</u>
1. Introduction	2
2. Préparation des données en vue de leur traitement	2
2.1 Epreuves isolées	2
2.1.1 Macro-épreuve	2
2.1.2 Micro-épreuve	3
2.2 Données groupées	3
3. Traitement des données (TI-59)	5
3.1 Façon de procéder	5
3.2 Introduction des données	6
3.3 Affichage des résultats concernant l'inhibition de la maturation des schizontes	7
3.4 Analyse par probit	8
3.5 Calcul des concentrations efficaces	9
3.6 Remise à zéro de la calculette	9
3.7 Autre exemple d'analyse dose logarithmique/réponse	10
3.7.1 Groupement des observations	10
3.7.2 Récapitulation des données groupées	11
3.7.3 Introduction des données	11
3.7.4 Affichage des résultats concernant l'inhibition de la maturation des schizontes	11
3.7.5 Analyse par probit	12
3.7.6 Concentrations efficaces	12
3.7.7 Présentation graphique	12
4. Programme	13
Figures	14-15
Annexe 1. Programme	16
Annexe 2. Réponse de <u>P. falciparum</u> à la chloroquine et à la méfloquine <u>in vitro</u> - imprimé OMS 5407	20

¹ Ancien membre de l'unité Méthodologie des statistiques sanitaires, Division des Statistiques sanitaires, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.

² Unité Recherche et renseignements techniques, Programme d'action antipaludique, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que leurs auteurs.

1. INTRODUCTION

L'évaluation des épreuves de maturation des schizontes, par exemple la macro-épreuve ou la micro-épreuve in vitro, soulève certaines difficultés. En particulier, la détermination de paramètres essentiels comme la concentration du médicament assurant l'inhibition de la maturation des schizontes dans la proportion de 50 % ou 90 % (CE₅₀ ou CE₉₀) nécessite des calculs longs et complexes et une certaine connaissance de la méthodologie mathématique. Des indications peuvent certes être tirées de l'observation du point limite, c'est-à-dire de la concentration médicamenteuse à laquelle il y a inhibition totale de la maturation des schizontes, et de la représentation graphique des données observées. Mais cette manière d'opérer ne permet pas d'estimer de façon fiable les paramètres de la sensibilité aux médicaments.

On a donc établi un programme qui permet d'effectuer une analyse par probit de la relation dose logarithmique/réponse obtenue lors de titrages à 3-8 points au moyen de la calculette TI-59 de Texas Instruments et de son Module d'application statistique; par cette méthode, il devient facile d'assurer le traitement des données relatives à la pharmacosensibilité et d'obtenir tous les paramètres essentiels. Ce programme est reproduit à l'annexe 1.

La méthode est applicable à tous les types d'épreuves de maturation des schizontes (macro- et micro-épreuves) et, indifféremment, aux résultats d'épreuves isolées ou à des données groupées. Elle n'est pas prévue pour la comparaison statistique des concentrations efficaces ou d'autres paramètres (études ponctuelles dans différentes régions ou groupes, ou enquêtes longitudinales) qui nécessiterait un autre type de programme.

2. PREPARATION DES DONNEES EN VUE DE LEUR TRAITEMENT

Le système d'évaluation repose sur le nombre de plasmodies qui, d'une part dans les échantillons témoins, d'autre part dans les échantillons soumis à l'action d'un médicament, ont atteint le stade du schizonte. Trois données sont nécessaires :

- a) le nombre de schizontes dans l'échantillon témoin (nombre de schizontes pour 300 ou 1000 leucocytes dans la macro-épreuve et nombre de schizontes pour 200 parasites asexués dans la micro-épreuve);
- b) les concentrations médicamenteuses utilisées dans l'épreuve;
- c) le nombre de schizontes observé à ces diverses concentrations (N.B. : il faut utiliser le nombre de schizontes et non un pourcentage rapporté aux échantillons témoins).

2.1 Epreuves isolées

2.1.1 Macro-épreuve

Les données sont reprises sur l'imprimé OMS 5407 "Réponse de P. falciparum à la chloroquine et à la méfloquine in vitro" (voir annexe 2), à savoir :

Concentration du médicament (n-mol)	Echantillon témoin (moyenne de deux lectures)	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25	1,50	2,00	3,00
Nombre de schizontes	

Pour la chloroquine et la méfloquine, les lignes correspondant à la concentration sont identiques. Ces concentrations sont directement indiquées en 10^{-6} mol par litre de sang.

2.1.2 Micro-épreuve

Les données sont reprises sur l'imprimé OMS 5407 "Réponse de P. falciparum à la chloroquine et à la méfloquine in vitro" (voir annexe 2), à savoir :

a) Chloroquine

Godet	A	B	C	D	E	F	G	H
Dose de médicament (pmol/godet)	TEMOIN	1	2	4	5,7	8	16	32
Concentration du médicament (10^{-6} mol/litre de sang)	TEMOIN	0,20	0,40	0,80	1,14	1,60	3,20	6,40
Nombre de schizontes

b) Méfloquine

Godet	A	B	C	D	E	F	G	H
Dose de médicament (pmol/godet)	TEMOIN	0,5	1,0	2,0	4,0	5,7	8,0	16,0
Concentration du médicament (10^{-6} mol/litre de sang)	TEMOIN	0,10	0,20	0,40	0,80	1,14	1,60	3,20
Nombre de schizontes

Ces données sont utilisables telles quelles pour le traitement sur calculette (voir section 3 ci-après), à condition que les valeurs obtenues avec l'échantillon témoin soient plus élevées que toutes les valeurs obtenues dans un godet ou une fiole en présence du médicament. Dans le cas contraire, il convient de remplacer le chiffre correspondant à l'échantillon témoin par la valeur la plus élevée.

On notera que les doses de médicament par godet (micro-épreuve) ne sont indiquées que pour fixer les idées. Leur utilisation dans le traitement des données et dans la représentation graphique est désormais périmée. Tous les calculs effectués dans le présent document reposent sur les concentrations du médicament (exprimées en 10^{-6} mol/litre de sang).

2.2 Données groupées

En principe, les données groupées sont énumérées dans l'ordre, de la même façon que dans le cas des épreuves isolées ci-dessus. A la fin, on additionne les chiffres portés dans chaque colonne, conformément à l'exemple ci-dessous qui concerne 15 micro-épreuves de sensibilité à la chloroquine effectuées à la même époque dans un village d'Extrême-Orient.

Nombre de schizontes pour 200 formes asexuées de P. falciparum

Godet	A	B	C	D	E	F	G	H
Concentration du médicament (en 10^{-6} mol/litre de sang)	TEMOIN	0,20	0,40	0,80	1,14	1,60	3,20	6,40
Cas 1	87	76	65	-	41	35	16	7
Cas 2	144	138	112	59	53	41	21	13
Cas 3	92	-	66	-	45	27	12	6
Cas 4	157	138	128	96	71	58	31	12
Cas 5	63	59	47	36	32	23	9	0
Cas 6	106	101	95	55	49	39	20	9
Cas 7	98	87	69	61	44	28	14	0
Cas 8	141	129	108	83	67	51	27	11
Cas 9	138	124	93	72	58	42	26	12
Cas 10	75	71	56	38	35	30	15	6
Cas 11	87	-	71	54	39	31	11	1
Cas 12	159	143	124	97	76	54	29	10
Cas 13	58	54	49	33	20	18	0	0
Cas 14	123	107	102	72	42	39	16	-
Cas 15	149	119	113	87	66	57	21	10
TOTAL	1677	1346	1298	843	738	573	268	97

On notera que certaines valeurs manquent dans le tableau (par exemple par suite de la contamination du godet correspondant ou de la perte d'un frottis); c'est le cas pour la valeur correspondant à la concentration $0,8 \times 10^{-6}$ mol/l dans les cas N° 1 et 3; dans ces conditions, il serait inexact de rapprocher le nombre total de schizontes dans les échantillons témoins du nombre total de schizontes en présence de la concentration indiquée ci-dessus. Dans cette éventualité, il faut procéder à une correction et calculer le nombre de schizontes dans l'ensemble des échantillons témoins sans tenir compte des échantillons témoins correspondant aux cas où le résultat manque pour la concentration en question. On récapitulera les données groupées sous forme de tableau, comme suit :

Concentration du médicament (10^{-6} mol/l de sang)	0,20	0,40	0,80	1,14	1,60	3,20	6,40
Nombre total de schizontes dénombrés par groupe	1346	1298	843	738	573	268	97
Nombre total de schizontes dans les échantillons témoins (correspondant à des godets pour lesquels une lecture est possible)	1498	1677	1498	1677	1677	1677	1554

On constate que le nombre total de schizontes dans les échantillons témoins n'est pas le même pour toutes les concentrations, du fait de l'absence de certains résultats : à $0,2$ (10^{-6} mol/l) pour les cas N° 3 et 11, $0,8$ pour les cas N° 1 et 3 et $6,4$ pour le cas N° 14.

On veillera à tenir uniquement compte des épreuves pour lesquelles on a dénombré au minimum 20 schizontes dans les échantillons témoins. Au cas improbable où le nombre total de schizontes serait plus faible dans les échantillons témoins que dans un groupe correspondant à une concentration donnée du médicament, c'est le second nombre qu'on utilisera en lieu et place du "nombre total de schizontes dans les échantillons témoins".

Le regroupement s'opère de la même façon pour la macro-épreuve et la micro-épreuve. Cependant, la macro-épreuve peut fournir jusqu'à 8 "points" au maximum (à moins qu'on utilise des concentrations supérieures à $3,0 \times 10^{-6}$ mol/l de sang), tandis qu'avec la micro-épreuve le nombre de points est limité à 7 au plus.

3. TRAITEMENT DES DONNEES (TI-59)

3.1 Façon de procéder

Introduire le Module d'application statistique.

Enclencher.

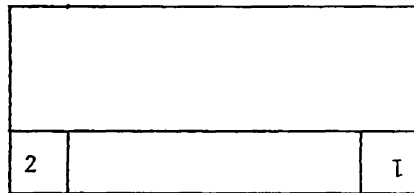
Appuyer sur : 2nd CP.

"Lire" la première zone de la carte 1 (glisser la carte de droite à gauche dans son logement, la face noire étant placée dessous).

1		2

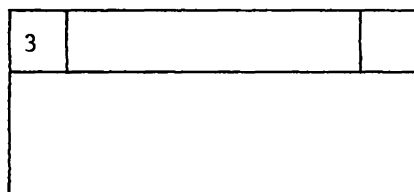
Appuyer sur : CLR (effacer)

"Lire" la deuxième zone de la carte 1 (même carte, également introduite de droite à gauche, mais en intervertissant le haut et le bas, la face noire étant toujours placée dessous).



Appuyer sur : CLR

"Lire" la carte 2 (de la même façon que pour la première zone seulement de la carte 1).



(Chaque fois qu'une carte a fini de défiler, son numéro apparaît. Si l'affichage clignote, recommencer l'opération. En cas de nouvel échec, nettoyer soigneusement la carte, la tête de lecture et le galet d'entraînement.)

3.2 Introduction des données

Le programme convient pour des titrages de 3 points au minimum et de 8 points au maximum.

Marche à suivre (appuyer sur les touches dans l'ordre indiqué) :

<u>N° du point</u>	<u>Dose</u>	<u>Nombre de schizontes pour le point correspondant</u>	<u>Nombre de schizontes dans l'échantillon témoin</u>
1	A	R/S	R/S
2
.			
.			
.			
8	A	R/S	R/S

Pour s'assurer que l'entrée des données est correcte, appuyer alors à plusieurs reprises sur la touche R/S, ce qui fait apparaître toutes les données dans l'ordre.

Les points peuvent être introduits dans n'importe quel ordre mais une fois que le code du point (de 1 à 8) et le caractère A ont été introduits, la dose, la réponse et le total

doivent être enregistrés dans cet ordre. Cela permet de corriger ou de modifier l'information concernant un point déterminé sans avoir à recommencer depuis le début. On notera que les trois paramètres doivent tous être enregistrés même si la modification ne porte que sur l'un d'eux.

En appuyant sur après avoir introduit les paramètres d'un point quelconque, il faut toujours commencer la vérification à partir du point 1. Ce contrôle peut être interrompu à tout moment, et l'introduction de nouvelles données peut alors reprendre.

Dans l'exemple de la section 2.2, on procéderait comme suit :

N° du point	Touche	Concentration du médicament (10^{-6} mol/l)	Touche	Nombre de schizontes pour le point correspondant (r)	Touche	Nombre de schizontes dans l'échantillon témoin (n)	Touche
<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="A"/>	0,2	<input type="text" value="R/S"/>	1 346	<input type="text" value="R/S"/>	1 498	<input type="text" value="R/S"/>
<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="A"/>	0,4	<input type="text" value="R/S"/>	1 298	<input type="text" value="R/S"/>	1 677	<input type="text" value="R/S"/>
<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="A"/>	0,8	<input type="text" value="R/S"/>	843	<input type="text" value="R/S"/>	1 498	<input type="text" value="R/S"/>
<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="A"/>	1,14	<input type="text" value="R/S"/>	738	<input type="text" value="R/S"/>	1 677	<input type="text" value="R/S"/>
<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="A"/>	1,6	<input type="text" value="R/S"/>	573	<input type="text" value="R/S"/>	1 677	<input type="text" value="R/S"/>
<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="A"/>	3,2	<input type="text" value="R/S"/>	268	<input type="text" value="R/S"/>	1 677	<input type="text" value="R/S"/>
<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="A"/>	6,4	<input type="text" value="R/S"/>	97	<input type="text" value="R/S"/>	1 554	<input type="text" value="R/S"/>

Pour s'assurer que l'entrée des données est correcte, appuyer une fois sur la touche (ce qui fait apparaître le chiffre 0,2). En appuyant à plusieurs reprises sur la même touche, on verra apparaître successivement 1346, 1498, 0,4, 1298, etc. Si l'on constate qu'une entrée est inexacte, on en prendra note mais il est commode de poursuivre la vérification jusqu'à la fin de l'ensemble des données introduites, c'est-à-dire jusqu'à 6,4, 97, 1554. Il faut alors recomposer en totalité la ligne comportant une erreur : par exemple, si l'erreur se trouvait à la ligne 4, on introduira les données sur le clavier comme suit : 1,14 738 1677 . Pour procéder à un nouveau contrôle, appuyer à plusieurs reprises sur (ce qui entraîne l'affichage successif de toutes les données, depuis le début). Si l'on constate alors que toutes les données seront exactes, on peut passer aux étapes suivantes, décrites à la section 3.3.

3.3 Affichage des résultats concernant l'inhibition de la maturation des schizontes

Appuyer sur . La machine s'arrête après le calcul de la quantité $100(1 - r/n)\%$ pour le point 1 (inhibition de la maturation, en %) et le résultat est affiché. Appuyer à plusieurs

reprises sur la touche **R/S** pour voir quel est le pourcentage d'inhibition de la maturation des schizontes aux point 2, 3, 4, etc. Une fois le dernier pourcentage affiché, appuyer de nouveau sur **R/S** pour commencer le calcul qui peut durer 8 minutes. Quand la calculette s'arrête, le nombre d'itérations effectuées est affiché. Ce calcul par approximations successives s'arrête quand la différence entre deux estimations successives de la pente est égale ou inférieure à 5 % de l'erreur type relative à la dernière estimation. Le programme est prévu pour 8 itérations successives.

L'étape **B** est impossible à recommencer car son exécution entraîne la modification des données.

Dans l'exemple de la section 2.2, les lectures ci-après peuvent être effectuées après avoir appuyé sur **B** :

point 1	10,147 (%)	R/S
point 2	22,600 (%)	R/S
point 3	43,725 (%)	R/S
point 4	55,993 (%)	R/S
point 5	65,832 (%)	R/S
point 6	84,019 (%)	R/S
point 7	93,758 (%)	R/S ----- environ 8 min.

affichage du nombre d'itérations
(3).

3.4 Analyse par probit

Appuyer sur **C** : après environ 20 secondes, on voit apparaître la valeur de la probabilité d'hétérogénéité, selon la loi du khi-carré. Quand cette valeur est inférieure à 0,05 (autrement dit si l'hétérogénéité est significative au seuil de 5 %), les limites de confiance des concentrations efficaces sont nettement sous-estimées, de sorte qu'il ne faut pas en tenir compte à la section 3.5.

Appuyer sur **R/S** : la valeur affichée est l'inhibition (en probits) à la concentration 1 (autrement dit, c'est le probit pour une dose logarithmique nulle).

Appuyer sur **R/S** : la valeur affichée correspond à la pente (p) de la droite de régression des probits.

Appuyer sur **R/S** : la valeur affichée correspond à la variance de la pente (S_p^2), corrigée pour l'hétérogénéité.

L'analyse par probit décrite ci-dessus (section 3.4) peut être recommencée en appuyant de nouveau sur la touche **C**.

Dans l'exemple de la section 2.2, on obtient les résultats ci-dessous en appuyant sur la touche **C** :

Probabilité d'hétérogénéité (loi du khi-carré) :	0,925106 (hétérogénéité non significative)
Inhibition à la concentration 1 :	5,027197 probits
Pente p :	1,892188
Variance de la pente (S_p^2) :	0,001136 (corrigée pour l'hétérogénéité)

3.5 Calcul des concentrations efficaces

Pour calculer les concentrations efficaces (CE), on peut introduire n'importe quelle réponse théorique (en %) comprise entre 1 % et 99 %, en enregistrant le chiffre correspondant puis en appuyant sur la touche **D**. Par exemple, dans le cas de la CE₅₀ (concentration du médicament inhibant la maturation des schizontes dans la proportion de 50 %), on introduit 50 et l'on appuie sur la touche **D**. La CE₅₀ s'affiche au bout d'un moment; on appuie ensuite sur la touche **R/S** pour obtenir la limite de confiance inférieure puis de nouveau sur la même touche pour obtenir la limite de confiance supérieure (on ne tiendra pas compte de ces deux limites de confiance si la probabilité d'hétérogénéité, selon la loi du khi-carré, est inférieure à 0,05 (voir section 3.4 ci-dessus)).

Le calcul peut être recommencé pour n'importe quelle CE comprise entre 1 % et 99 % (il faut environ 30 à 40 secondes pour calculer une CE).

Dans le cas de l'exemple de la section 2.2, on procéderait comme suit pour calculer CE₁, CE₅, CE₁₀, CE₅₀, CE₉₀, CE₉₅ et CE₉₉.

Paramètre recherché	Nombre à enregistrer	Touche	Affichage de la CE	Touche	Affichage de la limite de confiance inférieure	Touche	Affichage de la limite de confiance supérieure
CE ₁	1	D	0,0570	R/S	0,0511	R/S	0,0636
CE ₅	5	D	0,1307	R/S	0,1205	R/S	0,1419
CE ₁₀	10	D	0,2034	R/S	0,1901	R/S	0,2176
CE ₅₀	50	D	0,9674	R/S	0,9361	R/S	0,9998
CE ₉₀	90	D	4,6010	R/S	4,3270	R/S	4,8924
CE ₉₅	95	D	7,1589	R/S	6,6403	R/S	7,7180
CE ₉₉	99	D	16,4169	R/S	14,8157	R/S	18,1912

Pour tracer la droite de régression, deux points suffisent. (Pour obtenir une meilleure précision, il est conseillé de choisir deux points relativement éloignés sur l'échelle des abscisses (graduée en logarithmes des probits) du papier utilisé : par exemple, dans l'exemple ci-dessus, on choisira les points correspondant à la CE₅ et la CE₉₅.) Toutefois, si la probabilité d'hétérogénéité est supérieure à 0,05 (hétérogénéité non significative selon la loi du khi-carré), comme dans l'exemple ci-dessus, il faut calculer les CE sur un intervalle plus large pour obtenir les limites de confiance inférieure et supérieure qui devront également être indiquées sur le graphique. Ce dernier doit également comporter les points observés (voir section 3.3 et Fig. 1).¹

3.6 Remise à zéro de la calculette

Pour procéder au traitement des données relatives à un autre titrage, appuyer sur les touches **2nd** **CMs** et procéder à l'introduction des données, en suivant la marche indiquée à partir de la section 3.2 (il est inutile de lire de nouveau les cartes-programmes si la machine n'a pas été débranchée).

¹ On voit sur la droite de régression de la figure 1 que la CE₉₅ est supérieure à 1,0 x 10⁻⁶ mol de chloroquine par litre de sang, ce qui témoigne d'une résistance à ce médicament.

3.7 Autre exemple d'analyse dose logarithmique/réponse

L'exemple ci-dessous est fondé sur des épreuves effectuées en Birmanie¹ et utilise les résultats de 16 micro-épreuves in vitro qui correspondent toutes à des cas de résistance de degré I in vivo.

3.7.1 Groupement des observations

Les résultats des épreuves ci-dessous ont été regroupés :

NOMBRE DE SCHIZONTES

Godet	A	B	C	D	E	F	G	H
Chloroquine (10 ⁻⁶ mol/l de sang)	Témoin	0,20	0,40	0,80	1,14	1,60	3,20	6,40
Cas N° 25	96	92	80	80	80	76	60	52
Cas N° 26	60	60	42	30	30	24	12	12
Cas N° 27	58	58	58	50	16	12	6	6
Cas N° 28	120	120	104	68	-	70	-	40
Cas N° 29	50	48	48	42	36	32	12	0
Cas N° 31	86	80	74	70	62	58	22	8
Cas N° 33	62	52	44	36	28	16	0	0
Cas N° 34	92	80	66	40	44	40	40	36
Cas N° 35	60	48	54	42	16	18	6	4
Cas N° 37	72	60	44	32	24	20	24	16
Cas N° 40	80	80	68	60	52	40	16	10
Cas N° 41	96	72	68	56	56	48	32	24
Cas N° 42	108	108	100	94	90	84	72	62
Cas N° 43	72	64	58	52	48	36	12	6
Cas N° 44	58	52	44	36	32	26	16	6
Cas N° 45	24	24	20	16	16	12	4	0
	1 194	1 098	972	804	630	612	334	282

¹ Myint-Lwin, Min-Zaw & Rooney, W. (1982) Comparative study of the micro in vitro and the in vivo tests of the response of Plasmodium falciparum to chloroquine in Burma (document non publié WHO/MAL/82.982).

3.7.2 Récapitulation des données groupées

Concentration de la chloroquine (10^{-6} mol/l de sang)	0,20	0,40	0,80	1,14	1,60	3,20	6,40
Nombre total de schizontes dénombrés par groupe	1 098	972	804	630	612	334	282
Nombre total de schizontes dans les échantillons témoins (correspondant à des godets pour lesquels une lecture est possible)	1 194	1 194	1 194	1 074	1 194	1 074	1 194

3.7.3 Introduction des données

Après avoir introduit le programme dans la calculette (voir section 3.1), on introduit les données groupées récapitulées ci-dessus de la façon suivante :

N° du point	Touche	Concentration du médicament (10^{-6} mol/l)	Touche	Nombre de schizontes pour le point correspondant (r)	Touche	Nombre de schizontes dans l'échantillon témoin (n)	Touche
1	A	0,2	R/S	1 098	R/S	1 194	R/S
2	A	0,4	R/S	972	R/S	1 194	R/S
3	A	0,8	R/S	804	R/S	1 194	R/S
4	A	1,14	R/S	630	R/S	1 074	R/S
5	A	1,6	R/S	612	R/S	1 194	R/S
6	A	3,2	R/S	334	R/S	1 074	R/S
7	A	6,4	R/S	282	R/S	1 194	R/S

3.7.4 Affichage des résultats concernant l'inhibition de la maturation des schizontes

En appuyant sur la touche **B**, on voit apparaître l'inhibition observée (%) $\sqrt{100(1-r/n)}$ pour le point 1. En appuyant ensuite à plusieurs reprises sur la touche **R/S**, on obtient les valeurs de l'inhibition pour les points 2 à 7, comme suit :

Point 1	Inhibition	8,040 %
Point 2	Inhibition	18,593 %
Point 3	Inhibition	32,663 %
Point 4	Inhibition	41,341 %
Point 5	Inhibition	48,744 %
Point 6	Inhibition	68,901 %
Point 7	Inhibition	76,382 %

En appuyant sur la touche R/S une fois que le résultat correspondant au point 7 a été affiché, on met en route l'analyse par probit; environ 8 minutes plus tard, une nouvelle valeur est affichée, à savoir le chiffre 3, ce qui signifie que trois itérations ont dû être effectuées pour ajuster une droite de régression aux données observées.

3.7.5 Analyse par probit

En appuyant sur la touche C, on fait apparaître la probabilité d'hétérogénéité, selon la loi du khi-carré, à savoir 0,006893. Etant donné que cette valeur est inférieure à 0,05, il faut négliger les limites de confiance inférieure et supérieure des CE (car elles seraient fortement sous-estimées).

En appuyant à plusieurs reprises sur la touche R/S, on obtient tour à tour les paramètres suivants :

Inhibition à la concentration 1 : 4,673711 probits

Pente β : 1,426642

Variance de la pente (S_{β}^2) : 0,003862 (corrigée pour l'hétérogénéité)

3.7.6 Concentrations efficaces

Etant donné que la probabilité d'hétérogénéité, selon la loi du khi-carré, est inférieure à 0,05, il serait sans intérêt de déterminer les limites de confiance, inférieure et supérieure, pour les diverses concentrations efficaces. On obtient CE₁, CE₅, CE₁₀, CE₅₀, CE₉₀, CE₉₅ et CE₉₉ en enregistrant au clavier le nombre correspondant puis en appuyant sur la touche D :

Pour CE	Enregistrer	Appuyer sur la touche	Chiffres (arrondis) affichés
CE ₁	1	<input type="checkbox"/> D	0,0396
CE ₅	5	<input type="checkbox"/> D	0,1191
CE ₁₀	10	<input type="checkbox"/> D	0,2140
CE ₅₀	50	<input type="checkbox"/> D	1,6932
CE ₉₀	90	<input type="checkbox"/> D	13,3948
CE ₉₅	95	<input type="checkbox"/> D	24,0756
CE ₉₉	99	<input type="checkbox"/> D	72,3843

3.7.7 Présentation graphique

Les points représentatifs des données observées et la droite de régression correspondante sont indiqués sur la figure 2. Pour déterminer cette droite, deux concentrations efficaces (par exemple CE₅ et CE₉₅) auraient suffi. Le graphique montre que l'ajustement entre les valeurs observées et la droite de régression est assez bon, spécialement aux faibles concentrations.

PROGRAMME

L'analyse par probit repose sur un programme qui comporte 560 pas. Ce programme, qui est reproduit en annexe, doit être introduit manuellement dans la calculette TI-59, soit en vue de son exécution, soit en vue de son inscription sur cartes magnétiques utilisables lors d'analyses ultérieures (voir section 3.1 ci-dessus).

Pour ce faire, on introduit dans la calculette le Module d'application statistique.

Après avoir enclenché la calculette, on enregistre successivement au clavier 5 **2nd** **Op** 17 (il s'affiche alors 559,49) pour modifier le découpage de la mémoire comme il convient; on appuie ensuite sur la touche **LRN** et l'on introduit pas à pas le programme de l'annexe 1 (ne pas oublier le préfixe **2nd** pour toutes les touches où c'est nécessaire par exemple **Prd**, **Exc**, **St flg**). Une fois l'introduction du programme terminée, appuyer sur la touche **LRN** (ce qui assure la commutation du mode "apprentissage" au mode "commande par le clavier").

Avant d'enregistrer le programme sur cartes magnétiques, il est conseillé de rétablir le découpage initial de la mémoire en enregistrant au clavier 6 **2nd** **Op** 17 (il s'affiche alors : 479,59); cette méthode permet de lire les cartes magnétiques sans modifier le découpage, la modification nécessaire étant assurée par le programme lui-même en cours d'exécution.

Le programme peut alors être enregistré sur cartes magnétiques (il en faut deux), comme suit :

- a) Enregistrer au clavier 1 **2nd** **Write** et introduire une carte magnétique vierge (le côté imprimé sur le dessus) dans le logement inférieur de la calculette (sur le côté droit). La carte ressort à gauche et porte maintenant le programme correspondant au premier bloc de données. Inscrire le chiffre 1 dans le coin supérieur gauche de la carte.
- b) Enregistrer au clavier 2 **2nd** **Write** et introduire la même carte (le côté imprimé toujours sur le dessus), mais après l'avoir retournée dans le sens vertical (en-tête noire vers le bas), dans le logement inférieur de la calculette (sur le côté droit). Inscrire le chiffre 2 dans le coin supérieur droit de la carte magnétique.
- c) Enregistrer au clavier 3 **2nd** **Write** et introduire une autre carte magnétique vierge (le côté imprimé sur le dessus) et procéder comme précédemment. Inscrire le chiffre 3 dans le coin supérieur gauche de la carte magnétique.

Il est utile d'écrire le titre du programme sur les cartes magnétiques en vue d'en faciliter l'identification (par exemple "Analyse dose logarithmique/réponse à 3-8 points, pharmacosensibilité de P. falciparum").

La calculette peut maintenant être utilisée pour l'analyse des données, conformément à la méthode décrite dans les sections 3.2-3.6; le programme s'efface automatiquement quand la machine est débranchée et il doit de nouveau être introduit avant chaque nouvelle analyse, soit manuellement, soit à partir des cartes magnétiques (voir section 3.1).

N.B. : On peut se procurer des cartes magnétiques comportant le programme ci-dessus à l'adresse suivante :

M. le Chef de l'unité Recherche et renseignements techniques
Programme d'action antipaludique
Organisation mondiale de la Santé
Avenue Appia
CH - 1211 Genève 27

FIG. 1 DROITE DE REGRESSION, LIMITES DE CONFIANCE ET POINTS REPRESENTATIFS DES RESULTATS GROUPEES
DES EPREUVES DE SENSIBILITE DE PLASMODIUM FALCIPARUM (EXEMPLE DE LA SECTION 2.2)

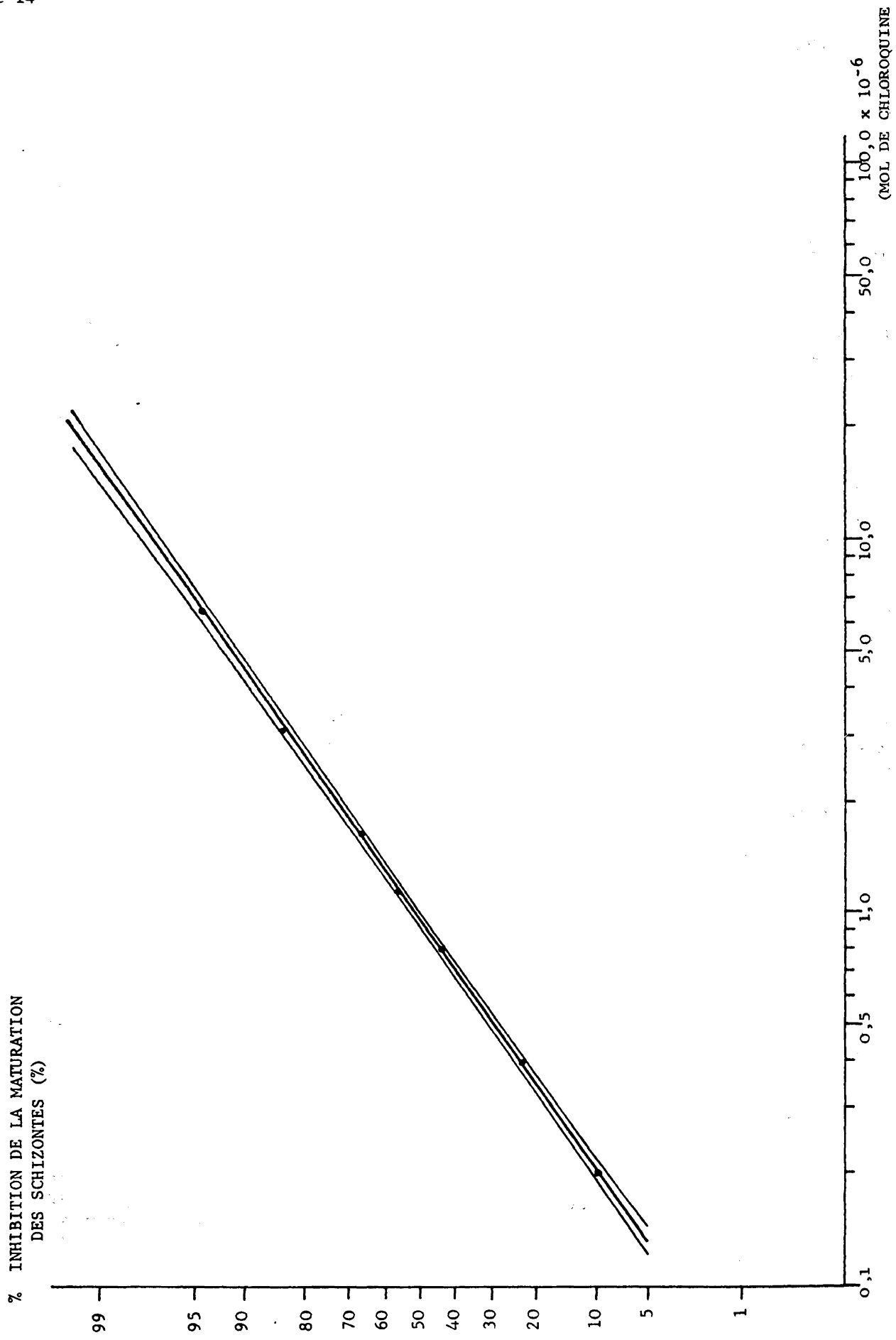
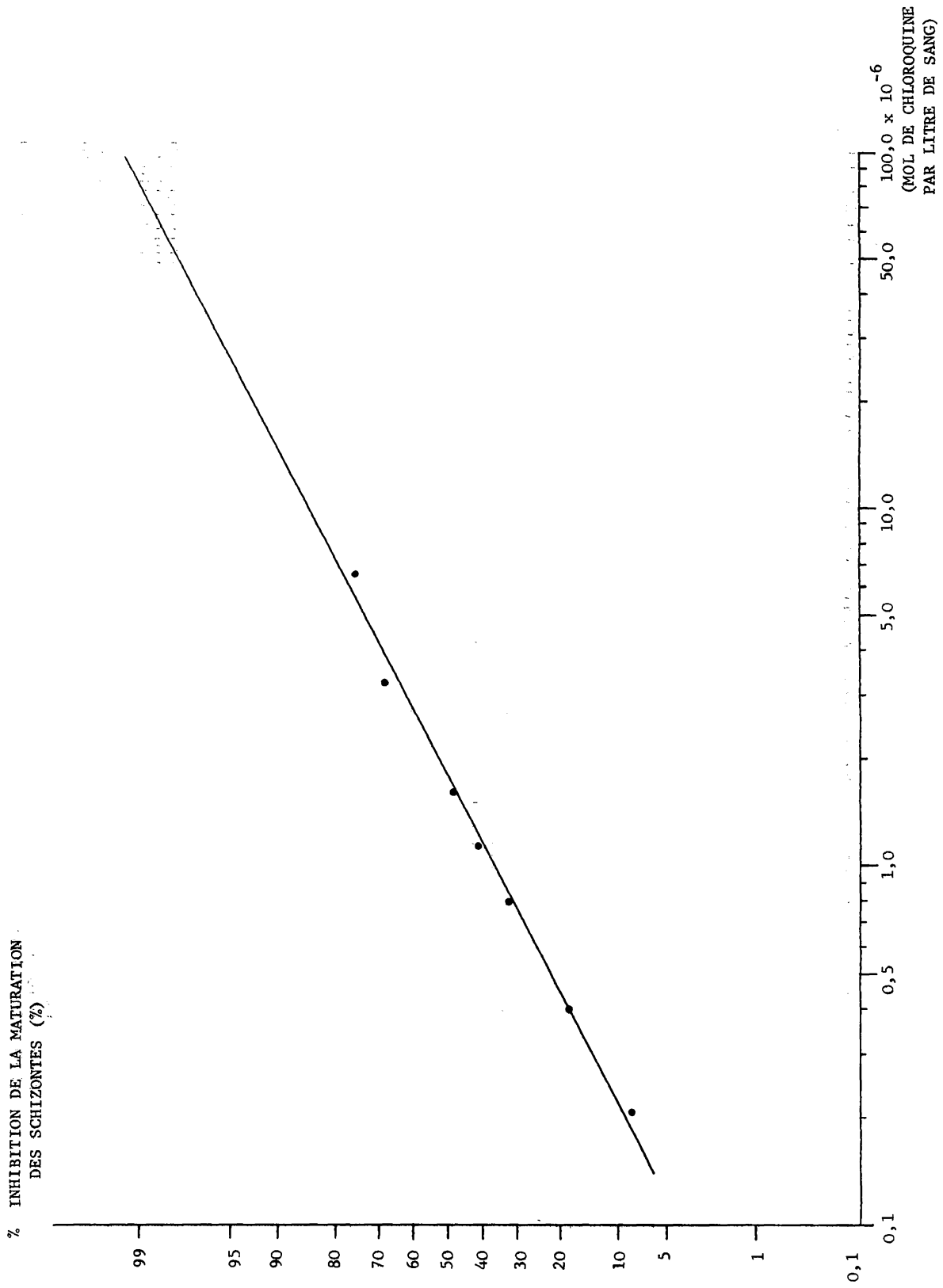


FIG. 2. SENSIBILITE A LA CHLOROQUINE DES PLASMODIUM FALCIPARUM ISOLES EN BIRMANIE DE 16 PATIENTIS
PRESENTANT UNE RESISTANCE DE DEGRE I (D'APRES LES DONNEES DE MYINT-LWIN ET AL., WHO/MAL/82.982)



121	05	5	171	01	01	221	55	+
122	69	DP	172	78	78	222	32	XIT
123	17	17	173	71	SBR	223	95	=
124	00	0	174	24	CE	224	44	SUM
125	42	STD	175	61	GTO	225	10	10
126	30	30	176	02	02	226	73	RC*
127	01	1	177	26	26	227	49	49
128	42	STD	178	43	RCL	228	65	x
129	06	06	179	04	04	229	43	RCL
130	08	8	180	85	+	230	06	06
131	42	STD	181	43	RCL	231	95	=
132	02	02	182	30	30	232	42	STD
133	22	INV	183	65	x	233	25	25
134	66	STF	184	73	RC*	234	44	SUM
135	01	01	185	47	47	235	31	31
136	43	RCL	186	95	=	236	65	x
137	03	03	187	42	STD	237	73	RC*
138	42	STD	188	10	10	238	47	47
139	01	01	189	36	PGM	239	95	=
140	00	0	190	19	19	240	44	SUM
141	42	STD	191	12	B	241	35	35
142	31	31	192	65	+	242	65	x
143	42	STD	193	32	XIT	243	73	RC*
144	35	35	194	95	=	244	47	47
145	42	STD	195	43	RCL	245	95	=
146	36	36	196	10	10	246	44	SUM
147	42	STD	197	36	PGM	247	36	36
148	40	40	198	19	19	248	43	RCL
149	42	STD	199	11	R	249	25	25
150	41	41	200	42	STD	250	65	x
151	42	STD	201	06	06	251	43	RCL
152	45	45	202	49	PRD	252	10	10
153	02	2	203	06	06	253	95	=
154	42	STD	204	32	XIT	254	44	SUM
155	47	47	205	22	INV	255	40	40
156	03	3	206	49	PRD	256	65	x
157	42	STD	207	06	06	257	43	RCL
158	48	48	208	94	+/-	258	10	10
159	04	4	209	85	+	259	95	=
160	42	STD	210	01	1	260	44	SUM
161	49	49	211	95	=	261	41	41
162	05	5	212	22	INV	262	55	+
163	44	SUM	213	49	PRD	263	43	RCL
164	47	47	214	06	06	264	10	10
165	44	SUM	215	75	-	265	65	x
166	48	48	216	01	1	266	73	RC*
167	44	SUM	217	85	+	267	47	47
168	49	49	218	73	RC*	268	95	=
169	37	177	219	48	48	269	44	SUM
170	01	01	220	95	=	270	45	45

271	97	DSZ	321	36	36	371	76	76
272	01	01	322	95	=	372	97	DSZ
273	01	01	323	42	STD	373	02	02
274	62	62	324	25	25	374	01	01
275	43	RCL	325	65	x	375	36	36
276	35	35	326	43	RCL	376	09	9
277	33	X²	327	35	35	377	75	-
278	55	+	328	75	-	378	43	RCL
279	43	RCL	329	43	RCL	379	02	02
280	31	31	330	40	40	380	95	=
281	95	=	331	95	=	381	91	R/3
282	22	INV	332	94	+/-	382	76	LBL
283	44	SUM	333	42	STD	383	24	CE
284	36	36	334	04	04	384	01	1
285	43	RCL	335	43	RCL	385	02	2
286	40	40	336	41	41	386	42	STD
287	33	X²	337	75	-	387	00	00
288	55	+	338	43	RCL	388	01	1
289	43	RCL	339	45	45	389	93	.
290	31	31	340	33	X²	390	02	2
291	95	=	341	55	+	391	42	STD
292	22	INV	342	43	RCL	392	46	46
293	44	SUM	343	36	36	393	00	0
294	41	41	344	95	=	394	42	STD
295	43	RCL	345	42	STD	395	10	10
296	35	35	346	11	11	396	43	RCL
297	65	x	347	88	STF	397	10	10
298	43	RCL	348	01	01	398	36	PGM
299	40	40	349	43	RCL	399	19	19
300	55	+	350	36	36	400	12	B
301	43	RCL	351	35	1/X	401	75	-
302	31	31	352	34	TX	402	73	RC+
303	95	=	353	65	x	403	48	48
304	22	INV	354	93	.	404	95	=
305	44	SUM	355	00	0	405	54	+/-
306	45	45	356	05	5	406	69	OP
307	43	RCL	357	95	=	407	10	10
308	31	31	358	32	X/T	408	65	x
309	22	INV	359	43	RCL	409	43	RCL
310	49	PRD	360	25	25	410	46	46
311	35	35	361	75	-	411	95	=
312	43	RCL	362	48	ENC	412	44	SUM
313	31	31	363	30	30	413	10	10
314	22	INV	364	95	=	414	93	.
315	49	PRD	365	50	I×I	415	05	5
316	40	40	366	77	GE	416	49	PRD
317	43	RCL	367	03	03	417	46	46
318	45	45	368	72	72	418	97	DSZ
319	55	+	369	61	GTD	419	00	00
320	43	RCL	370	03	03	420	03	03

421 96 96
 422 92 RTN
 423 76 LBL
 424 10 0
 425 40 RCL
 426 00 00
 427 75 -
 428 00 2
 429 95 =
 430 40 STD
 431 41 41
 432 55 -
 433 40 RCL
 434 11 11
 435 95 =
 436 35 1/X
 437 40 STD
 438 45 45
 439 40 RCL
 440 41 41
 441 36 PCM
 442 21 21
 443 11 R
 444 40 RCL
 445 11 11
 446 36 PCM
 447 21 21
 448 13 0
 449 75 -
 450 01 1
 451 95 =
 452 94 +/-
 453 91 R/S
 454 30 XLT
 455 93 .
 456 00 0
 457 05 5
 458 77 GE
 459 04 04
 460 64 64
 461 01 1
 462 40 STD
 463 45 45
 464 40 RCL
 465 04 04
 466 85 +
 467 05 5
 468 95 =
 469 91 R/S
 470 40 RCL

471 30 30
 472 91 R/S
 473 40 RCL
 474 45 45
 475 55 +
 476 40 RCL
 477 36 36
 478 95 =
 479 91 R/S
 480 76 LBL
 481 14 0
 482 65 X
 483 90 .
 484 00 0
 485 01 1
 486 95 =
 487 72 ST*
 488 48 48
 489 00 0
 490 40 STD
 491 10 10
 492 70 RC*
 493 48 48
 494 30 XLT
 495 90 .
 496 05 5
 497 67 ED
 498 05 05
 499 02 02
 500 71 SBR
 501 24 CE
 502 40 RCL
 503 10 10
 504 75 75
 505 40 RCL
 506 04 04
 507 95 95
 508 85 +
 509 40 RCL
 510 30 30
 511 95 =
 512 40 STD
 513 46 46
 514 22 INV
 515 28 LOG
 516 95 =
 517 91 R/S
 518 40 RCL
 519 46 46
 520 75 -

521 40 RCL
 522 35 35
 523 95 =
 524 30 X*
 525 55 +
 526 40 RCL
 527 36 36
 528 85 +
 529 40 RCL
 530 31 31
 531 35 1/X
 532 95 =
 533 34 IX
 534 35 +
 535 40 RCL
 536 30 30
 537 65 X
 538 00 2
 539 95 =
 540 94 +/-
 541 65 +
 542 40 RCL
 543 46 46
 544 95 =
 545 22 INV
 546 28 LOG
 547 91 R/S
 548 28 LOG
 549 94 +/-
 550 85 +
 551 00 2
 552 65 X
 553 40 RCL
 554 46 46
 555 95 =
 556 22 INV
 557 28 LOG
 558 91 R/S
 559 00 0

REPONSE DE P. FALCIPARUM A LA CHLOROQUINE ET A LA MEFLOQUINE IN VITRO

A PAYS ET LIEU OÙ L'ÉPREUVE A ÉTÉ FAITE		N° : _____		No. de l'épreuve : <input type="text"/>	
Institution : _____		Ville : _____		Code du pays : <input type="text"/>	
Chercheur : _____		Pays : _____		Institution : <input type="text"/>	
Province/État : _____		District : _____			
B PAYS ET LIEU OÙ INFECTION PROBABLEMENT CONTRACTÉE			Code du pays : <input type="text"/>		
Pays : _____			Code prov. : <input type="text"/>		
Province/État : _____			Lat. case 15 1 = N 2 = S <input type="text"/> deg. <input type="text"/> min.		
District : _____			Long. case 20 1 = E 2 = O <input type="text"/> deg. <input type="text"/> min.		
C DATE ET HEURE DE LA PRISE DE SANG			jour mois année heures minutes		
Date : _____			26 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		
D INCUBATION			Début : heures minutes Fin : heures minutes		
Date : _____			36 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		
E PATIENT			Sexe : M F Moins d'un an = 00		
			Age : <input type="text"/> ans		
F RAISON DU DÉPISTAGE			46 <input type="text"/>		
<input type="checkbox"/> = Cas résistant ou suspect <input type="checkbox"/> = Cas collatéral résistant ou suspect <input type="checkbox"/> = Résist. dans zone d'origine <input type="checkbox"/> = Résist. dans zone d'orig. (étranger) <input type="checkbox"/> = Résist. dans zone adjacente <input type="checkbox"/> = Résist. dans autre zone voisine <input type="checkbox"/> = Surveillance de routine <input type="checkbox"/> = Divers					
G ÉCHANTILLON			47 <input type="text"/>		
<input type="checkbox"/> = Pop. générale <input type="checkbox"/> = Pop. scolaire <input type="checkbox"/> = Pop. active <input type="checkbox"/> = Mal. ambulat. <input type="checkbox"/> = Hôpital <input type="checkbox"/> = Trav. migrants <input type="checkbox"/> = Divers					
H MÉDICAMENT PRIS PENDANT LES 2 DERNIÈRES SEMAINES			ANTÉC. : Antipal. administré? <input type="checkbox"/> = Oui <input type="checkbox"/> = Non <input type="checkbox"/> = ? (case 48)		
			Si « oui », indiquer médicament(s) : _____ (case 49)		
			TEST-URINE <input type="checkbox"/> = pos. <input type="checkbox"/> = nég. <input type="checkbox"/> = douteux <input type="checkbox"/> = non fait		
			amino-4 quinoléines (case 50) sulfamides (case 51)		
I EXAM. ÉTALEMENT AV. CULTURE			Nb. P.F. asexués/mm ³ sang _____		
			Nb. trophozoïtes : petits moyens grands		
			total nb. leucocyt <input type="text"/>		
J RÉSULTAT DU MACROTEST			Néc. chloroquine Lot N° : <input type="text"/>		
			Néc. méfloquine Lot N° : <input type="text"/>		
CHLOROQUINE nmol//flac. →			Témoin 1 Témoin 2 0,25 0,50 0,75 1,00 1,25 1,50 2,00 3,00		
<input type="checkbox"/> 1 SCHIZONTES/300 leuc.			66 <input type="text"/>		
<input type="checkbox"/> 2 SCHIZONTES/1 000 leuc.					
Moyenne de K : _____ %					
MÉFLOQUINE nmol//flac. →			Témoin 1 Témoin 2 0,25 0,50 0,75 1,00 1,25 1,50 2,00 3,00		
<input type="checkbox"/> 1 SCHIZONTES/300 leuc.			97 <input type="text"/>		
<input type="checkbox"/> 2 SCHIZONTES/1 000 leuc.					
Moyenne de K : _____ %					
K RÉSULTAT DU MICROTEST			Plaque chloro. Lot N° : <input type="text"/>		
			Pl. méflo. Lot N° : <input type="text"/>		
CHLOROQUINE pmol/godet →			Témoin 1 2 4 5,7 8 16 32		
SCHIZONTES/200 paras →			131 <input type="text"/>		
Moyenne du témoin : _____					
MÉFLOQUINE pmol/godet →			Témoin 0,5 1 2 4 5,7 8 11,3		
SCHIZONTES/200 paras →			155 <input type="text"/>		
Moyenne du témoin : _____					
L Étalements transmis pour vérification?			<input type="checkbox"/> = Oui <input type="checkbox"/> = Non		
			179 <input type="text"/>		
M Le patient a-t-il voyagé et où (au cours des 12 derniers mois)?			180 <input type="text"/>		
N Conclusion :					