

Dosages radioimmunologiques : quelle analyse statistique ?

Sylvie HUET

*Laboratoire de Biométrie, I.N.R.A.,
78350 Jouy-en-Josas, France.*

Summary. *What type of statistical model to choose for the analysis of radioimmunoassays ?*

The current techniques used for statistical analysis of radioimmunoassays are not very satisfactory for either the statistician or the biologist. They are based on an attempt to make the response curve linear to avoid complicated computations. The present article shows that this practice has considerable effects (often neglected) on the statistical assumptions which must be formulated. A more strict analysis is proposed by applying the four-parameter logistic model. The advantages of this method are : the statistical assumptions formulated are based on observed data, and the model can be applied to almost all radioimmunoassays.

1. Introduction.

Les dosages radioimmunologiques sont très largement utilisés en endocrinologie. Ils permettent l'estimation de quantités très faibles contenues dans des échantillons biologiques (dits échantillons ou préparations inconnus) avec une précision réputée bonne. Toutefois, Finney (1977), Rodbard et Frazier (1975) critiquent les abus d'utilisation de la méthode. En effet, la précision semble si bonne, les courbes de réponse si régulières, qu'on est tenté d'ignorer les conditions de validité préalables à tout dosage. Pour estimer la quantité d'hormone contenue dans une préparation inconnue, il arrive qu'une simple méthode graphique soit utilisée ; ou bien, pour estimer la courbe standard, une simple interpolation linéaire entre les points adjacents est effectuée. Si parfois ces méthodes peuvent répondre aux désirs de l'expérimentateur, il faut malgré tout remarquer qu'elles font appel à la subjectivité et qu'en aucun cas elles ne permettent l'estimation de la précision des doses calculées.

Aujourd'hui, la statistique est couramment utilisée pour effectuer l'analyse des données de dosages radioimmunologiques. Généralement, elle repose sur le principe suivant : transformer les données afin de linéariser le modèle sous-jacent dans le but de se ramener à une régression linéaire. La simplicité des calculs qui

en découlent est le seul fondement de cette pratique. L'habitude ou le manque d'accès à des moyens de calcul suffisants en sont à l'origine. Ces difficultés doivent être surmontées. Depuis plusieurs années, de nombreux auteurs font des propositions de modélisation de la courbe standard (Finney, 1977 ; Tiede et Pagano, 1979 ; Rawlins et Yrjonen, 1978 ; Rodbard et Frazier, 1975), comparent différentes méthodes (Sandel et Vogt, 1977 ; Volund, 1978), étudient la variance de la réponse mesurée (Finney et Phillips, 1977 ; Raab, 1981 ; Rodbard, 1976), cherchent le « meilleur » plan d'expérience (Chang, 1975 ; Tsutakawa, 1980). Ces travaux permettent à la fois d'effectuer des analyses statistiques plus rigoureuses et de mieux exploiter les données, et donc d'économiser les ressources biologiques.

Nous proposons d'examiner dans cet article, pourquoi et comment nous devons améliorer l'analyse statistique couramment effectuée. En guise de conclusion, afin de concrétiser les propositions qui sont faites, nous signalons l'existence d'un programme entièrement conversationnel qui permet à tout utilisateur non informaticien et non statisticien de traiter ses données.

2. L'analyse statistique des données d'un dosage radioimmunologique.

2.1. Exposé du problème et notations.

Il s'agit de mesurer une dose d'hormone contenue dans un plasma. Or, cette mesure ne pouvant être effectuée directement, on doit la déduire d'une relation dose-réponse. Notons z_1, z_2, \dots, z_k les doses d'hormone contenues dans k dilutions de l'hormone purifiée. Ces z_i sont supposées parfaitement connues. En chaque z nous mesurons plusieurs répétitions d'une réponse notée U . Ces observations permettent d'établir une courbe standard appelée aussi courbe étalon. Pour une préparation où la quantité d'hormone est inconnue, il suffira de mesurer la réponse et d'en déduire la dose à l'aide de la courbe standard.

Le dosage radioimmunologique d'une hormone reposant sur la compétition entre une hormone radioactive et une hormone froide pour leur anticorps spécifique, la réponse mesurée U est un comptage de radioactivité exprimé généralement en coups par minute (nous supposons que la radioactivité du complexe anticorps-hormone radioactive est mesurée). Reprenant les notations usuelles, nous notons B_0 la réponse pour une dose nulle d'hormone, N la réponse pour une dose infinie.

L'espérance ⁽¹⁾ de la réponse U est notée u . Nous exprimons la relation dose-réponse à l'aide de l'équation de régression : $u = F(z)$. Pour un même dosage, c'est-à-dire pour une même courbe standard, le nombre de préparations inconnues est souvent très important (de l'ordre de plusieurs centaines). Notre but est l'estimation de la dose contenue dans chacune de ces préparations et le calcul d'un intervalle de confiance pour chacune de ces doses (fig. 1).

(1) L'espérance d'une variable aléatoire est la moyenne des valeurs possibles de la variable, pondérées par les probabilités attachées à ces valeurs.

A l'aide des observations effectuées pour la courbe standard, il faut choisir le modèle et déterminer une méthode d'estimation de la courbe standard. Seul le problème du choix du modèle sera abordé dans cet article. Il s'agit de formuler des hypothèses statistiques sur la loi de la variable aléatoire U , c'est-à-dire de choisir la fonction de réponse F et la loi des erreurs ⁽²⁾.

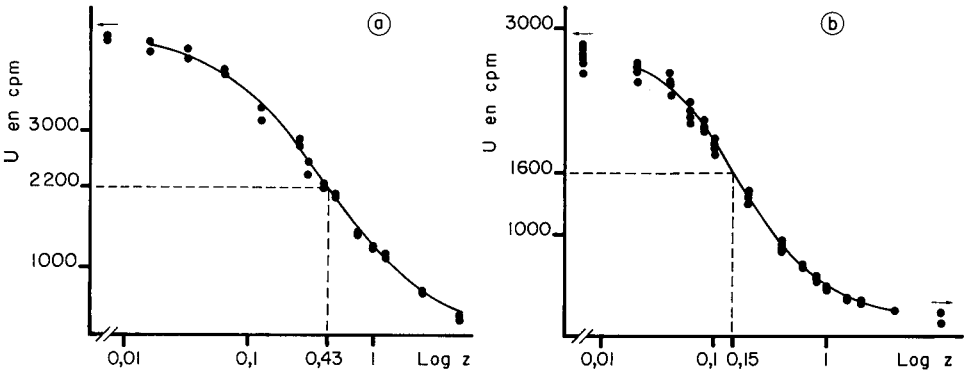


FIG. 1. — Estimation d'une dose inconnue à l'aide d'une courbe standard.

● ● : Données observées en fonction du logarithme de la dose pour un dosage de la prolactine (a) et un dosage du cortisol (b). La réponse est exprimée en coups par minute. L'unité de la dose est le ng/5 μ l pour (a) et le ng/100 μ l pour (b). La flèche indique les mesures pour une dose nulle d'hormone ($\text{Log}(z) = -\infty$) et pour une dose infinie d'hormone ($\text{log}(z) = +\infty$).

— : Courbe standard établie à l'aide des observations : (a) pour un volume de préparation inconnue égal à 5 μ l, supposons que la réponse moyenne mesurée vaille 2 200 cpm, nous en déduisons à l'aide de la courbe standard une estimation ponctuelle de la dose égale à 0,43 ng/5 μ l ; (b) pour un volume de préparation inconnue de 100 μ l, supposons que la réponse moyenne mesurée vaille 1 600 cpm, nous en déduisons une estimation de la dose égale à 0,15 ng/100 μ l.

Puis, supposant que le modèle choisi ci-dessus s'applique également aux préparations inconnues, nous calculerons un intervalle de confiance pour la dose à estimer.

Remarquons que nous avons choisi un plan d'expérience qui diffère des plans d'expérience classiques des dosages biologiques où la réponse est mesurée en plusieurs dilutions pour chaque préparation inconnue. Ce choix correspondant à la pratique usuelle des laboratoires de dosage radioimmunologique, nous ne discuterons pas ici de son opportunité. Toutefois remarquons qu'il implique une analyse statistique en deux étapes (analyse de la courbe standard, puis estimation des préparations inconnues).

2.2 Pratique courante de la modélisation de la courbe standard.

On constate presque toujours que la courbe de U (nombre de coups par minute) en fonction du logarithme de la dose est une courbe en S comprise entre

(2) L'erreur est l'écart entre l'espérance et la valeur observée.

les deux asymptotes B_0 et N . Ceci se traduit mathématiquement en supposant, par exemple, que l'espérance de la réponse en une dose z , notée u , s'écrit de la façon suivante :

$$u = N + (B_0 - N)/(1 + \exp - y)$$

$$\text{où } y = a + bx ; x = \ln z$$

B_0 est la réponse pour une dose nulle d'hormone.

N la réponse pour une dose infinie.

Ce modèle est appelé modèle logistique à quatre paramètres (N , B_0 , a , b). On peut l'écrire sous la forme suivante :

$$(u - N)/(B_0 - N) = 1/(1 + \exp - y).$$

L'approche la plus courante consiste à estimer les paramètres d'une régression linéaire (pondérée ou non) après transformation logit-log des données.

On effectue donc tout d'abord, la transformation de U en $(U - N)/(B_0 - N)$ afin d'éliminer les deux asymptotes du modèle. Malheureusement, N et B_0 , n'étant pas connus, doivent être estimés. On utilise alors généralement les réponses moyennes observées aux doses nulle et infinie, notées respectivement \bar{B}_0 et \bar{N} . Ainsi la variable U est transformée en $U' = (U - \bar{N})/(\bar{B}_0 - \bar{N})$. Il reste enfin à inverser la fonction f , définie par $f(y) = 1/(1 + \exp - y)$. Nous sommes ainsi conduits à estimer la régression de la variable $U'' = \text{logit}(U')$ ⁽³⁾ sur x (fig. 2).

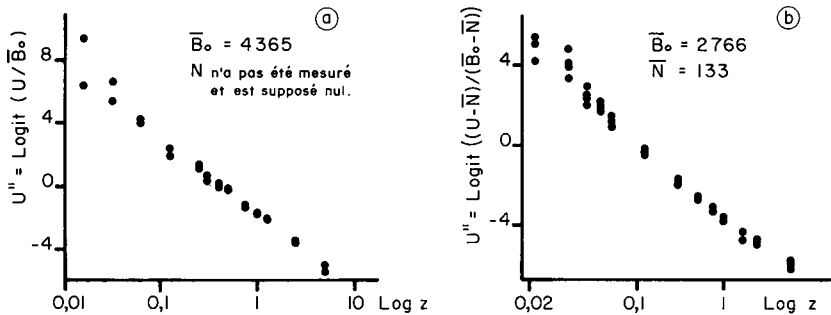


FIG. 2. — Représentations graphiques des données après transformation logit-log pour la prolactine (a) et le cortisol (b) après calcul des valeurs de \bar{B}_0 et \bar{N} .

Nous ferons plusieurs remarques.

i) Les réponses pour les doses nulle et infinie ayant été estimées par \bar{B}_0 et \bar{N} , les valeurs ainsi obtenues sont considérées comme des constantes du modèle et la variabilité de ces estimations n'interviendra pas dans les calculs statistiques ultérieurs. D'autre part, toute erreur d'estimation importante sur ces paramètres entraîne un écart sérieux au modèle (fig. 3). Il est donc indispensable d'estimer avec le maximum de précision B_0 et N , par exemple en augmentant le nombre de répétitions des réponses aux doses zéro et infinie.

(3) $\text{logit}(U') = \ln(U'/(1 - U')) \ln =$ logarithme népérien.

Remarquons également que la transformation logit-log impose d'éliminer les données supérieures à \bar{B}_0 ou inférieures à \bar{N} , sinon le calcul de U'' est impossible. Ceci revient à considérer ces données comme erronées. La pratique est dangereuse car nous n'avons aucun moyen de répondre à la question suivante : cette donnée est-elle trop grande, ou \bar{B}_0 sous-estime-t-il B_0 ?

ii) Les hypothèses que nous faisons sur l'espérance de la variable transformée U'' , notée u'' , ne se déduisent aucunement de celle que nous avons faites sur U , ni même de celles que nous pourrions faire sur U' . Notamment, même s'il est exact que l'espérance de U' , notée u' , est une logistique, cela n'implique pas que l'espérance de U'' soit une droite. Ce problème est indépendant de celui que nous avons vu précédemment ; sa seule cause est la transformation des données elle-même.

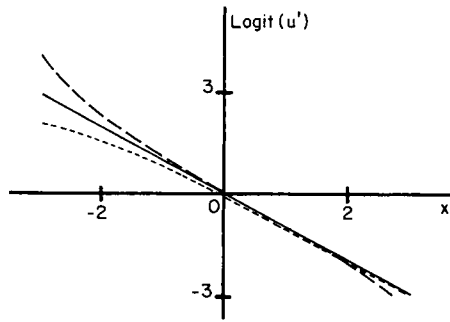


FIG. 3. — Effet de l'erreur d'estimation de N et B_0 sur la non-linéarité de l'espérance de la variable transformée.

Soit $V' = (U - N)/(B_0 - N)$ d'espérance $v' = f(a + bx)$.

Soit $U' = (U - \bar{N})/(\bar{B}_0 - \bar{N})$ d'espérance $u' = \frac{B_0 - N}{\bar{B}_0 - \bar{N}} v' + \frac{N - \bar{N}}{\bar{B}_0 - \bar{N}}$.

Posons $a = 0, b = -1, B_0 = 3\ 000, N = 100$.

Faisons varier x entre -3 et 3 .

— : courbe de logit (v') en fonction de x ;

- - - : courbe de logit (u') en fonction de x pour $\bar{B}_0 = 2\ 900, \bar{N} = 150$;

- - - - : courbe de logit (u') en fonction de x pour $\bar{B}_0 = 3\ 200, \bar{N} = N$.

A l'évidence, ces deux dernières courbes présentent de sérieux écarts à la linéarité.

(Les valeurs choisies pour illustrer la figure sont des valeurs courantes pour les dosages radioimmunologiques.)

En effet, supposons l'erreur additive sur la variable U' ($U' = u' + \epsilon'$). La transformation logit n'étant pas une transformation linéaire, l'hypothèse d'additivité de l'erreur sur U' entraîne la non-additivité de l'erreur sur U'' . Aussi, la qualité de l'approximation de u'' par $\text{logit}(u')$ va dépendre de la variance des erreurs ϵ' ; c'est ce qu'illustre la figure 4.

Or, en pratique, l'espérance de U'' est toujours supposée linéaire en x .

iii) Intéressons-nous maintenant aux erreurs. Si nous supposons que \bar{N} et \bar{B}_0 sont des constantes du modèle et que l'espérance de U'' vaut $\text{logit}(u')$, un calcul

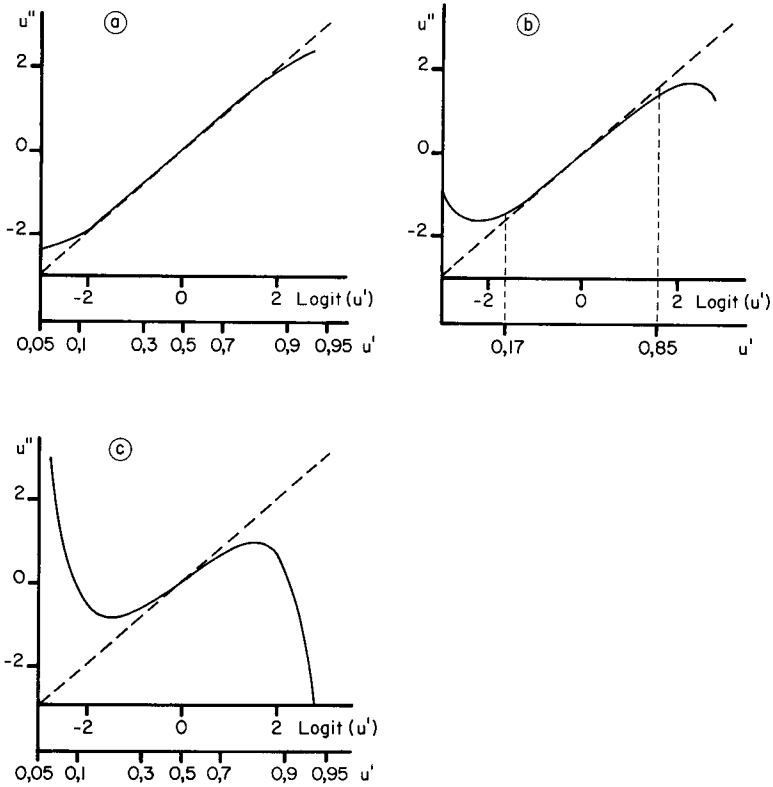


FIG. 4. — Variation de l'espérance de U'' en fonction du logit de l'espérance de U' .

Soit U' une variable aléatoire d'espérance u' et de variance s^2 .

$$U' = u' + \epsilon' \quad \text{Var}(\epsilon') = s^2.$$

Soit $U'' = \text{logit}(U')$. Comparons u'' , l'espérance de U'' , à $\text{logit}(u')$.

A l'aide du développement en série de Taylor de la fonction logit au voisinage de $U' = u'$, nous pourrions approcher U'' par

$$\text{logit}(u') + (U' - u') \text{logit}'(u') + 0,5 (U' - u')^2 \text{logit}''(u')$$

où logit' et logit'' désignent les dérivées première et seconde de la fonction logit.

Ainsi, nous approchons u'' par

$$\text{logit}(u') + 0,5 s^2 \text{logit}''(u')$$

avec

$$\text{logit}''(u') = - (1 - 2 u') / (u'(1 - u'))^2.$$

Nous en déduisons :

— u'' vaut $\text{logit}(u')$ pour $u' = 1/2$.

— Si u' est différent de $1/2$, u'' s'éloigne d'autant plus de $\text{logit}(u')$ que u' s'éloigne de $1/2$. La qualité de l'approximation dépend de s^2 .

Représentations graphiques pour différentes valeurs de s^2 de u'' en fonction de $\text{logit}(u')$ pour les valeurs de u' comprises entre 5 % et 95 %, $\text{logit}(u')$ variant alors entre - 3 et 3 :

- (a) $s^2 = 0,0025$, correspond à une erreur standard relative de 10 % pour une réponse U' égale à $1/2$. L'approximation de u'' par $\text{logit}(u')$ est acceptable pour toutes les valeurs de u' considérées ;
- (b) $s^2 = 0,01$ correspond à une erreur standard relative de 20 % pour une réponse U' égale à $1/2$. L'approximation de u'' par $\text{logit}(u')$ est acceptable pour les valeurs de u' approximativement comprises entre 17 % et 83 % ;
- (c) $s^2 = 0,04$. L'approximation est rendue caduque.

approché très simple nous permet de montrer que la variance de U'' est proportionnelle à $\text{Var}(U)/(u - \bar{N})(\bar{B}_0 - u)^2$ (4).

En pratique, prenant en compte l'hétérogénéité de la variance induite par la transformation logit, une régression pondérée de U'' sur x fournit l'estimation des paramètres a et b , la pondération étant inversement proportionnelle à la variance en chaque dose. Mais de nombreux problèmes se posent.

Généralement, le plan d'expérience d'un dosage radioimmunologique est tel que le nombre de répétitions de la réponse en chaque dose est faible (deux répétitions, parfois quatre, rarement plus). La qualité de l'estimation de la variance en chaque dose est donc très pauvre. De plus, la pondération dépend des paramètres à estimer. Aussi, en toute rigueur, une méthode itérative qui modifie les poids selon la valeur de l'estimation s'impose. Or, n'oublions pas que la raison d'être de la transformation logit est la simplification des calculs. Aussi, pour contourner la difficulté, certains expérimentateurs emploient tout simplement une méthode graphique, d'autres utilisent la méthode des moindres carrés après pondération à la main des données transformées (élimination des données aberrantes au vu de la courbe des observations de U'' en fonction de x , limitation de l'analyse pour les doses dont la réponse observée de U' est comprise entre 20 % et 80 %). Les estimations ainsi obtenues sont souvent proches de celles calculées après une régression pondérée, mais, d'une part, ces méthodes manquent d'objectivité, d'autre part, elles ne peuvent en aucun cas être appliquées pour un calcul ultérieur de la précision des estimateurs des doses inconnues. Toute analyse sans pondération, quand celle-ci est nécessaire, conduit à une sous-estimation systématique de l'erreur sur une partie de la courbe, et à une surestimation systématique sur l'autre.

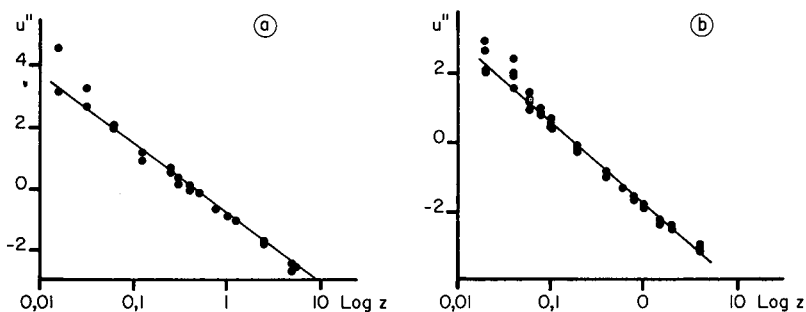


FIG. 5. — Estimation de la courbe standard après transformation logit-log des données.

●● : Série des points observés après transformation logit, en fonction du logarithme de la dose (voir fig. 2).

— : Droite estimée après régression pondérée de U'' sur x : (a) Dosage de la prolactine. Le test de non-linéarité est non significatif au niveau 5 %. (b) : Dosage du cortisol. Le test de non-linéarité est significatif : l'ajustement des données à une droite n'est pas acceptable.

(4) En effet effectuons un développement limité de $\text{logit}(U')$ au voisinage de u' . On a :

$$U'' \approx \text{logit}(u') + (U' - u') / (u'(1 - u')) \quad \text{ou bien}$$

$$(U'' - \text{logit}(u'))^2 \approx (U' - u')^2 / (u'(1 - u'))^2 .$$

Sous les hypothèses ci-dessus, on obtient bien le résultat énoncé.

iv) Enfin, et c'est le plus important, la méthode logit-log n'est pas toujours applicable : après transformation des observations, la droite est inapte à décrire les données. Un test de non-linéarité qui compare l'ajustement des données à une droite, à l'ajustement à la moyenne des observations pour chaque dose nous permet de détecter ces échecs (fig. 5). Parfois l'analyse est malgré tout poursuivie et la droite estimée sert à l'estimation des doses inconnues. Quelle confiance peut-on accorder à ces estimations ? Parfois aussi, le biologiste recherche une autre méthode : par exemple, tentative d'ajuster deux droites aux observations. La solution est rarement satisfaisante.

Ainsi les raisons ne manquent pas de tenter d'améliorer l'analyse statistique couramment effectuée.

2.3 Le modèle logistique à quatre paramètres.

Reprenons le problème au début et fondons cette fois-ci notre approche sur les deux principes suivants : nous voulons calculer de façon simple et satisfaisante un intervalle de confiance pour les doses inconnues ; de plus la méthode doit nous permettre de travailler sur la variable observée que nous maîtrisons mieux qu'une variable ayant subi plusieurs transformations. En effet, généralement les hypothèses statistiques sont formulées à l'aide des observations et en tenant compte, lorsque cela est possible, de la connaissance que nous avons du phénomène biologique. Ici nous nous intéressons à la relation dose-réponse, c'est-à-dire à $F(z)$ et ce sont les observations de la réponse U qui nous permettent de formuler des hypothèses sur la forme de F ; nous verrons que la nature de la réponse (nous observons des comptages) nous aide à modéliser la variabilité de la variance.

Précédemment nous avons tenté d'expliquer l'utilisation de la méthode logit-log à l'aide de la modélisation logistique de la fonction de réponse F . Toutefois nous avons vu que l'analyse statistique effectuée après transformation des données ne repose plus sur les hypothèses faites sur U et manque de rigueur. Aussi sommes-nous naturellement amenés à conserver la modélisation logistique de la fonction F et à effectuer une régression non-linéaire de U sur x .

Nous allons voir comment le modèle logistique à quatre paramètres décrit dans le paragraphe 2.2 permet de résoudre en grande partie les problèmes soulevés précédemment.

i) Cette fois-ci N et B_0 sont des paramètres du modèle et il sera tenu compte de la variabilité de leurs estimateurs et de leur corrélation avec les estimateurs des paramètres a et b lors de l'appréciation des doses inconnues. Précédemment, nous estimions N et B_0 avec les seules réponses observées aux doses nulle et infinie. Avec cette méthode, toutes les réponses observées permettant l'estimation de la courbe standard contribuent plus ou moins à celle de N et B_0 . Nous pouvons ainsi espérer améliorer la précision des estimateurs de N et B_0 . De plus, aucune donnée observée n'est à supprimer et il est possible de détecter de façon moins subjective les données erronées.

ii) Bien que l'espérance de la réponse ne soit pas linéaire en fonction des paramètres, nous pouvons effectuer un test d'adéquation au modèle similaire au

test de non-linéarité cité précédemment (il s'agit de comparer la variance résiduelle à la variance inter-répétition). Si ce calcul nous indique que la logistique ne décrit pas la courbe standard, nous pouvons modifier le modèle en prenant en compte une dissymétrie de la courbe de la façon suivante :

$$u = N + (B_0 - N) (f(a + bx))^g, \text{ g étant un paramètre positif.}$$

La pratique montre que l'introduction de ce paramètre de dissymétrie g permet d'appliquer avec satisfaction le modèle logistique — ainsi généralisé — à presque tous les dosages radioimmunologiques.

iii) L'étude de la variabilité de la variance est devenue plus simple. Tout comme précédemment quand nous nous sommes intéressés à la variabilité de la variable transformée U' , nous devons ici poser des hypothèses sur la variance de U . La variance de la réponse U est-elle constante sur l'ensemble des doses étudié, $\text{Var}(U) = s^2$; ou bien, varie-t-elle en fonction de la dose ou de la réponse, $\text{Var}(U) = s^2 V(u)$?

La variable U étant un comptage, nous pourrions supposer l'erreur poissonnienne, c'est-à-dire $\text{Var}(U) = U$. Mais d'autres sources d'erreur interviennent, liées à la technique du dosage. Rodbard (1971) après avoir étudié ces différentes sources d'erreur, en déduit pour la variance de U une formule compliquée et non utilisable en pratique. Aussi propose-t-il de décrire la variabilité de la variance à l'aide d'un polynôme : $V(u) = u(1 + hu)$ ou $V(u) = u^2$. Finney (1978) propose $V(u) = u^h$ (fig. 6). h est un paramètre à estimer de la façon suivante : il doit traduire au mieux l'hétérogénéité de la variance de la réponse pour le dosage d'une hormone donnée dans un laboratoire donné. Ceci nous permet donc d'estimer h en mettant en commun les observations obtenues lors de différents dosages ou bien en mettant en commun les observations obtenues pour la préparation standard et pour les préparations inconnues. Une méthode proposée par Raab (1981) permet d'estimer ce paramètre h .

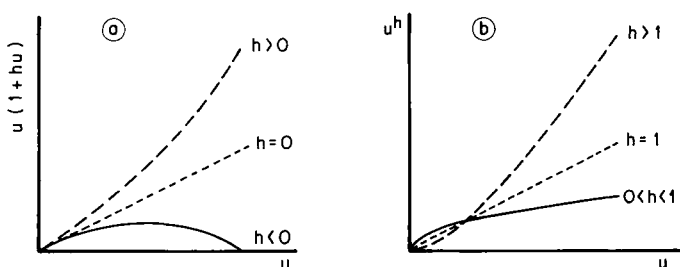


FIG. 6. — Pour décrire l'hétérogénéité de la variance des réponses d'un dosage radioimmunologique, deux modèles sont proposés.

$$\text{Var}(U) = s^2 u(1 + hu)$$

$$\text{Var}(U) = s^2 u^h .$$

Considérons le premier modèle (a). h doit rester supérieur à $- 1/u$ pour que $u(1 + hu)$ reste positif. Si h est positif ou nul, la variance croît avec la réponse. Si h est négatif, la variance décroît pour les doses extrêmes.

Considérons le second modèle (b). Si h est positif la variance de la réponse croît avec la réponse, si h est nul, la variance est constante.

Il est vrai que le choix de la fonction logistique est assez artificiel. La connaissance que nous avons du phénomène biologique ne nous permet pas d'affirmer que cette modélisation est meilleure que, par exemple, la modélisation de la courbe standard à l'aide d'un polynôme. Ce sont des considérations empiriques qui nous ont permis d'introduire la logistique et ce sont des considérations d'ordre statistique qui nous permettront de faire un choix. Toutefois, la courbe logistique est simple et très flexible lorsqu'on modifie les valeurs des paramètres. La pratique montre qu'elle ajuste fort bien les données observées pour des dosages où les méthodes employées précédemment ne donnaient pas satisfaction. C'est un atout considérable, car cela permet d'homogénéiser et de rendre objectives les pratiques pour l'analyse statistique des dosages radioimmunologiques.

D'autre part, l'application d'une méthode proposée par Ross (1978) permet le calcul d'intervalles de confiance pour chaque dose inconnue et offre la possibilité de détecter les limites d'utilisation de la courbe standard (Huet, 1983).

3. Conclusion.

Nous avons vu que la pratique classique (analyse après transformation logit-log) présente de nombreux défauts. Il arrive souvent que l'ajustement à une droite des données transformées en fonction du logarithme de la dose ne convienne pas ; de plus l'analyse statistique est peu rigoureuse. Certes, nous pourrions l'améliorer, mais au prix de calculs plus compliqués. Il serait par exemple possible d'appliquer les méthodes des modèles linéaires généralisés à la variable U' (Nelder et Wedderburn, 1972) ; les deuxième et troisième remarques du paragraphe 2.2 seraient alors éliminées. Pour éviter la première remarque, nous pourrions envisager d'estimer itérativement N et B_0 d'une part, a et b d'autre part. Cette méthode est ssez peu différente d'une estimation directe, par moindres carrés, d'un modèle logistique à quatre paramètres. Aussi est-il à notre avis préférable d'utiliser cette dernière méthode pour obtenir une estimation de la courbe standard. Toutefois il existe un fossé important entre la pratique courante et celle que nous proposons. Celle-ci fait appel à la statistique du modèle non-linéaire et son application nécessite la mise en œuvre de logiciels plus ou moins sophistiqués, désormais fort répandus.

Le programme DOSSTAT (Huet, 1983) permet d'effectuer une telle analyse. Il offre également la possibilité d'estimer la variabilité de la variance et la dissymétrie de la courbe standard. Ceci permet à l'utilisateur, s'il le désire, de faire aisément le choix des paramètres h et g avant l'estimation de la courbe standard et des préparations inconnues. De plus, le programme étant conversationnel, il n'exige aucune connaissance informatique de la part du biologiste qui l'utilise. Celui-ci doit répondre à des questions simples par oui ou par non, ou bien par une valeur numérique qu'il doit introduire sans format. Il ne nécessite que très peu de connaissances statistiques : les résultats sont énoncés de façon simple ; l'utilisateur peut laisser au programme le soin de choisir le modèle.

Actuellement, DOSSTAT fonctionne sur CIIHB-DPS8/Multics. Le pro-

gramme entièrement écrit en Fortran est disponible sur simple demande. Une version sur CIIHB-Mini6 sera prochainement mise au point.

Reçu en octobre 1983.
Accepté en février 1984.

Remerciements. — Je souhaite remercier le laboratoire de Physiologie de la Lactation de Jouy-en-Josas (INRA) pour les données qui m'ont été fournies.

Références

- CHANG P. C., RUBIN R. T., MIMI YU., 1975. Optimal statistical design of radioimmunoassays and competitive protein-binding assays. *Endocrinology*, **94**, 973-981.
- FINNEY D. J., 1977. Bioassay. In *Mathematics and the life sciences*, 67-151. In LEVIN S., *Lectures notes in biomathematics*, **18**, Springer-Verlag.
- FINNEY D. J., PHILIPPS P., 1977. The form and estimation of a variance function, with particular reference to radioimmunoassay. *J. roy. stat. Soci., Ser. C*, **26**, 312-320.
- FINNEY D. J., 1978. *Statistical method in biological assay*. Charles Griffin & Co Ltd. London & High Wycombe.
- HUET S., 1983. *L'analyse statistique des dosages radioimmunologiques*. Th. 3^e cycle, Orsay.
- NEDLER J. A., WEDDERBURN R. W. M., 1972. Generalized linear models. *J. roy Stat. Soc. (A)*, **135**, 370-384.
- RAAB G. M., 1981. Estimation of a variance function with application to immunoassay. *Appl. Stat.*, **30**, 32-40.
- RAWLINS T. G. R., YRJONEN T., 1978. Calculation of RIA results using the spline function. *Int. Lab.*, Nov./Dec.
- RODBARD D., 1971. Statistical aspects of Radioimmunoassays, 204-259. In ODELL W., DAUGHADAY W., *Competitive protein binding assays*. Chap. 8, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa.
- RODBARD D., FRAZIER G. R., 1975. Statistical analysis of radioligand assay data. *Method in enzymology*, **37**, 3-22.
- RODBARD D., LENOX R. H., WRAY H. L., RAMSETH D., 1976. Statistical characterization of the random errors in the radioimmunoassay dose-response variable. *Clin. Chem.*, **22**, 350-358.
- ROSS G. J. S., 1978. Exact and approximate confidence regions for functions of parameters in non-linear models, 10-116. In CORSTEN L. C. A., HERMANS J., *Compstat*, Physica-Verlag, Wien.
- SANDEL P., VOGT W., 1977. Performance of various mathematical methods for calculation of radioimmunoassay results. *Int. Symp. Radioimmunoassay and related procedures in medicine*, IAEA/WHO, Berlin.
- TIEDE J. J., PAGANO M., 1979. The application of robust calibration to radioimmunoassay. *Biometrics*, **35**, 567-574.
- TSUTAKAWA R. K., 1980. Selection of dose levels for estimating a percentage point of a logistic quantal response curve. *Appl. Stat.*, **29**, 25-33.
- VOLUND A., 1978. Application of the four parameter logistic model to bioassay : comparison with slope ratio and parallel line models. *Biometrics*, **34**, 357-365.
-