

Interprétation statistique de la méthode dite qualitative d'appréciation des vaccins anti-aphteux

par G. GAYOT, A. LUCAS, M^{me} L. DHENNIN et L. DHENNIN

Une des méthodes d'appréciation de la valeur immunisante des vaccins anti-aphteux actuellement utilisée en France est une méthode que l'on qualifie de qualitative.

Dans cette méthode, 24 bovins répartis en 3 lots de 8 animaux

Nombre de témoin : 1

Nombre de vaccinés	R E A C T I O N				χ^2	P
	vaccinés		témoins			
	+	-	+	-		
10	0	10	1	0	2,25	
9	0	9	1	0	1,97	
8	0	8	1	0	1,55	

+ : présence de lésions podales * généralisation

- : absence de lésions podales = protection

correspondant aux 3 valences classiques (O, A, C) sont vaccinés, par voie sous-cutanée, avec la dose préconisée du vaccin à étudier. Après un délai de 21 jours ces animaux sont éprouvés, à raison de 8 sujets par valence, par inoculation intradermo-linguale de 10.000 doses infectieuses 50 p. 100 (DI₅₀), en même temps que 4 sujets neufs, témoins, non vaccinés. Les résultats sont lus 5 jours après cette inoculation virulente et, en fonction de ceux-ci, les vaccins sont classés en autorisés, acceptables ou refusés. L'interprétation ne tient pas compte des lésions au niveau de la langue, elle ne retient que les lésions podales qui signent la généralisation.

En vertu de ce code sont classés :

- autorisés, les vaccins qui n'ont pas donné de généralisation,
- acceptables, ceux qui ont laissé apparaître des lésions podales sur un seul animal,

Nombre de témoins : 2

Nombre de vaccinés	R E A C T I O N				χ^2	P
	vaccinés		témoins			
	+	-	+	-		
10	0	10	2	0	5,74*	0,016
	1	9	2	0	3,20	
	0	10	1	1	0,84	
9	0	9	2	0	5,37*	0,020
	1	8	2	0	2,77	
	0	9	1	1	0,76	
8	0	8	2	0	4,73*	0,030
	1	7	2	0	2,41	
	0	8	1	1	0,62	
7	0	7	2	0	4,13*	0,044
	1	6	2	0	1,99	
	0	7	1	1	0,46	
6	0	6	2	0	3,55	
	0	6	1	1	0,38	
5	0	5	2	0	3,45	

— refusés, ceux qui ont donné des lésions podales sur plus d'un animal.

En 1961 à ce motif de refus vinrent s'en ajouter deux autres :

— la constatation de la coexistence de lésions podales (même limitées à un seul sujet d'épreuve) et d'aphtes buccaux sur la moitié au moins des 8 bovins,

— le développement de lésions buccales sur la totalité des animaux d'épreuve, même s'il n'a pas été constaté de lésion podale (1), étant entendu que les 4 témoins ont généralisé.

(1) Depuis cette époque et jusqu'à maintenant (février 1965), aucune valence vaccinale refusée ne l'a été pour ces deux dernières raisons ; aussi la suite de la démonstration ne retiendra-t-elle pas ces possibilités ; elle ne tiendra compte que du protocole expérimental antérieur à 1961.

Nombre de témoins : 3

Nombre de vaccinés	R E A C T I O N				χ^2	P
	vaccinés		témoins			
	+	-	+	-		
10	0	10	3	0	8,01**	0,004 0,024
	1	9	3	0	5,08*	
	2	8	3	0	3,34	
	0	10	2	1	3,61	
	0	10	1	2	0,45	
9	0	9	3	0	7,26**	0,007 0,034
	1	8	3	0	4,50*	
	2	7	3	0	2,86	
	0	9	2	1	3,20	
8	0	8	3	0	6,52*	0,011 0,047
	1	7	3	0	3,94*	
	2	6	3	0	2,40	
	0	8	2	1	2,77	
7	0	7	3	0	5,80*	0,015
	1	6	3	0	3,35	
	0	7	2	1	2,41	
	0	7	1	2	0,21	
6	0	6	3	0	5,06*	0,024
	1	5	3	0	2,77	
	0	6	2	1	1,99	
	0	6	1	2	0,15	
5	0	5	3	0	4,30*	0,045
	1	4	3	0	2,13	
	0	5	2	1	2,84	
	0	5	1	2	0,07	
4	0	4	3	0	3,48	
3	0	3	3	0	2,67	

+ : présence de lésions podales = généralisation

- : absence de lésions podales = protection

Cette interprétation peut se résumer dans le tableau ci-dessous :

Vaccin	Nombre d'animaux protégés	Nombre d'animaux non protégés
Autorisé.....	8	0
Acceptable	7	1
Refusé	6-	2+

Les bases de cette interprétation pouvant apparaître intuitives nous nous proposons d'en donner une interprétation statistique.

A partir des résultats expérimentaux, on est en droit de se poser deux questions.

La première étant : y a-t-il protection ? la différence constatée entre le pourcentage d'animaux « protégés » et le pourcentage d'animaux « non protégés » est-elle significative ? En d'autres termes dans quelle mesure les fluctuations de l'échantillonnage sont-elles susceptibles d'avoir amené une différence égale ou supérieure à celle constatée ?

La seconde étant : dans les conditions d'épreuve du test, quel est le vrai pourcentage de protection que l'on est en droit d'attendre sur l'ensemble de la population bovine dont l'échantillon « traité » est représentatif ?

Il est possible de donner réponse à ces deux questions.

En ce qui concerne la première, le test de Pearson, dit de χ^2 (chi deux), auquel sera apportée la correction de Yates du fait que les effectifs calculés seront inférieurs à 5, permet, en fonction de sa valeur, d'évaluer avec précision le pourcentage de cas où les seules fluctuations de l'échantillonnage peuvent expliquer la différence.

Ainsi, dans le cas où 8 animaux sur 8 sont protégés, alors que les 4 témoins ne le sont pas, le χ^2 a une valeur de 7,95 indiquant une probabilité (P) de 4 p. 1.000, ce qui revient à dire qu'il y a 4 chances sur 1.000 pour que les seules fluctuations de l'échantillonnage aient donné une différence égale ou supérieure à celle observée. Il est donc possible, avec un risque d'erreur du premier type de 4 p. 1.000, de rejeter l'hypothèse nulle (H_0) qui admet que les fluctuations de l'échantillonnage auraient pu donner une telle différence. Et comme le seuil de rejet de l'hypothèse nulle habituellement admis en biologie est de 5 p. 100, on peut dire qu'il y a une différence significative entre les 2 groupes et, qu'effectivement, il y a eu protection.

Nombre de témoins : 4

Nombre de vaccinés	R E A C T I O N				χ^2	P	
	vaccinés		témoins				
	+	-	+	-			
10	0	10	4	0	9,60**	0,002	
	1	9	4	0	6,53*		
	2	8	4	0	4,58*		
	3	7	4	0	3,15		
	0,018	0	10	3	1	5,58*	
		1	9	3	1	3,17	
		2	8	3	1	1,74	
		0	10	2	2	2,47	
	9	0	9	4	0	8,74**	0,003
		1	8	4	0	5,86*	
2		7	4	0	3,95*		
3		6	4	0	2,64		
0,014		0	9	3	1	6,00*	
		1	8	3	1	2,73	
		2	7	3	1	1,41	
		0	9	2	2	2,14	
8		1	8	2	2	0,68	
		0,004	0	8	4	0	7,95**
	1		7	4	0	5,17*	
	2		6	4	0	3,37	
	3		5	4	0	1,54	
	0,024	0	8	3	1	4,50*	
		1	7	3	1	2,31	
		2	6	3	1	1,06	
		0	8	2	2	1,86	
	7	0	7	4	0	7,14**	0,007
1		6	4	0	4,47*		
2		5	4	0	2,76		
0,047		0	7	3	1	3,93*	
		1	6	3	1	1,87	
		0	7	2	2	1,56	
6	0	6	4	0	6,27*	0,012	
	1	5	4	0	3,74		
	2	4	4	0	2,10		
	0	6	3	1	3,35		
5	0	5	4	0	5,39*	0,020	
	1	4	4	0	2,98		
	0	5	3	1	2,77		
4	0	4	4	0	4,50*	0,034	
	1	3	4	0	2,13		
3	0	3	4	0	3,51		

+ : présence de lésions podales = généralisation

- : absence de lésions podales = protection

Dans le cas où 7 animaux sur 8 sont protégés, les 4 témoins ne l'étant toujours pas, le χ^2 vaut 5,17 et il n'y a que 23 chances sur 1.000 (2,3 p. 100) pour que le hasard, seul, puisse rendre compte de la différence. Celle-ci est encore significative.

Par contre, dans le cas où 6 animaux sur 8 sont protégés, les 4 témoins ne l'étant toujours pas, le χ^2 vaut 3,37, indiquant une probabilité de 6,65 p. 100 qui se trouve en deçà du seuil de rejet de H_0 (5 p. 100) et permet de dire que les seules fluctuations de l'échantillonnage pouvant expliquer la différence constatée, la preuve n'est pas apportée qu'il y a eu protection.

Dans la table I ont été réunies, pour un nombre de vaccinés allant de 5 à 10 et un nombre de témoins allant de 1 à 5, les possibilités de combinaisons où la différence est significative, soit au seuil de 5 p. 100 signalé par 1 étoile, soit au seuil de 1 p. 100 signalé par 2 étoiles, soit au seuil de 1 p. 1.000 signalé par 3 étoiles. La colonne P indique la probabilité exacte (ex. 0,016 = 1,6 p. 100 = 16 p.1.000). Ont été retenues, en plus des combinaisons significatives, la combinaison immédiatement inférieure non significative, et une table à 1 témoin où aucune combinaison n'est significative.

A la seconde question, entièrement différente, et qui s'énonçait de la façon suivante : Quel est, dans les conditions du test d'épreuve virulente, le « vrai » pourcentage de protection à attendre dans la population bovine dont les 8 vaches constituent l'échantillon représentatif ? Il est possible de répondre, également en termes de probabilité et ce, de la façon suivante.

Si l'on recommençait 100 fois l'opération de contrôle dans les mêmes conditions, le pourcentage de protection estimé à 100 p. 100 dans la première opération se trouverait 95 fois dans un intervalle dit de confiance à 95 p. 100 qui, pour le cas de 8 vaches protégées sur 8, s'étend de 63 à 100 p. 100, dans les 5 autres cas le pourcentage risquant, bien entendu, d'être en dehors de ces limites de pourcentage.

Cet intervalle de confiance est fonction du nombre des sujets utilisés et, dans les cas où tous les témoins ont généralisé, il est, pour les différents N envisagés dans la table I, présenté dans la table II.

En résumé, lorsque, au cours d'une expérience, 8 vaches vaccinées ont résisté alors que les 4 vaches témoins non vaccinées ont généralisé, il est possible de dire :

— qu'il y a une différence significative entre les 2 séries, que la série vaccinée a été protégée, donc que le vaccin s'est montré efficace, et ce avec un risque d'erreur de 4 p. 1.000, soit 0,25 p. 100.

— que le taux probable de protection, étendu à la population

Nombre de témoins : 5

Nombre de vaccinés	R E A C T I O N				χ^2	P			
	vaccinés		témoins						
	+	-	+	-					
10	0	10	5	0	10,84***	0,001			
	1	9	5	0	7,81**	0,005			
	2	8	5	0	4,09*	0,045			
	3	7	5	0	2,91				
	0	10	4	1	7,23**	0,007			
	1	9	4	1	4,53*	0,033			
	2	8	4	1	2,81				
	0	10	3	2	4,22*	0,045			
	1	9	3	2	2,10				
	0	10	2	3	1,78				
	9	0	9	5	0	9,95**	0,0016		
		1	8	5	0	7,08**	0,007		
2		7	5	0	4,98*	0,025			
3		6	5	0	3,42				
0		9	4	1	6,53*	0,010			
1		8	4	1	3,96*	0,046			
2		7	4	1	2,35				
0		9	3	2	3,78				
1		8	3	2	1,75				
0		9	2	3	1,59				
8		0	8	5	0	9,14**	0,002		
		1	7	5	0	6,27*	0,012		
	2	6	5	0	4,28*	0,045			
	3	5	5	0	2,77				
	0	8	4	1	5,86*	0,015			
	1	7	4	1	3,43				
	0	8	3	2	3,34				
	7	0	7	5	0	8,26**	0,004		
		1	6	5	0	5,48*	0,019		
		2	5	5	0	3,52			
		0	7	4	1	5,17*	0,023		
		1	6	4	1	2,84			
0		7	3	2	2,86				
6		0	6	5	0	7,35**	0,007		
		1	5	5	0	4,63*	0,031		
		2	4	5	0	2,76			
		0	6	4	1	4,47*	0,035		
		1	5	4	1	2,23			
		0	6	3	2	2,40			
	5	0	5	5	0	6,40*	0,011		
		1	4	5	0	3,75			
		0	5	4	1	3,75			
		4	0	4	5	0	5,39*	0,020	
			1	3	5	0	2,77		
			0	4	4	1	2,98		
3			0	3	5	0	4,30*	0,045	
			1	2	5	0	1,60		
			0	3	4	1	3,20		
			2	0	2	5	0	2,97	

+ : présence de lésions podales = généralisation

- : absence de lésions podales = protection

TABLE II

Limites de confiance à 95 % des pourcentages observés

N	P. observé	Limites de confiance à 95 %
10	100 %	69 à 100 %
9	100 %	66 à 100 %
8	100 %	63 à 100 %
7	100 %	59 à 100 %
6	100 %	54 à 100 %
5	100 %	48 à 100 %
4	100 %	40 à 100 %

bovine dont l'échantillon de 8 est la représentation, est *au minimum* de 63 p. 100, pouvant aller jusqu'à 100 p. 100, et ce avec un risque d'erreur de 5 p. 100.

Les tests statistiques permettent donc de répondre avec précision, c'est-à-dire en donnant exactement les marges d'erreur à la double question que l'on s'est posée :

— Y a-t-il eu, dans les conditions du test, protection ?

— Quel est, dans les conditions du test, le vrai pourcentage de protection que l'on est en droit d'attendre ?

Pour nous, la méthode est dite à tort qualitative, car elle permet de donner, pour chaque lot de vaccin examiné, une appréciation chiffrée.

En conclusion, si un des buts du contrôle des vaccins anti-aphteux est de s'assurer de son activité, l'autre et non le moindre est la recherche du taux de protection à attendre sur l'ensemble de la population bovine auquel il est destiné.

La méthode dont nous venons de donner la justification statistique « autorise » les vaccins dont on peut dire qu'ils donneront *au moins* 63 p. 100 de protection. Il est possible de préciser plus avant ce taux de protection. Pour cela, il convient d'augmenter le nombre d'animaux vaccinés. Ainsi si l'on utilise 20 sujets et que ces 20 sujets résistent, on peut prévoir une limite inférieure au taux probable de protection qui sera de 83 p. 100. Les nécessités économiques limitent alors rapidement la méthode.

Si donc, comme on est en droit de le faire actuellement et comme le justifie la qualité des vaccins, on juge insuffisante la marge de précision du taux de protection telle que déterminée par la méthode que nous venons d'analyser, il convient d'utiliser une autre méthode qui apporte une précision plus grande et justifiée.

*Laboratoire Central de Recherches
Vétérinaires — Alfort.*