

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL FARMACIE

***UTILIZAREA ADECVATĂ A BIOSTATISTICII
ÎN BIOFARMACIE ȘI STUDII CLINICE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. MIRCIOIU CONSTANTIN

Student-doctorand:

MANOLACHE IOAN MIHAI

2020

Cuprins

PARTEA GENERALĂ	8
Introducere.....	9
1.1 Prezentarea domeniului tezei de doctorat	9
1.2 Scopul tezei de doctorat.....	9
1.3 Conținutul tezei de doctorat.....	10
CAPITOLUL I.....	11
I.1. Valori discordante (“outliers”).....	11
I.1.1. Definiție și terminologie	11
I.1.2. Mecanisme matematice.....	11
I.1.3. Criterii de testare statistică a datelor discordante	12
I.1.4. Outliers în studii clinice de bioechivalență.....	14
I.1.5. Analiza farmacocinetică a datelor outliers.....	17
I.2. Compararea datelor	18
I.2.1. Teste parametrice	18
I.2.1.1. Testul Student	18
I.2.2. Teste neparametrice	23
I.2.2.1. Testul de rang Wilcoxon.....	24
I.2.2.2. Teste referitoare la perechi de observații.....	26
I.2.2.2.1. Testul semnelor.....	26
I.2.2.3 Testul H, Kruskal – Wallis, de analiza a variației “pe o cale” aplicata rangurilor.....	27
I.2.2.4 Alegerea între testele laplaciene și testele neparametrice.....	28
I.3. Compararea curbelor.....	29
I.3.1 Metrici pe spații de curbe.....	29
I.3.1.1 Analiza comparativă a clusterelor de curbe.....	29
I.3.1.2 Metrici de dizolvare.....	32
I.3.2 Curbe de supraviețuire	35
I.3.2.1. Curbe de supraviețuire. Funcția de supraviețuire, funcția hazard (F, S, H).....	35

I.3.2.2. Compararea funcțiilor de supraviețuire. Metoda funcțiilor hazard proporționale.....	37
I.3.2.3. Metoda neparametrică Kaplan-Mayer pentru estimarea funcției de supraviețuire.....	38
I.3.2.4. Modele ale funcției de supraviețuire.....	39
I.3.2.4.1. Distribuția exponențială.....	39
I.3.2.4.2. Distribuția Weibull privind procese în lanț.....	40
I.3.2.5. Testul Mantel Haenszel de combinare a straturilor de date categoriale.....	42
I.3.2.6 Testul logrank de comparare a două funcții de supraviețuire.....	45
I.3.2.7. Metoda Mantel de compararea a două curbe (Logrank test).....	46
I.4. Analiza comparativă a studiilor clinice pentru medicamente și suplimente alimentare	48
I.4.1 Analiza comparativa a metodologiei și reglementarilor aplicabile studiilor clinice pentru medicamente și suplimente alimentare.....	49
I.4.2 Considerente privind reglementările în vigoare pentru medicamente și suplimente alimentare	52
I.5. Evaluarea Clinică a Dispozitivelor Medicale conform noului Regulament 745/2017 privind dispozitivele medicale.....	56
I.5.1 Evaluarea Clinică a dispozitivelor medicale conform noului regulament	57
I.5.2 Cadrul de reglementare	60
PARTEA SPECIALĂ.....	62
2. CAPITOLUL II	63
II.1. EVALUAREA FENOMENOLOGICĂ ȘI MATEMATICĂ A VALORILOR „OUTLIERS” ÎNTR-UN STUDIU DE BIOECHIVALENȚA PRIVIND FORMULĂRI CU OMEPRAZOL.	63
II.1.1. Introducere.....	63
II.1.2 Metode	65
II.1.3. Rezultate	65
II.1.3.1. Fenomene cu potențial critic în faza biofarmaceutică.....	67
II.1.3.2. Fenomene critice în faza farmacocinetică.....	69
II.1.3.3. Abordarea Matematică și Statistică.....	72

II.1.4. Concluzii.....	76
II.2. ABORDAREA BIOETICĂ A BIOSTATISTICII ÎN STUDIILE CLINICE. EVITAREA UTILIZĂRII UNUI NUMĂR EXCESIV DE MARE SAU PEA MIC DE SUBIECȚI.....	78
II.2.1. Contextul general.....	78
II.2.2. Estimarea numărului de subiecți în studiile clinice	80
II.2.3. Opinii privind etica studiilor clinice cu putere scăzută	83
II.2.4. Opinii privind etica studiilor clinice supra puternice	84
II.2.5. Relativitatea estimării puterii.....	84
II.2.6. Abordarea autorităților de reglementare.....	85
II.2.7. Concluzii.....	86
II.3. COMPARAREA METODELOR PARAMETRICE ȘI NONPARAMETRICE ÎN STUDII CLINICE CU RĂSPUNSURI ORDINALE	88
II.3.1 Aspecte metodologice.....	88
II.3.1.1 Distribuții de probabilitate a datelor clinice.....	88
II.3.1.2 Utilizarea testelor parametrice în analiza datelor Likert.....	90
II.3.1.3 Analiza comparativă a rezultatelor testelor parametrice și neparametrice.....	92
II.3.2. Analiza efectului produsului L. plantarum P17630 la femeile cu istoric de candidoză vulvo-vaginală recurentă (RVVC):	93
II.3.2.1. Evaluarea eficacității și siguranței.....	94
II.3.2.2 Analiza combinată folosind metodele statistice asociate scărilor Likert în psihologie.....	96
II.3.2.3 Evaluarea rezultatelor.....	97
II.3.3 APLICAREA UNEI METODE DE TIP SCOR LIKERT PENTRU ANALIZA COMBINATA A ENDPOINT-URILOR (PARAMETRII MĂSURAȚI).....	109
II.3.4 Concluzii.....	112
II.4. Analiza datelor dintr-un studiu privind eficacitatea și siguranța utilizării Aprotocol și Simeticone în tratamentul colicii infantile.....	113
II.4.1. ANALIZA INCERTITUDINILOR METODOLOGICE	151

II.5. Comparare model și non-model a curbelor de supraviețuire a efectului ipilimumab în melanomul malign.....	152
CAP. III Concluzii	183
1. Criterii de testare statistica a datelor discordante.....	184
2. Etica în cercetare	184
3. Timpul de supraviețuire mediu	185
4. Scara sau scorurile Likert.....	186
5. Dificultățile privind aplicarea biostatisticii în studiile clinice	187
Concluzii finale.....	194
Dificultatile privind aplicarea biostatisticii în studiile clinice pot fi grupate în trei categorii: științifice, etice și administrative	194
I. Dificultati științifice sunt legate de incertitudini, în general indecidabile, care duc la incertitudini.....	194
II. Dificultati cu implicatii etice	194
III. Administrative și de reglementare.....	195
Bibliografie	197

Sinteza ideilor principale

I. EVALUAREA FENOMENOLOGICĂ ȘI MATEMATICĂ A VALORILOR „OUTLIERS” ÎNTR-UN STUDIU DE BIOECHIVALENȚA PRIVIND FORMULĂRI CU OMEPRAZOL.

Valoarea atipică înseamnă "outlier", adică valori diferite de restul datelor, având o probabilitate foarte mică de apariție și reprezentând o posibilă încălcare a distribuției datelor populației. Termenul este folosit în principal de matematicieni. În domeniul biologic, mai obișnuiți sunt alți termeni ca "valori discordante" sau "valori anormale" sau "valori discrepante" (Barnett et al., 1994).

Eliminarea datelor sau curbelor cu valori atipice a fost până în prezent considerată practic inacceptabilă de către Food and Drug Administration (FDA), privind abordările statistice pentru stabilirea bioechivalenței, declarând că "eliminarea valorilor atipice este, în general, descurajată"

I.1.2 Metode

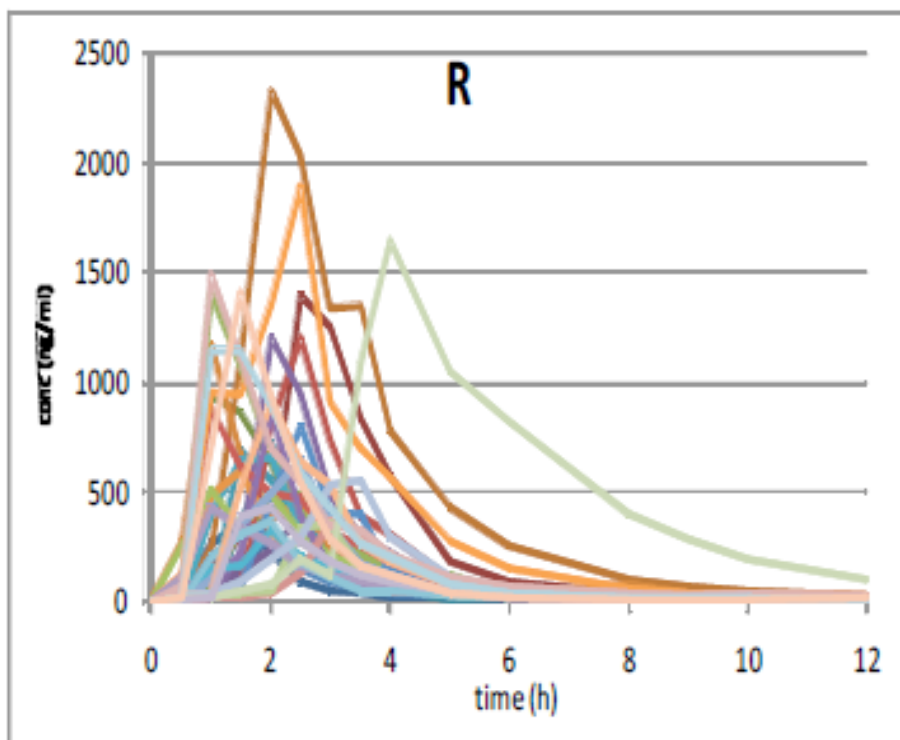
A fost realizat un studiu încrucișat, în două perioade, cu două secvențe, pentru a compara LOSEC® 20 mg capsule gastro rezistente (Astra Zeneca), cu o formulare generică care conținea 20 mg omeprazol.

O perioadă de o săptămână de spălare a separat tratamentele consecutive. Probele de sânge au fost colectate înainte de administrare (0,0 ore) și 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 8,0, 10,0 și 12,0 ore după administrarea medicamentului.

Studiul a fost aprobat de Comisia Națională de Etică a studiilor clinice și de Agenția Națională a Medicamentului.

I.1.3. Rezultate

Farmacocinetica omeprazolului a fost foarte variabilă, în ceea ce privește timpul de întârziere („time lag”), concentrația maximă, timpul concentrației maxime și aria de sub curbă, așa cum se poate vedea în figura 1



DrugName = T

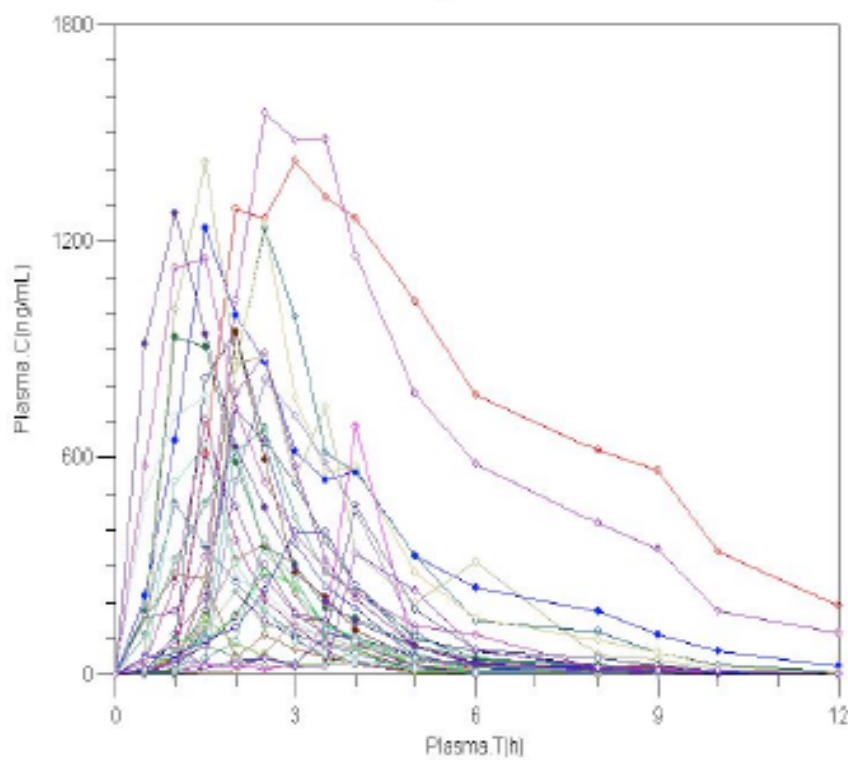


Figura 2.1: Nivelele plasmatice de omeprazol, pentru medicamentul de referință (R) și formularea testată (T)

CAP. II Concluzii

Utilizarea adecvata a biostatisticii în situațiile prezentate mai sus ar tine cont de tipul de produs (medicament, dispozitiv medical, supliment alimentar), de compoziția produsului, de obiectivele studiului (siguranța si/sau eficacitate), de bugetul disponibil care ar trebui alocat pentru studiu, iar metodologia statistica va trebui sa adapteze atât partea de eșantionare cat și tipul de analiza statistica utilizat în cadrul fiecărui tip de studiu.

1. Criterii de testare statistica a datelor discordante

Rezultatele studiilor de bioechivalență trebuie luate în considerare atât în legătură cu medicamentele testate, cât și cu cele de referință. Eliminarea lor în ambele cazuri trebuie evaluata în contextul riscului pacienților.

Rezultatele extreme nu numai din formulările farmaceutice, cat mai ales din proprietățile fizico-chimice ale medicamentelor din fiziologia pacienților individuali și de la interacțiunile medicament-organisme vii.

În cazul omeprazolului, deoarece eliberarea decurge cu o viteză variabilă și un grad de eliberare diferit, se ajunge a apariția unor valori outlier încă din faza biofarmaceutică, în legătura cu stabilitatea peliculei protectoare și a substanței active, cinetica de eliberare, absorbția și metabolismul. Valorile outlier au privit concentrațiile maxime, timpii concentrațiilor maxime și în ariile sub curbele nivelurilor plasmatiche, dar influența asupra deciziei privind bioechivalența au avut doar concentrațiile maxime.

Metodele obișnuite matematice pentru a decide caracterul de valoare atipică sunt aplicabile când datele sunt distribuite normal. În cazul datelor divizate în diferite clase sau rapoarte de date, trebuie să se aplice teste non parametrice dar acestea sunt mai puțin discriminatorii.

Având în vedere rezultatele obținute în acest studiu, precum și rezultate din celelalte studii incluse în teza, se propune următoarea regulă în analiza datelor și subiecților cu privire la valori atipice în studiile BE: prima evaluare a datelor din punct de vedere al farmacocineticii fiziologice, apoi aplicarea testelor statistice și, în final, evaluarea implicațiilor deciziei privind valorile atipice asupra deciziei privind bioechivalența.

2. Etica în cercetare

Organismele de reglementare și chiar comitetul etic solicită formal justificarea numărului de subiecți, dar sunt mai puțin preocupați de aspectele etice ale problemei.

Biostatisticienii au fost foarte preocupați de aceste subiecte, care sunt analizate prin "coduri etice statistice". Abordarea obișnuită a fost efectuată în termeni de studii clinice cu supraputere sau de putere slabă. Mult timp, numărul redus de subiecți de cercetare a fost considerat ca abordare neetică, ca urmare a unei valori științifice reduse. Mai recent, după evaluarea mai multor studii mici prin metanaliză, opiniile pe această temă au devenit din ce în ce mai puțin agresive și s-au făcut auzite concluzii opuse.

Din moment ce modelele și formulele de calcul folosesc date de intrare privind mărimea diferenței semnificative clinic, ipoteza, riscul asumat al erorilor de tipul I și tipul 2, precum și estimarea variabilității calculului parametrilor mășurați este, în egală măsură, o problemă a investigatorilor și a biostatisticienilor.

Simulările efectuate au arătat că factorul critic care determină numărul de subiecți este dimensiunea efectului Δ , care este dorit să fie dovedit în studiul clinic. O scădere a lui Δ de la 3% la 1% conduce la o creștere a numărului de subiecți de la mii la zeci de mii. Alegerea lui Δ determină practic toate componentele CT și acest lucru este practic realizat în afara echipei statistice.

Apare o lipsă de cooperare între organismele de reglementare, sponsori, investigatori, biostatisticieni și comitetele de etică pentru abordarea științifică bazată pe bioetică în studiile clinice.

Nu în ultimul rând, toate aceste abordări sunt asociate cu "date fiabile și robuste", preocupările privind siguranța pacienților lipsind complet.

3. Timpul de supraviețuire mediu

Timpul de supraviețuire mediu este media variabilei $T(t)$.

După definiția mediei este

$$M(f) = \sum x_i p_i,$$

suma între valorile luate și frecvențele de apariție a acestora.

În cazul T sumele se referă la produsul între timpii t_i la care cunoaștem numărul de supraviețuitori și probabilitățile pacienților de supraviețuire mai mult decât timpii respectivi.

O examinare atentă relevă faptul că media este de fapt o estimare a ariei de sub curba $T(p)$.

Dilema 1:

Aria se poate calcula numai până la ultimul punct l-a care s-a evaluat pacienții – Area Under Data (AUD) sau aria totală de sub curba, până la infinit - $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-D} + AUC_{extra}$

Problema apare la extrapolarea necesară pentru calculul AUC_{extra} . Este nevoie de un model, ceea ce complică foarte mult lucrurile și duce la incertitudini. În farmacocinetica, se calculează ariile de sub concentrațiile plasmatice și extrapolarea funcționează practic întotdeauna: pe coada, datele urmează o lege exponențială.

Supraviețuirea mediană este o statistică care se referă la cât de mult supraviețuiesc pacienții cu o anumită boală în general sau în urma aplicării unui anumit tratament. Este timpul – exprimat în luni sau ani – când jumătate din pacienți ar trebui să supraviețuiască. Înseamnă că șansa de supraviețuire peste acest interval este 50%.

Dilema 2: Ce parametru este mai semnificativ clinic: mediana ori media?

Rezultatul în ceea ce privește ierarhia între valorile medii și mediane a fost același: medianele sunt mai „pesimiste”, mai mici, în cazul administrării de trei sau patru doze de ipilimumab. În cazul tratamentului cu una sau două doze, cele două estimări sunt foarte apropiate, dar de fapt nici nu prea se poate vorbi de un efect. Concluzia privind variabilitatea mai mare a medianelor, nu se mai regăsește.

4. Scara sau scorurile Likert

Considerăm rata de răspuns a umorilor conform criteriilor Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) după tratamentul cu ipilimumab la 3, 6, 12, 24, 36 luni.

Putem considera calificativele

Răspuns complet 4

Răspuns parțial 3

Boală stabilă 2

Boală avansată 1

Curbele frecvențelor răspunsurilor în funcție de timp urmează o evoluție similară, ca o scară Likert cu patru trepte și acordă pentru efectul medicamentelor notele din tabel. S-a calculat suma rezultatelor. S-a obținut un scor Likert, o scară numerică.

S-a încercat o modelare a scorului obținut ca funcție de timp, folosind modelul Weibull

$r(t) = r_0(1 - e^{-at^\beta})$ sau, în forma liniarizată după o dublă transformare logaritmică

$\ln(-\ln(r(t))) = \alpha + \beta \ln(t)$, i.e. o dependență liniară între $\ln(-\ln(r(t)))$ și $\ln(t)$.

Se vede că pentru primii doi ani, evoluția este descrisă perfect de modelul de supraviețuire Weibull. A trebuit să lăsăm la o parte ultimul timp (3 ani) când scorul scade mult mai mult. Sau se poate încerca o modelare exponențială a evoluției scorului

Se observă că fitarea nu este așa de bună ca în cazul modelului Weibull (ceea ce este de așteptat deoarece modelul exponențial are un singur parametru, iar modelul Weibull are doi parametri), dar ultimul punct nu mai apare ca un punct singular

5. Dificultățile privind aplicarea biostatisticii în studiile clinice

Dificultățile științifice sunt legate de incertitudini, aspect în general indecidabil, care duc la incertitudini. Inferență - este tragerea concluziilor privind efectuarea deducțiilor din date incomplete și imperfecte. O „credință fundamentală a biostatisticienilor” (aceea care înțelege în profunzime atât aspectele fenomenologice ale biologiei, cât și aspectele fenomenologice ale matematicii): atât incertitudinile biologice, cât și cele matematice nu sunt eliminate prin dovada ipotezei, ci sunt înglobate în continuare în rezultatele aparent mai fiabile.

Abordarea corectă a testelor statistice în studiile cu date numerice

- ✓ Analiza Gaussiană (calea testelor parametrice) utilizată atunci când în urma aplicării testului de normalitate asupra datelor numerice aferente a 2 cohorțe, rezultatele

obținute nu arata diferențe semnificative în nici una din cohorte. Astfel se va aplica corect:

- Student T-Test – Independent test - pentru date nepereche ;
 - Student T-Test – Paired Test – pentru date pereche ;
- ✓ Analiza ne-gaussiană (calea testelor neparametrice) utilizată atunci când în urma aplicației testului de normalitate asupra datelor numerice aferente a 2 cohorte, rezultatele obținute arata diferențe semnificative în cel puțin una din cohorte sau în ambele. Astfel, se va aplica corect :
- Testul Mann-Whitney – pentru date nepereche (cohorte diferite);
 - Wilcoxon Test – pentru date pereche;

Sunt multiple elementele care contribuie la concluzia de a utiliza anumite ipoteze de lucru, teste statistice și puterea statistică. În cele ce urmează, am realizat o analiză comună între medicamente, dispozitive medicale și suplimente alimentare pentru a arata ce elemente comune contribuie la design-ul unui studiu clinic și ce elemente comune pot determina utilizarea inadecvată a biostatisticii.

Elemente care țin de design-ul cercetării realizate

Criteriile care stau la baza deciziei utilizării unui anumit design de studiu sunt enumerate mai jos. Enumerarea nu este exhaustivă, însă reprezintă elementele cheie care influențează design-ul unui studiu clinic în faza de planificare. Aceste elemente sunt comune, indiferent de tipul de produs asupra căruia se desfășoară studiul clinic.

Tabel 2.75 Elemente critice care contribuie la utilizarea inadecvata a biostatisticii în studiile clinice

Elemente critice care influențează metodele statistice din studiile clinice	Medicament	Dispozitiv Medical	Supliment alimentar
Ipoteze statistice nerealiste	x	x	x
Utilizarea inadecvata a testelor (parametrice vs non-parametrice)	x	x	x
Tipul de eșantionare (aleatorie, consecutiva)	x	x	x
Alocarea pe terapie (randomizata, consecutiva)	x	x	x
Rata crescuta de drop-out a subiecților	x	x	x
Interpretarea eronata a valorilor “p”	x	x	x
Interpretarea eronata a valorilor “intervalelor de confidenta”	x	x	x
Interpretarea eronata a puterii statistice	x	x	x

Interpretarea eronata și utilizarea inadecvata a testelor statistice au fost enumerate în multiple reviste științifice care descurajează utilizarea „semnificației statistice” sau mai precis limitarea la valoarea P atunci când se analizează rezultatele ca fiind semnificative. Problemele de interpretare a datelor obținute din studiile clinice apar atunci când nu există o înțelegere deplina a ceea ce înseamnă valorile P, intervalele de încredere și calculele de putere. Așadar, elementele care pot duce la utilizarea inadecvata a biostatisticii pot fi clasificate în 2 categorii: pre-studiu clinic (faza de planificare și design a studiului clinic) și post-studiu clinic (faza de interpretare a rezultatelor obținute). Tabelul 3 prezinta elementele pre-studiu și post-studiu care impactează metodologia statistica.

Tabelul 2.76. Elementele critice pre-studiu și post-studiu care impactează metodologia statistica

Faza de planificare a studiului clinic	Faza de analiza a rezultatelor studiului clinic
Ipoteze statistice nerealiste	Rata crescuta de drop-out a subiecților
Utilizarea inadecvata a testelor statistice (parametrice vs non-parametrice)	Interpretarea eronata a valorilor “p”
Tipul de eșantionare (aleatorie, consecutiva)	Interpretarea eronata a valorilor “intervalelor de confidenta”
Alocarea pe terapie	Interpretarea eronata a puterii statistice

Ipoteza de lucru

Există 2 tipuri de erori care se pot face când testam o ipoteza: 1) sa se respingă ipoteza nula când ea este adevărata, ceea ce duce la interpretarea eronata ca ar există o diferența, deși ea nu există, și 2) sa nu respingem ipoteza nula atunci când ea chiar este falsa, ceea ce duce la interpretarea eronata ca nu există diferențe atunci când acestea chiar există.

Utilizarea inadecvata a testelor statistice (parametrice vs non-parametrice)

Există practica curenta în care testele parametrice nu ar trebui să fie aplicate datelor cu distribuții non-normale. Mai multe cercetări au demonstrat că Mann-Whitney are, în general, o putere mai mare decât testul t, cu excepția cazului în care datele sunt prelevate din normal. În cazul studiilor clinice randomizate, de tip dublu-orb, ne interesează sa observam cum se schimba anumite variabile în urma tratamentului. Un rezultat corect îl reprezintă înlocuirea testului “t” cu ANCOVA. ANCOVA este metoda preferată de analiză a studiilor randomizate cu măsurători de bază și post-tratament, fiind superioara testului Mann-Whitney. Recomandarea este de a utiliza metoda ANCOVA pentru studiile randomizate, în locul t test (parametric) și al Mann-Whitney (non-parametric).

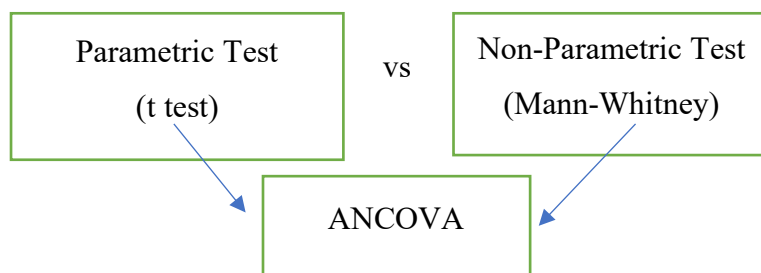


Fig. 2.47 Utilizarea ANCOVA în studiile clinice randomizate este preferabila utilizării t test sau Mann-Whitney

Tipul de eşantionare

Principalul obiectiv atunci când calculăm și justificăm eşantionarea pentru un studiu clinic este acela de a determina numărul de participanți necesari pentru a detecta un efect relevant al tratamentului utilizat. Cu cât variabilitatea este mai mare, cu atât eşantionul selectat trebuie să fie mai mare.

Tabel 2.77 Formule utilizate corect

Tip de eşantionare	Formula aplicabila
Esantionarea pentru o medie, distribuție normală	$N = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times \sigma^2}{\delta^2}$
Esantionarea pentru 2 medii, date cantitative	$N = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times \sigma^2}{\delta^2}$
Esantionarea pentru 2 proportii, date categorice	$N = \frac{4 \times (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{\delta^2}$

Rata crescuta de drop-out a subiecților

Drop-out-ul este o problemă serioasă pentru orice studiu randomizat prin faptul că poate compromite puterea statistică datorită lipsei datelor. Un subiect trebuie să fie în studiu suficient de mult timp pentru a participa la intervențiile descrise în protocolul de studiu. Conform legislației în vigoare, subiecții pot renunța în orice moment la participarea în studiul clinic, însă acesta nu va putea genera date cu privire la intervențiile la care este supus. Sunt generate așa numitele date-lipsa care duc la corelații nerealiste privind modul de

răspuns al subiectului la tratament în situația în care acesta a renunțat la a mai participa în studiu mai devreme decât era specificat în protocolul de cercetare. Ideal ar fi ca fiecare subiect să genereze date conform procedurilor descrise în protocol.

Interpretarea eronată a valorilor “p”

Valorile “p” rezultate în urma analizei statistice, cu valori între 0.01 și 0.05, sunt adesea considerate statistic semnificative. Dar dacă acest rezultat este fals pozitiv? Ce trebuie avut în vedere pentru a nu interpreta eronat o valoare “p” rezultată ca fiind statistic semnificativă? Probabilitatea ca rezultatele cercetării să apară la întâmplare nu este dată de valoarea p ci de riscul fals pozitiv.

Tabel 2.78 Elemente critice în interpretarea corectă a valorilor ‘p’

Premergătoare studiului clinic	În timpul studiului clinic
Esantionare greșită	Aplicarea testelor statistice stabilite în protocolul de studiu
Marimea efectului supraestimată	Doar valorile mai mici de $p < 0.001$ ar trebui tratate ca fiind o demonstrație a unei descoperiri în cadrul studiului clinic.
Experiment cu putere mică (sub 80%)	Testarea corectă a ipotezelor: Testarea clasică a ipotezelor cu $p = 0.05$ consideră semnificative acele experimente care rezultă într-o valoare p mai mică sau egală cu 0.05
Selecția testelor statistice aplicabile	Limitarea intervenției cu tehnici statistice de ajustare în datele obținute.
Evitarea bias-ului de selecție / de alocare pe tratament	Testarea pentru riscul fals-pozitiv.

Interpretarea eronata a valorilor “intervalelor de confidenta”

Intervalele de încredere sunt o cheia statisticilor inferențiale. Putem utiliza unele probabilități și informații dintr-o distribuție de probabilitate pentru a estima un parametru de populație cu utilizarea unui eșantion. Specificarea unui interval de încredere se face în așa fel încât să fie ușor intelesă.

Interpretarea eronata a puterii statistice

Lipsa unei puteri adecvate determina ca multe studii sa fie neconcludente pentru a detecta chiar diferențe mari între grupuri. Mai mult, o lipsa a puterii statistice poate induce concluzii false care ulterior influențează comportamentul clinic al medicilor. În etapa de eșantionare, calculele de putere trebuie sa asigure un pool suficient de pacienți pentru a obține rezultate clinic semnificative.

Concluzii finale

Dificultatile privind aplicarea biostatisticii în studiile clinice pot fi grupate în trei categorii: științifice, etice și administrative

I. Dificultati științifice sunt legate de incertitudini, în general indecidabile, care duc la incertitudini.

Inferența poate însemna dezvoltarea unor concluzii din deduceri din date incomplete sau imperfecte. O credință fundamentală a biostatisticienilor (care înțeleg profund aspectele fenomenologice ale biologiei și aspectele fenomenologice ale matematicii): ambele incertitudini biologice și matematice nu sunt înlăturate de demonstrarea ipotezei, dar sunt incorporate mai departe în rezultate mai credibile.

II. Dificultati cu implicații etice

II.1 Numărul de subiecți intra-un studiu

Numărul de subiecți înrolați intra-un studiu reprezintă un subiect de evaluare etică. Numărul trebuie să nu fie prea mare deoarece implică suferințe și riscuri la mai mulți subiecți decât este nevoie. Pe de altă parte numărul nu trebuie să fie prea mic deoarece implică riscul de a nu dovedi bioechivalența deși aceasta este reală, deci suferința și riscuri risipite inutil. Este necesar să se definească criteriile etice pentru a evalua dacă numărul de subiecți este corect sau nu.

II.2 Studii controlate cu tratament activ vs studii controlate cu placebo

Autoritățile preferă studiile controlate placebo din cauza că acestea sunt mai semnificative statistic dar acestea arată că tratamentul nou “este mai bun decât nimic”. Pacienții netratați sunt însă supuși la riscuri suplimentare, ceea ce nu este etic.

Din acest motiv comitetele de etică trebuie să pretindă o analiză a acestor riscuri. Prezentarea riscurilor adiționale la care sunt expuși subiecții înrolați pe brațul placebo nu ar trebui să fie o justificare de tipul “așa se cere în ghid sau comparațiile statistice cu placebo sunt mai robuste.

III. Administrative și de reglementare

III. 1 Un studiu dublu orb, randomizat este teoretic mult mai obiectiv

Practic însă după un timp, comparand efectele terapeutice și efectele adverse ale tratamentelor și investigatorii și pacienții nu mai sunt deloc orbi. Nu design-ul dublu orb este gresit, ci credința ca acest tip de design experimental asigură evitarea bias-urilor de selecție. Sponsorul și investigatorul principal trebuie să fie avizați despre acest aspect spre sfârșitul studiilor.

III. 2 Concluziile “negative” cauzate de puterea statistica mica

Acest lucru înseamnă că se raportează că nici un efect nu a fost găsit când au fost șanse foarte mici să se identifice acel efect – poate distorsiona inferența. Acest tip de analiză, rar însoțește constatările negative, iar cititorii pot rămâne cu ideea nejustificată că un efect care nu a fost demonstrat, nu este un efect prezent. Rapoartele cu putere statistică mică pot fi oricum mai bune decât nici un fel de rapoarte (și fără putere), sau meta-analiza mai multor rapoarte cu putere mică poate aduce concluzii mult mai solide decât fiecare din aceste rapoarte de sine-stătătoare.

III. 3 Datele lipsa

Datele lipsă induc ambiguitatea în analiză statistică dincolo de imprecizia eșantionării convenționale. Dacă adăugăm și ipotezele din spatele oricărei astfel de analize atunci se formează o parte semnificativă a argumentului din spatele oricăror concluzii trase. Statisticianul ar trebui să vegheze asupra interpretărilor eronate sau asupra utilizării incorecte a datelor obținute și ar trebui să facă demersurile necesare pentru a informa toate părțile interesate: sponsorul, autoritățile și potențialii utilizatori. Atunci când vorbim de date lipsă, orice încercare de a trage concluzii dintr-o analiză statistică se bazează pe ipoteze cu privire la relația dintre datele neobservate și cele obținute în cadrul studiului. Statisticianul va trebui să ceară precizarea motivelor pentru care datele lipsesc și să urmeze procedura statistică privind datele lipsă conform planului statistic inițial. Dar trebuie prevăzută – tot în planul statistic inițial - și obligativitatea prezentării acestor aspecte o dată cu concluziile finale și raportul final de studiu pentru comunitatea medicală, autorități și pacienți.

Bibliografie selectivă:

1. Ahmad SS, Qian W, Ellis S et al. "Ipilimumab in the real world: the UK expanded access programme experience in previously treated advanced melanoma patients" *Melanoma Res* 2015;25:432-442.
2. Alexander M, Mellor JD, McArthur G, Kee D. Ipilimumab în pretreated patients with unresectable or metastatic cutaneous, uveal and mucosal melanoma. *Med J Aust* 2014;201:49-53.
3. Altman DG, Machin D, Bryant TN, Gardner MJ (eds): *Statistics with Confidence* (2nd edn). 2000, London: BMJ Books.
4. Altman DG: *Practical Statistics For Medical Research*. 1991, Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC.
5. Altman, D.G., *British Medical Journal*, 281, 1336, 1980.
6. Altman, D.G., *British Medical Journal*, 281, 1336, 1980
7. Altomonte M, Di Giacomo AM, Queirolo P et al. Clinical experience with ipilimumab 10 mg/kg în patients with melanoma treated at Italian centres as part of a European expanded access programme. *J Exper Clin Cancer Res* 2013;32:82.
8. Andersson T, Regardh CG, Dahl-Puustinen ML, et al. Slow omeprazole metabolizers are also poor S-mephenytoin hydroxylators. *Ther Drug Monit* 1990; 12: 415-6 <https://doi.org/10.1097/00007691-199007000-00020>
9. Arthur J. Atkinson, *Principles of Clinical Pharmacology*, Academic Press 2012.
10. Ascierto PA, Simeone E, Chiarion-Sileni V et al. Clinical experience with ipilimumab 3 mg/kg: real-world efficacy and safety data from an expanded access programme cohort. *J Transl Med* 2014;12:116.
11. Avram AM, Dinu V, Clontia L. Comparing național guidelines for diagnosis and treatment of melanoma with international guidelines. What is missing? *Romanian Med* 2015; 62:155-61.
12. Benjamin Carlisle, M.A., Kimmelman J., Ramsay, T., MacKinnon, N., *Clinical Trials*, 12(1), 77, 2015.
13. Benninga MA, Nurko S, Faure C et al. Childhood funcțional gastrointestinal disorders: neonate/toddler. *Gastroenterology* 150, 1443-1455 (2016).

14. Berrocal A, Arance A, Martin JAL et al. on behalf of the Spanish Melanoma Group. Ipilimumab for advanced melanoma: experience from the Spanish Expanded Access Program. *Melanoma Res* 2014;24:577-583.
15. Cederberg C, Andersson T and Skanberg I. Omeprazole pharmacokinetics and metabolism in man. *Scan J Gastroenterol Suppl* 1989; 166: 33-40. <https://doi.org/10.3109/00365528909091241>
16. Chasset F, Pages C, Biard L et al. Single-center study under a French Temporary Authorization for Use (TAU) protocol for ipilimumab in metastatic melanoma: negative impact of baseline corticosteroids. *Eur J Dermatol* 2015;25: 36-44.
17. Chow SC and Tse SK. Outlier detection in bioavailability/bioequivalence studies. *Stat Med.* 1990; 9(5): 549-58. Erratum in: *Stat Med* 1992; 11 (3): 425 <https://doi.org/10.1002/sim.4780090508>
18. Chow, S. C., & Liu, J. P. (2009). Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies, 3rd Edition. Boca Roca, US: CRC Press, Taylor & Francis Inc.
19. Chow, S.C., Shao, J. Statistics in drug research, CRC Press, Wang, H., Chow, S.C. Sample Size for Comparing Proportions, in *Methods and Applications of Statistics in Clinical Trials* 653, Duke Scholars, J Wiley, 2014.
20. Clark, T., Berger, U., Mansmann, U, *British Medical Journal*, 346, 1135, 2013.
21. Cochrane, A.L., *Effectiveness & Efficiency: Random Reflections on Health Services*, CRC Press, New Ed edition CRC Press, New Ed edition, 1999.
22. Di Giacomo AM, Calabro L, Danielli R et al. Long-term survival and immunological parameters in metastatic melanoma patients who responded to ipilimumab 10 mg/kg within an expanded access programme. *Cancer Immunol Immunother* 2013;62:1021-1028.
23. Enache F., Mircioiu, I., Corlan, G., Sandulovici, R., Mircioiu, C. (2012) Estimation of therapeutic equivalence using bioequivalence statistical methods for algopirin tablets versus excedrin analgesic formulations, *FARMACIA* 60 (2), 227-239.
24. Esteri, H., & Murphy, S. N. (2019). Semi-supervised encoding for outlier detection in Clinical observation data. *Comput Methods Programs Biomed*, 181, 104830. doi:10.1016/j.cmpb.2019.01.002.
25. F.Wilcoxon: Individual comparisons by ranking methods, *Biometrics Bul.*,180-83,1947

26. Färber I, Günemann S, Hans-Peter Kriegel, Peer Kröger, Emmanuel Müller, Erich Schubert, Thomas Seidl, Arthur Zimek (2010). "On Using Class-Labels in Evaluation of Clusterings". in Xiaoli Z. Fern, Ian Davidson, Jennifer Dy. MultiClust: Discovering, Summarizing, and Using Multiple Clusterings. ACM SIGKDD. <http://eecs.oregonstate.edu/research/multiclust/Evaluation-4.pdf>
27. **Manolache, M.**, Cadar, E., Antonescu, D., et al (2018) Bioethics Approach of Biostatistics in Clinical Trials. Avoid The Use of Excessive of Inadequate Numbers of Research Subjects .Journal of Science and Arts. 1 239-246.
28. **Manolache, M**, C. Mircioiu, I. Mircioiu, I. , et. Al (2017) Phenomenological and Mathematical Evaluation of Aberrant Values (Outliers) in Bioequivalence Studies. Journal of Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 2017, 5, 19-25
29. Mantel N, Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration, Cancer Chemother. Rep. 50, 113 – 170, 1966.
30. Markovic NS, Erickson LA, Rao DR et al. for the Melanoma Study Group of the Mayo Clinic Cancer Center. Malignant Melanoma in the 21st Century, Part 1: Epidemiology, Risk Factors, Screening, Prevention, and Diagnosis. Mayo Clin Proc 2007;82:364-80.
31. McCourt C, Dolan O, Gormley G. Malignant melanoma: a pictorial review. Ulster Med 2014;83:103-10.
32. Meila, Marina (2003). "Comparing Clusterings by the Variation of Information". Learning Theory and Kernel Machines: 173–187.
33. Mircioiu C, Atkinson J, A Comparison of Parametric and Non-Parametric Methods Applied to a Likert Scale. Pharmacy 2017, 5, 26; doi:10.3390/pharmacy5020026
34. Mircioiu, C., Ionica, G., Danilceac, A., Miron, D., Mircioiu, I., Radulescu, F. (2010), Pharmacokinetic and Mathematical Outliers for Drugs with Active Metabolites. Note I. Model Independent Analyses for Pentoxifylline , Farmacia: 58 (3), 264-278.
35. Mircioiu, C., Mircioiu, I., Voicu, V., and Miron, D. (2005), Dissolution - Bioequivalence non-correlations, Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, Vol. 96, No. 3, pp. 262-264.
36. Mircioiu, I., Anuta, V., Purcaru, S.O., Radulescu, F., Miron, D., Dumitrescu, I.B., Ibrahim N., and Mircioiu C. (2013). in Vitro Dissolution of Poorly Soluble Drugs in the Presence of Surface Active Agents - in Vivo Pharmacokinetics Correlations. II. Nimesulide. FARMACIA, 61(1): 88-102.

37. Sandulovici, R., Prasacu, I., Mircioiu C., Voicu V., Medvedovici A., and Anuta V. (2009). Mathematical and Phenomenological Criteria în Selection of Pharmacokinetic Model for M1 Metabolite of Pentoxifylline, *FARMACIA*, Vol. 57, No. 2, pp. 235-246.
38. Sandulovici, R., Vatasescu, A., Enache, F., and Mircioiu, C. (2011). Failure of Statistical Methods to Prove Bioequivalence of Two Meloxicam Bioequivalent Formulations. II. Non-Parametric Methods, *Farmacia*, Vol. 59, No. 3, pp. 367-380.
39. Savino F, Bailo E, Oggero R et al. Bacterial counts of intestinal *Lactobacillus* species în infants with colic. *Pediatr. Allergy Immunol.* 16(1), 72-75 (2005).
40. Savino F, Cordisco L, Tarasco V et al. Antagonistic effect of *Lactobacillus* strains against gas-producing coliforms isolated from colicky infants. *BMC Microbiol.* 11, 157 (2011).
41. Vandenas Y, Abkari A, Bellaiche M et al. Prevalence and health outcomes of funcțional gastrointestinal symptoms în infants from birth to 12 months of age. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 61(5), 531—537 (2015).
42. Vatașescu A, Enache F, Mircioiu C, Miron DS and Sandulovici R. Failure of statistical methods to prove bioequivalence of meloxicam drug products. I. parametric methods, *Farmacia* 2011; 59(2): 161-169
43. Vennepureddy A, Thumallapally N, Nehru VM, Atallah J-P, Terjanian T. Novel Drugs and Combination Therapies for the Treatment of Metastatic Melanoma *J Clin Med Res* 2016;8:63-75.
44. W.H.Kruskal, W.Allen Wallis: Use of ranks în one-criterion analysis of variance, *J. Am. Stat. Assoc.*,47,583-621,1952.
45. Walodi Weibull, A Statistical Distribution Function of Wide Applicability , *ASME J Appl Mechanics*, Sept 1951, 293-297).
46. Wang W, Chow SC Examining outlying subjects and outlying records în bioequivalence trials., *J Biopharm Stat* 2003; 13(1): 43-56. <https://doi.org/10.1081/BIP-120017725>
47. Wang, W., Chow, S.-C., & Wei, W. W. (1995). On likelihood distance for outliers detection. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 5(3), 307-322.

Lista cu lucrările științifice publicate:

1. **Manolache, M.**, Cadar, E., Antonescu, D., et al (2018) *Bioethics Approach of Biostatistics în Clinical Trials. Avoid The Use of Excessive of Inadequate Numbers of Research Subjects.* Journal of Science and Arts. 1 239-246. http://www.josa.ro/docs/josa_2018_1/b_07_Manolache_239-246.pdf
2. **Manolache, M, C.** Mircioiu, I. Mircioiu, I., et. Al (2017) *Phenomenological and Mathematical Evaluation of Aberrant Values (Outliers) in Bioequivalence Studies.* Journal of Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 2017, 5, 19-25 <http://www.scientificarray.org/jabp-v5a4/>
3. Vladareanu R, Mișu D, Mitran M, Mehedintu C, Boianțiu A, **Manolache M**, Vladareanu S. *New evidence on oral L. plantarum P17630 product in women with history of recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC): a randomized double-blind placebo-controlled study.* Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018 Jan;22(1):262-267. doi: 10.26355/eurrev_201801_14128. PMID: 29364495. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29364495/>
4. Corneliu Jina D, Ciuleanu T, Negru S, Aldea C, Gales L, Bacanu F, Oprean C, **Manolache M**, Zob D, Curescu S, Stanculeanu DL. *Effectiveness and safety profile of ipilimumab therapy in previously treated patients with unresectable or metastatic melanoma - the Romanian Patient Access Program.* J BUON. 2017 Sep-Oct;22(5):1287-1295. PMID: 29135115. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29135115/>
5. Rosu MM, Popa SG, Mota E, Popa A, **Manolache M**, Guja C, Bala C, Mota C, Mota M. *CARDIOVASCULAR RISK ASSESSMENT IN THE ADULT (AGED 40-79 YEARS) ROMANIAN POPULATION.* Acta Endocrinol (Buchar). 2018 Apr-Jun;14(2):227-234. doi: 10.4183/aeb.2018.227. PMID: 31149262; PMCID: PMC6516525. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31149262/>

6. Serban ED, **Manolache M**. *Gelatin tannate versus other antidiarrheal medication in children with acute gastroenteritis: a retrospective, observational study*. *J Comp Eff Res*. 2019 Feb;8(3):187-194. doi: 10.2217/cer-2018-0082. Epub 2019 Jan 15. PMID: 30644329. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30644329/>
7. Vandenplas Y, Bacarea A, Marusteri M, Bacarea V, Constantin M, **Manolache M**. *Efficacy and safety of APT198K for the treatment of infantile colic: a pilot study*. *J Comp Eff Res*. 2017 Mar;6(2):137-144. doi: 10.2217/cer-2016-0059. Epub 2017 Jan 24. PMID: 28114795. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28114795/>
8. Sandulovici R, Mircioiu I, Aboul-Enein HY, **Manolache M**, Mircioiu C, Voicu V, Anuta V. *Sources of outlier data in the bioanalytical and clinical part of a piroxicam bioequivalence study*. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2020 Nov;58(11):652-663. doi: 10.5414/CP203794. PMID: 32870154. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32870154/>