



Rapport de stage

Essai clinique comparant la combinaison nifurtimox-eflornithine au traitement de référence eflornithine pour le traitement de la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma brucei gambiense* en phase méningo-encéphalitique (stade 2)

Entreprise d'accueil : CRP-Santé

Période du 1^{er} février au 29 juillet 2011

Guth Tessy
Etudiante en M2 Statistiques
Université de Strasbourg
UFR Mathématiques et Informatique

Tuteur de Stage : Michel Vaillant

Encadrant universitaire : Nicolas Poulin

Remerciements

A la fin de mon stage je tiens à remercier cordialement toute l'équipe du Centre d'Etudes en Santé (CES) pour leur accueil chaleureux, leur collégialité et leur aide constructive.

Je voudrais remercier en particulier Madame Marie-Lise Lair, directrice du CES et mon tuteur Michel Vaillant, biostatisticien du CCMS, de m'avoir offert l'opportunité de pouvoir effectuer ce stage au sein de leur centre.

Un remerciement spécial revient à mon tuteur Monsieur Michel Vaillant pour avoir supervisé mon stage et pour avoir été à ma disposition que ce soit pour des explications ou son aide au niveau de la programmation.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à Madame Andrea Kuemmerle, pharmacienne du CES, en particulier pour toutes ses explications liées au domaine des essais cliniques et pharmaceutiques.

Pendant ce stage, je me sentais parfaitement intégrée dans l'équipe et je remercie mon équipe pour leur soutien, leurs conseils et leur disponibilité. Grâce à eux j'ai pu faire de nombreuses expériences professionnelles à la fois instructives et intéressantes.

Résumé

Le présent rapport décrit le travail réalisé dans le cadre de mon stage de 6 mois au CRP-santé. Le projet consiste en un essai clinique, l'étude NECT, qui compare l'efficacité de la combinaison de médicament nifurtimox-eflornithine par rapport à la référence eflornithine. Les traitements sont administrés aux patients qui souffrent du 2^e stade de la maladie du sommeil (*trypanosoma brucei gambiense*) une maladie parasitaire tropicale transmise à l'homme par la piqûre de la mouche tsé-tsé. Sans traitement, la maladie du sommeil est mortelle. L'objectif du stage a consisté à rédiger un plan d'analyse statistique et à préparer la programmation SAS sur les données disponibles non finalisées.

Le plan d'analyse décrit : la définition des populations d'analyse (intention-de-traiter, intention-de-traiter modifiée, per protocole et *Safety*) ainsi que leur utilisation sont explicitées. Pour certaines variables d'inclusion et caractéristiques des patients, les tests d'homogénéité sont utilisés afin de vérifier si les deux groupes de traitement obtenus après randomisation sont comparables, lorsque les groupes de traitement sont homogènes c'est-à-dire issus d'une même population. Pour les variables continues, deux cas de figures peuvent se présenter : Si la variable suit une distribution normale, le test t de Student est utilisé pour vérifier l'homogénéité ; Dans le cas contraire, le test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon doit être appliqué.

Pour les variables qualitatives, l'homogénéité est vérifiée par le test de khi-deux. Si les conditions du test de khi-deux ne sont pas vérifiées, le test exact de Fisher est appliqué.

Le critère principal d'efficacité, défini par le taux de patients guéris 18 mois après la fin du traitement, est évalué à l'aide d'un test de non-infériorité. Dans le cadre de ce travail plusieurs méthodes ont été envisagées : (1) la différence de proportions, (2) les risques relatifs, (3) les odds-ratio, et (4) une méthode de conversion de l'intervalle de confiance de l'odds ratio en différence de proportions.

Un des critères secondaires était la détermination de la durée de survie sans signes de rechute jusqu'à 18 mois après la fin du traitement. Il est évalué en utilisant la méthode pour données de survie de Kaplan-Meier.

Les critères d'efficacité sont évalués sur les populations intention-de-traiter, per protocole et intention-de-traiter modifiée. Finalement l'analyse de la tolérance effectuée sur la population *Safety* est présentée en examinant les événements indésirables, les valeurs anormales de laboratoire et les traitements concomitants.

Une interprétation des résultats et leur discussion sont données à chaque étape de l'analyse.

Mots-clefs : homogénéité, test t de Student, test de Wilcoxon –Mann-Whitney, test de non-infériorité, analyse de survie, Kaplan-Meier, événements indésirables, MedDRA, WHODrug

Abréviations et définitions

Abréviation	Définition
CES	Centre d'études en Santé
CRF	Case Report Form, cahier d'observation
CRP	Centre de Recherche Public de la Santé
CT	Combination treatment
CTC	Capillary tube centrifugation
Data set	Fichier de données
DFMO	Eflornithine
ddl	Degré de liberté
EMA	European Medecine Administration
EoS	End of study
EoT	End of treatment
ICH	International Conference of Harmonization
ITT	Population intention-to-treat (intention de traiter)
I.V.	Intraveineuse
LCR	Liquide céphalo-rachidien
MITT	Population modified intention-to-treat
NECT	nifurtimox eflornithine combination therapy
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAS	Plan d'analyse statistique
PP	Population per protocole
Proc + nom de procédure	Procédure du logiciel SAS permettant le traitement spécifique des données
PT	Preferred Term
P.O.	Voie orale
SOC	System Organ Class
ST	Standard treatment, traitement de référence
TDR	UNICEF/UNDP/WB/WHO Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases
THA	Trypanosomiase humaine africaine
tx	Traitement
WBC	White Blood Cells, les globules blancs

Table de matières :

I.	INTRODUCTION	6
1.1.	GENERALITE	6
1.2.	DESCRIPTION DE L'ENTREPRISE D'ACCUEIL CRP-SANTE.....	6
II.	CONTEXTE SCIENTIFIQUE	8
2.1.	LES ESSAIS CLINIQUES	8
a.	Les quatre phases	8
b.	Conception (design) d'un essai clinique.....	8
c.	Les lignes directives (guidelines)	9
d.	Glossaire des documents.....	10
2.2.	L'ETUDE NECT	11
a.	Maladie du sommeil	11
b.	Justificatif de l'étude :	12
2.3.	SCHEMA D'ETUDE.....	13
a.	L'objectif de l'essai clinique	13
b.	Critères d'évaluation de l'étude.....	13
c.	Schéma de l'étude	13
III.	MISSION	14
3.1.	DESCRIPTION DU TRAVAIL.....	14
3.2.	DONNEES	14
3.3.	TRAVAIL PRELIMINAIRE	16
3.4.	PLAN D'ANALYSE STATISTIQUE.....	16
3.5.	EXAMEN DIAGNOSTIQUE ET ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ	17
IV.	LES POPULATIONS D'ANALYSE	18
4.1.	DÉFINITION DES POPULATIONS À ANALYSER SELON LE PLAN D'ANALYSE STATISTIQUE	18
4.2.	MÉTHODOLOGIE	19
4.3.	RÉSULTATS	23
4.4.	DISCUSSION	24
V.	TEST D'HOMOGENEITE ET TABLES STATISTIQUES	26
5.1.	INTRODUCTION	26
5.2.	VARIABLES CONTINUES	26
5.2.1.	Statistiques descriptives	26
5.2.2.	Test d'homogénéité	27
5.3.	CHANGEMENT ENTRE LES VALEURS INITIALES ET LES VALEURS OBTENUES PENDANT OU APRÈS LE TRAITEMENT.....	33
5.4.	VARIABLES QUALITATIVES.....	35
5.5.	PROGRAMMATION SOUS SAS®	37
5.6.	RESULTATS	40
5.7.	DISCUSSION	42
VI.	CRITERE PRINCIPAL D'ÉVALUATION D'EFFICACITÉ : TEST DE NON-INFERIORITÉ	43
6.1.	INTRODUCTION	43
6.2.	TEST DE NON-INFÉRIORITÉ D'UNE RÉPONSE BINAIRE	43
6.2.1.	Différence de proportions	44
6.2.2.	Risk Ratio	48
6.2.3.	Odds Ratio.....	48
6.2.4.	Conversion de l'intervalle de confiance de l'odds ratio en différence de proportions.....	51
6.3.	RÉSULTATS	55

6.4.	DISCUSSION	56
VII.	CRITÈRE SECONDAIRE DE L'EFFICACITÉ : ANALYSE DE SURVIE	57
7.1.	INTRODUCTION	57
7.2.	METHODOLOGIE	57
7.3.	RESULTATS	59
7.4.	DISCUSSION	62
VIII.	ANALYSE DE LA TOLÉRANCE.....	63
8.1.	ÉVÉNEMENTS INDÉSIRABLES.....	63
8.1.1.	Introduction	63
8.1.2.	Méthodologie	64
8.1.3.	Résultats.....	64
8.1.4.	Discussion.....	65
8.2.	VALEURS ANORMALES DE LABORATOIRE	65
8.2.1.	Introduction	65
8.2.2.	Méthodologie	65
8.2.3.	Résultats.....	66
8.2.4.	Discussion.....	67
8.3.	TRAITEMENTS CONCOMITANTS	67
8.3.1.	Introduction	67
8.3.2.	Méthodologie	67
8.3.3.	Résultats.....	68
8.3.4.	Discussion.....	68
IX.	DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION	69
9.1.	CONCLUSION DU PROJET	69
9.2.	CONCLUSION PERSONNELLE	69
	BIBLIOGRAPHIE	71
	ANNEXE.....	75

I. Introduction

1.1. Généralité

J'ai effectué le stage au sein du Centre de Recherche Public de la Santé (CRP-Santé) à Luxembourg du 1er février au 29 juillet 2011. La mission du stage fût la planification et la préparation de l'analyse d'un essai clinique comparant la combinaison thérapeutique nifurtimox et eflornithine au traitement de référence eflornithine en monothérapie pour le traitement de la trypanosomiase humaine africaine à *trypanosoma brucei gambiense* en phase méningo-encéphalique.

Dans les sections suivantes, je décrirai brièvement l'entreprise et l'équipe dans laquelle j'ai eu le plaisir de travailler. Ensuite, j'introduirai le concept des essais cliniques et la trypanosomiase humaine africaine. Puis je parlerai du plan d'analyse statistique et je décrirai des méthodes statistiques : les tests d'homogénéité, les tests de non-infériorité et l'analyse de survie. Finalement je détaillerai les méthodes d'analyse de la tolérance et terminerai avec la conclusion de mon stage.

1.2. Description de l'entreprise d'accueil CRP-Santé

(CRP-santé [13] ; Portail de l'innovation et de recherche [41])

a. Objectifs généraux

Le CRP-Santé est une institution publique créée en 1988 à caractère scientifique et biomédical menant de la recherche fondamentale, préclinique et clinique et de la recherche en santé publique. Comme le CRP-Santé est un institut de recherche public, il dépend à la fois du Ministère de la Recherche et du Ministère de la Santé.

Le CRP-Santé contribue donc à générer de nouvelles connaissances sur le mécanisme des maladies, dans le domaine de l'épidémiologie, du diagnostic et du traitement des maladies. Ces activités améliorent la compréhension des facteurs de santé et contribuent à l'amélioration des structures financières liées aux soins de santé.

La mission principale du CRP-Santé est de développer la recherche biomédicale dans le secteur public ainsi que d'organiser le transfert de technologies et la coopération scientifique et technique entre les entreprises privées et le secteur public.

Une autre mission représente la promotion de la santé publique au travers des campagnes d'évaluation et de sensibilisation, la réalisation d'études sur les financements des soins de santé et le conseil aux autorités luxembourgeoises sur les problématiques de santé.

De plus, le CRP-santé mène des études cliniques pour la mise sur le marché de nouveaux médicaments de concert avec l'industrie pharmaceutique. Le rôle consiste à coordonner la recherche clinique au Luxembourg dans les différents hôpitaux.

Les activités du CRP-Santé sont réparties au sein de 5 départements de recherche à savoir : le Département de Virologie, Allergologie et Immunité, le Département d'Immunologie; le Département d'Oncologie; le Département des Maladies Cardiovasculaires et le Département de Santé Publique; ainsi que de 3 centres de compétences qui offrent des services aux départements ou à des acteurs externes du CRP-Santé : le Centre d'Investigation Clinique et Epidémiologique, le Centre de Ressources en Recherche Biomédicale à Luxembourg , le Centre de Compétences en Méthodologie et Statistique.

b. Le Centre d'Etudes en Santé (CES)

J'ai effectué le stage au sein du Département de Santé Publique et plus précisément au Centre d'Etudes en Santé (CES).

Le CES créé en 2004 a pour objectif de réaliser des études épidémiologiques, d'évaluer les services en santé et les ressources nécessaires et de développer les performances et la compétitivité du secteur de la santé au Grand Duché de Luxembourg. Les hôpitaux, les Caisses de Maladie, les laboratoires du CRP-Santé ainsi que les Centres de Recherche étrangers sont des partenaires du CES. Le CES réalise également des études sur les financements des soins de santé et compare l'efficacité de nouveaux modèles de soins.

Le CES développe et gère les systèmes de surveillance permettant d'apporter de l'information aux partenaires et aux organismes décisionnels en matière de santé publique au Grand Duché de Luxembourg pour définir leurs politiques et stratégies.

Une autre mission consiste à évaluer la situation de santé de la population luxembourgeoise afin de développer des indicateurs de risque de santé et d'apporter des informations pour le développement des politiques de prévention nationale et de comparer le Luxembourg avec les autres pays au niveau européen.

Différents thèmes sont étudiés tels que la périnatalité, les maladies cardio-vasculaires, l'obésité, la nutrition, l'activité physique, le cancer et les maladies neuro-dégénératives comme par exemple la maladie d'Alzheimer.

c. Centre de Compétences en Méthodologie Statistique

Le Centre de Compétences en Méthodologie et Statistique a été créé en mars 2010 afin de répondre aux besoins méthodologiques et statistiques du département de Santé Publique, du Ministère de la Recherche et d'autres laboratoires du CRP-Santé. Il vise également à développer des activités contractuelles avec des organismes nationaux et internationaux dans le domaine de la recherche et le traitement des données en santé publique.

Les activités du Centre de Compétences en Méthodologie et Statistique sont les suivantes:

- Délivrer des conseils méthodologiques pour définir la conception du projet de recherche
- Organiser la gestion des données de l'étude en collaboration avec le gestionnaire de projet,
- Gérer et traiter les données pour des organismes externes,
- Offrir un soutien à l'édition de publications scientifiques,
- Développer et mettre à jour des procédures de qualité liées à la gestion des données sur la base des recommandations internationales.

En 2010, le CCMS a été mandaté par l'Organisation Mondiale de la Santé / Programme Spécial de Recherche et Formation en Maladies Tropicales (OMS/TDR) pour gérer et analyser les données de certaines études du TDR.

L'essai clinique sur lequel j'ai travaillé fait objet de ce contrat. Pendant ce stage, j'étais encadrée par mon tuteur de stage Michel Vaillant, statisticien (CCMS) et Andrea Kuemmerle, pharmacienne (CES).

II. Contexte scientifique

2.1. Les essais cliniques

a. Les quatre phases (GFMgroup[27], Novartis[36], Shostak[48])

Les essais cliniques sont des études menées chez l'être humain pour démontrer la validité d'un nouveau produit thérapeutique (p.ex. un nouveau médicament, une association de médicaments ou une méthode de diagnostic). Les essais cliniques ont pour but d'évaluer les produits thérapeutiques et d'estimer si le bénéfice de leur utilisation est favorable. Au cours du développement clinique leurs conditions optimales d'emploi sont déterminées. Le développement d'un médicament entre le brevet et la commercialisation dure en moyenne 12 ans.

On distingue 4 phases dans le développement d'un produit thérapeutique:

- 1^{ère} phase :
Le nouveau produit est testé pour la première fois chez l'Homme, en général chez des volontaires sains. Dans certains cas, il n'est pas éthique de tester le produit sur les volontaires humains sains, comme en oncologie, par exemple où le produit sera administré à des malades ayant déjà reçu le traitement standard. Avant d'entamer une phase I, le produit a été évalué sur des cultures cellulaires en laboratoire et sur des animaux. Le but de cette phase est de définir la tolérance du nouveau produit et de vérifier si les résultats toxicologiques obtenus lors du développement *in vitro* et préclinique sont comparables à ceux obtenus chez l'Homme. La 1^{ère} phase permet de déterminer la dose maximale tolérée chez l'être humain.
- 2^{ème} phase :
Lors de la 2^{ème} phase, on s'intéresse à la détermination de la posologie optimale du produit en termes d'efficacité et de tolérance sur une population de patients limitée et homogène.
- 3^{ème} phase :
Cette étape a pour objectif de prouver l'efficacité du nouveau produit par rapport à un produit de référence déjà commercialisé ou par rapport à un placebo, c'est-à-dire un traitement sans activité pharmacologique.
- 4^{ème} phase :
Il s'agit de la seule phase qui est réalisée après la commercialisation du produit. Ces essais vont approfondir les connaissances du produit dans les conditions réelles d'utilisation et de ses effets secondaires sur une population importante.

Les phases 2, 3 et 4 peuvent comprendre plusieurs essais cliniques.

b. Conception (design) d'un essai clinique

Durant la phase de conception d'un essai clinique, plusieurs critères doivent être considérés et évalués afin que l'essai soit en mesure de répondre à la question principale posée.

Si un essai comporte plusieurs bras, la **randomisation** permet de réduire le biais de sélection en répartissant aléatoirement les patients entre les groupes de traitement.

Une **étude en ouverte** se traduit par le fait que les médecins et les patients connaissent la nature du traitement utilisé. Dans ce cas, il existe un risque que les résultats soient influencés par le patient ou

le médecin. Les **études en aveugle** permettent d'éviter toute subjectivité de la part du patient et/ou du médecin par rapport aux effets du traitement. **En simple aveugle**, seul le patient ignore le traitement qui lui est administré. **En double aveugle**, ni le médecin ni le malade ne sont au courant de la nature du traitement.

Un **essai clinique unicentrique** est réalisé par un seul investigateur ou une équipe de recherche dans un unique centre d'étude.

On parle d'un **essai clinique multicentrique** si l'essai clinique est réalisé dans plusieurs centres selon le même protocole et par différents investigateurs et équipes de recherche. Les essais multicentriques sont parfois nécessaires pour éliminer le biais propre au site, pour augmenter le nombre de patients ou la vitesse d'inclusion (p. ex. besoin d'un nombre plus élevé de patients qu'un seul site peut recruter).

On distingue entre deux schémas expérimentaux: croisé ou parallèle. On parle d'un **essai clinique croisé** si chaque patient reçoit de manière consécutive chacun des traitements de l'étude. Dans une **étude clinique parallèle**, les patients sont inclus simultanément soit dans le groupe recevant le nouveau traitement, soit dans le groupe contrôle. Les patients reçoivent un seul traitement. Ce type de plan expérimental permet de comparer le nouveau traitement à un traitement contrôle (placebo ou traitement de référence).

Dans le cas d'un schéma parallèle, un essai peut être conçu pour déterminer l'équivalence, la supériorité ou la non-infériorité entre les produits. Un **essai d'équivalence** permet de vérifier qu'il n'y a aucune différence cliniquement significative entre les thérapies. Un **essai de supériorité** est destiné à montrer qu'un traitement est significativement supérieur au placebo ou au médicament de référence. Un **essai de non-infériorité** a pour objectif de démontrer que le nouveau produit n'est pas inférieur au traitement standard.

c. Les lignes directives (guidelines)

Dans le cadre de ce travail, les guidelines publiées par l'European Medicines Agency (EMA), en français Agence Européenne des Médicaments, et l'International Conference of Harmonization (ICH), en français conférence internationale d'harmonisation, ont été suivies afin de respecter les standards internationaux.

Dans les années 1980, l'harmonisation des exigences réglementaires a été initiée par la Communauté Européenne dans le but de se diriger vers le développement d'un marché unique pour les produits pharmaceutiques. Le succès de cette initiative européenne a prouvé qu'une harmonisation est possible. En 1989, les représentants des organismes de réglementation et des associations de l'industrie de l'Union Européenne, des Etats-Unis et du Japon se sont réunis pour fonder l'ICH. Cette conférence internationale a pour objectif de définir un standard unique et d'harmoniser l'intégralité des procédures des essais cliniques sur les produits thérapeutiques au niveau mondial avant leur évaluation et leur enregistrement par les agences gouvernementales d'enregistrement. Ce travail d'harmonisation définit les fonctions et responsabilités des investigateurs et des promoteurs d'essais cliniques, ainsi que le contenu du protocole d'étude. Les documents issus de ce processus d'harmonisation détaillent les bonnes pratiques cliniques, l'analyse statistique, les normes qualité, la tolérance et la terminologie.

Les sujets principaux de travail sont

- Qualité (Q, ICH Quality topic)
- Tolérance (Security) (S, ICH Safety topic)
- Efficacité (E, ICH Efficacy topic)
- Multi-thématiques (M, ICH Multidisciplinary topic)

Créé à l'initiative de l'ICH, le dictionnaire médical MedDRA (Medical Dictionary for Regulatory Activities) a pour objectif d'accélérer et de faciliter les échanges de données cliniques. On y retrouve la terminologie des termes médicaux utilisée pour la classification des informations liées aux événements indésirables. (ICH [32]; CHU Montpellier [11])

L'EMA est une agence communautaire européenne créée en 1995. Elle est chargée d'évaluer, de coordonner et de surveiller le développement des nouveaux médicaments à usage humain et vétérinaire dans l'Union Européenne. L'agence équivalente aux Etats-Unis est la Food and Drug Administration (FDA). L'EMA a adopté des directives élaborées par l'ICH et publie les documents correspondants.

d. Glossaire des documents (Shostak [48])

Les documents relatifs à l'essai clinique utilisés dans le cadre de ce travail sont les suivants:

- Le protocole de l'étude

Le protocole est un document qui contient l'ensemble des informations nécessaires à la réalisation d'un essai clinique. Le protocole est rédigé avant le début de l'étude. Il décrit les objectifs de l'étude, la conception, les produits testés, le déroulement, la méthodologie, le plan d'expérience, les types d'analyse statistique qui seront utilisés et l'organisation de l'essai. C'est le document clé de tout essai clinique. Il doit être accepté par le Comité d'Ethique avant sa mise en application.

- Amendement

L'amendement au protocole est un texte qui décrit une ou plusieurs modifications substantielles du protocole. Un amendement au protocole doit être accepté par le Comité d'Ethique avant sa mise en application.

- Case Report Form

Le *Case Report Form* (CRF), en français cahier d'observation, est un document qui contient toutes les données relatives à un patient de l'étude. Il est rempli par l'investigateur au fur et à mesure des visites du patient. Le CRF contient des informations et résultats d'analyse récoltés lors de l'inclusion, pendant le traitement et lors des visites de suivi. Il est propre à chaque patient. Il est construit d'après le protocole.

- Le plan d'analyse statistique

Le plan d'analyse statistique est un document qui développe et détaille les caractéristiques principales de l'analyse décrite dans le protocole. Il inclut les procédures détaillées pour l'exécution de l'analyse statistique des critères primaires et secondaires ainsi que des autres données. En principe, il est rédigé par le statisticien avant le début de l'étude.

2.2. L'étude NECT

a. Maladie du sommeil

La trypanosomiase humaine africaine (THA), également connue sous le nom de maladie du sommeil, est une maladie parasitaire tropicale transmise à l'homme par la piqûre de la mouche tsé-tsé. Le parasite responsable de la maladie du sommeil s'appelle *Trypanosoma brucei*. C'est un organisme monocellulaire microscopique qui infecte à tour de rôle l'être humain et la mouche tsé-tsé selon la phase de son cycle de reproduction. En 2006, l'OMS estimait qu'entre 50 000 et 70 000 personnes en étaient atteintes et 60 millions de personnes vivaient dans des zones à risque en Afrique subsaharienne (OMS, 2006[38]). Sans traitement, la maladie du sommeil est mortelle.



Figure 1: Mouche tsé-tsé (Hervy [29])

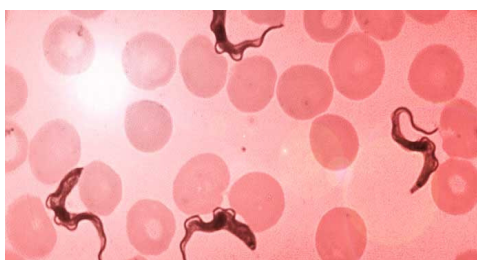


Figure 2: *Trypanosoma brucei* dans le sang (Disease Pictures [17])

La maladie se transmet essentiellement par la piqûre d'une mouche tsé-tsé infectée, mais il existe aussi le risque de contamination *in utero* mère-enfant.

Une personne peut être infectée pendant des mois voire des années sans présenter de signes ou symptômes spécifiques de la maladie. Quand les symptômes surviennent, la maladie est souvent à un stade avancé lorsque le système nerveux central est atteint.

Symptômes : (OMS, 2010[39]; DNDi, 2009 [20]; Burri, 2009 [8])

Le premier stade c'est-à-dire la phase lymphatico-sanguine se caractérise par des poussées de fièvre, des céphalées, des douleurs articulaires et un prurit. Ce sont des symptômes très peu spécifiques et peuvent être confondus avec les symptômes d'autres affections comme le paludisme.

Sans traitement, la maladie progresse irrémédiablement vers le stade 2 lorsque les parasites franchissent la barrière hémato-encéphalique et envahissent le système nerveux central. Il s'agit de la phase neurologique de la maladie. Les signes et symptômes se manifestant à ce stade sont des troubles du sommeil, une détérioration mentale progressive, des convulsions, une paralysie, parfois le coma et finalement, la mort en absence d'un traitement approprié.

Les troubles du sommeil qui sont à l'origine du nom de la maladie, sont des symptômes caractéristiques importants du deuxième stade.

Diagnostic de la maladie:

Le diagnostic de la présence ou non du parasite s'effectue par l'analyse microscopique du sang et du liquide provenant de la ponction ganglionnaire en présence d'adénopathies (c.-à-d. des ganglions lymphatiques enflés). Dans le cas d'un résultat positif ou lors de fortes suspicions, la recherche microscopique du parasite dans le liquide céphalorachidien (LCR) après ponction lombaire est

effectuée afin de déterminer le stade de la maladie et le traitement adéquat (Burri, 2009[8]). La détection du parasite dans le LCR confirme le 2^{ème} stade de la maladie.

b. Justificatif de l'étude :

Traitement :

Les traitements disponibles sont rares, anciens et ne sont administrés qu'à un seul stade de la maladie. En 2003, avant le début de l'étude, seulement deux médicaments étaient reconnus pour le traitement du 2^{ème} stade de la maladie: le mélarsoprol et l'eflornithine. Le mélarsoprol est douloureux, toxique, mortel dans 6-10% des cas et de moins en moins efficace. L'eflornithine (DFMO) est un médicament trypanostatique qui inhibe l'ornithine décarboxylase, une enzyme essentielle pour la multiplication et la différenciation cellulaire. L'eflornithine en intraveineuse 4 fois par jour est difficile à administrer, nécessitant du personnel médical qualifié et une hospitalisation continue. Pendant le traitement, des diarrhées, nausées, douleurs abdominales, plus rarement des anémies, leucopénies ou thrombopénies peuvent apparaître. Ces troubles sont classiquement réversibles s'ils sont gérés de façon appropriées (DNDi, 2008[19]; DNDi, 2009[20]).

Le nifurtimox est un médicament utilisé pour le traitement de la maladie de Chagas, également connue sous le nom *South American Trypanosomiasis*, une maladie parasitaire issue du même genre de *Trypanosoma* mais répandue en Amérique Latine. Le nifurtimox n'est pas reconnu pour le traitement du 2^{ème} stade de la THA, mais une certaine efficacité a été démontrée dans le passé[8]. La toxicité du nifurtimox provoque essentiellement des événements indésirables neurologiques (céphalées, troubles du sommeil, agitation et confusion) et gastro-intestinaux (anorexie, nausées / vomissements et dyspepsie) (Priotto, 2009[43]).



Figure 3: Médicaments utilisés pour le traitement de la THA

Le développement de médicaments alternatifs efficaces est considéré comme une priorité. En attendant qu'une nouvelle molécule soit développée, une première possibilité fût d'évaluer les associations médicamenteuses disponibles. Différentes combinaisons de mélarsoprol, d'eflornithine et de nifurtimox ont été testées (Priotto, 2006 [42]).

L'association de nifurtimox et d'eflornithine s'est avérée la plus prometteuse des options. Ce nouveau traitement plus simple à utiliser combine l'administration de nifurtimox 5mg/kg toutes les 8 heures par voie orale (P.O.) pendant 10 jours et d'eflornithine 200 mg/kg toutes les 12 heures par voie intraveineuse (I.V.) pendant 7 jours.

Entretemps, d'autres études, comme celle menée dans la République démocratique du Congo et la République du Congo ont prouvé la non-infériorité [43]. En 2009, l'OMS a inclus la combinaison

d'eflornithine et de nifurtimox dans la 'Liste des Médicaments Essentiels' pour le traitement de la trypanosomiase humaine africaine. Cette étude a démarré en 2005 avant l'inclusion sur la liste de l'OMS.

2.3. Schéma d'étude

a. L'objectif de l'essai clinique

L'objectif de l'étude NECT (nifurtimox-eflornithine combinaison therapy) est la comparaison de la combinaison thérapeutique (CT) d'eflornithine en administration I.V. et de nifurtimox P.O. au traitement de référence (ST) d'eflornithine I.V. en termes d'efficacité thérapeutique et de tolérance clinique pour le traitement des patients qui souffrent du second stade de la trypanosomiase à *Trypanosoma brucei gambiense* (tbgi).

Dans le cas où l'essai montrerait la non-infériorité de la combinaison par rapport au traitement standard, la combinaison représenterait une thérapie alternative avec une administration plus simple, des coûts moins élevés et une possible protection contre le développement de résistances. L'objectif principal est d'évaluer si l'efficacité de la combinaison nifurtimox-eflornithine est non-inférieure au traitement standard eflornithine.

Les objectifs secondaires sont la détermination de la durée de survie sans signes de rechute parasitaire jusqu'à 18 mois après la fin du traitement ainsi que d'autres indicateurs d'efficacité et la comparaison des indicateurs de tolérance entre les deux groupes de traitements.

b. Critères d'évaluation de l'étude

Le critère principal d'efficacité est le taux de patients guéris 18 mois après la fin du traitement.

Le critère secondaire d'efficacité est la détermination de la durée de survie sans signes de rechute jusqu'à 18 mois après la fin du traitement.

Les critères de tolérance sont :

- l'incidence des événements indésirables par sévérité et relation au traitement
- l'incidence des événements indésirables liés à une interruption du traitement
- l'incidence des événements indésirables graves
- la proportion des patients sans effets indésirables majeurs (grade 3 ou 4, NIH/NCI Common Toxicity)

Les objectifs et les critères d'évaluation sont liés entre eux. Les objectifs décrivent le but ou la question de l'étude. Les critères d'évaluation servent à mesurer si les objectifs sont atteints.

c. Schéma de l'étude

Il s'agit d'un essai clinique de phase III de non-infériorité, randomisé, en ouvert et multicentrique.

Les malades participant sont traités parallèlement dans les groupes de traitement différents. L'attribution à l'un ou l'autre groupe de traitement se fait par randomisation.

L'étude est en ouverte due à la nature de l'administration (le nifurtimox est administré par voie orale et l'eflornithine en intraveineuse). Le médecin et les patients connaissent donc le traitement administré. Selon l'amendement du protocole de 2006, deux sites supplémentaires ont été rajoutés en Ouganda à savoir Moyo et Omugo. L'étude est donc multicentrique.

La non-infériorité sera expliquée en détail dans le chapitre 6.

III. Mission

3.1. Description du travail

Le but du stage est la préparation de l'analyse statistique d'un essai clinique. L'inclusion, le traitement et le suivi des patients sont accomplis, mais les différentes étapes du data management (acquisition, cohérence et validation des données) n'étaient pas encore complètement terminées au moment de la réalisation de mon stage. L'interprétation des résultats a été effectuée sur la base des données disponibles et n'est donc pas définitive.

Les grandes étapes de ce travail de stage sont :

- Rédaction du plan d'analyse statistique
- Réalisation de la programmation de l'analyse statistique de cet essai clinique à l'aide de SAS System® v9.22 (SAS Institute, Cary, NC, USA)
- Réalisation de l'analyse et l'interprétation du critère principal et des critères secondaires de l'essai
- Évaluation de la tolérance

3.2. Données

Les données ont été extraites de la base de données sous forme de fichier Excel 2003®. La base de données originale a été construite selon la structure du cahier d'observation.

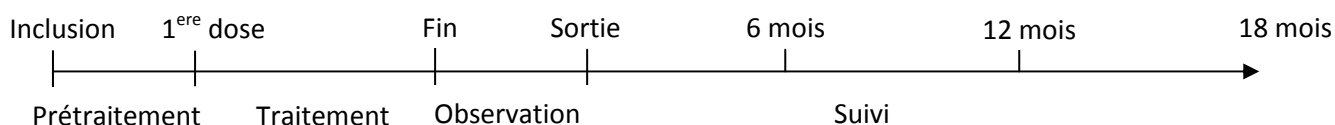


Figure 4 – Déroulement de l'étude

Pour chaque site, on dispose des fichiers suivants:

- **Diagnosis African** contient les résultats de l'examen parasitologique et la date de confirmation de la THA.
- **Signs and Symptoms** comporte tous les signes et symptômes typiques du 2^e stade de la THA et indique la présence, la continuité et le grade de l'intensité.
- **Inclusion Exclusion** reprend l'évaluation des critères d'inclusion et d'exclusion.
- **Relevant Medical History** résume toutes les maladies concomitantes présentes avant l'inclusion.

- **Pre treatment** contient d'une part les informations générales sur les patients : l'âge, l'adresse, la date de naissance, le groupe ethnique, le sexe et d'autre part : la durée entre les premiers signes de la THA et le dépistage, la date et la méthode du dépistage, un diagnostic de THA durant les 36 mois avant le dépistage et le stade de la maladie et le traitement administré.
- **Clinical Assessment** regroupe les résultats des signes vitaux (poids, taille, pression artérielle, etc...) lors de l'inclusion.
- **Laboratory Assessment** contient les résultats des analyses de laboratoire à l'entrée dans l'étude.
- **Drug Group 1 et Drug Group 2** comprennent la date, l'heure et la dose administrée des traitements respectifs pour chaque jour de traitement.
- **Clinical Assessment Day** reprend les résultats des signes vitaux journaliers pendant l'hospitalisation.
- **Laboratory Assessment Day** comporte les résultats des analyses de laboratoire à la fin du traitement et à la sortie de l'hôpital.
- **Cumulative** contient toutes les informations sur les événements indésirables et les traitements concomitants administrés depuis le début du traitement jusqu'à la sortie de l'hôpital.
- **End of Treatment** résume le déroulement de la phase du traitement et d'observation et précise l'état du patient à la sortie, si le traitement a été interrompu ou arrêté prématurément et les raisons explicatives.
- **Parasitological** contient les résultats de l'examen parasitologique de la THA à la fin du traitement.
- **Follow up** contient les résultats des signes vitaux, des analyses de laboratoire biochimique ou hématologique (uniquement faites si les résultats précédents étaient anormaux), de l'examen parasitologique de la THA et les événements indésirables apparus depuis la dernière visite et les traitements administrés pendant la période de suivi.
- **Case Summary** est un fichier récapitulatif qui reprend les dates importantes à savoir la date du test de dépistage, du début et de la fin du traitement, la sortie de l'hôpital et les visites de contrôle pendant le suivi. Il contient également le groupe de traitement.
- **Termination Sheet** résume le déroulement de l'étude : l'interruption de l'étude (oui/non), les raisons d'une interruption et l'état du patient.

Le code du patient et le numéro de site sont les identifiants des patients dans tous les fichiers.

SAS® a été utilisé pour programmer l'analyse statistique de l'étude. La procédure *proc import* a permis d'importer les données dans SAS®. Les tables correspondantes des deux sites ont été fusionnées à l'aide d'un *data set* en programmant une étape *data*.

Avant de préparer la programmation statistique, comme la base de données n'était pas encore nettoyée et que la correction de données brutes sans accord de l'investigateur est interdite dans le cadre d'un essai clinique, uniquement certaines incohérences évidentes, comme des fautes de frappes et le format de certaines colonnes (en format date ou entier) ont été corrigés à l'aide d'un programme développé sous le logiciel SAS® dans une étape *data*.

3.3. Travail préliminaire

En premier lieu, je me suis familiarisée avec les documents de l'étude, c.-à-d. le protocole de l'étude, le cahier d'observation, le codage des variables. Ensuite, j'ai effectué une recherche bibliographique générale sur la maladie de sommeil, la combinaison thérapeutique nifurtimox-eflornithine et la recherche clinique.

Tout au long du stage, j'ai effectué des recherches bibliographiques concernant les thèmes abordés, p.ex. les tests de non-infériorité, les tests non-paramétriques, etc.

3.4. Plan d'analyse statistique

Une des premières tâches à réaliser fût la rédaction du plan d'analyse statistique sur la base du protocole de l'étude.

Selon les documents ICH E9 et les Bonnes Pratiques Statistique (EMA, 1998 [22]), un plan d'analyse statistique (PAS) doit être rédigé pour les études cliniques.

Un PAS est un document qui décrit de façon compréhensible comment les données des essais cliniques seront analysées afin de répondre à la question de recherche. Alors que le protocole comprend une section décrivant l'analyse statistique, le plan d'analyse statistique décrit en détail les méthodes statistiques à utiliser : comment les données seront résumées (statistiques descriptives telles que moyenne et écart-type ou fréquences et pourcentages), les tests statistiques à utiliser (test khi-deux ou test t de Student par exemple). Il définit également les populations d'étude, les fenêtres de temps ou d'autres éléments plus spécifiques. Finalement, l'annexe du PAS comprend les ébauches des tables statistiques ce qui permet de voir précisément la construction des tables, du listing et des graphiques qui seront présentés dans le rapport final¹. Ils sont présentés sous forme de tableaux vides.

Le PAS ne devrait pas être considéré comme un document autonome. Pour obtenir plus de détails sur la conduite de l'étude et les aspects des évaluations cliniques, il faut consulter le protocole.

Dans le cas de cette étude, le PAS n'était pas encore rédigé. Le but est d'écrire le plan d'analyse d'une façon claire pour qu'il soit compréhensible par des non- statisticiens et pour qu'ils puissent prendre des décisions à partir des informations provenant du PAS.

Le PAS d'un autre essai clinique a été mis à disposition comme exemple afin de me donner une idée sur la structure générale d'un tel document.

Le plan d'analyse statistique a été rédigé en anglais et est annexé à ce rapport. Hormis la rédaction en anglais, un des défis rencontrés fût la construction des ébauches des tables. En effet, celles-ci doivent être construites en respectant le cahier d'observation et les variables récoltées et d'autre part être ordonnées logiquement pour le statisticien comme pour le clinicien.

Pendant la programmation, le PAS et le cahier d'observation ont été les documents les plus utilisés.

¹ Le rapport final contient la description complète de l'essai à savoir du matériel et des méthodes utilisées (y compris les méthodes statistiques), une présentation et une évaluation des résultats, les analyses statistiques des résultats et une évaluation critique statistique et clinique.

3.5. Examen diagnostique et évaluation de l'efficacité

Avant de présenter la construction des populations d'analyses et les méthodes statistiques, le diagnostic et la classification de l'évolution de la maladie durant le suivi est décrit ci-dessous.

Dans cette étude, le diagnostic et le suivi de la maladie du sommeil sont évalués à l'aide de trois tests biologiques :

La présence des parasites est détectée d'une part par microscopie directe :

- du liquide lymphatique provenant de la ponction des ganglions (si les ganglions sont enflés),
- de l'examen du liquide céphalo-rachidien (LCR) après ponction lombaire,

et d'autre part, par une analyse du sang en utilisant la technique CTC (capillary tube centrifugation). Il s'agit d'un procédé de concentration dans le sang pour abaisser la limite de détection des trypanosomes.

Les globules blancs (en anglais *White Blood Cells* (WBC)) du LCR sont un marqueur du 2^{ème} stade de la maladie du sommeil.

Voici la classification de l'évolution du patient à la fin de la période de suivi :

Table 1- Classification de l'évolution du patient à la fin de l'étude

Variable dérivée	L'algorithme de dérivation
Rechute	Si • Le test sanguin CTC est positif OU • La microscopie du liquide ganglionnaire est positive OU • La microscopie du LCR est positive
Rechute probable	Si • Le test sanguin CTC est négatif ET • La microscopie du liquide ganglionnaire est négative ou pas faite ET • La microscopie du LCR est négative ET • La clairance de la parasitémie avec WBC dans LCR > 20 /μl
Guérison	Si • Le test sanguin CTC est négatif ET • La microscopie du liquide ganglionnaire est négative ou pas faite ET • La microscopie du LCR est négative ET • La clairance de la parasitémie avec WBC dans LCR < 20 /μl

IV. Les populations d'analyse

4.1. Définition des populations à analyser selon le plan d'analyse statistique

Les définitions des populations à analyser furent révisées par rapport au protocole lors d'une réunion avec le sponsor afin que tous les cas de figure possibles soient pris en compte. Dans la définition de la population par protocole et de la population intention de traiter modifiée du protocole, la condition « les patients qui ont reçu le traitement défini selon le protocole » a été redéfinie. Dans le plan d'analyse statistique, une marge de déviation acceptable par rapport au dosage total a été proposée. De plus, la classification des décès a été détaillée.

- **Population Safety**

Tous les patients inclus dans l'étude qui ont reçu au moins une dose du médicament de l'étude.

- **Population intention-de-traiter (ITT : intention to treat)**

Tous les patients inclus dans l'étude qui :

- ont reçu au moins une dose du médicament de l'étude
- ET
- sont décédés pendant le traitement ou qui étaient non-répondeurs OU
 - ont atteint un point de la fin d'étude défini par le protocole (rechute probable, rechute ou décès au cours du suivi [toutes les causes de décès])
 - pour lesquels les données d'évaluation d'efficacité à la visite de contrôle finale (18 mois, fin de l'étude) ou d'une visite de contrôle précédente définie dans le protocole sont disponibles

- **Population per protocole (PP)**

Tous les patients inclus dans l'étude qui :

- ont reçu au moins une dose du médicament de l'étude ET
 - sont décédés pendant le traitement ou qui étaient non-répondeurs OU
 - pour lesquels le traitement a été interrompu en raison des événements indésirables liés au traitement
- OU
- ont terminé le traitement défini dans le protocole ($\geq 95\%$) ET
 - ont atteint un point de la fin d'étude défini par le protocole (rechute probable, rechute ou décès pendant la période de suivi (follow-up) [toutes les causes de décès sauf la mort manifestement sans rapport avec THA et le traitement]) avant la visite de contrôle final (18 mois, fin de l'étude) OU
 - ont eu une évaluation de l'efficacité à la visite de contrôle finale (18 mois après la fin du traitement)

- **Population intention-de-traiter modifiée (MITT : modified intention to treat)**

Tous les patients inclus dans l'étude qui :

- ont reçu au moins une dose du médicament de l'étude ET
 - sont décédés pendant le traitement ou qui étaient non-répondeurs OU
 - pour lesquels le traitement a été interrompu en raison des événements indésirables liés au traitement
- OU
- ont reçu une quantité minimale définie ($\geq 85\%$) de la dose totale de traitement prévue ET
 - ont atteint un point de la fin d'étude définie par le protocole (rechute probable, rechute ou décès au cours du suivi [toutes les causes de décès])

- pour lesquels les données d'évaluation d'efficacité à la visite de contrôle finale (18 mois, fin de l'étude) ou d'une visite de contrôle précédente défini dans le protocole sont disponibles

Les patients qui sont complètement perdus de vue pendant la période de suivi (*follow-up*) sont définis comme des patients pour lesquels une évaluation à la fin du traitement est disponible, mais qui n'ont pas eu d'évaluation après. Ils sont inclus dans le Safety Analysis Set mais sont exclus des populations ITT, PP et mITT.

Les patients qui sont partiellement suivis sont définis comme les patients pour lesquels on dispose au moins d'une évaluation d'efficacité après la fin du traitement.

Les décès dû à des causes clairement non liées au traitement de l'étude ou à la THA (par exemple accident de voiture) pendant la période de suivi sont exclus de la population PP. Dans les populations ITT et mITT, ils sont définis comme patients avec un suivi partiel et pour lesquels on dispose d'au moins une évaluation d'efficacité après la fin du traitement.

Les différentes populations considérées selon le type d'analyse ont été définies dans le PAS. L'analyse de l'efficacité est basée sur les trois populations ITT, PP et mITT. La Population Safety est utilisée pour évaluer les critères secondaires de la tolérance.

4.2. Méthodologie

Il a été nécessaire de vérifier tous les critères de sélection et les déviations majeures définis dans le protocole afin de détecter d'éventuelles déviations. Pour les critères d'inclusion et d'exclusion, il existe déjà un fichier qui contient l'évaluation de ces critères réalisés par l'investigateur. Mais une détection des déviations majeures a été faite à partir des données brutes.

Les critères d'inclusion:

- 2^e stade confirmé de la trypanosomiase humaine africaine : présence des parasites dans le sang ou LCR ou du liquide ganglionnaire et en cas d'absence de parasite dans le LCR, WBC > 20 / μ l
- Hommes ou femmes non enceintes âgés $\geq$ 15 ans
- Être prêt à respecter les conditions du protocole, être en mesure de venir aux visites de suivi stipulées dans le consentement écrit

Seulement les deux premiers critères pouvaient être contrôlés à partir des données brutes.

Les critères d'exclusion :

- Grossesse ou urine β -hCG positive
- Traité pour la THA 2^e stade au cours des 36 mois derniers
- Impossibilité d'avoir accès au centre de traitement ou d'être joignable au lieu de résidence durant 18 mois après le traitement
- Incapacité de prendre des médicaments par voie orale
- Présence d'autres maladies que la THA 2^e stade qui limitent sérieusement les chances de survie sur 18 mois

- Anémie sévère (Hb<5g/dl)
- Maladies graves sous-jacentes à l'admission
- Insuffisance rénale à l'examen clinique combiné avec une clairance de la créatinine² <20ml/min
- Insuffisance hépatique à l'examen clinique avec une bilirubine totale > 50 µmol/L et ALT > 70 UI/L

Les analyses de laboratoire à l'entrée dans l'étude sont disponibles ce qui a permis de vérifier les critères d'entrée.

Dosage :

Selon le PAS, la dose totale reçue a été calculée. D'abord la fiche des doses prévues selon le poids est fusionnée avec les données de la période de traitement par le poids. La dose journalière théorique et effectivement administrée est calculée. Pour les doses totales reçues, la somme totale est déterminée en utilisant la procédure *proc means*. Dans une étape data, la dose journalière théorique est multipliée par le nombre de jours de traitement prévu selon le protocole. La déviation de la dose totale est déterminée pour chaque patient grâce à la formule :

$$\text{Déviation de la dose totale} = \frac{\text{Dose totale reçue} - \text{Dose totale prévue}}{\text{Dose totale prévue}} * 100\%$$

Pour le groupe recevant la combinaison, la déviation est calculée pour chaque médicament. La valeur maximale des deux différences est choisie pour représenter la déviation de ce groupe de traitement.

Les médicaments concomitants :

Le médicament metronidazole ne doit pas être prescrit de façon concomitante aux patients qui reçoivent du nifurtimox à cause des événements indésirables similaires.

Selon le protocole, tous les patients sont testés pour la malaria à l'entrée de l'étude. Dans le cas d'un résultat positif, un anti-malarique, le Coartem®, est administré. Le traitement NECT doit commencer au moins 1.5 jours après la dernière dose de Coartem®.

Dernier examen parasitologique disponible :

La procédure *proc sql* est utilisée pour récupérer les derniers résultats d'examen parasitologique disponibles. Les résultats sont classés dans les catégories suivantes :

0 : Inconnu

1 : mort au cours de 30 jours (début du traitement + un mois)

2 : mort pendant la période de suivi (un mois après le début du traitement jusqu'à 18 mois)

3 : non répondeur au traitement (recherche du parasite dans le LCR est positif à la visite de sortie)

² La clairance de la créatinine est calculée en utilisant la formule définie dans le protocole

(mL/min) = $\frac{Wt(kg)*140 - age(years)}{72 * serum\ creatinine\ 9mg/dL}$ et pour les femmes : 0.85 * formule.

4 : rechute

5 : rechute probable

6 : guérison probable

7 : guérison

Les patients guéris ou probablement guéris sont classés dans la catégorie « cured » et sont considérés comme des succès. Les autres patients sont considérés comme des échecs. Cette classification est utilisée pour évaluer le critère principal de cette étude par le test de non-infériorité.

La durée entre la fin du traitement et la dernière visite de contrôle est déterminée. Cette étape est nécessaire pour vérifier si une rechute ou un décès est la raison qui a provoqué l'absence à la dernière visite de contrôle de 18 mois.

Dans l'étape *data*, tous ces résultats sont fusionnés selon le site d'étude et le numéro de patient. Les analyses préliminaires sont nécessaires pour définir la population par protocole. Les résultats de ces analyses sont définis par les variables indicatrices. Trois variables sont créées pour définir les populations ITT, PP et mITT et sont initialisées à 1.

Population ITT :

Selon la définition, un patient est inclus dans la population ITT, s'il a reçu au moins une dose de traitement et si on dispose au minimum des résultats parasitaires valables d'un suivi. La variable ITT s'annule si l'évolution parasitaire (catégorie 0 : inconnu), c'est-à-dire au cas où les résultats d'aucune visite de suivi ne sont disponibles ou appropriés pour évaluer l'évolution du patient.

Population mITT:

Dans la population mITT, les patients avec certaines violations du protocole (critères d'entrée, médicaments concomitants) à l'exception d'une violation du protocole de traitement sont inclus. Une déviation du protocole de traitement de -15% est tolérée pour cette population.

Les patients sont donc inclus dans la population mITT s'ils ont reçu 85% de la dose totale. Comme pour la population ITT, les dernières analyses de suivi disponibles sont prises en considération. Le critère de déviation de la dose totale reçue est vérifié pour toutes les catégories à l'exception des patients décédés pendant le traitement. Les patients dont l'évolution n'est pas connue (catégorie 0 : inconnu) sont exclus de la population mITT.

Population PP :

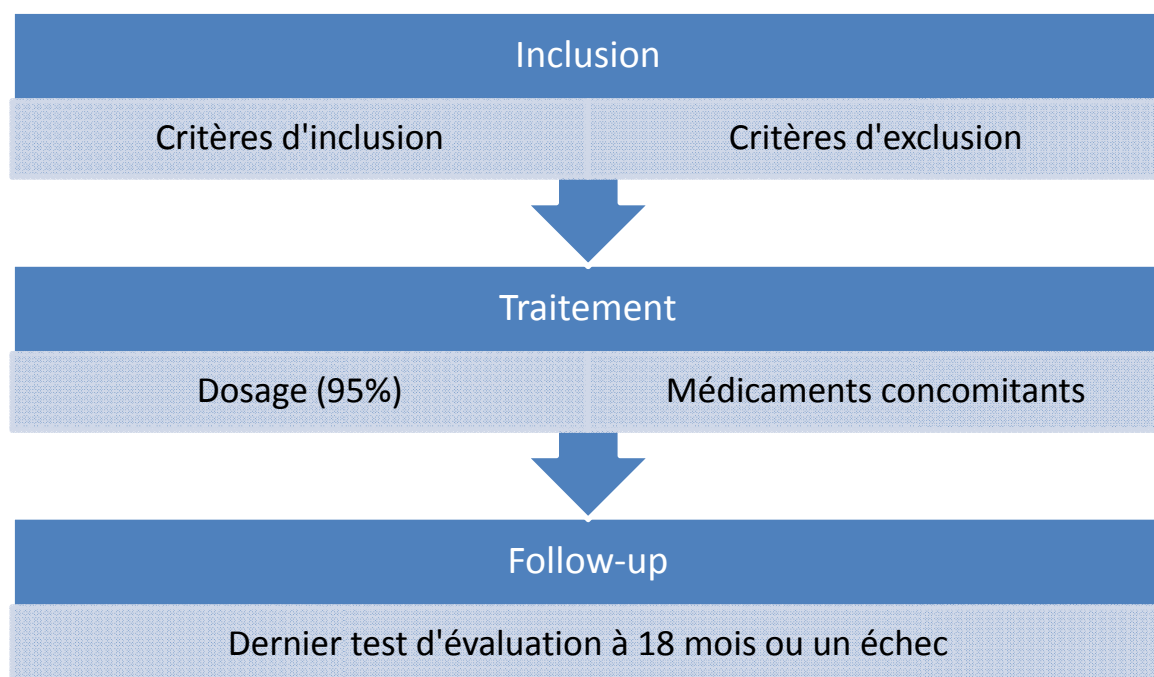


Figure 5 : Les étapes pour la construction de la population per protocole

Pour la construction de la population per protocole, toutes les déviations majeures du protocole sont prises en considération. La tolérance de la déviation de la dose totale reçue est fixée ici à -5%. La fenêtre de temps pour la dernière visite de contrôle est fixée entre 17 et 22 mois pour les patients qui n'ont pas présentés un échec auparavant. Les critères d'inclusion et d'exclusion sont évalués ainsi que les traitements concomitants pendant le traitement. Pour les patients décédés pendant la phase de traitement, seulement les critères d'entrée et les médicaments concomitants sont pris en considération.

4.3. Résultats

Au total, 109 patients ont été inclus dans l'étude.

- **Population ITT :**

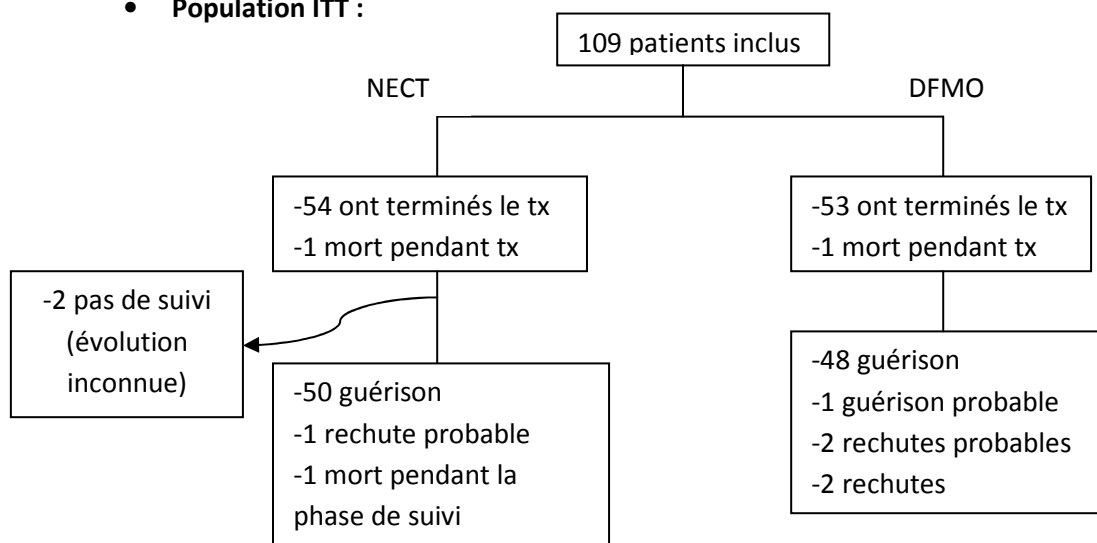


Figure 6 - Répartition de la population Intention-de-traiter

Deux patients ne se sont présentés à aucune visite de contrôle. Ils ont été exclus de la population ITT. Deux patients sont décédés pendant le traitement et sont donc inclus dans la population ITT. Un patient est décédé 11 mois après la fin du traitement. La cause du décès n'était pas disponible lors de la rédaction du rapport et les dernières analyses de suivi de six mois sont incomplètes. Ce patient est classé dans la catégorie « mort pendant la période d'observation » et il est par conséquent inclus dans la population ITT. Au total, 107 patients sont inclus dans la population ITT.

- **Population mITT :**

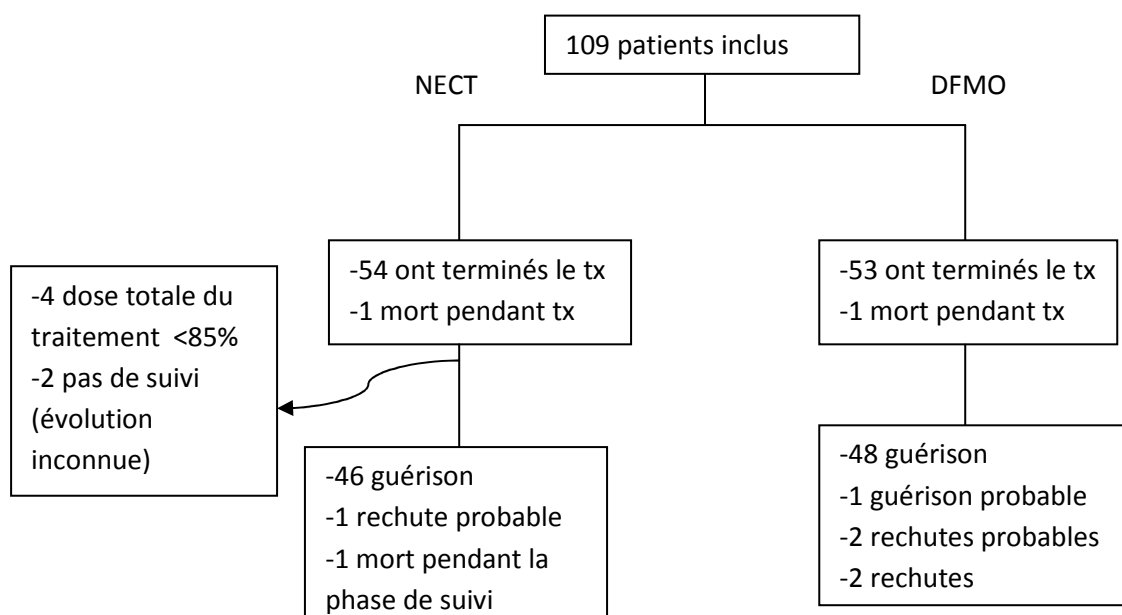


Figure 7 - Répartition de la population Intention-de-traiter modifiée

En plus des deux patients exclus de la ITT, quatre patients n'ont pas reçu la dose prévue et acceptable. Six patients sont exclus de la mITT. Au total, 103 patients sont dans la population mITT.

• **Population PP :**

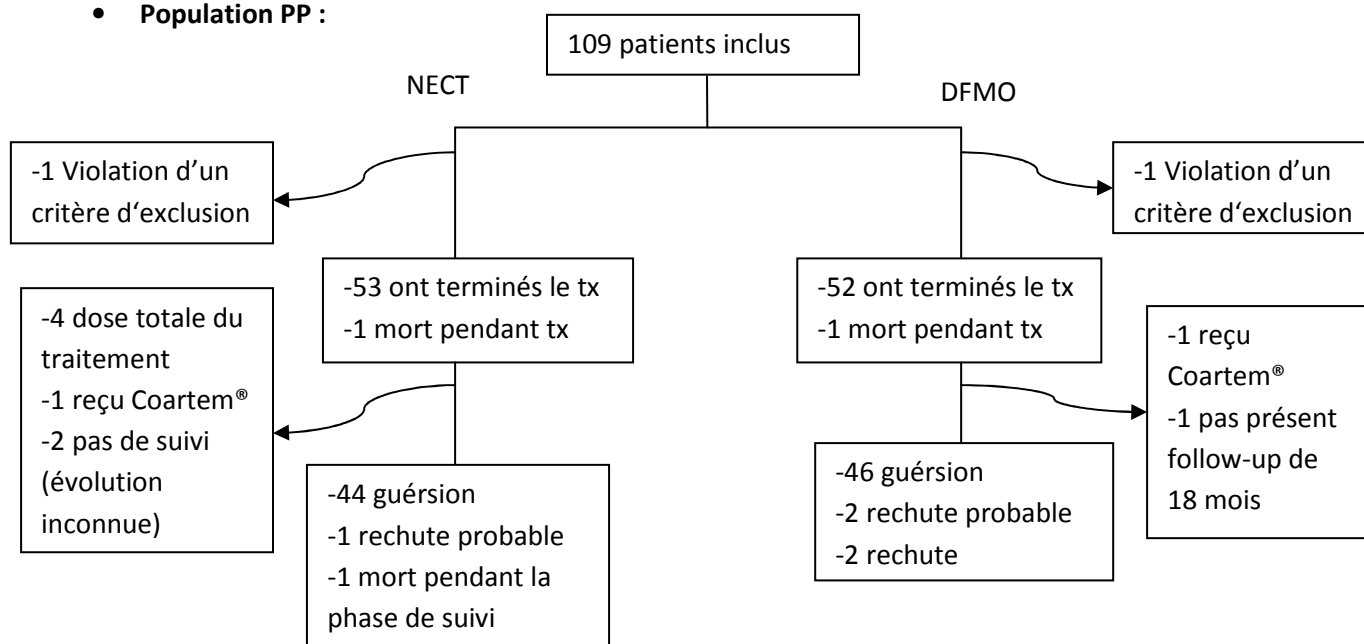


Figure 8 – Répartition de la population per protocole

En plus des six patients exclus de la mITT, cinq patients sont exclus suite à des violations du protocole. Un patient a été exclu, parce qu'il n'est pas venu au dernier contrôle à 18 mois même si les résultats de la visite précédente ont montré une guérison probable. Deux patients ont violé les critères d'exclusion : le premier avait une insuffisance hépatique (ALT=92.5) et l'autre une anémie sévère (Hb<5). Deux autres patients ont été exclus parce qu'ils ont reçu un traitement anti malaria, le premier pendant le traitement NECT et le deuxième n'ayant pas respecté le temps d'attente de 1.5 jours entre les deux traitements.

Au total, 98 patients sont inclus dans la population PP sur 109.

4.4. Discussion

Pour évaluer les critères de l'efficacité, les populations ITT, PP et mITT sont utilisées. On peut voir la population PP comme la plus stricte des trois, car elle respecte le protocole. La population ITT reflète plus la situation dans les conditions de la réalité. Dans un essai de non-infériorité, elle favorise l'absence de mise en évidence d'une différence, c'est-à-dire la non-infériorité. Pourtant cette population reste fondamentale notamment pour le respect de la randomisation. D'autre part, l'analyse per protocole est la plus sensible et la moins biaisée. Elle est plus conservatrice de l'hypothèse de non-infériorité. (D'Agostino, 2003[15] ; Brittain, 2005[6])

Ainsi pour conclure la non-infériorité, il convient de considérer les deux populations d'analyse qui possèdent une importance équivalente et qui présentent les résultats d'un angle différent. Les résultats vont conduire à la fois à une vue non biaisée et représentative de la pratique. Dans le protocole de cette étude, la population mITT est également définie. Dans cet esprit, il est souhaitable que les trois populations analysés conduisent à des résultats similaires afin d'obtenir une interprétation robuste de la non-infériorité.

Il faut noter que les populations d'analyse jouent un rôle différent dans les essais de supériorité ce qui induit une autre interprétation. Dans un essai de supériorité, la population ITT est utilisée comme analyse principale parce qu'elle représente l'effet du traitement dans des conditions proche de la réalité. La population per protocole l'effet du traitement dans les conditions expérimentales, l'effet 'propre' du traitement et est une analyse secondaire.

La population Safety est utilisée pour l'analyse de la tolérance c'est-à-dire l'analyse des évènements indésirables. (EMA, 1998 [22], Chabaud, 2004 [9])

V. Test d'homogénéité et tables statistiques

5.1. Introduction

Dans la partie annexe du plan d'analyse statistique, les ébauches des tables statistiques qui feront partie du rapport final de l'essai clinique sont présentées.

Les tables permettent de comparer les résultats entre les deux groupes de traitement à l'aide des statistiques descriptives.

On observe une variable (quantitative ou qualitative) chez les deux groupes de traitements. Si les échantillons de chaque groupe de traitement sont parfaitement représentatifs d'une même population, les deux sous-populations seront issues d'une même population. Afin de vérifier cette hypothèse, on utilise un test d'homogénéité.

Pour les caractéristiques à l'inclusion, il paraît intéressant de vérifier l'homogénéité entre les deux sites d'étude. Dans le cas d'application d'un test d'homogénéité, une colonne avec la p-valeur est rajoutée.

Les statistiques et les tests d'homogénéité sont expliqués dans les sections suivantes.

5.2. Variables continues

5.2.1. Statistiques descriptives

Pour les variables continues, les statistiques descriptives suivantes sont effectuées pour les groupes de traitement et l'échantillon total :

- taille de l'échantillon, nombre des valeurs manquantes
- moyenne, écart-type
- intervalle de confiance à 95% de la moyenne (si un test d'homogénéité est appliqué et la variable suit une distribution normale).
- médiane, 1^{er} quartile(Q1), 3^e quartile (Q3)
- minimum, maximum

L'intervalle de confiance à 95% de la moyenne m est donné par

$$IC(m) = \left[m - z_{1-\alpha} \frac{\sigma}{\sqrt{n}}, m + z_{1-\alpha} \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right]$$

où $z_{1-\alpha}$ est la variable centrée réduite de la loi normale pour un risque $\alpha=5\%$. Comme la taille des deux échantillons est supérieure à 30, la distribution de la moyenne tend vers une loi normale d'après le théorème central limite.

L'intervalle de confiance de la moyenne ne fait pas de sens dans le cas non-paramétrique et ne sera pas calculé.

De façon générale, les intervalles de confiance permettent de comparer les deux groupes de traitement. Si les intervalles de confiance ne se chevauchent pas, la différence entre les deux groupes

de traitement est statistiquement significative au seuil de 5%. Néanmoins, le cas inverse n'est pas nécessairement juste. Il est erroné de déterminer la signification statistique de la différence entre deux statistiques basées sur les intervalles de confiance qui se chevauchent. (Schenker, 2001 [47], Washington State Department of Health, 2002 [56])

Une autre méthode qui n'est pas appliquée consiste à calculer l'intervalle de confiance de la différence des moyennes. Si cet intervalle de confiance ne contient pas 0, la différence de moyennes est statistiquement significative au seuil de 5%. (Wolfe, 2002[58])

5.2.2. Test d'homogénéité

Une variable continue X est observée de manière indépendante sur les deux populations.

Test préliminaire : Test de normalité

Avant de faire des tests de comparaisons de moyennes, il faut commencer par tester la normalité de la distribution. Si l'hypothèse de normalité n'est pas rejetée, on peut utiliser un test paramétrique. Dans le cas contraire, un test non-paramétrique est à utiliser.

Soit X une variable aléatoire continue. Les hypothèses du test de normalité sont définies par : $H_0: \mathcal{L}(X) = \mathcal{N}$ contre $H_1: \mathcal{L}(X) \neq \mathcal{N}$.

La procédure *proc univariate* calcule quatre tests de normalité à savoir le test de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises, Anderson-Darling.

Les trois derniers tests sont fondés sur la fonction de répartition empirique à des distributions paramétriques ajustées (dont la distribution normale).

Le test de Kolmogorov-Smirnov est moins puissant pour tester la normalité que le test de Shapiro-Wilk ou le test d'Anderson-Darling. (Stephens, 1974[49])

Lorsque le nombre d'observations est inférieur à 2000, la procédure évalue aussi le test de Shapiro-Wilk.

En effet, certains auteurs considèrent le test de Shapiro-Wilk comme étant plus approprié que les autres tests Cramer-von Mises, Anderson-Darling (Stephens, 1974 [49]). D'Agostino et Stephens (1986)[14] ont conclu que le test de Shapiro-Wilk est probablement le plus puissant test d'omnibus pour tester la normalité.

- a. **Test paramétrique : Test t de Student** (DiSantostephano, 1995 [16] ; Chan, 2003 [10] ; Baccini [3] ; Ying Zhang, 2006 [60])
 - i. Introduction

Dans le cas paramétrique (si les échantillons sont de lois normales), la comparaison de deux échantillons revient à comparer leurs moyennes et leurs variances de deux échantillons indépendants. Soient $(X_1, \dots, X_{n_{CT}})$ et $(Y_1, \dots, Y_{n_{ST}})$ deux échantillons indépendants. Les hypothèses du test bilatéral de la comparaison de moyenne sont définies par $H_0: \bar{X} = \bar{Y}$ contre $H_1: \bar{X} \neq \bar{Y}$. On applique le test t de Student.

Lorsqu'il y a plus que 2 échantillons, une analyse de variance à un facteur (ANOVA1) ou le test de Hotelling, une extension multivariée du test t de Student, peuvent être utilisés. (Anderson, 1990 [1])

ii. Test de l'égalité des variances :

Avant de tester l'homogénéité, il faut encore vérifier l'homoscédasticité (égalité des variances) des deux populations, c'est-à-dire tester l'hypothèse nulle $H_0: s_X^2 = s_Y^2$ contre $H_1: s_X^2 \neq s_Y^2$

où s_X^2 est la variance du groupe du nouveau traitement et s_Y^2 est la variance du groupe de traitement de référence.

Les variances des 2 distributions de lois normales sont comparées à l'aide du test de Fisher.

La statistique du test est définie par $F = \frac{s_X^2}{s_Y^2}$.

Ce test est intégré dans la procédure *proc ttest* de SAS.

Dans le cas où ce test prouve l'égalité de la variance, le test t de Student peut être appliqué.

iii. Test t de Student

Ce test paramétrique repose sur la comparaison des moyennes.

Dans le cas de l'égalité des variances et des tailles d'échantillons inégales, la statistique du test t de Student est défini par :

$$t = \frac{(\bar{X} - \bar{Y})}{s \sqrt{\frac{1}{n_{CT}} + \frac{1}{n_{ST}}}}$$

avec $s^2 = \frac{(n_{CT}-1)s_X^2 + (n_{ST}-1)s_Y^2}{(n_{CT}+n_{ST}-2)}$ appelée variance globale (Pooled Variance)

et le degré de liberté $ddl = n_{CT} + n_{ST} - 2$

Dans le cas de l'égalité des variances et des tailles d'échantillons égales, la statistique du test t de Student est défini par :

$$t = \frac{(\bar{X} - \bar{Y})}{s \sqrt{\frac{2}{n}}}$$

avec $s = \sqrt{\frac{1}{2}(s_X^2 + s_Y^2)}$ et le degré de liberté $ddl = 2n - 2$ et n est le nombre de patients dans chaque groupe

D'autre part, si l'homoscédasticité ne peut être conclue, il faut utiliser un test approché : le test t de Welch-Satterthwaite.

Ce test considère les inégalités de variances et corrige les degrés de liberté pour permettre une utilisation de la table de Student.

La statistique t de Welch-Satterthwaite s'écrit :

$$t_{Welch} = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{s_X^2}{n_{CT}} + \frac{s_Y^2}{n_{ST}}}}$$

Les degrés de liberté ne sont pas connus de façon exacte, mais peuvent être estimés par l'approximation de Satterthwaite (utilisé par SAS).

$$ddl = \frac{\left(\frac{s_X^2}{n_{CT}} + \frac{s_Y^2}{n_{ST}}\right)^2}{\frac{s_X^4}{n_{CT}^2(n_{CT} - 1)} + \frac{s_Y^4}{n_{ST}^2(n_{ST} - 1)}}$$

Dans la procédure *proc ttest*, le test de l'égalité de la variance est implémenté. Par ailleurs, cette procédure fournit des résultats pour l'égalité et l'inégalité de la variance.

iv. Exemple d'application : La taille des patients pour la population ITT

- Test de normalité :

En appliquant la procédure *proc univariate* avec l'option « *normal* », le logiciel SAS fournit pour la variable height de la population ITT les résultats suivants :

Table 2 : Test de normalité de la variable taille pour le groupe de traitement NECT

Tests for Normality				
Test	Statistic		p Value	
Shapiro-Wilk	W	0.965242	Pr < W	0.1251
Kolmogorov-Smirnov	D	0.109801	Pr > D	0.1090
Cramer-von Mises	W-Sq	0.11003	Pr > W-Sq	0.0839
Anderson-Darling	A-Sq	0.645667	Pr > A-Sq	0.0899

Table 3: Test de normalité de la variable taille pour le groupe de traitement DFMO

Tests for Normality				
Test	Statistic		p Value	
Shapiro-Wilk	W	0.975753	Pr < W	0.3403
Kolmogorov-Smirnov	D	0.100814	Pr > D	>0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq	0.071903	Pr > W-Sq	>0.2500
Anderson-Darling	A-Sq	0.432404	Pr > A-Sq	>0.2500

Les p-valeurs du test de Shapiro-Wilk des deux groupes de traitement sont au dessus de 5%. Donc on accepte l'hypothèse nulle pour les deux groupes de traitement et on conclut la normalité.

Comme la normalité est vérifiée, on peut appliquer le test paramétrique de comparaison de 2 moyennes pour échantillons indépendants.

La procédure proc ttest fournit les résultats suivants :

Table 4: Test d'égalité des variances

Equality of Variances				
Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	52	53	1.22	0.4755

On accepte l'hypothèse nulle au seuil de 5% et on conclut l'égalité des variances.

Test de comparaison des moyennes :

Table 5: Résultats du test t de Student pour la variable taille

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	105	-1.22	0.2269
Satterthwaite	Unequal	103.57	-1.21	0.2274

La p-valeur (pooled : p-valeur = 0.2269) est supérieure à 5%. On accepte l'hypothèse nulle et on conclut l'égalité des moyennes des deux sous-populations pour la taille (variable height).

b. Test non paramétrique (Baccini [3]; Bertrand, 2010 [4]; Chan, 2003 [10])

i. Introduction

Dans le cas où l'on ne peut pas accepter l'hypothèse de normalité sur les distributions des observations de deux échantillons, il faut faire appel aux tests non paramétriques qui ne font aucune hypothèse sur la nature des deux populations. Dans le cas de deux échantillons indépendants, le test non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon est l'alternative non paramétrique du t-test de Student. Il permet de voir si les deux échantillons suivent la même distribution ou proviennent de la même population. Ce test est aussi connu dans la littérature statistique anglo-américaine sous le nom de « Wilcoxon rank-sum test ».

En 1945, Wilcoxon a introduit le test de la somme des rangs (ou de Wilcoxon) pour le cas de deux échantillons de même taille.

Mann et Whitney (1947) ont développé une statistique équivalente en considérant les tailles d'échantillon inégales et ont proposés des tables statistiques pour les petits échantillons. En effet, ces deux tests, d'une formulation différente, sont équivalents.

Lorsqu'il y a plus de 2 échantillons, le test de Kruskal-Wallis est le plus approprié. Il s'agit de la version non-paramétrique de l'analyse de variance.

ii. Enoncé du test de Mann-Whitney-Wilcoxon :

Une variable continue Z est observée de manière indépendante sur une population divisée en deux sous-populations. Les hypothèses s'écrivent :

$H_0: F_X = F_Y$ (égalité de ces distributions) contre $H_1: F_X \neq F_Y$

où F_X et F_Y désignent les fonctions de répartitions de la sous-population $(x_1, \dots, x_{n_{CT}})$ et de la sous-population $(y_1, \dots, y_{n_{ST}})$.

En raison de la nature de l'hypothèse alternative, il s'agit d'un test bilatéral.

L'ensemble des observations mélangées des deux échantillons est classé dans l'ordre croissant et à chaque observation un rang correspondant est affecté. Ensuite la somme des rangs des observations provenant de chacun des deux échantillons, notées Q_X et Q_Y est calculée séparément.

On en déduit les quantités U_X et U_Y qui sont définies

$$U_X = n_{CT}n_{ST} + \frac{n_{CT}(n_{CT} + 1)}{2} - Q_X$$

et

$$U_Y = n_{CT}n_{ST} + \frac{n_{ST}(n_{ST} + 1)}{2} - Q_Y$$

On pose U^* la plus petite des deux valeurs U_X et U_Y . La variable aléatoire U^* est utilisée pour tester l'hypothèse nulle.

Lorsque n et m sont suffisamment grands (>20), il est possible d'approximer la loi de cette statistique U^* par une loi normale d'espérance $\mu = \frac{n_{CT}n_{ST}}{2}$ et de variance $\sigma^2 = \frac{n_{CT}n_{ST}(n_{CT}+n_{ST}+1)}{12}$.

Lorsque l'hypothèse nulle est vraie: $\mathbb{P}[U^* \leq u] = \Phi\left(\frac{u - \frac{n_{CT}n_{ST}}{2}}{\sqrt{\frac{n_{CT}n_{ST}(n_{CT}+n_{ST}+1)}{12}}}\right)$

où Φ est la fonction de répartition de la loi normale centrée réduite.

Donc le test revient à calculer la statistique

$$Z = \frac{U^* - \frac{n_{CT}n_{ST}}{2}}{\sqrt{\frac{n_{CT}n_{ST}(n_{CT}+n_{ST}+1)}{12}}}$$

L'hypothèse sera rejetée si et seulement si la valeur calculée de Z dépasse la valeur critique de la loi normale réduite.

Pour les échantillons de taille faible (inférieure à 20), l'hypothèse nulle sera rejetée pour un seuil α , si et si et seulement si la valeur calculée de U^* dépasse la valeur critique obtenu par la table de Mann-Whitney.

iii. Exemple d'application : l'âge des patients à l'entrée dans l'étude

Pour la variable âge à l'entrée dans l'étude, la distribution n'est pas gaussienne.

Table 6: Test de normalité de la variable âge pour le groupe de traitement NECT

Tests for Normality				
Test	Statistic		p Value	
Shapiro-Wilk	W	0.860078	Pr < W	<0.0001
Kolmogorov-Smirnov	D	0.157814	Pr > D	<0.0100
Cramer-von Mises	W-Sq	0.308377	Pr > W-Sq	<0.0050
Anderson-Darling	A-Sq	2.03091	Pr > A-Sq	<0.0050

Table 7: Test de normalité de la variable âge pour le groupe de traitement standard DFMO

Tests for Normality				
Test	Statistic		p Value	
Shapiro-Wilk	W	0.894063	Pr < W	0.0002
Kolmogorov-Smirnov	D	0.137331	Pr > D	0.0121
Cramer-von Mises	W-Sq	0.169683	Pr > W-Sq	0.0134
Anderson-Darling	A-Sq	1.236315	Pr > A-Sq	<0.0050

On rejette l'hypothèse nulle (Shapiro-Wilk, p-valeur<0.05) et on ne peut pas donc conclure la normalité au seuil de 5% pour les deux échantillons. Il faut alors utiliser le test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Pour effectuer ce test, il faut utiliser la procédure *proc npar1way* sous SAS avec l'option *wilcoxon*.

Voici les résultats fournis par SAS.

Table 8: Test de Mann-Whitney-Wilcoxon de la variable âge

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable age_years_compositeunit Classified by Variable treatmentgroup					
Treatmentgroup	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	53	2718.50	2862.0	160.236507	51.292453
2	54	3059.50	2916.0	160.236507	56.657407
Average scores were used for ties.					

Wilcoxon Two-Sample Test	
Statistic	2718.5000
Normal Approximation	
Z	-0.8924
One-Sided Pr < Z	0.1861
Two-Sided Pr > Z	0.3722
t Approximation	
One-Sided Pr < Z	0.1871

Wilcoxon Two-Sample Test	
Two-Sided Pr > Z	0.3742
Z includes a continuity correction of 0.5.	

Comme il s'agit d'un test bilatéral, on accepte l'hypothèse nulle au seuil de 5% (p-valeur=0.3722). On conclut que les deux sous-populations suivent la même loi, donc l'homogénéité des deux échantillons pour l'âge est prouvée.

5.3. Changement entre les valeurs initiales et les valeurs obtenues pendant ou après le traitement

i. Méthodologie :

Des valeurs sont mesurées à différents instants avant et après le traitement. Concernant certaines variables des signes vitaux comme le poids, le BMI, le score de Glasgow³, l'index de Karnofsky⁴ et les valeurs de laboratoire comme l'hémoglobine, la numération plaquettaire, les globules blancs et les neutrophiles⁵, il est intéressant de calculer le changement exprimé en pourcentage de la différence entre les valeurs initiales (baseline) et les valeurs récoltées durant ou après le traitement (value). Le but est de mesurer l'effet des interventions thérapeutiques sur ces variables.

Le changement est calculé pour chaque patient à l'aide de la formule suivante: (Shostak, 2005 [48])

$$Change = \frac{value - baseline}{baseline} * 100\%$$

Les changements sont considérés comme des variables continues. Ainsi les statistiques descriptives et les tests d'homogénéité sont déterminés comme pour des variables continues.

Remarque : Il existe une méthode alternative pour tester l'homogénéité: le même échantillon est mesuré deux fois : une fois avant le traitement et une fois après le traitement, donc on parle des échantillons appariés. En cas de normalité, le test t pour deux échantillons appariés est calculé. Dans le cas non-paramétrique, le test de rang de Wilcoxon est le plus approprié.

La méthode utilisée basée sur le changement permet de mesurer l'effet du traitement sur ces variables, de comparer le changement entre les groupes de traitement et facilite donc l'interprétation des résultats.

³ Le score de Glasgow est une échelle déterminant l'état d'un patient suivant le score déterminé en additionnant les scores correspondants à la réponse de chaque stimulus: l'ouverture des yeux, réponse motrice, Réponse verbale. La valeur maximale est à 15.

⁴ L'indice de Karnofsky est un indice permettant d'évaluer l'état (autonomie ou dépendance) d'un patient, notamment en vue de son éventuelle admission en hospitalisation à domicile (définition du Larousse).

⁵ Les neutrophiles sont l'un des cinq principaux types de globules blancs. La principale fonction des neutrophiles est l'ingestion et la digestion de substances spécifiques, en particulier de bactéries virulentes, processus appelé phagocytose (définition mediadico.com).

ii. Réalisation/Programmation

D'abord certaines données de laboratoire ont été transformées en unités afin de pouvoir les comparer à la valeur normale. La créatinine et la bilirubine totale sont transformées de mg/dl en $\mu\text{mol/L}$. La bilirubine totale est multipliée par un facteur de 17.1 et la créatinine par un facteur de 88.4. Un fait que le site 1 ait exprimé les résultats des globules blancs comme prévus dans le cahier d'observation, mais le site 2 les avait exprimés dans l'unité qu'on utilise dans nos analyses, posait un problème. Les résultats du site 1 ont donc été recalculés. Ensuite les résultats des différents instants ont pu être fusionnés selon le numéro du patient et le code de l'hôpital.

La distribution des sous-populations des globules blancs (neutrophile, lymphocyte, monocyte, éosinophile, basophile, autres) est exprimée en pourcentage dans le CRF. Pour obtenir la valeur exacte des sous-populations de globules blancs, il faut multiplier le pourcentage par les résultats globaux des globules blancs. Cela permet de déterminer le changement de façon précise.

Les changements sont calculés selon la formule du changement dans un data set. Les statistiques descriptives et les tests d'homogénéité sont déterminés à l'aide des macros correspondantes. En raison de l'absence de mesure, le changement de la numération plaquettaire n'a pu être calculé.

iii. Exemple d'application

Table 9: Le changement de poids entre l'inclusion et la fin du traitement

Vital Signs			NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)	p-value
Weight (kg)	Change Baseline-D11/15 (%)	Missing	1	1	2	
		N	54	53	107	
		Mean (SD)	-0.92(3.74)	1.49(3.52)	0.28(3.81)	
		Median [Q1,Q3]	-0.62[-3.70, 0.83]	0.00[0.00, 3.17]	0.00[-2.11, 2.00]	0.0009 £
		Min,Max	-7.84,10.35	-4.58,13.64	-7.84,13.64	

5.4. Variables qualitatives

i. Statistiques descriptives

Pour les variables qualitatives, les statistiques descriptives suivantes sont déterminées pour les groupes de traitement et l'échantillon total :

- nombre des valeurs manquantes
- taille de l'échantillon, pourcentage
- intervalle de confiance à 95% du pourcentage (si un test d'homogénéité est appliqué).

Il existe plusieurs méthodes pour calculer l'intervalle de confiance d'une proportion. On distingue entre deux méthodes: la méthode exacte et la méthode approximative.

- **Intervalle de confiance de Clopper-Pearson** (Xiaomin, 2009 [59])

Il s'agit d'un intervalle de confiance exact.

$$\left(\left(1 + \frac{n - n_1 + 1}{n_1 F(1 - \frac{\alpha}{2}, 2n_1, 2(n - n_1 + 1))} \right)^{-1}, \left(1 + \frac{n - n_1}{(n_1 + 1) F(\frac{\alpha}{2}, 2(n_1 + 1), 2(n - n_1))} \right)^{-1} \right)$$

où $F(\alpha, b, c)$ est le quantile d'ordre α de la distribution Fisher avec les degrés de liberté b et c . La borne inférieure est fixée à 0 si $n_1=0$ et la borne supérieure est fixée à 1 si $n_1 = n$.

Les autres méthodes présentées ci-dessous sont basées sur des approximations :

- **Intervalle de confiance asymptotique de Wald** [59]

$$IC(\hat{p}) = \left[\hat{p} - z_{1-\alpha/2} \sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n}}, \hat{p} + z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n}} \right]$$

où $z_{1-\alpha/2}$ est le quantile d'ordre $(1 - \frac{\alpha}{2})$ de la loi normale.

Les conditions d'application sont : $np \geq 5, n(1 - p) \geq 5$

La distribution binomiale est approchée par une loi normale pour n suffisamment grand ($n > 30$).

Lorsque le pourcentage est proche de 0% ou de 100%, les conditions d'application sont violées.

- **Intervalle de confiance d'Agresti-Coull** [59]

$$IC(\tilde{p}) = \left[\tilde{p} - z_{1-\alpha/2} \sqrt{\frac{\tilde{p}(1-\tilde{p})}{\tilde{n}}}, \tilde{p} + z_{1-\alpha/2} \sqrt{\frac{\tilde{p}(1-\tilde{p})}{\tilde{n}}} \right]$$

où $\tilde{n}_1 = n_1 + \frac{z_{1-\alpha/2}^2}{2}$, $\tilde{n} = n + z_{\alpha/2}^2$ et $\tilde{p} = \frac{\tilde{n}_1}{\tilde{n}}$ et $z_{1-\alpha/2}$ est le quantile d'ordre $(1 - \frac{\alpha}{2})$ de loi normale.

- **Intervalle de confiance de Jeffreys [59]**

$$\left(\beta \left(\frac{\alpha}{2}, n_1 + \frac{1}{2}, n - n_1 + \frac{1}{2} \right), \beta \left(1 - \frac{\alpha}{2}, n_1 + \frac{1}{2}, n - n_1 + \frac{1}{2} \right) \right)$$

Où $\beta(\alpha, b, c)$ est le quantile d'ordre α de la distribution beta avec les paramètres b et c . La borne inférieure est fixée à 0 si $n_1=0$ et la borne supérieure est fixée à 1 si $n_1 = n$.

- **Intervalle de confiance de Wilson (score) [59]**

$$\left(\hat{p} + \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{2n} - z_{1-\frac{\alpha}{2}} \frac{\sqrt{\left(\hat{p}(1-\hat{p}) + \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{4n} \right)}}{\left(1 + \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{n} \right)}, \hat{p} + \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{2n} + z_{1-\frac{\alpha}{2}} \frac{\sqrt{\left(\hat{p}(1-\hat{p}) + \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{4n} \right)}}{\left(1 + \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{n} \right)} \right)$$

Où $z_{1-\alpha/2}$ est le quantile d'ordre $(1 - \frac{\alpha}{2})$ de la loi normale.

Brown, Cai et Anirban DasGupta[7] recommandent l'intervalle de confiance de Wilson ou également l'intervalle de Jeffreys pour les échantillons de petite taille ($n \leq 40$). Ces deux intervalles sont comparables en tant qu'erreur absolue et la longueur pour $n \leq 40$ et ils peuvent donc être utilisés indifféremment. Pour les échantillons de grande taille ($n > 40$), les intervalles de Wilson, de Jeffreys et de Agresti-Coull sont tous comparables.

D'après l'article de Xiaomin He et Shwu-Jen Wu [59], toutes les autres méthodes à l'exception de la méthode asymptotique de Wald sont recommandées pour calculer l'intervalle de confiance pour une proportion binomiale. Dans le cas d'une proportion binomiale avec un effectif 0 ou proche, la méthode Agresti-Coull donne toujours l'intervalle de confiance le plus long tandis que Jeffreys calcule le plus court. Du point de vue de la précision, ils recommandent d'utiliser la méthode de Wilson parce qu'elle s'est avérée plus performante que la méthode exacte (Clopper-Pearson).

Suite aux recommandations de certains articles, l'intervalle de confiance de (score) de Wilson est utilisé pour calculer l'intervalle de confiance des pourcentages.

ii. Test d'homogénéité (Grau[28])

Comme pour les variables quantitatives, l'objectif est de voir si les observations d'une variable qualitative sur 2 groupes de traitement permettent de conclure que les échantillons proviennent de la même population.

Dans ce cas, on utilise le test d'homogénéité du khi-deux.

L'hypothèse nulle H_0 suppose l'homogénéité des deux échantillons.

La statistique du test s'écrit

$$D = \sum_{i,j} \frac{(n_{ij} - n'_{ij})^2}{n'_{ij}}$$

avec n_{ij} : effectif observé; n'_{ij} : effectif théorique attendu sous H_0

On sait que $D \rightarrow \chi^2_{(k-1)(l-1)}$ quand H_0 est vraie.

où k est le nombre d'échantillons et l est le nombre de modalités de la variable.

En effet, la statistique du test est la même que pour le test d'indépendance de khi-deux. La seule différence est la définition des hypothèses.

Si les conditions d'application (tous les effectifs théoriques sont supérieurs ou égaux à 5, taille de l'échantillon $n \geq 50$) ne sont pas satisfaites, le test de Fisher est utilisé.

iii. Exemple d'application: Le sexe des patients

Table 10: Tableau de contingence et le test de khi-deux de la variable sexe de la population ITT.

Table of treatmentgroup by sex				
		Sex		Total
		Male	Female	
treatmentgroup				
NECT	Frequency	29	24	53
	Percent	27.10	22.43	49.53
DFMO	Frequency	28	26	54
	Percent	26.17	24.30	50.47
Total	Frequency	57	50	107
	Percent	53.27	46.73	100.00

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	1	0.0882	0.7665
Likelihood Ratio Chi-Square	1	0.0882	0.7665
Continuity Adj. Chi-Square	1	0.0107	0.9178
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	0.0874	0.7675
Phi Coefficient		0.0287	
Contingency Coefficient		0.0287	
Cramer's V		0.0287	

En prenant le sexe comme exemple, le test de khi-deux retourne une p-valeur de 0.7665. Donc le sexe des deux groupes de traitement est issu de la même population.

5.5. Programmation sous SAS®

La syntaxe SAS décrite dans ce paragraphe se trouve dans l'annexe.

5.5.1. Ecriture des macros (Le CNAM [34], Tien [52])

Une macro est un mini-programme qui exécute une tâche répétitive. Afin d'éviter des redondances, l'écriture de macros est nécessaire.

La macro-instruction %MACRO NOM (*nomvar1*,...,*nomvarp*) indique le début du macro-programme NOM et suivi entre parenthèse ses paramètres en entrée. La macro-instruction %MEND NOM indique la fin du macro-programme NOM. Les macros possèdent comme paramètres en entrée la variable pour laquelle on veut déterminer les statistiques descriptives et le fichier. Pour utiliser ces

paramètres dans un programme SAS, on fait précéder le nom de la macro-variable par le caractère &. De plus, le macro-langage permet de passer des paramètres entre les étapes DATA et PROC.

- **Statistiques descriptives**

L'objectif de la macro 'stat' est de renvoyer les statistiques descriptives correspondantes à la variable à l'entrée. En premier lieu, un test de normalité est effectué en vue de déterminer la nature de la variable. La procédure *proc univariate* donne les p-valeurs du test de normalité de Shapiro-Wilk des deux groupes de traitement. Dans une étape data _NULL_, on compare les p-valeurs au seuil de 5%. Une nouvelle macro-variable « normal » est créée à l'aide de l'instruction CALL SYMPUT pour indiquer le résultat de cette comparaison. Si les deux p-valeurs sont plus grandes que 5%, elle prend la valeur 1 et 0 sinon. Si la normalité est prouvée, on appelle la macro 'statpar' qui permet d'effectuer les statistiques descriptives et la comparaison statistique pour les deux groupes de traitement.

La procédure *proc univariate* renvoie le nombre de valeurs manquantes, la taille de l'échantillon n, la médiane, les quartiles Q1 et Q3, le minimum et le maximum. La procédure *proc ttest* calcule la moyenne, son intervalle de confiance et l'écart-type. En effet, la procédure *proc univariate* calcule également la moyenne et l'écart-type, mais non pas l'intervalle de confiance.

Dans le cas non-paramétrique, l'intervalle de confiance de la moyenne n'a pas de sens et ne sera par conséquent pas calculé afin d'éviter des fausses interprétations. La macro 'statnonpar' utilise donc seulement la procédure *proc univariate* et envoie tous les résultats des statistiques descriptives à l'exception de l'intervalle de confiance de la moyenne.

Une autre macro permet de calculer les statistiques descriptives pour l'échantillon total. La démarche reste la même, la seule différence étant le fait que l'intervalle de confiance soit calculé à la main à l'aide d'un data set. Donc seulement la procédure *proc univariate* est appliquée.

Puis dans une étape data, on utilise un tableau (*array*) dans lequel on stocke tous les résultats de sortie. Par exemple, une ligne contient la moyenne et entre parenthèses le résultat de l'écart-type. On crée une variable caractère qui contient ces informations en la définissant à l'aide de l'instruction *put*.

- **Test d'homogénéité**

Le but de la macro nommée 'Homogeneity' est de calculer et de renvoyer la p-valeur du test d'homogénéité approprié. Comme précédemment, la nature de la variable est déterminée en utilisant le test de Shapiro-Wilk. Ensuite, si la normalité est conclue, on fait appel à la macro 'testtStudent' qui renvoie la p-valeur du test t de Student à la macro principale. A l'intérieur de la macro 'testtStudent', le test d'égalité des variances de Fisher est évalué afin de déterminer laquelle de ces méthodes (Satterthwaite ou Pooled) sera la plus appropriée.

Si la normalité de la variable ne peut pas être prouvée, on fait appel à la macro 'testnonparMWW' qui détermine la p-valeur du test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

- **Variables qualitatives**

Pour calculer l'intervalle de confiance de 95% du pourcentage, on définit 2 macros pour un niveau de variable (p.ex. var=1) qui ont pour objectif de calculer l'intervalle de confiance basé sur la méthode de Wilson. On utilise la procédure *proc freq* avec l'option binomial en précisant la méthode *wilson* et le *level* c'est-à-dire la valeur de la variable. A l'aide de l'instruction *where*, le groupe de traitement pour lequel on veut calculer l'intervalle de confiance est indiqué. Comme le groupe de traitement n'est pas inclu dans les résultats de la procédure *proc freq*, il est rajouté dans une étape data.

Dans la macro principale, le nombre de réponses n et le pourcentage sont calculés à l'aide de la procédure *proc freq*. Les résultats de sortie sont résumés dans le vecteur label à l'aide de l'instruction *put*. Puis, pour une variable de deux niveaux, 4 data sets vides sont créés. Dans une étape data *_NULL_*, on teste si une variable dispose de ce niveau dans un groupe de traitement. Si cette condition est vérifiée, la macro correspondante de l'intervalle de confiance de Wilson est appelée et les résultats sont renvoyés à la macro principale. Par la suite, les résultats des intervalles de confiance sont alors fusionnés dans une étape data. Si un niveau n'est pas représenté dans un groupe de traitement, la macro ne produit pas de message d'erreur à la fusion, puisqu'un data set vide était initialisé.

Le test d'homogénéité d'une variable qualitative est calculé dans le programme principal de la table statistique à l'aide de la procédure *proc freq* en utilisant l'instruction *output out=* pour sortir la p-valeur.

5.5.2. Création de la table de sortie

Pour la création des tables finales, l'article de Tien [52] 'Some Tips and Examples for Using SAS® Proc Tabulate' était très utile.

D'abord les intitulés des colonnes sont définis en utilisant la procédure *proc format*.

Dans les macros ou le programme principal de la table, les positions dans les colonnes sont définies.

Dans une étape data, tous les résultats sont fusionnés dans la table SAS 'final' et une variable *START* est créée pour définir la position dans la table finale. Le format de cette variable est défini à l'aide de l'instruction *FMTNAME='value'*. Pour créer ce format, on utilise la procédure *proc format*. La table SAS 'final' est triée par le groupe de traitement et les positions dans les colonnes.

La procédure *proc tabulate* est utilisée pour la création de la table de sortie finale.

5.6. Résultats

Voici un exemple d'une table pour laquelle les méthodes présentées sont appliquées.

Table 11: Caractéristiques démographiques (population Intention-to-treat)

Demographic Characteristics		NECT (N=53)	DFMO (N=54)	All (N=107)	p-value
Age(years)	Missing	0	0	0	
	N	53	54	107	
	Mean (SD)	27.23(12.11)	27.33(8.59)	27.28(10.43)	
	Median [Q1,Q3]	25.00[18.00,34.00]	26.00[22.00,30.00]	25.00[19.00,33.00]	0.3722 £
	Min,Max	15.00,64.00	15.00,60.00	15.00,64.00	
Sex	Missing	0	0	0	
	Male/n(%)	29(54.72%)	28(51.85%)	57(53.27%)	
	Male/[95% CI]	[41.45%,67.34%]	[38.85%,64.61%]	[43.87%,62.45%]	
	Female/n(%)	24(45.28%)	26(48.15%)	50(46.73%)	
	Female/[95% CI]	[32.66%,58.55%]	[35.39%,61.15%]	[37.55%,56.13%]	0.7665 *
Ethnic group	Missing	0	1	1	
	Black/n(%)	53(100.0%)	53(100.0%)	106(100.0%)	
	Black/[95% CI]	[93.24%,100.0%]	[93.24%,100.0%]	[96.50%,100.0%]	NA *
Height(cm)	Missing	0	0	0	
	N	53	54	107	
	Mean (SD)	162.8(1.44)	165.2(1.30)	164.0(10.05)	
	[95% CI]	[159.9,165.7]	[162.6,167.8]	[162.1,165.9]	0.2269 \$
	Median [Q1,Q3]	164.0[158.0,171.0]	164.0[160.0,172.0]	164.0[159.0,172.0]	
	Min,Max	139.0,182.0	137.0,184.5	137.0,184.5	
Screening mode	Missing	23	25	48	
	Active/n(%)	15(50.00%)	12(41.38%)	27(45.76%)	
	Active/[95% CI]	[33.15%,66.85%]	[25.51%,59.26%]	[33.70%,58.34%]	
	Passive/n(%)	15(50.00%)	17(58.62%)	32(54.24%)	
	Passive/[95% CI]	[33.15%,66.85%]	[40.74%,74.49%]	[41.66%,66.30%]	0.5064 *

* : test de khi-deux ; \$: test t de Student ; £ : test de Mann-Whitney-Wilcoxon

La table 12 présente un extrait de table statistique des évaluations cliniques des patients.

Table 12: Poids des patients (Population Safety)

Vital Signs			NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)	p-value
Weight (kg)	Change Baseline-D11/15 (%)	Missing	1	1	2	
		N	54	53	107	
		Mean (SD)	-0.92(3.74)	1.49(3.52)	0.28(3.81)	
		Median [Q1,Q3]	-0.62[-3.70, 0.83]	0.00[0.00, 3.17]	0.00[-2.11, 2.00]	0.0009 £
		Min,Max	-7.84,10.35	-4.58,13.64	-7.84,13.64	
	Weight Gain	n(%)	26(48.15%)	40(75.47%)	66(61.68%)	
	Stationary weight(within 4% loss)	n(%)	18(33.33%)	10(18.87%)	28(26.17%)	
	Weight Loss Grade 1 (5-9%)	n(%)	10(18.52%)	3(5.660%)	13(12.15%)	
	Weight Loss Grade 2 (10-19%)	n(%)	.(.%)	.(.%)	.(.%)	
	Weight Loss Grade 3 (>=20%)	n(%)	.(.%)	.(.%)	.(.%)	
	Change Baseline-D17/21 (%)	Missing	5	7	12	
		N	50	47	97	
		Mean (SD)	-0.36(0.61)	1.01(0.59)	0.30(4.24)	
		[95% CI]	[-1.59, 0.87]	[-0.19, 2.20]	[-0.54, 1.14]	0.1129 \$
		Median [Q1,Q3]	0.00[-2.78, 1.85]	0.00[-1.94, 3.70]	0.00[-2.18, 2.86]	
		Min,Max	-15.7, 8.11	-8.61,13.64	-15.7,13.64	
	Weight Gain	n(%)	28(56.00%)	31(65.96%)	59(55.14%)	
	Stationary weight (within 4% loss)	n(%)	14(28.00%)	13(27.66%)	27(25.23%)	
	Weight Loss Grade 1 (5-9%)	n(%)	7(14.00%)	3(6.383%)	10(9.346%)	
	Weight Loss Grade 2 (10-19%)	n(%)	1(2.000%)	1(2.000%)	1(0.935%)	

Vital Signs			NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)	p-value
	Weight Loss Grade 3 (>=20%)	n(%)	.(.%)	.(.%)	.(.%)	

5.7. Discussion

La table 11 contient les caractéristiques démographiques. Aucune des caractéristiques démographiques à l'inclusion ne possède une p-valeur significative. Les deux groupes de traitement sont homogènes au niveau des données démographiques. On peut donc conclure que la randomisation a été faite de façon appropriée pour les données disponibles.

L'âge et la taille des patients sont des variables continues. La différence entre les deux est que la taille des patients est distribuée selon une loi normale. Le test t de Student est appliqué et montre que la taille des patients est homogène dans les deux groupes de traitement. La variable âge ne suit pas une distribution normale. Le test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon est utilisé pour vérifier l'homogénéité. Il n'existe pas de différence au niveau de l'âge dans les deux groupes de traitement. (p-valeur=0.3722)

Le sexe, le groupe ethnique et le mode de dépistage sont des variables qualitatives, pour lesquels un test de khi-deux est utilisé pour tester l'homogénéité. La distribution du sexe est homogène dans les deux groupes de traitement. Pour le groupe ethnique, le test de khi-deux ne pouvait pas être appliqué, comme tout le monde appartient au groupe ethnique africain. Pour un patient, cette information n'était pas remplie. Les patients ont été recrutés grâce à un dépistage passif lorsque les patients viennent consulter directement au site d'étude, ou par dépistage actif c'est-à-dire par des équipes mobiles qui organisent des dépistages systématiques de la maladie du sommeil dans les villages. Dans le groupe DFMO, 59% de patients se sont présentés dans un des centres d'étude. Il faut noter que pour 48 patients donc presque la moitié le mode de dépistage est inconnu. Au niveau des groupes de traitement, le mode de dépistage est homogène (p-valeur=0.5064).

La table 12 présente les changements de poids pendant l'hospitalisation. On remarque que le poids a évolué de façon significativement différent entre l'inclusion et la fin du traitement (Jour 11/15). En terme clinique, cette différence paraît cependant négligeable étant donné que les patients sous NECT ont perdu moins de 1% de poids en moyenne et ceux sous DFMO ont gagné 1.5%. Il n'y a personne qui a perdu beaucoup de poids. Dans le groupe NECT, 18% patients ont perdus entre 5-9% de leur poids pendant le traitement contre 5% dans le groupe de référence entre le début du traitement et le jour 11/15. Ces nombres se réduisent à 14% et 6% respectivement entre le début du traitement et le jour 17/21. Un test d'homogénéité n'était pas prévu pour la classification du poids, donc on ne peut pas conclure une différence statistiquement significative. Le nifurtimox a tendance à provoquer des vomissements et des nausées ce qui peut être une cause de cette perte de poids (Priotto, 2009[43]). On remarque que le changement de poids s'est stabilisé pendant la phase d'observation.

VI. Critère principal d'évaluation d'efficacité : Test de non-infériorité

6.1. Introduction

Pour qu'un nouveau traitement soit adopté, il faut démontrer que ce traitement apporte un progrès par rapport au traitement de référence. Le progrès thérapeutique peut par exemple se caractériser par une efficacité supérieure à celle du traitement de référence. Dans ce cas, la preuve est apportée par un essai visant à montrer la supériorité du nouveau traitement (essai de supériorité).

En outre, les essais versus placebo posent des problèmes éthiques (Temple, 2000[51]) et il est devenu difficile de développer des médicaments plus performants, lorsque les taux de succès des traitements de référence avoisinent 90 à 95%. Les entreprises pharmaceutiques essaient de développer de nouveaux traitements d'efficacité similaire ou faiblement inférieure à un traitement de référence, mais présentant un bénéfice pour le patient en termes du coût, tolérance ou de l'administration. Dans ce cas, il s'agit d'essais cliniques de non-infériorité. (Snapinn, 2000[46])

Une étude de non-infériorité est la comparaison d'un nouveau traitement avec un traitement de référence qui vise à déterminer si la différence d'efficacité entre le nouveau médicament et le contrôle actif est suffisamment négligeable c'est-à-dire non-inférieure à une marge prédéterminée. Le but d'un essai de non-infériorité est de montrer qu'il n'y a pas de perte significative d'efficacité si le nouveau traitement évalué est utilisé à la place du traitement de référence.

On note δ la perte d'efficacité acceptable par rapport au traitement de référence que l'on consent. Ce seuil est déterminé par le médecin et le statisticien sur base de la littérature existante et des données historiques. (D'Agostino, 2003 [15], ICH E10 Choice of control group, 2001[24])

Dans cette étude, l'administration d'un placebo n'est pas éthique, car la maladie est mortelle sans médicament et le traitement peut sauver la vie des malades. La combinaison nifurtimox-eflornithine possède les avantages suivants : une hospitalisation plus courte (le traitement de combinaison se termine après 10 jours au lieu de 14 jours pour le traitement de référence), l'administration plus facile (eflornithine : voie intraveineuse 2 fois par jour pendant 7 jours, nifurtimox: voie orale 3 fois par jour pendant dix jours au lieu d'eflornithine 4 fois par jour pendant 14 jours pour le traitement de référence) et moins de risque de développement d'une résistance au traitement lorsqu'on utilise une association thérapeutique. L'objectif principal de cet essai clinique est de démontrer que l'efficacité de la combinaison est comparable à la référence monothérapie, tout en acceptant que l'efficacité du traitement en question soit un peu inférieure au traitement de référence. On ne s'attend pas à ce que la nouvelle combinaison soit plus efficace.

6.2. Test de non-infériorité d'une réponse binaire

On note :

- p_{CT} : le taux de patients guéris dans le groupe de la combinaison de médicaments nifurtimox-eflornithine 18 mois après la fin du traitement
- p_{ST} : le taux de patients guéris dans le groupe du traitement de contrôle eflornithine 18 mois après la fin du traitement.

Afin de comparer l'efficacité des deux traitements et d'obtenir une mesure d'efficacité du nouveau traitement, on peut considérer différentes méthodes : différence de proportions, risk ratio et odds ratio.

6.2.1. Différence de proportions

a. Introduction et méthodologie

Il s'agit de la méthode la plus utilisée en pratique à cause de l'interprétation facile. C'est aussi la méthode définie dans le protocole. Les autres méthodes sont présentées afin de voir les différentes approches existantes pour établir la preuve de non-infériorité.

On note δ la marge de non-infériorité acceptable par rapport au traitement de référence que l'on consent. Cette perte d'efficacité est fixée à $\delta=10\%$ par le protocole.

Les hypothèses du test unilatéral de non-infériorité sont définies par :

Hypothèse nulle : Le traitement NECT est inférieur à la référence eflornithine c'est-à-dire $H_0: D = p_{CT} - p_{ST} \leq -\delta$.

Hypothèse alternative : Le traitement NECT est non inférieur au traitement standard c'est-à-dire $H_1: D = p_{CT} - p_{ST} > -\delta$.

L'intervalle de confiance bilatéral à 90% de la différence de proportions est par la formule

$$(1 - 2\alpha) * 100\% IC = p_{CT} - p_{ST} \pm z_{1-\alpha} \sqrt{Var(p_{CT} - p_{ST})}$$

$$= p_{CT} - p_{ST} \pm z_{1-\alpha} \sqrt{\frac{p_{CT}(1-p_{CT})}{n_{CT}} + \frac{p_{ST}(1-p_{ST})}{n_{ST}}}$$

avec $z_{1-\alpha} = 1.645$

La statistique du test associé (Tunes, Logan, Klein [54]) est définie par

$$\varphi_D = \frac{(\widehat{p}_{CT} - \widehat{p}_{ST} + \delta)}{\sqrt{\frac{\widehat{p}_{CT}(1-\widehat{p}_{CT})}{n_{CT}} + \frac{\widehat{p}_{ST}(1-\widehat{p}_{ST})}{n_{ST}}}} \quad (1)$$

avec n_{ST} et n_{CT} les nombres d'observations des groupes correspondants et $\widehat{p}_{CT}$ et $\widehat{p}_{ST}$ les estimateurs de taux de patients guéris dans les groupes de traitement correspondants 18 mois après la fin du traitement.

La non-infériorité sera conclue au niveau α si $\varphi_D > z_{1-\alpha}$ où $z_{1-\alpha}$ est le quantile d'ordre $1-\alpha$ de la loi normale.

Le test de non-infériorité repose sur l'utilisation d'un intervalle de confiance autour de la différence de proportions des taux de guérison.

On observe les limites de l'intervalle de confiance par rapport à la marge de non infériorité $-\delta$.

Pour qu'il y ait non-infériorité, la limite inférieure de l'intervalle de confiance des résultats observés doit être supérieure à la borne de non infériorité $-\delta$ fixée. Dans ce cas, l'hypothèse nulle sera rejetée

et l'hypothèse alternative sera acceptée, alors le traitement combiné sera conclu non-inférieur au traitement utilisé actuellement.

Si la limite inférieure de l'intervalle de confiance est en dessous de -10%, alors l'hypothèse nulle ne peut pas être rejetée. Par conséquent, le nouveau traitement a une efficacité inférieure au traitement de référence.

Comme il s'agit d'un test unilatéral, le risque d'erreur est défini à 5% par le protocole.

b. Puissance et taille de l'échantillon (Tunes da Silva, 2008 [54])

La puissance doit être interprétée différemment pour les tests de non-infériorité que pour les tests traditionnels. En effet, dans le cas d'une hypothèse classique de supériorité, la puissance se réfère à la vraisemblance de conclure à la différence de traitements. Dans le cadre de la non-infériorité, la puissance se réfère à la probabilité de conclure correctement que la combinaison de traitements est non inférieure au traitement de référence, quand elle est vraiment non inférieure.

La puissance dépend à la fois de la marge de non-infériorité et de la vraie différence de proportions. Dans le cas où le nouveau traitement est considéré comme non-inférieur, on suppose que la différence vaut zéro. Dans le cas balancé avec $n = n_{CT} = n_{ST}$, la taille de l'échantillon nécessaire pour avoir une puissance prédéterminée $1 - \beta$ est donnée par

$$n = \frac{2(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2 p_{ST}(1 - p_{ST})}{\delta^2}$$

où z_β est la valeur telle que $\Phi(z_{1-\beta}) = 1 - \beta$. D'après le protocole : $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.1$, $p_{ST} = 0.93$ et d'après la table de la loi normale $z_{1-\alpha} = 1.64$ et $z_{1-\beta} = 1.28$.

Pour pouvoir conclure à la non-infériorité, il faut avoir $n=112$ patients par groupe.

En effet, l'étude n'est pas encore finalisée. Les résultats présentés dans ce travail ne seront pas communiqués au sponsor étant donné qu'une analyse intermédiaire n'était pas planifiée dans le protocole.

c. Exemple d'application

i. Population en intention-de-traiter

La table 13 représente le tableau de contingence de la population ITT obtenu par la *proc freq*.

Table 13: Tableau de contingence de la population en intention de traiter

Traitement		Guérison		Total
		Taux d'échecs	Taux de succès	
Eflornithine / Nifurtimox	Effectif	3	50	53
	Pourcentage	2.80	46.73	49.53
	Pourcentage ligne	5.66	94.34	
Eflornithine	Effectif	5	49	54
	Pourcentage	4.67	45.79	50.47
	Pourcentage ligne	9.26	90.74	
Total	Effectif	8	99	107
	Pourcentage	7.48	92.52	100.00

D'après le protocole, on calcule un intervalle de confiance bilatéral de 90% :

$$90\% IC = [-0,0473; 0,1193]$$

La borne inférieure de l'intervalle de confiance est au dessus de la marge de non-infériorité. Le test est significatif au seuil de 5%, on rejette l'hypothèse nulle et on accepte l'hypothèse alternative qui implique la non-infériorité.

La statistique du test vaut en appliquant la formule (1) : $p_D = 2.686 > z_{1-\alpha}$.

On rejette l'hypothèse nulle et on conclut la non-infériorité.

De plus, en utilisant la procédure *proc freq* avec l'option *riskdiff* avec des préférences nécessaires pour la non-infériorité en croisant le groupe de traitement avec le taux de guérison, SAS fournit comme résultat:

Table 14: Le test de non-infériorité calculé par SAS pour la population ITT

Noninferiority Analysis for the Proportion (Risk) Difference						
H0: P1 - P2 <= -Margin			Ha: P1 - P2 > -Margin			
Margin = 0.1			Wald Method			
Proportion Difference	ASE (Sample)	Z	Pr > Z	Noninferiority Limit	90% Confidence Limits	
0.0360	0.0506	2.6859	0.0036	-0.1000	-0.0473	0.1193

Donc le logiciel a confirmé les résultats trouvés par calcul et une p-valeur de 0.0036.

Le test est significatif au seuil de 5% et on rejette l'hypothèse nulle.

La non-infériorité a été montrée par inférence sur les intervalles de confiance et de test statistique.

ii. Population per protocole

Voici le tableau de fréquence pour la population per protocole.

Table 15: Tableau de contingence de la population per protocole

Traitement		Guérison		Total
		Taux d'échecs	Taux de succès	
Eflornithine / Nifurtimox	Effectif	3	44	47
	Pourcentage	3.06	44.90	47.96
	Pourcentage ligne	6.38	93.62	
Eflornithine	Effectif	5	46	51
	Pourcentage	5.10	46.94	52.04
	Pourcentage ligne	9.80	90.20	
Total	Effectif	8	90	98
	Pourcentage	8.16	91.84	100.00

L'intervalle de confiance bilatéral de 90% vaut en appliquant la formule:

$$90\% IC = [-0.0560, 0.1244]$$

La borne inférieure de l'intervalle de confiance est au dessus de la marge de non-infériorité. Le test est significatif au seuil de 5%, on rejette l'hypothèse nulle et on accepte l'hypothèse alternative qui implique la non-infériorité.

En appliquant la formule (1), la statistique du test vaut: $\rho_D = 2.4485 > z_{1-\alpha}$.

Ces résultats sont confirmés par la table ci-dessous :

Table 16: Le test de non-infériorité calculé par SAS pour la population PP

Noninferiority Analysis for the Proportion (Risk) Difference						
H0: P1 - P2 ≤ -Margin			Ha: P1 - P2 > -Margin			
Margin = 0.1			Wald Method			
Proportion Difference	ASE (Sample)	Z	Pr > Z	Noninferiority Limit	90% Confidence Limits	
0.0342	0.0548	2.4482	0.0072	-0.1000	-0.0560	0.1244

On rejette l'hypothèse nulle au seuil de 5% et on conclut la non-infériorité pour la population per protocole.

iii. Population en intention-de-traiter modifiée

Les résultats de la procédure *proc freq* sont résumés dans la table.

Table 17: Tableau de contingence de la population en intention de traiter modifiée

Traitement		Guérison		Total
		Taux d'échecs	Taux de succès	
Eflornithine / Nifurtimox	Effectif	3	46	49
	Pourcentage	2.91	44.66	47.57
	Pourcentage ligne	6.12	93.88	
Eflornithine	Effectif	5	49	54
	Pourcentage	4.85	47.57	52.43
	Pourcentage ligne	9.26	90.74	
Total	Effectif	8	95	103
	Pourcentage	7.77	92.23	100.00

L'intervalle de confiance bilatéral de 90% vaut en appliquant la formule: 90 % IC = [-0.0546, 0.1173]

Comme pour les deux autres populations, l'intervalle de confiance de la différence est au-dessus de la marge de non-infériorité.

De plus, en appliquant la formule (1), la statistique du test vaut: $\rho_D = 2.5155 > z_{1-\alpha}$.

Ce résultat est également confirmé par la table qui contient la sortie du test calculé par le logiciel SAS, donc on rejette l'hypothèse nulle.

Table 18: Le test de non-infériorité calculé par SAS pour la population mITT

Noninferiority Analysis for the Proportion (Risk) Difference						
H0: P1 - P2 ≤ -Margin			Ha: P1 - P2 > -Margin			
Margin = 0.1			Wald Method			
Proportion Difference	ASE (Sample)	Z	Pr > Z	Noninferiority Limit	90% Confidence Limits	
0.0314	0.0522	2.5148	0.0060	-0.1000	-0.0546	0.1173

6.2.2. Risk Ratio

Dans certains articles, l'utilisation du risque relatif $RR = \frac{p_{CT}}{p_{ST}}$ est proposée.

Néanmoins, le risque relatif possède plusieurs désavantages majeurs (voir Tu 1998 [53], Garrett 2003 [25], Wellek, 2005 [57]). Un inconvénient majeur est le manque de symétrie si le succès et l'échec sont échangés.

Par ces motifs, cette méthode n'est pas utilisée pour démontrer la non-infériorité. De plus, la méthode valide pour le risque relatif ressemble à celle du rapport de cotes.

6.2.3. Odds Ratio

a. Introduction et méthodologie

On note $OR = \frac{p_{CT}(1-p_{ST})}{p_{ST}(1-p_{CT})}$ l'odds ratio des taux de guérison des deux groupes de traitement.

Les hypothèses du test de non-infériorité basées sur le rapport des cotes (odds ratio) sont définies par $H_0: OR \leq \delta_{OR}$ contre $H_1: OR > \delta_{OR}$ où $\delta_{OR} > 0$ est la marge de non-infériorité en termes d'odds ratio.

Le test de non-infériorité peut être adapté à l'échelle des odds ratio en utilisant l'approche des intervalles de confiance. Il faut d'abord construire un intervalle de confiance pour les odds ratio $(1-2\alpha)*100\%$.

Alors si l'intervalle de confiance est entièrement au dessus de δ_{OR} , on peut conclure la non-infériorité au seuil α . (Tunes da Silva, 2008 [54])

Les hypothèses peuvent se réécrire sous forme des $\ln(\text{odds ratio})$:

$$H_0: \ln(OR) \leq \ln(\delta_{OR}) \text{ contre } H_1: \ln(OR) > \ln(\delta_{OR})$$

Le calcul de l'intervalle de confiance de l'odds ratio se fait par l'intermédiaire de l'intervalle de confiance de son logarithme népérien, car le logarithme népérien de l'odds ratio est distribué selon une loi normale et il est possible d'approcher sa variance.

Intervalle de confiance pour $\ln(OR)$:

$$\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{\text{Var}(\ln(OR))} = \ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}$$

$$\text{avec } \text{Var}(\ln(OR)) = \frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}$$

où A : effectif des patients non guéris du groupe de la combinaison de médicaments

B : effectif des patients guéris du groupe de la combinaison de médicaments

C : effectif des patients non guéris du groupe de traitement de référence

D : effectif des patients guéris du groupe de traitement de référence

$$\text{Intervalle de confiance pour l'OR : } [\exp(\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{\text{Var}(\ln(OR))})]$$

La statistique du test (Wang, 2000[55]) s'écrit :

$$\varphi_{OR} = \ln \left(\frac{\overline{OR}}{\delta_{OR}} \right) * \left[\frac{1}{n_{CT}p_{CT}(1-p_{CT})} + \frac{1}{n_{ST}p_{ST}(1-p_{ST})} \right]^{-1/2} \quad (2)$$

La non-infériorité sera conclue au seuil α si $\rho_{OR} > z_{1-\alpha}$ où $z_{1-\alpha}$ est le $(1-\alpha)$ - quantile de la loi normale.

Remarque : La marge de non-infériorité de la différence a une valeur correspondante différente sur l'échelle de l'OR. En effet, il n'existe pas de texte réglementaire qui propose une formule pour la transformation de la marge de non-infériorité de différence sur l'échelle odds ratio. Quelques auteurs indiquent des valeurs prédéfinies basées sur un taux de guérison de la référence de 50%. (ex. Garrett, 2003 [25] ; Tunes da Silva, 2008 [54])

Dans le protocole, le taux de guérison du traitement standard est fixé à 93%. On va utiliser une méthode de transformation de la marge.

Méthode proposée par Wellek [57] :

Il propose une formule de transformation de la marge de non-infériorité de la différence en seuil de non-infériorité sur l'échelle d'odds ratio :

$$\varepsilon = \frac{\delta}{(1-p_{ST}+\delta)*p_{ST}} = \frac{0.1}{(1-0.93+0.1)*0.93} = 0.6325$$

Il redéfinit les hypothèses du test de non-infériorité pour les odds ratio :

$$H_0: OR \leq 1 - \varepsilon \text{ contre } H_1: OR > 1 - \varepsilon$$

Finalement, la marge de non-infériorité basée sur les odds ratio vaut

$$\delta_{OR} = 1 - \varepsilon = 1 - 0.6325 = 0.3675$$

b. Puissance et taille de l'échantillon

D'après l'article de Rousson [44], la taille de l'échantillon nécessaire pour atteindre une puissance souhaitée $1-\beta$ est obtenue en posant :

$$n = \frac{2(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2}{p_{ST}(1-p_{ST})(\ln(\delta_{OR}))^2}$$

Le protocole donne $p_{ST} = 0.93$, $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.1$ et $z_{1-\alpha} = 1.64$ et $z_{1-\beta} = 1.28$. On obtient $n=262$ observations par groupe de traitement.

c. Exemple d'application

i. Population Intention-de-traiter

Calcul de l'Odds Ratio:

$$OR = \frac{p_{CT}(1-p_{ST})}{p_{ST}(1-p_{CT})} = \frac{0.9434(1-0.9074)}{0.9074(1-0.9434)} = 1.701$$

Intervalle de confiance pour $\ln(OR)$:

$$\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\ln(OR))} = [-0.7148, 1.7772]$$

Intervalle de confiance pour l'OR :

$$[\exp(\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\ln(OR))})] = [0.4892, 5.9135]$$

En effectuant une régression logistique du taux de patients guéris en fonction du groupe de traitement, SAS fournit un OR = 1.701 et un intervalle de confiance de 90% [0,489 ; 5.912].

Donc l'intervalle de confiance est entièrement au-dessus de la marge de non-infériorité. Par cette approche, on peut conclure la non-infériorité.

Il reste à calculer la statistique du test.

En appliquant la formule énoncée (2), on obtient: $\rho_{OR} = 2.0229 > z_{1-\alpha} = 1.645$. On rejette l'hypothèse nulle.

Finalement, on a prouvé la non-infériorité à l'aide des odds ratio.

ii. Population Per Protocol

Calcul de l'Odds Ratio:

$$OR = \frac{p_{CT}(1 - p_{ST})}{p_{ST}(1 - p_{CT})} = \frac{0.9362(1 - 0.9020)}{0.9020(1 - 0.9362)} = 1.5942$$

Intervalle de confiance pour $\ln(OR)$:

$$\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\ln(OR))} = [-0.7842, 1.7167]$$

Intervalle de confiance pour l'OR :

$$[\exp(\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\ln(OR))})] = [0.4565, 5.9135]$$

SAS a calculé un odds ratio OR= 1.594 et un intervalle de confiance de [0.457, 5.566]. La statistique du test (2) vaut $\rho_{OR} = 1.930 > z_{1-\alpha} = 1.645$

La non-infériorité à l'aide des odds ratio est démontrée pour la population per protocole.

iii. Population Intention-de-traiter modifiée

Calcul de l'Odds Ratio:

$$OR = \frac{p_{CT}(1 - p_{ST})}{p_{ST}(1 - p_{CT})} = \frac{0.9388(1 - 0.9074)}{0.9074(1 - 0.9388)} = 1.5654$$

Intervalle de confiance pour $\ln(OR)$:

$$\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\ln(OR))} = [-0.7998, 1.6960]$$

Intervalle de confiance pour l'OR :

$$[\exp(\ln(OR) \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\ln(OR))})] = [0.4494, 5.4523]$$

SAS a déterminé un odds ratio de 1.565 et un intervalle de confiance de [0.449,5.449]. La statistique du test (2) vaut $\rho_{OR} = 1.934 > z_{1-\alpha} = 1.645$ ce qui montre la non-infériorité dans le cas de la population intention-de-traiter modifiée.

6.2.4. Conversion de l'intervalle de confiance de l'odds ratio en différence de proportions

Il s'agit d'une méthode proposée par Jürgen Hummel (PPD) et Scott Wiseman (Elanco Animal Health) lors de la conférence annuelle du PSI/EFSPi. [31]

Cette méthode représente une alternative pour retrouver la différence de proportions et l'intervalle de confiance à partir des résultats d'une régression logistique du taux de succès en fonction du groupe de traitement.

Méthode sans ajustement des variables

Soit $z_i = \text{logit}(p_i) = \log\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 x_i$

Estimation de $\hat{z}_i$ et de son erreur standard correspondant $Var(\hat{z}_i)$ obtenu par la régression logistique

Le modèle logistique (sans ajustement des covariables) s'écrit : $\text{logit}(\hat{p}_i) = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_i$

avec $x_i = \begin{cases} 1 & \text{si } i = \text{CT} \\ -1 & \text{si } i = \text{ST} \end{cases}$

$$\hat{z}_{CT} = \text{logit}(\hat{p}_{CT}) = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_{CT}$$

$$\hat{z}_{ST} = \text{logit}(\hat{p}_{ST}) = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_{ST}$$

Calcul de $\hat{p}_i$ en utilisant la formule $\hat{p}_i = \frac{e^{\hat{z}_i}}{1+e^{\hat{z}_i}}$

Estimation de la différence de proportions $\hat{\tau} = \hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST}$

En utilisant la méthode DELTA: (Relation $Var(z_i)$ à $Var(p_i)$)

Soient p_i est une variable aléatoire de moyenne μ et f une fonction différentiable.

La série de Taylor au premier ordre pour $z_i = f(p_i)$ s'écrit :

$$z_i = f(\mu) + (p_i - \mu)f'(\mu)$$

En utilisant $Var(a+bx)=b^2 Var(x)$, on obtient $Var(z_i)=Var(p_i)*[f'(\mu)]^2$

En dérivant la fonction $f(p_i)=\text{logit}(p_i)=\log(p_i)=\log((p_i/(1-p_i)))$, on obtient en posant $\mu = \hat{p}$:

$$f'(\mu) = f'(\hat{p}_i) = \frac{1}{\hat{p}_i(1-\hat{p}_i)}$$

$$\text{Ainsi } Var(\hat{z}_i) = Var(\hat{p}_i) * \left[\frac{1}{\hat{p}_i(1-\hat{p}_i)} \right]^2$$

$$\text{Finalement } Var(\hat{p}_i) = Var(\hat{z}_i) * \hat{p}_i^2(1-\hat{p}_i)^2 \quad (*)$$

$$\begin{aligned}\text{Or } \text{Var}(\hat{z}_i) &= \text{Var}(\text{logit}(\hat{p}_i)) = \text{Var}(\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_i) \\ &= \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \text{Var}(\hat{\beta}_1) * x_i^2 + 2 * x_i * \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)\end{aligned}$$

On suppose que les estimateurs des proportions $\hat{p}_i$ sont indépendants.

$$\text{Var}(\hat{\tau}) = \text{Var}(\hat{p}_{CT}) + \text{Var}(\hat{p}_{ST})$$

Erreur standard de $\hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST}$ est $\sqrt{\text{Var}(\hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST})}$

Intervalle de confiance de $\hat{\tau}$

$$90\%IC = [\hat{\tau} \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{\text{Var}(\hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST})}]$$

i. Population Intention de traiter

La régression logistique du modèle nous fournit les résultats suivants :

Parameter		DF	Estimate	Standard Error
Intercept		1	2.5479	0.3787
Treatment group	NECT	1	0.2655	0.3787

En général, ce modèle ne peut pas être utilisé, car il n'est pas validé (Likelihood Ratio p-value=0.4768). Comme l'intervalle de confiance de l'odds ratio contient la valeur 1, on sait déjà que le groupe de traitement n'est pas significatif. Dans le cadre de non-infériorité, l'objectif est de montrer qu'il n'existe pas ou une différence acceptable entre les deux groupes de traitement. En effet, ce résultat nous confirme qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux traitements. Dans cet esprit, on utilise les estimations des coefficients et de l'erreur standard correspondante pour retrouver la différence de proportions.

$$\hat{z}_{CT} = 2.5479 + 0.2655 * 1 = 2.8134$$

$$\hat{z}_{ST} = 2.5479 + 0.2655 * (-1) = 2.2824$$

➤ Calcul de $\hat{p}_i$ en utilisant la formule $\hat{p}_i = \frac{e^{\hat{z}_i}}{1+e^{\hat{z}_i}}$

$$\hat{p}_{CT} = 0.9434$$

$$\hat{p}_{ST} = 0.9074$$

➤ Estimation de la différence de proportions

$$\hat{\tau} = \hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST} = 0.0360$$

➤ En utilisant la méthode DELTA: (Relation $\text{Var}(z_i)$ à $\text{Var}(p_i)$)

En précisant l'option covb dans la procédure *proc reg*, on obtient $\text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = 0.0332$.

$$\text{Var}(\hat{z}_{CT}) = 2 * 0.3787^2 + 2 * 0.0332 = 0.3532$$

$$Var(\hat{z}_{ST}) = 2 * 0.3787^2 - 2 * 0.0332 = 0.2204$$

En appliquant (*) :

$$Var(\hat{p}_{CT}) = 0.0010$$

$$Var(\hat{p}_{ST}) = 0.0015$$

Intervalle de confiance de $\hat{\tau}$

$$90\%IC = [-0.0473 ; 0.1193]$$

Finalement, on retrouve les mêmes résultats obtenu par le tableau de contingence. Il s'agit d'une approche pour calculer à partir des résultats de l'odds ratio, la différence de proportions et l'intervalle de confiance.

ii. Population Per Protocol:

Estimation de $\hat{z}_i$ et de son erreur standard correspondant $Var(\hat{z}_i)$ obtenu par la régression logistique

La régression logistique du modèle nous fournit les résultats suivants :

Parameter		DF	Estimate	Standard Error
Intercept		1	2.4524	0.3801
Treatment group	NECT	1	0.2332	0.3801

$$\hat{z}_{CT} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_{CT} = 2.4524 + 0.2332 * 1 = 2.6856$$

$$\hat{z}_{ST} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_{ST} = 2.4524 + 0.2332 * (-1) = 2.2192$$

Calcul de $\hat{p}_i$ en utilisant la formule $\hat{p}_i = \frac{e^{\hat{z}_i}}{1+e^{\hat{z}_i}}$

$$\hat{p}_{CT} = 0.9362$$

$$\hat{p}_{ST} = 0.9020$$

$$\text{Estimation de la différence de proportions } \hat{\tau} = \hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST} = 0.0342$$

En utilisant la méthode DELTA: (Relation $Var(z_i)$ à $Var(p_i)$)

$$Var(\hat{z}_i) = Var(\hat{\beta}_0) + Var(\hat{\beta}_1) * x_i^2 + 2 * x_i * Cov(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) \text{ avec } Cov(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = 0.0336$$

$$Var(\hat{z}_{CT}) = 2 * 0.3801^2 + 2 * 0.0336 = 0.3561$$

$$Var(\hat{z}_{ST}) = 2 * 0.3801^2 - 2 * 0.0336 = 0.2217$$

En appliquant (*) :

$$Var(\hat{p}_{CT}) = 0.0013$$

$$Var(\hat{p}_{ST}) = 0.0017$$

On suppose que les estimateurs des proportions $\hat{p}_i$ sont indépendants.

$$Var(\hat{\tau}) = Var(\hat{p}_{CT}) + Var(\hat{p}_{ST}) = 0.003$$

Intervalle de confiance de $\hat{\tau}$

$$90\%IC = [\hat{\tau} \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST})}] = [-0.0560 ; 0.1243]$$

iii. Population intention-de-traiter modifiée

- **Estimation de $\hat{z}_i$ et de son erreur standard correspondant $Var(\hat{z}_i)$ obtenu par la régression logistique**

La régression logistique du modèle nous fournit les résultats suivants :

Parameter		DF	Estimate	Standard Error
Intercept		1	2.5062	0.3793
Treatment group	NECT	1	0.2238	0.3793

$$\hat{z}_{CT} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_{CT} = 2.5062 + 0.2238 * 1 = 2.7300$$

$$\hat{z}_{ST} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 x_{ST} = 2.5062 + 0.2238 * (-1) = 2.2824$$

Calcul de $\hat{p}_i$ en utilisant la formule $\hat{p}_i = \frac{e^{\hat{z}_i}}{1+e^{\hat{z}_i}}$

$$\hat{p}_{CT} = 0.9388$$

$$\hat{p}_{ST} = 0.9074$$

Estimation de la différence de proportions $\hat{\tau} = \hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST} = 0.0314$

En utilisant la méthode DELTA: (Relation de $Var(z_i)$ à $Var(p_i)$)

$$Var(\hat{z}_i) = Var(\hat{\beta}_0) + Var(\hat{\beta}_1) * x_i^2 + 2 * x_i * Cov(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) \text{ avec } Cov(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1) = 0.0337$$

$$Var(\hat{z}_{CT}) = 2 * 0.3793^2 + 2 * 0.0337 = 0.3551$$

$$Var(\hat{z}_{ST}) = 2 * 0.3793^2 - 2 * 0.0337 = 0.2203$$

En appliquant (*) :

$$Var(\hat{p}_{CT}) = 0.0012$$

$$Var(\hat{p}_{ST}) = 0.0015$$

On suppose que les estimateurs des proportions $\hat{p}_i$ sont indépendants.

$$Var(\hat{\tau}) = Var(\hat{p}_{CT}) + Var(\hat{p}_{ST}) = 0.0027$$

Intervalle de confiance de $\hat{\tau}$

$$90\%IC = [\hat{\tau} \pm z_{1-\alpha} * \sqrt{Var(\hat{p}_{CT} - \hat{p}_{ST})}] = [-0.054; 0.1168]$$

6.3. Résultats

D'après le protocole et le SAP, le test de non-infériorité est basé sur la différence de proportions et non sur les odds ratio.

Les résultats récapitulatifs basés sur la différence de proportions sont présentés ci-dessous.

Table 19: Indicateur principal de l'efficacité: Overall Cure Rate at the EoS (non-inferiority test)

Population/treatmentgroup		Cured	Cure Rate	Difference in Cure Rates	Non-Inferiority Limit	90% CI	p-value
ITT (N=107)	NECT	50/ 53	94.34%				
	DFMO	49/ 54	90.74%	0.0360	-0.1	[-0.0473, 0.1193]	0.0036 NI
MITT (N=103)	NECT	46/ 49	93.88%				
	DFMO	49/ 54	90.74%	0.0314	-0.1	[-0.0546, 0.1173]	0.0060 NI
PP (N=98)	NECT	44/ 47	93.62%				
	DFMO	46/ 51	90.20%	0.0342	-0.1	[-0.0560, 0.1244]	0.0072 NI

Les résultats récapitulatifs basés sur les odds ratio sont présentés dans la table 20.

Table 20: Récapitulatif des résultats obtenus par les OR

Population		Odds Ratio	90% CI	Non-Inferiority Limit	Statistique du test	$z_{1-\alpha}$
ITT (N=107)	NECT vs DFMO	1.701	[0.489,5.912]	0.3675	2.023	1.645
MITT (N=103)	NECT vs DFMO	1.565	[0.449,5.449]	0.3675	1.934	1.645
PP (N=98)	NECT vs DFMO	1.594	[0.457,5.566]	0.3675	1.930	1.645

6.4. Discussion

Pour les trois populations d'analyse, la non-infériorité est démontrée en utilisant d'une part la différence de proportions et d'autre part les odds ratios.

Sur la base de données disponible, seulement la moitié des patients prévus initialement ont été recrutés. Il est donc important de ne pas oublier que pour les deux méthodes utilisées pour tester la non-infériorité, la taille de l'échantillon prévue n'a pas été atteinte. Le but du stage était de préparer le plan d'analyse statistique et la programmation à l'aide des données disponibles. Les résultats ne sont donc pas représentatifs par rapport à ce qui était prévu dans le protocole, car cette analyse intermédiaire n'était pas prévue. Il y a trois cas de figures qui pourraient se produire. Tout d'abord, la tendance montrant la non-infériorité pourrait se confirmer pour la totalité de l'échantillon. Ou bien le résultat pourrait même se renforcer, c'est-à-dire si l'intervalle de confiance à 95% de la différence de proportions est au-dessus de zéro, on pourrait utiliser un test de supériorité selon les consignes de 'Points to consider on switching between superiority and non-inferiority' publié par l'EMA en 2000 [12]. Un dernier cas possible est que le résultat s'inverserait et la non-infériorité ne pourrait plus être montrée.

Concernant la méthode des odds ratio, la taille de l'échantillon nécessaire est plus élevée. Ceci représente un inconvénient, car il faudrait recruter le double de patients (coûts élevés, perte de temps). Un autre désavantage de la méthode des odds ratio est le fait que dans la plupart des études, la marge de non-infériorité est définie pour la différence de proportions. Il n'existe pas de formule de transformation de la marge de non-infériorité entre les deux méthodes qui sont officiellement approuvées par EMA et ICH. La différence entre les proportions permet d'interpréter facilement la non-infériorité à l'aide des intervalles de confiance.

La méthode de la conversion de l'intervalle de confiance de l'odds ratio en différence de proportions représente une vraie alternative pour retrouver la différence et son intervalle de confiance à partir des résultats de la régression logistique. Les résultats correspondent aux résultats obtenus par le tableau de contingence.

VII. Critère secondaire de l'efficacité : Analyse de survie

7.1. Introduction

Dans cet essai clinique, un des critères secondaires d'efficacité est la détermination de la durée de survie sans signes de rechute jusqu'à 18 mois après la fin du traitement. Il faut noter que ce n'est pas le seul critère secondaire d'efficacité. Les autres indicateurs d'efficacité quantifient d'une part le manque d'efficacité du médicament via les taux d'échec de traitement (rechute, décès, non-répondeur) et d'autre part le taux de guérison dans les deux groupes de traitement. Pour l'analyse, les tests d'homogénéité entre les groupes de traitement sont effectués. Les résultats ne sont pas présentés dans ce rapport.

7.2. Méthodologie

Dans le cadre de l'analyse de survie, on dispose de données censurées et la fonction de survie est estimée par la méthode de Kaplan-Meier. Les taux de survie sont estimés par un calcul de probabilités conditionnelles. La méthode de Kaplan-Meier est effectuée sur les populations d'analyse l'ITT, PP et mITT. Le point de départ à partir duquel les sujets sont observés est le jour après la fin du traitement. La date de point est théoriquement la dernière visite de contrôle de 18 mois en acceptant les écarts du temps (acceptable entre 17 et 22 mois après la fin du traitement).

Si le sujet était présent pendant toute la durée de l'observation sans que l'événement se soit produit pendant cette période, les données sont dites censurées à droite. Les perdus de vues sont également considérés comme des censures.

Dans une analyse de survie, la variable d'intérêt est le temps. Si l'événement s'est produit pour un sujet, la date de l'événement est le jour d'étude où se déroule cet événement. Si l'événement n'a pas eu lieu pendant la période d'étude, alors la date de l'événement est fixée à la date où le sujet est dit censuré- la dernière visite de contrôle disponible pour ce sujet.

Avant d'utiliser la procédure *proc lifetest* de SAS, on définit une variable statut dans une étape data qui nous permet de prendre en compte les censures lors de l'analyse de survie. Elle vaut 0 si l'observation est censurée. Si un échec est survenu pour ce sujet, alors la variable statut prend la valeur 1. Sinon, cette variable doit être manquante. L'instruction *strata* est utilisée pour spécifier les deux groupes de traitement. L'option *method=KM* est appliquée pour préciser la méthode de Kaplan-Meier. (SAS Support [45])

L'estimateur de Kaplan-Meier est défini pour $t \geq 0$ par : (Gefray, [26])

$$\hat{S}_n = \prod_{i=1, T'_i \leq t}^n \left(1 - \frac{M_i}{R_i}\right)$$

avec $T'_1 \leq T'_2 \leq \dots \leq T'_n$ = observations non censurées distinctes,

M_i : nombre de décès ou rechute à l'instant T'_i

R_i : nombre de sujets à risque juste avant T'_i

Lorsque qu'il y a ex aequo entre une observation censurée et une rechute/décès, par convention, on classe toujours la rechute/ décès avant la censure lors de la détermination du nombre de sujet à risque.

On veut tester s'il existe une différence d'efficacité entre les deux traitements.

Les hypothèses s'écrivent : $\forall t \quad H_0: S_{CT}(t) = S_{ST}(t)$ contre $H_1: S_{CT}(t) \neq S_{ST}(t)$ où S est la fonction de survie. L'hypothèse nulle testée, H_0 , est celle de l'égalité des fonctions de survie dans les 2 groupes de traitement.

La statistique du test s'écrit : (Hill, 1996[31])

$$X^2 = \frac{\left[\sum_{i=1}^n w_i \left(M_{ST_i} - M_i \frac{R_{ST_i}}{R_i} \right) \right]^2}{\sum_{i=1}^n w_i^2 M_i \frac{(R_i - M_i)}{(R_i - 1)} \frac{R_{CT_i} R_{ST_i}}{R_i^2}}$$

où w_i est le poids.

Si $w_i = 1$ pour tout i, il s'agit du test du logrank. Il existe une forme approchée de ce test, lorsque la somme des nombres de décès ou rechute observées dans les deux groupes est égale à la somme des nombres de décès attendus sous H_0 .

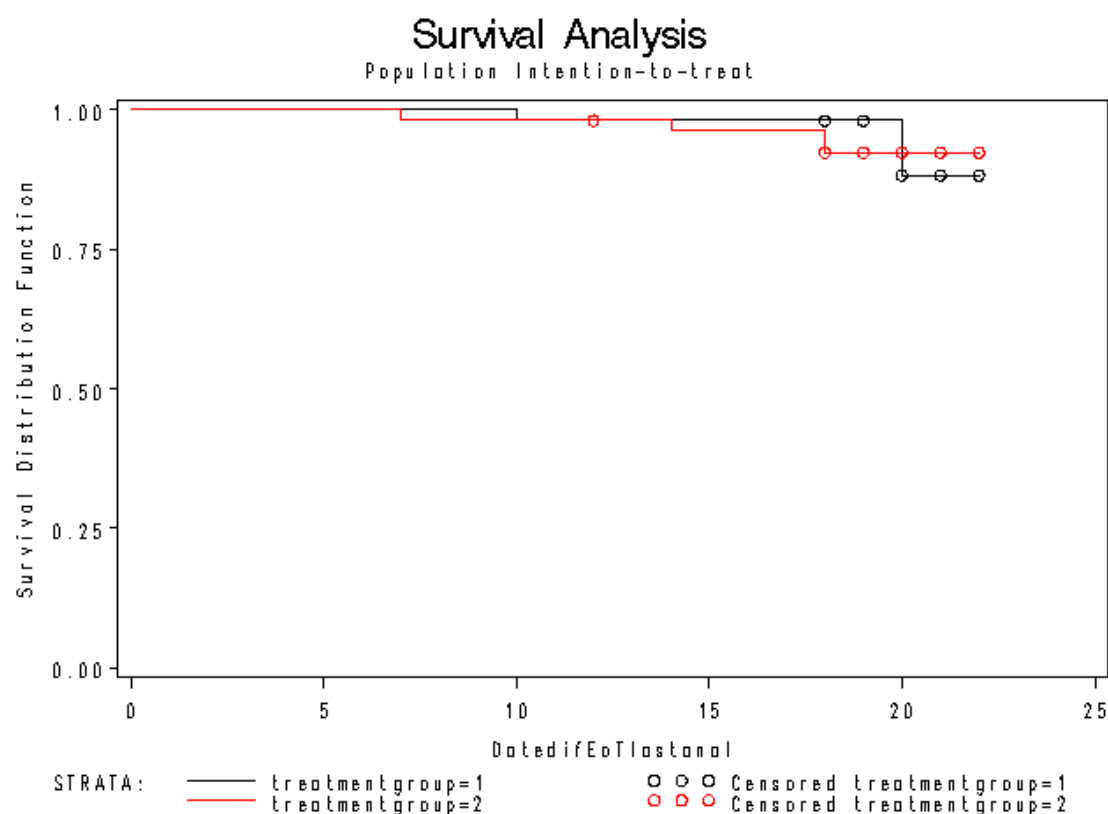
Si $w_i = R_i$, on parle du test de Wilcoxon (ou aussi connu sous le nom test de Gehan).

On compare les deux courbes de survie. D'après le cours d'analyse de survie du Master 1 (Geffray, [26]), le test non-paramétrique du log-rank est plus puissant lorsque les deux courbes de survie ne se croisent pas. Si les deux courbes de survie se croisent, il vaut mieux utiliser le test non-paramétrique de Wilcoxon.

7.3. Résultats

Les analyses de survie des populations d'analyse (ITT, PP et mITT) sont présentées ci-dessous.

i. Population ITT



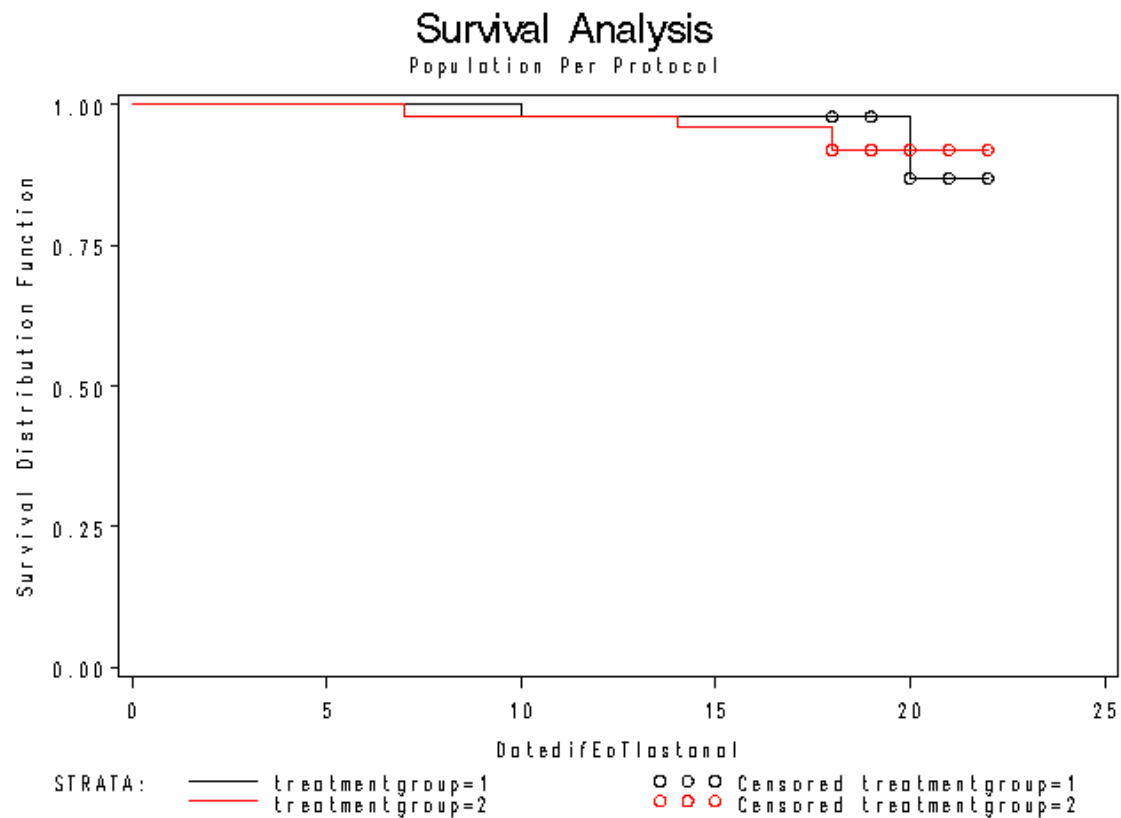
Test of Equality over Strata			
Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	0.6444	1	0.4221
Wilcoxon	1.5253	1	0.2168
-2Log(LR)	0.6857	1	0.4076

Figure 9: La courbe de survie et les résultats du test d'égalité des strates de la population ITT

La courbe donne une estimation de la proportion de sujets qui seront encore en vie ou qui n'ont pas rencontré un critère d'échec (décès, rechute, etc....) pendant la période d'observation ou le suivi.

Les deux courbes de survie se croisent, alors on considère le test de Wilcoxon. Le test n'est pas significatif au seuil de 5%. On accepte l'hypothèse nulle et on conclut l'égalité des fonctions de survie. Les censures sont caractérisées par des points sur les courbes.

Population PP :

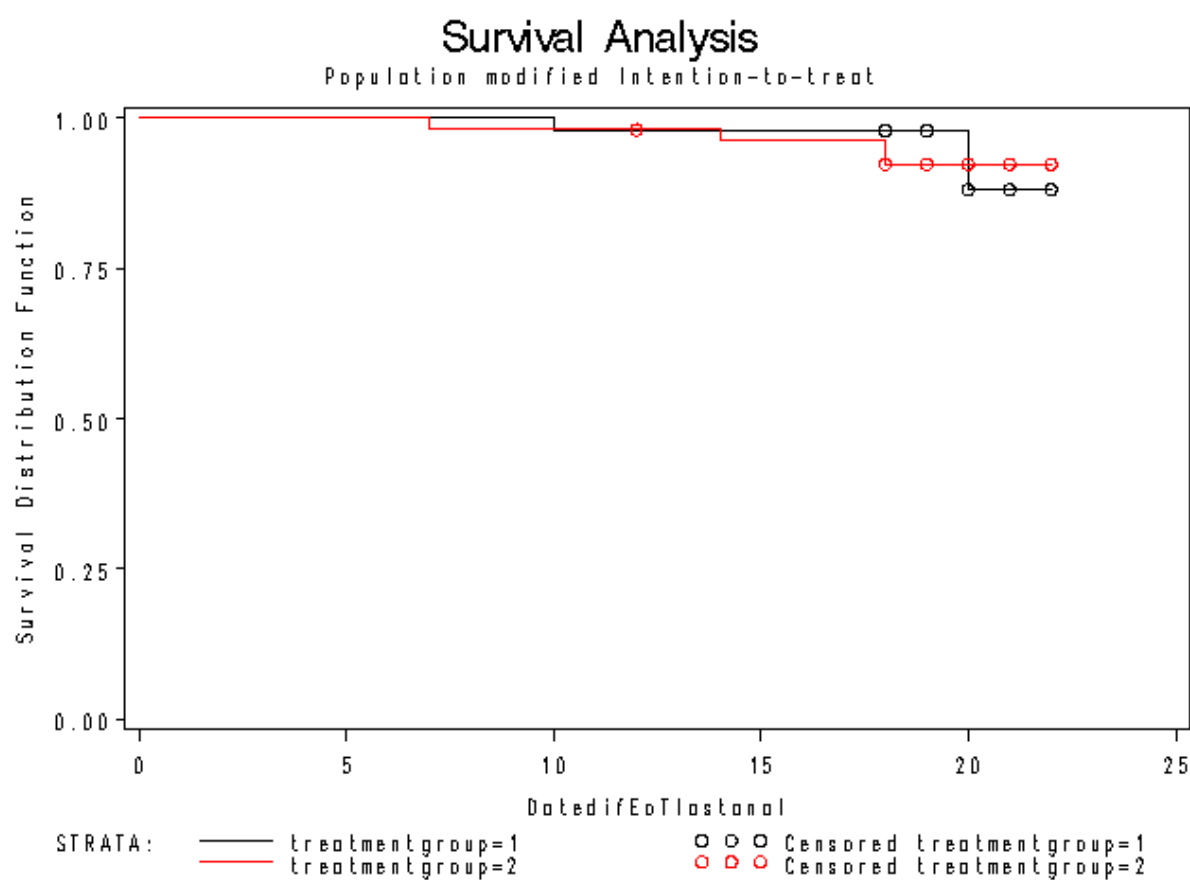


Test of Equality over Strata			
Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	0.4961	1	0.4812
Wilcoxon	1.3153	1	0.2514
-2Log(LR)	0.5526	1	0.4573

Figure 10: La courbe de survie et les résultats du test d'égalité des strates de la population PP

Les deux courbes de survie se croisent. Le test de Wilcoxon n'est pas significatif au seuil de 5%. On accepte l'hypothèse nulle et on conclut l'égalité des fonctions de survie.

Population mITT :



Test of Equality over Strata			
Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	0.5190	1	0.4713
Wilcoxon	1.3015	1	0.2539
-2Log(LR)	0.5354	1	0.4643

Figure 11: La courbe de survie et les résultats du test d'égalité des strates de la population mITT

Les courbes de la population mITT ressemblent aux résultats obtenus pour les autres populations et on conclut également l'égalité des fonctions de survie.

7.4. Discussion

On remarque qu'il y a beaucoup de censures à partir de 17 mois de suivi. Les visites de contrôle finales étaient accomplies entre 17 mois et 22 mois après la fin du traitement en accord avec l'intervalle toléré par le PAS. Comme les censures sont prises en compte dans le calcul de l'estimateur de Kaplan-Meier, elles influencent le tracé des courbes vers la fin ce qui explique pourquoi la courbe de survie de la combinaison est en-dessous de celle de la référence à 22 mois. Pour les trois populations d'analyse, on conclut l'égalité des fonctions de survie et exclut donc un effet du traitement. Mais ce n'est qu'un critère secondaire, l'étude n'a pas été construite pour répondre à cette question précisément. En effet, les critères secondaires sont des critères utilisés pour documenter les bénéfices secondaires du traitement. Même en cas d'absence de différence significative sur le critère principal, une différence pourtant significative sur l'un ou plusieurs des critères secondaires ne permet pas de conclure.

VIII. Analyse de la tolérance

8.1. Événements indésirables

8.1.1. Introduction

Le formulaire d'événements indésirables est assez standard dans les essais cliniques. Le formulaire est constitué d'une liste des événements pour lesquels les données sont saisies sous forme de texte libre.

Cumulative Safety & Tolerability Assessments						Day 1 to Day 17/21	
Please make a separate entry for: a. all new adverse events, b. all adverse events which have increased severity categories, c. all adverse events with changes in study drug relationship, d. all medical conditions present at study drug initiation which have worsened. If there are none, please cross the whole page. Intensity: 1 = Mild, 2 = Moderate, 3 = Severe, 4 = Very severe (c.f. CTO) Relation to treatment: 1 = Not related, 2 = Unlikely, 3 = Possible, 4 = Probable, 5 = Definite, 6 = Unknown Seriousness: 0 = No, 1 = Yes Action taken: 1 = Study drug treatment continued, 2 = Study drug treatment suspended, 3 = Medication taken (can answer > 1 choice) Outcome: 1 = Full recovery, 2 = Still present, 3 = Sequealae, 4 = Death							
Adverse events	Start date dd/mm/yy	Stop date dd/mm/yy	Intensity 1-4	Relation to treatment 1-6	Seriousness 0, 1	Action taken 1-3	Outcome 1-4

Figure 12 : Extrait du cahier d'observation montrant le formulaire des événements indésirables

Il faut noter qu'il existe une différence importante entre «sérieux» et «sévère». La sévérité d'un événement indésirable décrit son intensité. Un événement indésirable est considéré comme sérieux ou grave si l'évolution aboutit à la mort, met en danger la vie du patient, nécessite une hospitalisation ou la prolongation de l'hospitalisation ou entraîne un handicap. Un patient peut avoir un événement « sévère » qui n'est pas considéré « sérieux ». A l'inverse, un événement sérieux n'est pas forcément sévère.

Codage des événements indésirables à l'aide du dictionnaire MedDRA® :

La gestion des événements indésirables nécessite un codage approprié afin de pouvoir être exploitable de manière informatique et de pouvoir procéder à des regroupements cliniquement pertinents en vue de l'analyse de la tolérance. En 1994, le comité de pilotage de l'ICH a décidé la création d'un dictionnaire unique pour les affaires réglementaires.

Le Dictionnaire MedDRA® (**M**edical **D**ictionary for **R**egulatory **A**ctivities) a donc été créé et il est utilisé pour le codage des signes et des symptômes, des maladies, des diagnostics, des indications thérapeutiques, des investigations complémentaires, des procédures médicales et chirurgicales, et des antécédents médicaux, chirurgicaux, familiaux et sociaux. (Best, 2005, [5], MedDRA MSSO [35])

Le dictionnaire MedDRA® présente une hiérarchie à 5 niveaux comme suit :

Table 21 : L'hiérarchie du dictionnaire MedDRA®

Niveau	
System Organ Class (SOC)	C'est le niveau le plus élevé et plus général de la hiérarchie. Le SOC représente le système du corps touché par l'événement.
High-Level Group Term (H.L.G.T.)	Ces deux types de termes sont utilisés uniquement pour l'extraction de données et leur présentation. Ils sont très peu utilisés pour le

High Level Term(HLT)	codage. Les HLT regroupent des PT ayant en commun un lien anatomique, physiopathologique, étiologique ou fonctionnel.
Preferred Term(PT)	C'est un terme décrivant un concept médical unique. Il doit être le moins ambigu et le plus spécifique et auto-descriptif que possible. Il n'y a pas de limites au nombre de LLT reliés à un PT. Un PT doit être relié à un SOC au moins.
Lowest-Level Term (LLT)	C'est le terme de plus bas niveau. Chaque LLT est lié à un seul PT.

8.1.2. Méthodologie

Les données disponibles des événements indésirables sont fusionnées avec un fichier qui contient les 5 niveaux du dictionnaire MedDRA®. Ce document a été préparé par une collaboratrice du CES Andrea Kuemmerle. Selon le PAS, le nombre de patients avec des événements indésirables sont déterminés pour chaque System Organ Class et Preferred Term.

Les redondances dans le jeu de données ont été supprimées à l'aide d'une procédure *proc sort* avec l'option NODUPKEY.

La procédure *proc freq* est utilisée pour compter le nombre de patients avec des événements indésirables par System Organ Class et Preferred Term. Le pourcentage est calculé dans une étape data. Un patient est compté qu'une seule fois par événement indésirable. Le dénominateur pour calcul du pourcentage est la somme de tous les patients qui ont reçu le traitement correspondant. La procédure *proc tabulate* est utilisée pour la création des tables statistiques et l'instruction ods rtf pour la sauvegarde sous format rtf.

8.1.3. Résultats

Un exemple d'une table des événements indésirables est présenté ci-dessous dans la table 22.

Table 22: Evènements indésirables classés par SOC et PT

Number of patients(%) with AE		NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)
System Organ Class	Preferred Term			
BLOOD AND LYMPHATIC SYSTEM DISORDERS	ALL	2 (3.64%)	6 (11.1%)	8 (7.34%)
	ANAEMIA	2 (3.64%)	6 (11.1%)	8 (7.34%)
	NEUTROPENIA	1 (1.82%)	2 (3.70%)	3 (2.75%)
CARDIAC DISORDERS	ALL	6 (10.9%)	5 (9.26%)	11 (10.1%)
	BRADYCARDIA	3 (5.45%)	4 (7.41%)	7 (6.42%)
	TACHYCARDIA	3 (5.45%)	1 (1.85%)	4 (3.67%)
EAR AND LABYRINTH DISORDERS	ALL	4 (7.27%)	0	4 (3.67%)
	VERTIGO	4 (7.27%)	0	4 (3.67%)

Number of patients(%) with AE		NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)
EYE DISORDERS	ALL	1 (1.82%)	1 (1.85%)	2 (1.83%)
	CONJUNCTIVITIS	1 (1.82%)	1 (1.85%)	2 (1.83%)
GASTROINTESTINAL DISORDERS	ALL	33 (60.0%)	21 (38.9%)	54 (49.5%)
	ABDOMINAL DISCOMFORT	2 (3.64%)	1 (1.85%)	3 (2.75%)
	ABDOMINAL PAIN	6 (10.9%)	10 (18.5%)	16 (14.7%)
	ABDOMINAL PAIN UPPER	0	4 (7.41%)	4 (3.67%)
	CONSTIPATION	0	1 (1.85%)	1 (0.92%)
	DIARRHOEA	6 (10.9%)	7 (13.0%)	13 (11.9%)
	DYSPEPSIA	4 (7.27%)	1 (1.85%)	5 (4.59%)
	INGUINAL HERNIA	1 (1.82%)	0	1 (0.92%)
	NAUSEA	14 (25.5%)	6 (11.1%)	20 (18.3%)
	STOMATITIS	0	1 (1.85%)	1 (0.92%)
	VOMITING	21 (38.2%)	4 (7.41%)	25 (22.9%)

8.1.4. Discussion

Les résultats obtenus confirment les évènements indésirables typiques de l'eflornithine et du nifurtimox (Priotto, 2009 [43]). Même s'il n'y a pas des tests statistiques prévus, il semble que le nifurtimox a tendance à provoquer des nausées (25% dans le bras NECT contre 11% pour le traitement de référence) et des vomissements (38% des patients dans NECT contre 7% dans le groupe DFMO). Les douleurs abdominales, la diarrhée et les anémies sont des évènements indésirables connus de l'eflornithine et se sont manifestés dans les deux groupes de traitement.

8.2. Valeurs anormales de laboratoire

8.2.1. Introduction

Des valeurs anormales pour les données de laboratoire sont également considérées comme évènements indésirables du traitement si elles sont apparues ou se sont détériorées après la première dose de traitement. Elles sont analysées séparément mais interprétées cliniquement avec les autres évènements indésirables.

8.2.2. Méthodologie

La table statistique 36 du PAS résume le nombre des patients qui ont eu des résultats anormaux pendant le traitement. Les résultats du changement initial - fin du traitement et initial-sortie de l'hôpital sont comparés à des valeurs normales, des valeurs définies dans le PAS et classifiés selon des grades.

Un problème courant se trouve dans les unités de variable. Si les unités diffèrent d'un site à l'autre, les unités des données de laboratoire devront être converties en une unité commune pour chaque test de laboratoire.

Les résultats de données du laboratoire à l'inclusion, à la fin du traitement et à la sortie de l'hôpital ont été fusionnés par numéro de patient et le code de l'hôpital. Les résultats anormaux sont catégorisés selon les grades d'anormalité (grade 1-4) définis dans le PAS aux trois temps de mesures différents. Les grades à la fin du traitement et à la sortie sont comparés et le maximum des deux grades est gardé. Ce grade obtenu est comparé au grade mesuré à l'inclusion dans l'étude. Uniquement si une dégradation est observée, on le compte comme valeur anormale et donc comme évènement indésirable.

8.2.3. Résultats

La table ci-dessous présente un extrait des valeurs anormales qui sont considérées comme évènement indésirable apparu entre l'inclusion et la sortie de l'hôpital.

Table 23: Nombre de patients avec des résultats anormaux jusqu'à la sortie de l'hôpital (safety)

			NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)
WBC Decrease	<4000/mm3 (Grade 1)	n/N	1/ 50	4/ 47	5/ 97
		%	2.000%	8.511%	5.155%
	<3000/mm3 (Grade 2)	n/N	1/ 50	1/ 47	2/ 97
		%	2.000%	2.128%	2.062%
	<2000/mm3 (Grade 3)	n/N	6/ 50	4/ 47	10/ 97
		%	12.00%	8.511%	10.31%
Neutrophil Decrease	<2000/mm3 (Grade 1)	n/N	6/ 50	5/ 47	11/ 97
		%	12.00%	10.64%	11.34%
	<1500/mm3 (Grade 2)	n/N	8/ 50	11/ 47	19/ 97
		%	16.00%	23.40%	19.59%
	<1000/mm3 (Grade 3)	n/N	1/ 50	1/ 47	2/ 97
		%	2.000%	2.128%	2.062%
	< 500/mm3 (Grade 4)	n/N	5/ 50	4/ 47	9/ 97
		%	10.00%	8.511%	9.278%

8.2.4. Discussion

Les résultats obtenus avec la combinaison nifurtimox-eflornithine sont similaires à ceux obtenus avec le traitement standard. Une tendance à la diminution des populations de globules blancs en général et des neutrophiles en particulier est observée. En effet, l'eflornithine agit sur la multiplication cellulaire ce qui se manifeste par un effet négatif sur les populations de globules blancs et de neutrophiles et un risque augmenté d'infection.

8.3. Traitements concomitants

8.3.1. Introduction

Lors de l'analyse de la tolérance, les taux d'utilisation effective des différents traitements concomitants est déterminé. Cette étape permet de voir si les traitements concomitants administrés sont plus répandus dans un groupe de traitement. Etant donné qu'en règle générale les médicaments concomitants sont administrés pour soulager les événements indésirables, une interprétation simultanée peut être intéressante. Une analyse précise des médicaments concomitants et des événements indésirables peut mettre en évidence des problèmes de tolérance et des interactions médicamenteuses. Comme pour les événements indésirables, il existe un dictionnaire WHODrug® internationalement reconnu pour le codage des traitements concomitants.

Dictionnaire WHODrug® (Shostak, 2005 [48])

Le dictionnaire WHODrug® a été développé par l'Uppsala Monitoring Centre en Suède. Ce dictionnaire fournit une classification des médicaments, appelée en anglais *Anatomical Therapeutic-Chemical* (ATC). La classification ATC permet de catégoriser les données sur les médicaments par groupes anatomiques, thérapeutiques ou chimiques et de résumer les médicaments selon leur classification. Cependant, un médicament donné peut apparaître dans plusieurs classes ATC. Pour cette raison, les classifications ATC doivent être utilisées avec soin afin d'éviter de compter un médicament plusieurs fois pour un patient.

8.3.2. Méthodologie

Les données ont été fusionnées avec la classification effectuée avec le dictionnaire WHODrug®.

Les médicaments concomitants sont résumés d'une façon similaire à celle utilisée pour les événements indésirables. Lorsqu'un médicament est codé avec WHODrug®, la classe ATC peut être utilisée comme le System Organ Class des événements indésirables, c'est-à-dire comme niveau supérieur de classification.

Un patient n'est compté qu'une seule fois par médicament. Les dénominateurs sont définis comme la somme de tous les patients qui ont reçu le traitement correspondant.

8.3.3. Résultats

La table 24 représente un extrait des médicaments concomitants administrés pendant la phase de traitement.

Table 24: Médicaments concomitants pendant la phase de traitement

Concomitant medications			NECT (N=55)	DFMO (N=54)	All (N=109)
GROUPE ANATOMIQUE	NOM DU MÉDICAMENT				
ANTIINFECTIVES FOR SYSTEMIC USE	ALL	Nb TRT	4	7	11
		Nb Patient	4	7	11
		% Patient	7.27%	12.9 %	10.09%
	AMOXICILLIN	Nb TRT	1	1	2
		Nb Patient	1	1	2
		% Patient	1.82%	1.85%	1.83%
	BENZYL PENICILLIN	Nb TRT	1	1	2
		Nb Patient	1	1	2
		% Patient	1.82%	1.85%	1.83%
	CHLORAMPHENICOL	Nb TRT	1	2	3
		Nb Patient	1	2	3
		% Patient	1.82%	3.7%	2.75%
	CLOXACILLIN	Nb TRT	0	3	3
		Nb Patient	0	3	3
		% Patient	0	5.56%	2.75%
	SEPTRIN	Nb TRT	1	0	1
		Nb Patient	1	0	1
		% Patient	1.82%	0	0.92%

8.3.4. Discussion

La table 24 représente les médicaments anti-infectieux administrés pendant le traitement de l'étude. Il y a environ 13% des patients du traitement de référence qui ont reçu un antibiotique par rapport à 7% dans le groupe NECT. Un test d'homogénéité n'était pas prévu pour les traitements concomitants. Même si l'écart semble assez grand, on ne peut pas conclure une différence statistiquement significative. Il faut interpréter ce genre de résultats descriptifs avec précaution.

IX. Discussion générale et conclusion

9.1. Conclusion du projet

Le projet a consisté à préparer l'analyse statistique d'un essai clinique, c'est-à-dire à rédiger un plan d'analyse statistique et à préparer la programmation SAS® à partir des données disponibles non finalisées. En effet, les différentes étapes du data management n'étaient pas terminées au moment du stage.

Comme une analyse intermédiaire n'était pas prévue dans le protocole, les résultats obtenus ne sont pas transmis au sponsor. Les données n'ont donc servi qu'à la préparation de la programmation. Dès que les données finalisées seront disponibles, la construction des tables du rapport final et des populations, déjà préparées, permettra d'avancer plus rapidement.

Dans le cas où la non-infériorité se confirmerait pour l'échantillon nécessaire prévu, la combinaison NECT représenterait une bonne alternative. Les patients bénéficieraient des avantages de NECT comme une thérapie plus simple, de durée moins longue et moins coûteuse que le traitement de référence.

Parallèlement à cette étude, d'autres pays africains ont également testé cette combinaison thérapeutique. Suite à ces études, en 2009, la combinaison nifurtimox-eflornithine a été incluse sur la 'Liste des Médicaments Essentiels' de l'OMS. Dans l'avenir, on pourrait reprendre toutes ces données et faire une méta-analyse.

9.2. Conclusion personnelle

Le stage était très instructif au niveau de différentes thématiques abordées dans un centre de recherche. Dans ce contexte, j'ai pris connaissance des différentes étapes et des documents liés à un essai clinique. De plus j'ai eu l'opportunité d'acquérir des connaissances en sciences médicales particulièrement la maladie du sommeil.

La rédaction du plan d'analyse statistique représentait un vrai défi. Tout d'abord il était important de définir les méthodes statistiques en accord avec le protocole sans connaître les données finales. Il fallait donc considérer tous les cas possibles qui pouvaient se produire lors de l'analyse. Le fait que les populations d'analyse n'étaient pas définies de façon précise dans le protocole, était un problème à surmonter. Les définitions des populations ont été reformulées lors d'une réunion avec le sponsor à laquelle j'ai pu assister.

Lors de mon travail je me suis rendue compte de l'importance des populations d'analyse dans les essais cliniques. De façon générale, les populations importantes pour vérifier les critères d'efficacité sont la population intention-de-traiter et la population per protocole. La population ITT représente l'effet du traitement plus dans les conditions proches de la réalité. La population PP représente l'effet du traitement dans les conditions idéales. Les deux populations sont utilisées pour tester les critères d'efficacité (test de non-infériorité, analyse de survie, test d'homogénéité). La population Safety qui contient tous les patients qui ont reçu une dose du traitement est utilisée pour examiner les événements indésirables et les traitements concomitants.

J'ai pu appliquer concrètement des raisonnements connus comme le test de Shapiro-Wilk, le test de khi-deux ou encore le test exact de Fisher. De plus, j'ai aussi été amenée à rechercher des méthodes

non abordées en cours à savoir le test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon et le test de non-infériorité. Pour ce dernier, j'ai appris à utiliser une recherche bibliographique étant donné qu'il n'existe que peu d'articles traitant cette thématique.

J'ai également eu l'occasion d'appliquer la théorie de l'analyse de survie qui fait partie du cours du Master 1 et d'appréhender sa programmation sous SAS®.

Lors de mon travail, j'ai pu profiter d'une grande autonomie dans le développement des méthodes statistiques, ce qui était très intéressant, car cela m'a permis de prendre des initiatives personnelles face aux problèmes rencontrés. Les solutions trouvées par une recherche bibliographique m'ont permis d'améliorer ma compréhension des différentes méthodes. Lors de la survenue d'un problème, j'ai toujours pu demander conseil, ce qui a permis d'échanger des idées de façon constructive avec mon tuteur et les autres collaborateurs/trices.

L'inconvénient majeur était le fait que la base de données disponible n'était pas nettoyée. Parfois cela a pris beaucoup de temps pour trouver les fautes et de les corriger lors de la programmation. Malheureusement la correction n'était pas toujours possible comme par exemple lorsqu'un résultat d'une analyse du laboratoire était invraisemblable selon la logique médicale, mais on ne pouvait pas le rectifier. De ce point négatif j'ai tiré profit malgré tout, puisque j'ai appris à changer des formats et de manipuler les données sous SAS®.

Le travail m'a également amenée à approfondir mes connaissances en programmation SAS, dont je profiterai certainement à l'avenir. Le travail nécessitait l'écriture des macros afin de faciliter le travail et d'éviter des redondances.

Le CES organise toutes les deux semaines une présentation staff scientifique auquel les stagiaires pouvaient également participer. Lors de ces séances, un collaborateur présentait l'avancement de son projet ou les résultats finaux. Il était intéressant d'une part de voir comment ils présentaient leur sujet et parfois quelle méthodologie statistique ils avaient utilisé et d'autre part ces exposés pouvaient m'aider dans la préparation de mes propres présentations.

Pendant le stage, les stagiaires étaient également amenés à tenir régulièrement des petites présentations de 10 minutes sur l'avancement de leur travail afin de garantir le bon déroulement de leur stage. A l'issue des présentations, les tuteurs pouvaient poser des questions et faire des remarques constructives éventuelles. Il s'agissait d'une bonne occasion pour s'entraîner à tenir une présentation et pour préparer la soutenance.

Globalement j'ai perçu ce stage de façon très positive puisque j'ai été bien accueillie et j'ai appris à appliquer les méthodes statistiques vues en cours sur le terrain.

Bibliographie

1. Anderson, T.W. (1990). Two of Harold Hotelling's contributions to multivariate analysis, [en ligne]. Disponible sur : <http://statistics.stanford.edu/~ckirby/techreports/NSF/AND%20NSF%2040.pdf> (consulté le 10.08.2011)
2. ARCAT. Annexes : L'AGENCE EUROPEENNE POUR L'EVALUATION DES MEDICAMENTS [en ligne]. Disponible sur : <http://www.arcate-sante.org/essais/annexes/europe.html> (consulté le 15.07.2011)
3. Baccini, A., T.P. SAS numéro 11 Tests statistiques' et 'Exemple Note 2' cours de Travaux pratiques SAS, [en ligne]. Disponible sur : <http://www.math.univ-toulouse.fr/~baccini/TP-SAS/tp11.pdf>, <http://www.math.univ-toulouse.fr/~baccini/TP-SAS/Donnees/note2.txt> (consulté le 16.04.2011)
4. Bertrand, F., Maumy, M., (2010). Quelques tests non paramétriques, *Polycopie école doctorale*, [en ligne]. Disponible sur : http://www-irma.u-strasbg.fr/~fbertran/enseignement/Ecole_Doctorale_SVS_Hiver_2009/2pages_ED_NP_sstatl es.pdf (consulté le 16.04.2011)
5. Best, Nicolas, (2005) La Lettre de la délégation à la recherche clinique Ile de France, numéro 1, Assistance hôpitaux publique de Paris, p.16, [en ligne]. Disponible sur : http://europe.aphp.fr/lettre_drc/2005_1.pdf (consulté le 07.07.2011)
6. Brittain, E., Lin, D. (2005). A comparison of intend-to-treat and per protocol results in antibiotic non-inferiority trials, *Statistics in Medecine*, 24 : 1-10
7. Brown, L., Cai, T., DasGupta, A. (2001). Interval Estimation for a Binomial Proportion, *Statistical Science*, 16(2), 101-133
8. Burri, C., Brun, R. (2009), Chapitre 13: Human African Trypanosomiasis, In Cook G.C., Zumla A. (22 éd). *Manson's Tropical Diseases*, UK: Elsevier, 1303-1321
9. Chabaud, S., Cucherat, M. (2004). L'analyse en intention de traiter et analyse per protocole, *Médecine thérapeutique*, 10 (5) 350-355
10. Chan, Y. H. (2003). Quantitative Data – Parametric & Non-parametric Tests, *Singapore Medical Journal*, 44(8) 391-396
11. CHU Montpellier. Recherche clinique : La réglementation. (2006). [en ligne]. Disponible sur: http://www.chu-montpellier.fr/fr/PDF/reglementation_ich.pdf (consulté le 12.05.2011)
12. Committee for proprietary medicinal products (2000), Points to consider on switching between superiority and non-inferiority, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/W_C500003658.pdf(consulté le 15.07.2011)
13. CRP-Santé. Overview. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.crp-sante.lu/About-CRP-Sant%C3%A9/Overview> (consulté le 3.03.2011)
14. D'Agostino, R., Stephens, M. A. (1986). Goodness-of-Fit Techniques, *Marcel Dekker, Inc., New York*, p.104
15. D'Agostino, R., Massaro J., Sullivan, L. (2003). Non-inferiority trials: design concepts and issues- the encounters of academic consultants in statistics, *Statistics in Medecine*, 22: 169-186
16. DiSantostephano R., Muller K. (1995). A comparison of power of approximation for Satterthwaite's test, *Communications in Statistics Simulation and Computation*, 24(3) 583-593, <http://www.bios.unc.edu/~muller/articles/9503.pdf>(consulté le 17.04.2011)

17. Disease Pictures. 2011. African sleeping sickness. [en ligne]. Disponible sur : <http://diseasepicture.com/2010/10/african-sleeping-sickness/?pid=25> (consulté le 08.08.2011)
18. DNDi (Drugs for Neglected Diseases Initiative). NECT Combinaison Thérapeutique de Nifurtimox et d'Eflornithine. [en ligne]. Disponible sur : http://www.dfid.gov.uk/R4D/PDF/Outputs/DNDI/NECT_press_pack_%28French%29.pdf (consulté le 05.05.2011)
19. DNDi (Drugs for Neglected Diseases Initiative). (2008). Maladie du sommeil : La trypanosomiase humaine africaine (THA) , *DNDi Newsletter*, 17. [en ligne]. Disponible sur : http://www.dndi.org/newsletters/n17/fr/2_1.htm (consulté le 05.05.2011)
20. DNDi (Drugs for Neglected Diseases Initiative). (2009). NECT - combinaison thérapeutique contre la maladie du sommeil - inclus dans la liste des médicaments essentiels de l'OMS, *Press Releases 2009*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.dndi.org/press-releases/456-press-releases.html?id=457> (consulté le 05.05.2011)
21. Ellenberg, S., Temple, R. (2000). Placebo-Controlled Trials and Active-Control Trials in the evaluation of new treatments, *Annals of Internal Medicine*, 133 (6): 474-475
22. EMA (European Medicines Agency). (1998). ICH Topic E9: Note for Guidance on Statistical Principles for Clinical Trials (Step 5). CPMP/ICH/363/96. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/ich/036396en.pdf> (consulté le 16.02.2011)
23. EMA (European Medicines Agency). (1995), ICH harmonized tripartite guideline structure and content of clinical study report. [en ligne]. Disponible sur : http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E3/Step4/E3_Guideline.pdf (consulté le 16.02.2011)
24. EMA (European Medicines Agency). (2001). ICH Topic E10: Choice of Control Group in Clinical Trials. [en ligne]. Disponible sur : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/W_C500002925.pdf (consulté le 11.08.2011)
25. Garrett, A. (2003). Therapeutic equivalence : fallacies and falsification, *Statistics in Medicine*, 22: 741-762
26. Geffray, S. Cours Master 1 (2009/2010) d'analyse de survie, Université de Strasbourg
27. GFMgroup (Groupe Français des Myélodisplasie). (2005). Qu'est-ce qu'un essai clinique. Juin 2005. [en ligne]. Disponible sur : http://www.gfmgroup.org/informationpatient/Qu_est-ce_qu_un_essai_clinique_-_Juin_2005.pdf (consulté le 03.03.2011)
28. Grau D., Tests du khi-deux, IUT de Bayonne, [en ligne]. Disponible sur : <http://www.iutbayonne.univ-pau.fr/~grau/2A/stat/cadre5.html> (consulté le 15.02.2011)
29. Hervy, J.-P., photo *Glossina palpalis*, mouche tsé-tsé qui transmet la maladie du sommeil, [en ligne]. Disponible sur : http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/medecine-1/d/maladie-du-sommeil-terrible-fleau-pour-lafrique_664/c3/221/p4/ (consulté le 08.08.2011)
30. Hill, C., Com-Nougé, C., Kramar, A., Morseau, T., O'Quigley, J., Senoussi, R., Chastang, C. (1996). *Analyse statistique des données de survie*, 2^e édition, INSERM Médecine-Sciences Flammarion
31. Hummel, J., Wiseman S. (2008). Non-inferiority Studies with Binary Endpoint: Analysis with Adjustment for Covariates, PSI/EFSPi Annual Conference May 2008. [en ligne]. Disponible sur :

- http://www.ppd.com/resource_library/presentations/NonInferiorityStudieswithBinaryEndpointPresentation_Hummel.pdf (consulté le 10.03.2011)
32. ICH (International Conference on Harmonization). ICH Official web site. [en ligne]. Disponible sur: <http://www.ich.org/home.html> (consulté le 15.02.2011)
 33. Johnson, J., Fitts, D., (2007) Statistical analysis plans principles and practice, Workshop Number 8. [en ligne]. Disponible sur: <http://www.sctweb.org/presentations/2007/SCT-SAP-HANDOUT-01May2007pdf.pdf> (consulté le 25.02.2011)
 34. Le CNAM. Les macros SAS, Département Ingénierie Mathématique du Cnam, [en ligne]. Disponible sur : http://ww1.cnam.fr/maths/IMG/pdf/SAS_macros.pdf (consulté le 25.03.2011)
 35. MedDRA MSSO. Medical Dictionary for Regulatory Activities Maintenance and Support Services Organization. [en ligne]. Disponible sur: http://www.meddrasso.com/public_welcome_french.asp (consulté le 12.05.2011)
 36. Novartis. Essais cliniques. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.novartis.fr/recherche/essais-cliniques/decouverte-medicaments.shtml> (consulté le 03.03.2011)
 37. Omnilogie. L'échelle de Glasgow ou comment savoir si une personne est dans le coma, [en ligne]. Disponible sur : http://omnilogie.fr/O/L%27%C3%A9chelle_de_Glasgow_ou_comment_savoir_si_une_personne_est_dans_le_coma
 38. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2006). Trypanosomiase humaine africaine (maladie de sommeil) : mise à jour épidémiologique, *Relevé épidémiologique hebdomadaire*, 81 : 69-80.
 39. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2010). La trypanosomiase africaine (maladie du sommeil). Centre des médias Aide-mémoire N°259. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/fr/> (consulté le 14.02.2011)
 40. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2004). Recommendations of the Informal Consultation on Issues for Clinical Product Development for Human African Trypanosomiasis. [en ligne]. Disponible sur: http://www.who.int/neglected_diseases/mediacentre/Final%20Clinical_products_for_trypanosomiasis%20November%2007.pdf (consulté le 15.02.2011)
 41. Portail luxembourgeois de l'innovation et de la recherche. Centre de Recherche Public de la Santé. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.innovation.public.lu/fr/ir-luxembourg/acteurs-cles/recherche-publique/crp-sante/index.html> (consulté le 30.03.2011)
 42. Priotto G, Fogg C, Balasegaram M, Erphas O, Louga A et al. (2006). Three drug combinations for late-stage *Trypanosoma brucei gambiense* Sleeping Sickness: A randomized clinical trial in Uganda, *PLoS Clin Trials* 1(8)
 43. Priotto, G., Kasparian, S., Mutombo., W. et al. (2009). Nifurtimox-eflornithine combination therapy for second-stage African *Trypanosoma brucei gambiense* trypanosomiasis: a multicentre, randomised, phase III, non-inferiority trial, *Lancet*. Volume 374, Issue 9683, 4 Pages 56-64
 44. Rousson, V., Seifert, B. (2008). A Mixed Approach for Proving Non-Inferiority in Clinical Trials with Binary Endpoints, *Biometrical Journal*, 50(2), 190-204
 45. SAS support. Example 49.2 Enhanced Survival Plot and Multiple-Comparison Adjustments [en ligne]. Disponible sur:

http://support.sas.com/documentation/cdl/en/statug/63033/HTML/default/statug_lifetest_sect019.htm (consulté le 22.06.2011)

46. Snapinn, S. (2000). Noninferiority trials, *Control Trials Cardiovasc Med*, 1: 19-21
47. Schenker N., Gentleman J. (2001). On Judging the Significance of Differences by Examining the Overlap Between Confidence Intervals, *The American Statistician*, 55(3)
48. Shostak, J. (2005). *SAS Programming in the Pharmaceutical Industry*, 1^{re} édition, SAS Institute Inc. 331 pages
49. Stephens, M. A. (1974). EDF Statistics for Goodness of Fit and Some Comparisons, *Journal of the American Statistical Association (American Statistical Association)*, 69 (347): 730–737.
50. Swanepoel, J., Van Graan F. (2002). Goodness-of-fit tests based on estimated expectations of probability integral transformed order statistics, *Ann. Inst. Statist. Math.*, 54(3), 531-542
51. Temple, R., Ellenberg, S. (2000). Placebo-Controlled Trials and Active-Control in the Evaluation of new treatments Part 1: Ethical and Scientific Issues, *Annals of Internal Medicine*, 133(6): 474-475
52. Tien, P. L., Lin, T.-H., McGranaghan, M., Some Tips and Examples for Using SAS® PROC TABULATE, [en ligne]. Disponible sur : <http://www2.sas.com/proceedings/sugi22/POSTERS/PAPER223.PDF> (consulté le 20.03.2011)
53. Tu, D. (1998). On the use of the ratio or the odds ratio of cure in therapeutic equivalence clinical trials with binary endpoints, *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 8 (2), 263-282
54. Tunes da Silva, G., Logan, B., Klein, J. (2008). Methods for Equivalence and Noninferiority Testing, *Biol Blood Marrow Transplant*, (1 Suppl): 120-127
55. Wang, H., Chow, S.C., and Li, G. (2002). On sample size calculation based on odds ratio in clinical trials. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 12(4), 471-483
56. Washington State Department of Health (2002), Guidelines for Public Health Assessment, [en ligne]. Disponible sur : www.doh.wa.gov/data/guidelines/worddocs/CI_guidelines.pdf (consulté le 15.07.2011)
57. Wellek, S. (2005). Statistical Methods for the Analysis of Two-Arm Non-inferiority Trials with Binary Outcomes, *Biometrical Journal*, 47(1), 48-61
58. Wolfe, R., Hanley, J. (2002). If we're so different, why do we keep overlapping? When 1 plus 1 doesn't make 2, *Canadian Medical Association Journal*, 166(1), 65-66
59. Xiaomin, H., Shwu-Jen, W. (2009). Confidence Intervals for the Binomial Proportion with Zero Frequency, ICON Clinical Research, Paper SP10-2009
60. Ying Zhang, J. (2006). Confidence interval and the Student's t-test, [en ligne]. Disponible sur : <http://projectile.sv.cmu.edu/research/public/talks/t-test.htm> (consulté le 18.04.2011)

Annexe

Annexe 1 Syntaxe SAS®

- A. Population
- B. Tables d'homogénéité
 - 1. Macro
 - 2. Programmation d'une table statistique
- C. Test de non-infériorité
- D. Analyse de survie
- E. Evènements indésirables
- F. Valeurs anormales du laboratoire

Annexe 2 Plan d'analyse statistique

Annexe 1: Syntaxe SAS :

A. Population

```
data Inclusion; merge DiagnosisAfrican PreTreatment(keep=cliniccode
subjectno age_years_compositeunit); by cliniccode subjectno;
  if ctc=1 or microofexamoflna=1 or doublecentofcsf=1 and wccincsf>20 then
HAT=1; else HAT=0;
  if age_years_compositeunit>=15 then age=1; else age=0;
  if age=1 and HAT=1 then Inclusion=1; else Inclusion=0;
run;

data Exclusion; merge PreTreatment LabAssessment;by cliniccode subjectno;
  if pregnancytest=1 then Pregnant=1; else Pregnant=0;
  if past36mths=0 then HAT36m=0;
    else if stageofhat=1 and iffirststage=1 then HAT36m=0; else HAT36m=1;
  if haemoglobin<5 then severeanemia=1; else severeanemia=0;
  if totalbilirubin >50 or alt>70 then Hepatic=1; else Hepatic=0;
  if creatinineclearance <20 then Renal=1; else Renal=0;
  if creatinine='' then Renal=0;
  if Pregnant=1 or HAT36m=1 or severeanemia=1 or Renal=1 or Hepatic=1 then
Exclusion=1; else Exclusion=0;
run;

proc sql;
  create table TestofCureavail as
    select
Followup.subjectno,casesummary.cliniccode,casesummary.treatmentgroup,casesu
mmmary.datestartttreatment,casesummary.dateendttreatment,clinicaldate, ctc,
microofexamoflna, doublecentofcsf, wccincsf, csf_igm
    from casesummary, Followup
    where casesummary.fl18mthsdate = Followup.clinicaldate
    and casesummary.subjectno = Followup.subjectno
    and casesummary.cliniccode = Followup.cliniccode;
  insert into TestofCureavail
  select
Followup.subjectno,casesummary.cliniccode,casesummary.treatmentgroup,casesu
mmmary.datestartttreatment,casesummary.dateendttreatment,clinicaldate,ctc,
microofexamoflna, doublecentofcsf, wccincsf, csf_igm
    from casesummary, Followup
    where casesummary.fl12mthsdate = Followup.clinicaldate
    and Followup.subjectno in (9,45)
    and Followup.cliniccode = 1;
  insert into TestofCureavail
  select Followup.subjectno,casesummary.cliniccode,
casesummary.treatmentgroup,casesummary.datestartttreatment,casesummary.datee
ndttreatment,clinicaldate, ctc, microofexamoflna, doublecentofcsf, wccincsf,
csf_igm
    from casesummary, Followup
    where casesummary.fl12mthsdate = Followup.clinicaldate
    and Followup.subjectno = 23
    and Followup.cliniccode = 2;
  delete from TestofCureavail
    where subjectno=7 and cliniccode=2;
  insert into TestofCureavail
```

```

select Followup.subjectno,casesummary.cliniccode,
casesummary.treatmentgroup,casesummary.datestarttreatment,casesummary.datee
ndtreatment,clinicaldate, ctc, microofexamoflna, doublecentofcsf, wccincsf,
csf_igm
    from casesummary, Followup
    where casesummary.subjectno=7
    and casesummary.cliniccode=2
    and casesummary.fl06mthsdate= Followup.clinicaldate;
quit;
data parasitesatEoT; set Parasitological;
    keep subjectno cliniccode treatmentgroup nonrespatEoT;
    if doublecentofcsf=1 then nonrespatEoT=1;else nonrespatEoT=0;
run;
proc sort data=TestofCureavail; by cliniccode subjectno;run;
proc sort data= parasitesatEoT; by cliniccode subjectno; run;
data TestofCureCat;
    merge parasitesatEoT EndofTreatment (keep=cliniccode subjectno
diedin30d)
        TerminationSheet(keep=cliniccode subjectno treatmentoutcome
discontinuedate) TestofCureavail
        CaseSummary (keep=cliniccode subjectno treatmentgroup
dateofscreening datestarttreatment dateendttreatment fl06mthsdate
fl12mthsdate fl18mthsdate);
    by cliniccode subjectno;
    DatedifEoTlastanal= intck('months',dateendttreatment,clinicaldate);
    /*0=unknown, 1=death in 30 days;2=death during followup;3=non responder;
4=relapse; 5=probrelapse; 6=Probcure; 7=cure*/
    Category=0;cure=0;
    if diedin30d=1 then Category=1;
    if treatmentoutcome=3 and diedin30d=0 then Category=2;
    if nonrespatEoT=1 then Category=3;
    if ctc=1 or microofexamoflna=1 or doublecentofcsf=1 then Category=4;
    if ctc=0 and (microofexamoflna=0 or microofexamoflna=2) and
doublecentofcsf=0 and wccincsf>20 then Category=5;
    if ctc=0 and (microofexamoflna=0 or microofexamoflna=2) and
doublecentofcsf=0 and wccincsf<20 and DatedifEoTlastanal<17 then
Category=6;
    if ctc=0 and (microofexamoflna=0 or microofexamoflna=2) and
doublecentofcsf=0 and wccincsf<20 and DatedifEoTlastanal>17 then
Category=7;
    if Category in (6,7) then cure=1;
run;
proc freq data=TestofCureCat noprint;
    tables treatmentgroup* Category;
run;
/*Termination Sheet results for comparison, not used later*/
data terminal;
    merge TerminationSheet casesummary EndofTreatment;
    keep subjectno cliniccode treatmentgroup dateendttreatment discontinuedate
treatmentoutcome if1_outcomeoftreatment diedin30d Category Cure;
    Category=0;Cure=0;
    if treatmentoutcome=3 and diedin30d=1 then Category=1;
    if treatmentoutcome=3 and diedin30d=0 then Category=2;
    if treatmentoutcome=1 and if1_outcomeoftreatment=1 then Category=6;

```

```

if treatmentoutcome=1 and if1_outcomeoftreatment=2 then Category=4;
if treatmentoutcome=1 and if1_outcomeoftreatment=3 then Category=3;
if treatmentoutcome=2 then Category=6;
if subjectno=23 and cliniccode=2 then Category=7;
/*Les analyses ont montré que le patient était sain,mais remarqué qu'il y
a des symptômes de la maladie de sommeil
mais sur la fiche terminal: il est marqué comme rechuté. Il appartient à
la catégorie cured.*/
if subjectno=48 and cliniccode=1 then Category=7;
/*Les analyses ont montré que le patient était guéri,
mais sur la fiche terminal: il est marqué comme rechuté. Il appartient à
la catégorie cured.*/
if subjectno=51 and cliniccode=1 then Category=5;
/*Les analyses ont montré qu'il a une rechute probable, mais il est marqué
comme guéri. */
if subjectno in (44,52) and cliniccode=1 then Category=0;
if subjectno = 7 and cliniccode=2 then Category =2;
if Category in (6,7) then Cure = 1;
run;
/*****/
/*Dosage*/
/*****/
data dosage;
set NECTProtocole;
drop F9 F10;
run;
/* Drug Group 1*/
proc sort data=dosage; by Poids; run;
proc sort data=DrugGroup1; by Poids;run;
/*1=ok; 2=Not*/
data Dosage_DrugGroup1prime;
merge DrugGroup1 dosage ; by Poids;
if subjectno='' then delete;
run;
data Dosage_DrugGroup1;set Dosage_DrugGroup1prime;
if daydrug>7 then do; NECTE_dose1=0; NECTE_dose2=0;end;
if eflornithinedoseapplication1=NECTE_dose1 then Edose1=1; else Edose1=0;
if eflornithinedoseapplication1='' then do;
Edose1='';eflornithinedoseapplication1=0;end;
DevEfl1= eflornithinedoseapplication1 -NECTE_dose1;
if eflornithinedoseapplication2=NECTE_dose2 then Edose2=1; else Edose2=0;
if eflornithinedoseapplication2='' then do;
Edose2='';eflornithinedoseapplication2=0;end;
DevEfl2= eflornithinedoseapplication2 -NECTE_dose2;
if Edose1=1 and Edose2=1 then Edose=1; else Edose=0;
if Edose1='' and Edose2='' then Edose='';
DevEfttotaljour=DevEfl1+DevEfl2;
Eflttotaljourprevu= NECTE_dose1+ NECTE_dose2;
if Eflttotaljourprevu='' then Eflttotaljourprevu=0;
Eflttotaljourrecu=eflornithinedoseapplication1+eflornithinedoseapplication2;
if nifurtimoxdoseapplication1='' then nifurtimoxdoseapplication1=0;
if nifurtimoxdoseapplication2='' then nifurtimoxdoseapplication2=0;
if nifurtimoxdoseapplication3='' then nifurtimoxdoseapplication3=0;

```

```

Nifurtimoxreceivedday= nifurtimoxdoseapplication1 +
nifurtimoxdoseapplication2 + nifurtimoxdoseapplication3;
  if Nifurtimoxreceivedday=nifurtimoxjour then Ndose=1; else Ndose=0;
  if Ndose=1 and (Edose=1 or Edose='') then Dosecorrect=1; else
Dosecorrect=0;
DeviationNif=(Nifurtimoxreceivedday-nifurtimoxjour)/nifurtimoxjour*100;
run;
proc sort data=Dosage_DrugGroup1; by cliniccode subjectno;run;
proc means noprint data= Dosage_DrugGroup1; by cliniccode subjectno;
  var Nifurtimoxreceivedday; output out=DrugGroup1nif sum=TotalNrecu;
run;
proc means noprint data= Dosage_DrugGroup1; by cliniccode subjectno;
  var Efltotjourrecu; output out=DrugGroup1Efl sum=TotalErecu;
run;
data DGltotprevu; set Dosage_DrugGroup1;
  if daydrug=1 then do;
    Niftotalprevu=nifurtimoxjour*10;
    Eflortotalprevu= (NECTE_dose1+ NECTE_dose2)*7;end;
  else delete;
  keep subjectno cliniccode Efltotalprevu Niftotalprevu Eflorttotalprevu;
run;
data DGltotal; merge DrugGroup1nif DrugGroup1Efl DGltotprevu; by cliniccode
subjectno;
  keep subjectno cliniccode Niftotalprevu TotalNrecu Eflorttotalprevu
TotalErecu;
run;
data DrugGroup1Deviation; set DGltotal;
  diffE=TotalErecu - Eflorttotalprevu;
  if abs(diffE) <0.01 then diffE=0;
  Devtotalnifurtimox= 100*(TotalNrecu - Niftotalprevu)/Niftotalprevu;
  Devtotaleflornithine=100*(diffE)/Eflorttotalprevu;
  treatmentgroup=1;
  drop diffE;
run;
/*Drug Group2*/
proc sort data=dosage; by Poids; run;
proc sort data=DrugGroup2; by Poids;run;
data Dosage_DrugGroup2_prime;
  merge DrugGroup2 dosage; by Poids;
run;
data Dosage_DrugGroup2; set Dosage_DrugGroup2_prime;
  if daydrug>14 then do; E_dose1=0; E_dose2=0; E_dose3=0; E_dose4=0;end;
  if eflornithinedoseapplication1=E_dose1 then Edose1=1; else Edose1=0;
  if eflornithinedoseapplication1='' then do;
Edose1='';eflornithinedoseapplication1=0;end;
  DevEf1= eflornithinedoseapplication1-E_dose1;
  if eflornithinedoseapplication2=E_dose2 then Edose2=1; else Edose2=0;
  if eflornithinedoseapplication2='' then do;
Edose2='';eflornithinedoseapplication2=0;end;
  DevEf2= eflornithinedoseapplication2 -E_dose2;
  if eflornithinedoseapplication3=E_dose3 then Edose3=1; else Edose3=0;
  if eflornithinedoseapplication3='' then do;
Edose3='';eflornithinedoseapplication3=0;end;
  DevEf3= eflornithinedoseapplication3 -E_dose3;

```



```

    if eflornithinedoseapplication4=E_dose4 then Edose4=1; else Edose4=0;
    if eflornithinedoseapplication4='' then do;
Edose4='';eflornithinedoseapplication4=0;end;
    DevEf4= eflornithinedoseapplication4 -E_dose4;
    if Edose1=1 and Edose2=1 and Edose3=1 and Edose4=1 then Dosecorrect=1;
else Dosecorrect=0;
    Devtotaljour=DevEf1+DevEf2+DevEf3+DevEf4;
    Efdosetotjour=
eflornithinedoseapplication1+eflornithinedoseapplication2+eflornithinedosea
pplication3+eflornithinedoseapplication4;
    Efdosejourprevu= E_dose1+E_dose2+E_dose3+E_dose4;
    if subjectno='' then delete;
run;
proc sort data=Dosage_DrugGroup2;by cliniccode subjectno;run;
data DG2Eftotprevu; set Dosage_DrugGroup2;
    if daydrug=1 then Eflttotalprevu=(E_dose1+E_dose2+E_dose3+E_dose4)*14;
    else delete;
    keep subjectno cliniccode Eflttotalprevu;
run;
proc sort data=DG2Eftotprevu; by cliniccode subjectno;run;
proc means noprint data= Dosage_DrugGroup2; by cliniccode subjectno;
    var Efdosetotjour; output out=DG2Eftotrecu sum=Eflttotalrecu;
run;
data DG2total; merge DG2Eftotrecu DG2Eftotprevu; by cliniccode subjectno;
    keep subjectno cliniccode Eflttotalrecu Eflttotalprevu;
run;
data DrugGroup2Deviation; set DG2total;
    test=Eflttotalrecu - Eflttotalprevu;
    if abs(test) <0.01 then test=0;
    Devtotaleflornithine= 100*test/Eflttotalprevu;
    drop test;
    treatmentgroup=2;
run;
data Deviation; set DrugGroup1Deviation DrugGroup2Deviation;
    drop Eflttotalprevu Eflttotalrecu Nifttotalprevu TotalNrecu Eflortotalprevu
TotalErecu;
run;
data Concomitantmeds; merge Concomitant_medications
Casesummary(keep=cliniccode subjectno treatmentgroup datestarttreatment
dateendtreatment); by cliniccode subjectno;
    a=0; Concomitant=0;
    if drug = 'METRONIDAZOLE' then a=1;
    if drug = 'COARTEM' then a=2;
    datediff = intck('days',previoustreatmentstopdate,datestarttreatment);
    if a=0 then delete;
    if a=1 and treatmentgroup=1 then Concomitant=1;
    if a=2 and datediff<1.5 then Concomitant=1;
run;
proc sort data=Deviation; by cliniccode subjectno; run;
data AnalyseDev; merge TestofCureCat Deviation Inclusion Exclusion (keep=
cliniccode subjectno Exclusion) Concomitantmeds (keep= cliniccode subjectno
Concomitant) ;
    by cliniccode subjectno;
    if cure='' then cure=0;

```

```

    if (Devtotaleflornithine>=-5 and (Devtotalnifurtimox>=-5 or
Devtotalnifurtimox='')) then Dose5=1; else Dose5=0;
    if (Devtotaleflornithine>=-15 and (Devtotalnifurtimox>=-15 or
Devtotalnifurtimox='')) then Dose15=1; else Dose15=0;
    if DatedifEoTlastanal<17 and Category in (6,7) then FU18months=0; else
FU18months=1;
    ITT=1;mITT=1; PP=1;
    if Category = 0 then do; ITT=0; mITT=0;PP=0; end;
    if Category in (2,3,4,5,6,7) and Dose15=0 then mITT=0;
    if Category in (2,3,4,5,6,7) and (Dose5=0 or FU18months=0 or Inclusion=0
or Exclusion=1 or Concomitant=1) then PP=0;
    /*Deaths*/
    if Category =1 and (Inclusion=0 or Exclusion=1 or Concomitant=1) then
PP=0;
run;
/*Les populations*/
data populationITT; set AnalyseDev;
    if ITT=0 then delete;
    drop PP mITT;
run;
data populationPP; set AnalyseDev;
    if PP=0 then delete;
    drop ITT mITT;
run;
data populationmITT; set AnalyseDev;
    if mITT=0 then delete;
    drop PP ITT;
run;

```

B. Tables d'homogénéité

1. Macro

```

/*Variables continues: Statistiques descriptives*/
options mlogic mprint ;
%macro statpar (a=,b=);
proc ttest data=&b;
    class treatmentgroup;
    var &a;
    ods output Statistics=stats;
run;
data meanIC; set stats;
    if Class ='Diff (1-2)' then delete;
    treatmentgroup=Class*1;
    drop class;
run;
proc sort data=&b; by treatmentgroup; run;
proc univariate data=&b normal noprint;
    by treatmentgroup;
    var &a;
    Output Out=univ N=n NMISS=missing Median=median Q1=q1 Q3=q3;
run;
data statistics; merge univ meanIC; by treatmentgroup;run;
data &a (KEEP=col2 treatmentgroup label); SET statistics;
    LENGTH LABEL $25;

```

```

ARRAY summary    n missing meansd ci medianq min_max;
ci_label = '[' || PUT(LowerCLMean,5.2)||','|| PUT(UpperCLMean,5.2)||']';
mean_sd = PUT(Mean,5.2)||'('||PUT(StdErr,5.2)||')';
median_Q = PUT(median,5.2)||'['||PUT(q1,5.2)||','||PUT(q3,5.2)||']';
minmax = PUT(Minimum,5.2) ||','|| PUT(Maximum,5.2);
DO OVER summary;
  col2 = _I_;
  IF col2 = 1 THEN LABEL= PUT(missing,3.);
  ELSE IF col2= 2 THEN LABEL= PUT(n,3.);
  ELSE IF col2= 3 THEN LABEL= mean_sd;
  ELSE IF col2= 4 THEN LABEL= ci_label;
  ELSE IF col2= 5 THEN LABEL= median_Q;
  ELSE IF col2= 6 THEN LABEL= minmax;
  OUTPUT;
END;
run;
%mend statpar;

%macro statnonpar (c=,d=);
proc univariate data=&d NOPRINT;
by treatmentgroup;
var &c;
Output Out=univ N=n NMIS=missing Mean=mean STD=std Median=median Q1=q1
Q3=q3 MIN=min MAX=max;
run;
data &c (KEEP=col2 treatmentgroup label); SET univ;
LENGTH LABEL $25;
ARRAY summary    n missing meansd medianq min_max;
mean_sd = PUT(mean,5.2)||'('||PUT(std,5.2)||')';
median_Q = PUT(median,5.2)||'['||PUT(q1,5.2)||','||PUT(q3,5.2)||']';
minmax = PUT(min,5.2) ||','|| PUT(max,5.2);
DO OVER summary;
  i = _I_;
  IF i = 1 THEN DO; LABEL= PUT(missing,3.);col2=1;end;
  ELSE IF i= 2 THEN DO; LABEL= PUT(n,3.);col2=2; end;
  ELSE IF i= 3 THEN DO; LABEL= mean_sd; col2=3;end;
  ELSE IF i= 4 THEN DO; LABEL= median_Q; col2=5;end;
  ELSE IF i= 5 THEN DO; LABEL= minmax; col2=6;end;
  OUTPUT;
END;
RUN;
%mend statnonpar;
%macro stat (x=,data=);
proc sort data=&data; by treatmentgroup; run;
proc univariate data=&data normal noprint;
  by treatmentgroup;
  var &x;
  output out=outnormal(keep=pvalnormal) PROBN= pvalnormal;
run;
proc transpose data=outnormal out= normality; run;
data _null_; set normality(rename=(COL1=pvalnormal1 COL2=pvalnormal2));
  if pvalnormal1 >0.05 and pvalnormal2 > 0.05 then call
symput('varnormal',1);else call symput('varnormal',0);
run;

```

```

%put &varnormal;
%if &varnormal=1 %then
%statpar (a=&x,b=&data);
%else %if &varnormal=0 %then
%statnonpar(c=&x,d=&data);
%mend;

%macro univspar (x=,data=);
proc univariate data=&data NOPRINT;
var &x;
Output Out=univ N=n NMISS=missing Mean=mean STD=std Median=median Q1=q1
Q3=q3 MIN=min MAX=max;
run;
data univ1;
set univ;
ci_low = mean - 1.96 * (std/SQRT(n));
ci_high = mean + 1.96 * (std/SQRT(n));
run;
data &x (KEEP=col2 treatmentgroup label); SET univ1;
LENGTH LABEL $25;
ARRAY summary n missing meansd ci medianq min_max;
ci_label = '[' || PUT(ci_low,5.2)||', '|| PUT(ci_high,5.2)||']';
mean_sd = PUT(mean,5.2)||' ('||PUT(std,5.2)||')';
median_Q = PUT(median,5.2)||' ['||PUT(q1,5.2)||', '||PUT(q3,5.2)||']';
minmax = PUT(min,5.2) ||', '|| PUT(max,5.2);
DO OVER summary;
col2 = _I_;
IF col2 = 1 THEN LABEL= PUT(missing,3.);
ELSE IF col2= 2 THEN LABEL= PUT(n,3.);
ELSE IF col2= 3 THEN LABEL= mean_sd;
ELSE IF col2= 4 THEN LABEL= ci_label;
ELSE IF col2= 5 THEN LABEL= median_Q;
ELSE IF col2= 6 THEN LABEL= minmax;
OUTPUT;
END;
RUN;
%mend univspar;

%macro univsnonpar (x=,data=);
proc sort data=&data; by treatmentgroup;
run;
proc univariate data=&data NOPRINT;
var &x;
Output Out=univ N=n NMISS=missing Mean=mean STD=std Median=median Q1=q1
Q3=q3 MIN=min MAX=max;
run;
data &x (KEEP=col2 treatmentgroup label); SET univ;
LENGTH LABEL $25;
ARRAY summary n missing meansd medianq min_max;
mean_sd = PUT(mean,5.2)||' ('||PUT(std,5.2)||')';
median_Q = PUT(median,5.2)||' ['||PUT(q1,5.2)||', '||PUT(q3,5.2)||']';
minmax = PUT(min,5.2) ||', '|| PUT(max,5.2);
DO OVER summary;
i = _I_;
IF i = 1 THEN DO; LABEL= PUT(missing,3.); col2=1; end;

```

```

ELSE IF i= 2 THEN DO; LABEL= PUT(n,3.); col2=2; end;
ELSE IF i= 3 THEN DO; LABEL= mean_sd; col2=3; end;
ELSE IF i= 4 THEN DO; LABEL= median_Q; col2=5; end;
ELSE IF i= 5 THEN DO; LABEL= minmax; col2=6; end;
OUTPUT;
END;
RUN;
%mend univsnonpar;
%macro univsall (var=,file=);
proc sort data=&file; by treatmentgroup; run;
proc univariate data=&file normal noprint;
by treatmentgroup;
var &var;
output out=outnormal(keep=pvalnormal) PROBN= pvalnormal;
run;
proc transpose data=outnormal out= normality; run;
data _null_; set normality(rename=(COL1=pvalnormal1 COL2=pvalnormal2));
if pvalnormal1 >0.05 and pvalnormal2 > 0.05 then call
symput('varnormal',1);else call symput('varnormal',0);
run;
%put &varnormal;
%if &varnormal=1 %then
%univspar (x=&var,data=&file);
%else %if &varnormal=0 %then
%univsnonpar(x=&var,data=&file);
%mend univsall;

```

Variables qualitatives

*/*Calculation of Binomial Confidence Interval for proportion using Wilson Method*/*

```

%macro WilsonIC1tx1 (x=,y=);
proc sort data=&y; by treatmentgroup;
proc freq data=&y;
where treatmentgroup=1;
tables &x/ binomial(wilson level='1');
ods output BinomialCLs=ICdata1tx1;
run;
data ICdata1bistx1; set ICdata1tx1;
&x=1;treatmentgroup=1;
run;
%mend WilsonIC1tx1;
%macro WilsonIC1tx2 (x=,y=);
proc sort data=&y; by treatmentgroup;
proc freq data=&y;
where treatmentgroup=2;
tables &x/ binomial(wilson level='1');
ods output BinomialCLs=ICdata1tx2;
run;
data ICdata1bistx2; set ICdata1tx2;
&x=1;treatmentgroup=2;
run;
%mend WilsonIC1tx2;
%macro WilsonIC2tx1 (x=,y=);
proc sort data=&y; by treatmentgroup;

```

```

proc freq data=&y;
  where treatmentgroup=1;
    tables &x/ binomial(wilson level='2');
    ods output BinomialCLs=ICdata2tx1;
  run;
  data ICdata2bistx1; set ICdata2tx1;
    &x=2;treatmentgroup=1;
  run;
%mend WilsonIC2tx1;
%macro WilsonIC2tx2 (x=,y=);
proc sort data=&y; by treatmentgroup;
proc freq data=&y;
  where treatmentgroup=2;
    tables &x/ binomial(wilson level='2');
    ods output BinomialCLs=ICdata2tx2;
  run;
  data ICdata2bistx2; set ICdata2tx2;
    &x=2;treatmentgroup=2;
  run;
%mend WilsonIC2tx2;
%macro WilsonIC1all (x=,y=);
proc freq data=&y;
  tables &x/ binomial(wilson level='1');
  ods output BinomialCLs=ICdata1;
run;
data ICdata1bis; set ICdata1;
  &x=1;
run;
%mend WilsonIC1all;
%macro WilsonIC2all (x=,y=);
proc freq data=&y;
  tables &x/ binomial(wilson level='2');
  ods output BinomialCLs=ICdata2;
run;
data ICdata2bis; set ICdata2;
  &x=2;
run;
%mend WilsonIC2all;
/* macro calculates n (percent) and CI of Percent
   used for statistical table 3*/
%macro freqnic (var=,file=,x=);
proc freq data=&file (where=(&var is not missing)) noprint;
  tables treatmentgroup*&var/ out=outone (DROP=PERCENT);
run;
proc freq data=&file noprint;
  tables treatmentgroup /out=outtmt (DROP=PERCENT);
run;
data n; merge outone outtmt (RENAME=(COUNT=denom));
  by treatmentgroup;
  LENGTH LABEL $25;
  Percent=COUNT/denom*100;
  if &var=0 or &var='' then delete;
  LABEL =PUT(COUNT,4.) || '(' || PUT((Percent),5.3) || '%)';
  if &var=1 then col2=&x;

```

```

    if &var=2 then col2=&x+2;
run;
/*Initialisation of IC data sets by creating empty sets*/
DATA ICdata1bistx1; STOP; RUN;
DATA ICdata2bistx1; STOP; RUN;
DATA ICdata1bistx2; STOP; RUN;
DATA ICdata2bistx2; STOP; RUN;
proc sort data=&file nodupkey out=values ;by &var treatmentgroup; run;
data _null_; set values;
    if &var=1 and treatmentgroup=1 then CALL
EXECUTE('%WilsonIC1tx1(x=&var,y=&file)');
    if &var=1 and treatmentgroup=2 then CALL
EXECUTE('%WilsonIC1tx2(x=&var,y=&file)');
    if &var=2 and treatmentgroup=1 then CALL
EXECUTE('%WilsonIC2tx1(x=&var,y=&file)');
    if &var=2 and treatmentgroup=2 then CALL
EXECUTE('%WilsonIC2tx2(x=&var,y=&file)');
run;
data IC; set ICdata1bistx1 ICdata1bistx2 ICdata2bistx1 ICdata2bistx2;
    LENGTH LABEL $25;
    LABEL = '['||PUT(LowerCL*100,5.2)||'%,'||PUT(UpperCL*100,5.2)||'%]';
    if &var=1 then col2=&x+1; else col2=&x+3;
run;
data &var (KEEP=col2 treatmentgroup label); SET n IC;
    output;
run;
%mend freqnic;
%macro freqnicall (var=,file=,x=);
proc freq data=&file (where=(&var is not missing)) noprint;
    tables &var/ out=outtwo (DROP=PERCENT);
run;
proc freq data=&file noprint;
    tables treatmentgroup /out=outtmt (DROP=PERCENT);
run;
proc means data= outtmt noprint;
    var COUNT; output out=sumtreatment sum=sumtreat;
run;
data two; set outtwo;
    if &var=0 then delete;
run;
data _null_;
    set two END=eof; /*eof=end of file*/
    if eof THEN DO;
        CALL SYMPUT('nrows',put(_N_,8.));
    end;
run;
%put &nrows;
data sumtmt; set sumtreatment;
    do i= 1 to &nrows;
        output;
    end;
    drop i;
run;
data nper; merge two sumtmt;

```

```

LENGTH LABEL $25;
Percent=COUNT/sumtreat*100;
LABEL = PUT(COUNT,4.)||'('||PUT(Percent,5.3)||'%)';
if &var=1 then col2=&x;
if &var=2 then col2=&x+2;
treatmentgroup=3;
run;
DATA ICdata1bis; STOP; RUN;
DATA ICdata2bis; STOP; RUN;
proc sort data=&file nodupkey out=values ;by &var; run;
data _null_; set values;
    if &var=1 then CALL EXECUTE('%WilsonIC1all(x=&var,y=&file)');
    if &var=2 then CALL EXECUTE('%WilsonIC2all(x=&var,y=&file)');
run;
data IC; set ICdata1bis ICdata2bis;
    LENGTH LABEL $25;
    LABEL = '['||PUT(LowerCL*100,5.2)||'%,'||PUT(UpperCL*100,5.2)||'%]';
    if &var=1 then col2=&x+1; else col2=&x+3;
    treatmentgroup=3;
run;
data &var (KEEP=col2 treatmentgroup label); SET nper IC;
    output;
run;
%mend freqnicall;

```

2. Programmation d'une table statistique

```

options nodate;
title1 'Statistical Table 10 - Demographic Characteristics';
title2 'a. ITT Population';

proc format;
    value collfmt
        1= "Age (years) "
        2= "Sex"
        3= "Ethnic group"
        4= "Height (cm) "
        5= "Screening mode";
    value col2fmt
        1= "Missing"
        2= "n"
        3= "Mean (SD) "
        4= "[95% CI] "
        5= "Median [Q1,Q3] "
        6= "Min,Max"
        7= "Male/n(%) "
        8= "Male/[95% CI] "
        9= "Female/n(%) "
        10= "Female/[95% CI] "
        11= "Black/n(%) "
        12= "Black/[95% CI] "
        13= "Other/n(%) "
        14= "Other/[95% CI] "

```



```

15= "Active/n(%)"
16= "Active/[95% CI]"
17= "Passive/n(%)"
18= "Passive/[95% CI]";
run;
data baselineITT;
  merge Pretreatment ClinicalAssessment popITT; by cliniccode subjectno;
  if ITT=0 then delete;
run;
proc sort data=baselineITT; by treatmentgroup;
run;

%freqnicmiss (var=sex,file=baselineITT,x=7)
%freqnicmiss (var=race,file=baselineITT,x=11)
%freqnicmiss (var=screeningmode,file=baselineITT,x=15)
data Qualinicmiss; set sex (In=a) race (In=b) screeningmode (In=c);
  if a then coll=2;
  else if b then coll=3;
  else if c then coll=5;
run;

%freqnicmissall (var=sex,file=baselineITT,x=7)
%freqnicmissall (var=race,file=baselineITT,x=11)
%freqnicmissall (var=screeningmode,file=baselineITT,x=15)
data Qualinicmissall; set sex (In=a) race (In=b) screeningmode (In=c);
  if a then coll=2;
  else if b then coll=3;
  else if c then coll=5;
run;

data varquali;
  set Qualinicmiss Qualinicmissall;
run;
/*Les tests d'homogénéité entre les deux groupes de traitement: valeurs
qualitatives (test de khi-deux)*/
proc freq data=baselineITT noprint;
  tables treatmentgroup*sex/norow nocol chisq;
  Output out=outpsex (keep=P_PCHI rename=(P_PCHI=pvalsex))pchi;
run;
data psex; set outpsex;
  Length LABEL $18;
  Label = put(pvalsex,6.4)||' *';
  coll=2;
  col2=10;
  treatmentgroup=4;
run;
proc freq data=baselineITT noprint;
  tables treatmentgroup*race/norow nocol chisq;
  Output out=outprace pchi ;
run;
data prace;
  length Label $18;
  Label = 'NA *';
  coll=3;

```

```

col2=12;
treatmentgroup=4;
run;
proc freq data=baselineITT noprint;
  tables treatmentgroup*screeningmode/norow nocol chisq;
  Output out=outscreen (keep=P_PCHI rename=(P_PCHI=pvalscreen))pchi;
run;
data pscreen; set outscreen;
  Length LABEL $18;
  Label = put(pvalscreen,6.4)||' *';
  coll=5;
  col2=18;
  treatmentgroup=4;
run;

%stat(x=age_years_compositeunit,data=baselineITT )
%stat(x=height,data=baselineITT)

data univs1; set age_years_compositeunit (In=a) height (In=b);
  if a then coll=1;
  else if b then coll=4;
run;
%univsall(var=age_years_compositeunit,file=baselineITT)
%univsall(var=height,file=baselineITT)
data univs2; set age_years_compositeunit (In=a) height (In=b);
  treatmentgroup=3;
  if a then coll=1;
  else if b then coll=4;
run;
data univs;
  set univs1 univs2;
run;
/*Les tests d'homogénéité entre les groupes de traitement: Variables
quantitatives*/
%homogeneity(x=height,data=baselineITT)
%homogeneity(x=age_years_compositeunit,data=baselineITT)

data homo; set age_years_compositeunit (In=a) height (In=b);
  if a then coll=1;
  else if b then coll=4;
run;
data final; set univs varquali psex prace pscreen homo;
  START+1;
  FMTNAME='valuef';
run;

proc format CNTLIN=final (KEEP= START LABEL FMTNAME);
proc sort data=final; by treatmentgroup coll;
run;
footnote1 '$ : Student t test (pooled)';
footnote2 '£ : Wilcoxon-Mann-Whitney test';
footnote3 '* : Chi-square test';
footnote4 '° : Fisher';
ods rtf file='R:\2011\GUTH Tessy\results\Statistical Table 10 ITT.rtf';

```

```

proc tabulate data=final style=[just=center background=white] missing;
  class col1 col2 treatmentgroup / style=[background=white];
  classlev col1 col2 treatmentgroup / style=[background=white];
  var START;
  format col1 col1fmt. col2 col2fmt. treatmentgroup rowITTfmt.;
  tables col1=' '*col2=' ',
         treatmentgroup=' '*START=' '*SUM=' '*F=valuef18.
         /RTS=32 misstext=' ' box=[label='Demographic Characteristics'
style=[background=white just=left]];
run;
ods rtf close;
footnote1;
footnote2;
footnote3;
footnote4;

```

C. Test de non-infériorité

```

%macro NonInferiority (file=, var=);
ods output PdiffNoninf=Noninfresults (keep= Estimate PValue LowerCL
UpperCL);
proc freq data=&file;
  format treatmentgroup treatgroup.
         Cure cure.;
  tables treatmentgroup*Cure/ riskdiff(column=2 noninf margin=0.1
method=wald) out=Curerate(DROP=PERCENT) ;
run;
ods output close;

proc means data=Curerate noprint;by treatmentgroup;
var COUNT;
Output Out=somme sum= tmttotal;
run;
data Cured (keep= row treatmentgroup LABEL); merge Curerate somme; by
treatmentgroup;
  LENGTH LABEL $25;
  if Cure=0 then delete;
  ARRAY Cured Cure tmttotal;
  do over Cured;
    row1=_I_;
    IF row1 = 1 then LABEL = PUT(COUNT,3.)||'/'||PUT(tmttotal,3.);
    IF row1 = 2 then LABEL= PUT(COUNT/tmttotal*100,5.3)||'%';
    row=row1+2;
    OUTPUT;
  END;
run;
data Noninf (keep= row treatmentgroup LABEL); SET Noninfresults;
LENGTH LABEL $25;
ARRAY noninf Estimate PValue LowerCL;
DO OVER noninf;
row1=_I_;
  IF row1 = 1 THEN LABEL=PUT(Estimate,7.4);

```

```

ELSE IF row1= 2 THEN LABEL='[' ||PUT(LowerCL,7.4)||', '||
PUT(UpperCL,7.4)||']';
ELSE IF row1= 3 THEN LABEL= PUT(PValue,7.4)||' NI';
row=row1+4;
treatmentgroup=2;
OUTPUT;
END;
run;
data &var; set Cured NonInf;
output;
run;
%mend NonInferiority;

```

Régression logistique

```

proc logistic data=populationITT;
format treatmentgroup treatgroup.
Cure cure.;
class treatmentgroup (ref='DFMO') ;
model Cure = treatmentgroup / covb alpha=0.1;
run;

```

D. Analyse de survie

```

data survival; set TestofCureCat;
status=0;
if cure=1 then status=1;
if cliniccode=2 and subjectno=7 then DatedifEoTlastanal=10;
run;
data survivalITT; merge survival popITT;
if ITT=0 then delete;
run;
proc lifetest data= data survivalITT method=KM plots=(s) graphics;
time DatedifEoTlastanal*status(1);
strata treatmentgroup;
run;

```

E. Evènements indésirables

```

title1 'Statistical Table 26 - AEs by SOC and PT';
title2 'Safety Population';

Proc sort data=AEsduringtx_bis nodupkeys out=AEduringtx_SOC;
by SYSTEM_ORGAN_CLASS CODEPATIENT;
Run;
Proc sort data=AEsduringtx_bis nodupkeys out=AEduringtx_PT;
by SYSTEM_ORGAN_CLASS PREFERRED_TERM CODEPATIENT;
Run;
proc freq data=AEduringtx_SOC;
table SYSTEM_ORGAN_CLASS*treatmentgroup/ Nocum nocol norow nopercnt out=
AEbySOC(drop=Percent);
run;
proc freq data=AEduringtx_PT noprint;

```

```

    table SYSTEM_ORGAN_CLASS*PREFERRED_TERM*treatmentgroup/ Nocum nocol norow
nopercent out= AEbyPT(drop=Percent);
run;
proc freq data=popSafety noprint;
    table treatmentgroup/ out=nbtmt (drop=Percent);
run;
proc sort data=AEbySOC; by treatmentgroup;run;
data AE_SOC; merge AEbySOC nbtmt (rename=(COUNT=nbtmt)); by treatmentgroup;
    length LABEL $25;
    Percent= COUNT/nbtmt*100;
    LABEL= PUT(COUNT,4.) || ' (' || PUT(Percent,4.2) || '%)';
    PREFERRED_TERM='AAA';
run;
proc sort data=AEbyPT; by treatmentgroup;run;
data AE_PT; merge AEbyPT nbtmt (rename=(COUNT=nbtmt)); by treatmentgroup;
    length LABEL $25;
    Percent= COUNT/nbtmt*100;
    LABEL= PUT(COUNT,4.) || ' (' || PUT(Percent,4.2) || '%)';
run;
data AE; set AE_PT AE_SOC; run;
/*Overall*/
proc freq data=AEduringtx_SOC noprint;
    table SYSTEM_ORGAN_CLASS/ Nocum nocol norow nopercent out=
AEbySOCall(drop=Percent);
run;
proc freq data=AEduringtx_PT noprint;
    table SYSTEM_ORGAN_CLASS*PREFERRED_TERM/ Nocum nocol norow nopercent out=
AEbyPTall(drop=Percent);
run;
data AEbySOCall1; set AEbySOCall;
    PREFERRED_TERM='AAA';
run;
data AEALL1; set AEbyPTall AEbySOCall1; run;

proc means data= nbtmt sum;
    var COUNT;
    Output out= nbtmttotal sum=nbtmttotal;
run;
data _null_;
    SET AEALL1 END=eof; /*eof=end of file*/
    IF eof THEN DO;
        CALL SYMPUT('nrows',put(_N_,8.));
    end;
run;
%put &nrows;
data nbtmttotal1; set nbtmttotal;
    do i= 1 to &nrows;
        output;
    end;
    drop i;
run;
data AE_ALL; merge AEALL1 nbtmttotal1;
    length LABEL $25;
    Percent= COUNT/nbtmttotal*100;

```

```

    LABEL= PUT(COUNT,4.)||' ('||PUT(Percent,4.2)||'%)';
    treatmentgroup=3;
run;
/*Final*/
proc sort data=AE; by treatmentgroup SYSTEM_ORGAN_CLASS
PREFERRED_TERM;run;
proc sort data=AE_ALL; by SYSTEM_ORGAN_CLASS PREFERRED_TERM;run;
data final; set AE AE_ALL;
    START+1;
    FMTNAME='valuef';
run;
proc format CNTLIN=final (KEEP= START LABEL FMTNAME);
proc sort data=final; by treatmentgroup ; run;
ods rtf file='R:\2011\GUTH Tessa\results\Statistical Table 26 AE by SOC and
PT.rtf';
proc tabulate data=final FORMCHAR='FABFACCCBCEB8FECABCBBB'X
style=[just=center background=white];
    class SYSTEM_ORGAN_CLASS PREFERRED_TERM treatmentgroup /
style=[background=white];
    classlev SYSTEM_ORGAN_CLASS PREFERRED_TERM treatmentgroup /
style=[background=white];
    var START;
    format treatmentgroup rowallfmt. PREFERRED_TERM $pt.;
    tables SYSTEM_ORGAN_CLASS='System Organ Class'*Preferred_Term='Preferred
Term',
        (treatmentgroup=' '*START=' '*SUM=' '*F=valuef18.)
        /RTS=22 misstext='0' box=[label='Number of patients(%) with AE'
style=[background=white]];
run;
ods rtf close;

```

F. Valeurs anormales du laboratoire:

```

data ABnormalLabAss;
    merge casesummary (keep= subjectno cliniccode treatmentgroup)
    LabAssessment (keep= subjectno cliniccode haemoglobin wbc neutrophil)
    LabAssD1115(keep= subjectno cliniccode haemoglobinEoT wbcEoT
neutrophilEoT)
    LabAssDischarge(keep= subjectno cliniccode haemoglobinDis wbcDis
neutrophilDis);
    by cliniccode subjectno;
    ABnorm_haemoglobinbase=0; ABnorm_wbcbase=0; ABnorm_neutrophilbase=0;
    ABnorm_haemoglEoT=0; ABnorm_wbcEoT=0; ABnorm_neutrophilEoT=0;
    ABnorm_haemoglDis=0; ABnorm_wbcDis=0; ABnorm_neutrophilDis=0;
    if haemoglobin <11 then ABnorm_haemoglobinbase=1;
    if haemoglobin <10 then ABnorm_haemoglobinbase=2;
    if haemoglobin <8 then ABnorm_haemoglobinbase=3;
    if haemoglobinEoT ='' then ABnorm_haemoglobinbase=0;
    if haemoglobinEoT <11 then ABnorm_haemoglEoT=1;
    if haemoglobinEoT <10 then ABnorm_haemoglEoT=2;
    if haemoglobinEoT <8 then ABnorm_haemoglEoT=3;
    if haemoglobinEoT ='' then ABnorm_haemoglDis=0;
    if haemoglobinDis <11 then ABnorm_haemoglDis=1;

```

```

if haemoglobinDis <10 then ABnorm_haemoglDis=2;
if haemoglobinDis <8 then ABnorm_haemoglDis=3;
if haemoglobinDis ='' then ABnorm_haemoglDis=0;
if haemoglobinEoT ne '' and haemoglobinDis ne'' then haemoglobin2=1; else
haemoglobin2=0;
if wbc <4000 then ABnorm_wbcBase=1;
if wbc <3000 then ABnorm_wbcBase=2;
if wbc <2000 then ABnorm_wbcBase=3;
if wbc <1000 then ABnorm_wbcBase=4;
if wbcEoT ='' then ABnorm_wbcEoT=0;
if wbcEoT <4000 then ABnorm_wbcEoT=1;
if wbcEoT <3000 then ABnorm_wbcEoT=2;
if wbcEoT <2000 then ABnorm_wbcEoT=3;
if wbcEoT <1000 then ABnorm_wbcEoT=4;
if wbcEoT ='' then ABnorm_wbcEoT=0;
if wbcDis <4000 then ABnorm_wbcDis=1;
if wbcDis <3000 then ABnorm_wbcDis=2;
if wbcDis <2000 then ABnorm_wbcDis=3;
if wbcDis <1000 then ABnorm_wbcDis=4;
if wbcDis ='' then ABnorm_wbcDis=0;
if wbcEoT ne '' and wbcDis ne '' then wbc2=1; else wbc2=0;
if neutrophil <2000 and neutrophil > 0 then ABnorm_neutrophilBase=1;
if neutrophil <1500 then ABnorm_neutrophilBase=2;
if neutrophil <1000 then ABnorm_neutrophilBase=3;
if neutrophil <500 then ABnorm_neutrophilBase=4;
if neutrophilEoT ='' then ABnorm_neutrophilBase=0;
if neutrophilEoT <2000 and neutrophilEoT > 0 then ABnorm_neutrophilEoT=1;
if neutrophilEoT <1500 then ABnorm_neutrophilEoT=2;
if neutrophilEoT <1000 then ABnorm_neutrophilEoT=3;
if neutrophilEoT <500 then ABnorm_neutrophilEoT=4;
if neutrophilEoT ='' then ABnorm_neutrophilEoT=0;
if neutrophilDis <2000 and neutrophilDis > 0 then ABnorm_neutrophilDis=1;
if neutrophilDis <1500 then ABnorm_neutrophilDis=2;
if neutrophilDis <1000 then ABnorm_neutrophilDis=3;
if neutrophilDis <500 then ABnorm_neutrophilDis=4;
if neutrophilDis ='' then ABnorm_neutrophilDis=0;
if neutrophilEoT ne '' and neutrophilDis ne '' then neutrophil2=1; else
neutrophil2=0;
ABnorm_haemoglobin=max(ABnorm_haemoglEoT,ABnorm_haemoglDis);
ABnorm_wbc=max(ABnorm_wbcEoT,ABnorm_wbcDis);
ABnorm_neutrophil=max(ABnorm_neutrophilEoT,ABnorm_neutrophilDis);
if ABnorm_haemoglobin-ABnorm_haemoglobinBase>0 then Eval_haemo=1; else
Eval_haemo=0;
if ABnorm_wbc-ABnorm_wbcBase>0 then Eval_wbc=1; else Eval_wbc=0;
if ABnorm_neutrophil-ABnorm_neutrophilBase>0 then Eval_neutrophil=1; else
Eval_neutrophil=0;
if Eval_haemo=0 then ABnorm_haemoglobin=0;
if Eval_wbc=0 then ABnorm_wbc=0;
if Eval_neutrophil=0 then ABnorm_neutrophil=0;
run;
proc sort data= LabAssBiochemEoT;by cliniccode subjectno; run;
proc sort data= LabAssBiochemDis;by cliniccode subjectno; run;
data ABnormalBioAss;
merge casesummary (keep= subjectno cliniccode treatmentgroup)

```

```

LabAssessment (keep= subjectno cliniccode alt creatinineclearance
totalbilirubin creatinine)
LabAssBiochemEoT(keep= subjectno cliniccode altEoT
creatinineclearanceEoT totalbilirubinEoT creatinineEoT)
LabAssBiochemDis(keep= subjectno cliniccode altDis
creatinineclearanceDis totalbilirubinDis creatinineDis);
by cliniccode subjectno;
ABnorm_totalbilirubinbase=0;ABnorm_altbase=0;
ABnorm_creatininebase=0;ABnorm_creatinineclearancebase=0;

ABnorm_totalbilirubinEoT=0;ABnorm_altEoT=0;ABnorm_creatinineEoT=0;ABnorm_cr
eatinineclearanceEoT=0;

ABnorm_totalbilirubinDis=0;ABnorm_altDis=0;ABnorm_creatinineDis=0;ABnorm_cr
eatinineclearanceDis=0;
if totalbilirubin > 17 then ABnorm_totalbilirubinBase=1;
if totalbilirubin > (1.5*17) then ABnorm_totalbilirubinBase=2;
if totalbilirubin > (3* 17) then ABnorm_totalbilirubinBase=3;
if totalbilirubin > 170 then ABnorm_totalbilirubinBase=4;
if totalbilirubinEoT > 17 then ABnorm_totalbilirubinEoT=1;
if totalbilirubinEoT > (1.5*17) then ABnorm_totalbilirubinEoT=2;
if totalbilirubinEoT > (3* 17) then ABnorm_totalbilirubinEoT=3;
if totalbilirubinEoT > 170 then ABnorm_totalbilirubinEoT=4;
if totalbilirubinDis > 17 then ABnorm_totalbilirubinDis=1;
if totalbilirubinDis > (1.5*17) then ABnorm_totalbilirubinDis=2;
if totalbilirubinDis > (3* 17) then ABnorm_totalbilirubinDis=3;
if totalbilirubinDis > 170 then ABnorm_totalbilirubinDis=4;
if totalbilirubinEoT ne '' and totalbilirubinDis ne '' then
totalbilirubin2=1; else totalbilirubin2=0;
if alt > 32 then ABnorm_altBase=1;
if alt > (3*32) then ABnorm_altBase=2;
if alt > (5*32) then ABnorm_altBase=3;
if alt > (20*32) then ABnorm_altBase=4;
if altEoT > 32 then ABnorm_altEoT=1;
if altEoT > (3*32) then ABnorm_altEoT=2;
if altEoT > (5*32) then ABnorm_altEoT=3;
if altEoT > (20*32) then ABnorm_altEoT=4;
if altDis > 32 then ABnorm_altDis=1;
if altDis > (3*32) then ABnorm_altDis=2;
if altDis > (5*32) then ABnorm_altDis=3;
if altDis > (20*32) then ABnorm_altDis=4;
if altEoT ne '' and altDis ne '' then alt2=1; else alt2=0;
if creatinine > 80 then ABnorm_creatinineBase=1;
if creatinine > (1.5*80) then ABnorm_creatinineBase=2;
if creatinine > (3*80) then ABnorm_creatinineBase=3;
if creatinine > (6*80) then ABnorm_creatinineBase=4;
if creatinineEoT > 80 then ABnorm_creatinineEoT=1;
if creatinineEoT > (1.5*80) then ABnorm_creatinineEoT=2;
if creatinineEoT > (3*80) then ABnorm_creatinineEoT=3;
if creatinineEoT > (6*80) then ABnorm_creatinineEoT=4;
if creatinineDis > 80 then ABnorm_creatinineDis=1;
if creatinineDis > (1.5*80) then ABnorm_creatinineDis=2;
if creatinineDis > (3*80) then ABnorm_creatinineDis=3;
if creatinineDis > (6*80) then ABnorm_creatinineDis=4;

```



```

    if creatinineEoT ne '' and creatinineDis ne '' then creatinine2=1; else
creatinine2=0;
    if creatinineclearance < 90 then ABnorm_creatinineclearanceBase=1;
    if creatinineclearance < 60 then ABnorm_creatinineclearanceBase=2;
    if creatinineclearance < 30 then ABnorm_creatinineclearanceBase=3;
    if creatinineclearance < 15 then ABnorm_creatinineclearanceBase=4;
    if creatinineclearance = '' then ABnorm_creatinineclearanceBase=0;
    if creatinineclearanceEoT < 90 then ABnorm_creatinineclearanceEoT=1;
    if creatinineclearanceEoT < 60 then ABnorm_creatinineclearanceEoT=2;
    if creatinineclearanceEoT < 30 then ABnorm_creatinineclearanceEoT=3;
    if creatinineclearanceEoT < 15 then ABnorm_creatinineclearanceEoT=4;
    if creatinineclearanceEoT = '' then ABnorm_creatinineclearanceEoT=0;
    if creatinineclearanceDis < 90 then ABnorm_creatinineclearanceDis=1;
    if creatinineclearanceDis < 60 then ABnorm_creatinineclearanceDis=2;
    if creatinineclearanceDis < 30 then ABnorm_creatinineclearanceDis=3;
    if creatinineclearanceDis < 15 then ABnorm_creatinineclearanceDis=4;
    if creatinineclearanceDis = '' then ABnorm_creatinineclearanceDis=0;
    if creatinineclearanceEoT ne '' and creatinineclearanceDis ne '' then
creatinineclearance2=1; else creatinineclearance2=0;

ABnorm_totalbilirubin=max(ABnorm_totalbilirubinEoT,ABnorm_totalbilirubinDis
);
ABnorm_alt=max(ABnorm_altEoT,ABnorm_altDis);
ABnorm_creatinine=max(ABnorm_creatinineEoT,ABnorm_creatinineDis);

ABnorm_creatinineclearance=max(ABnorm_creatinineclearanceEoT,ABnorm_creatin
ineclearanceDis);
    if ABnorm_alt-ABnorm_altBase>0 then Eval_alt=1; else Eval_alt=0;
    if ABnorm_totalbilirubin-ABnorm_totalbilirubinBase>0 then
Eval_totalbilirubin=1; else Eval_totalbilirubin=0;
    if ABnorm_creatinine-ABnorm_creatinineBase>0 then Eval_creatinine=1; else
Eval_creatinine=0;
    if ABnorm_creatinineclearance-ABnorm_creatinineclearanceBase>0 then
Eval_creatinineclearance=1; else Eval_creatinineclearance=0;
    if Eval_totalbilirubin=0 then ABnorm_totalbilirubin=0;
    if Eval_alt=0 then ABnorm_alt=0;
    if Eval_creatinine=0 then ABnorm_creatinine=0;
    if Eval_creatinineclearance=0 then ABnorm_creatinineclearance=0;
run;
data plateletc;
    Length LABEL $18;
    item=3;x=4; LABEL = 'ND/NA'; treatmentgroup=3;
    do k =1 to 2;
        do i= 1 to 4;
            do j= 1 to 3;
                output; x=i; treatmentgroup=j;
            end;
        end;
    end;
    drop i j;
run;
data plateletcount; set plateletc;
    col2=k;
    col1=x+3;

```

```

    drop x k;
run;
data Haemotology;
    Length LABEL $18;
    item=1; coll=8;col2=3; LABEL= ' ';treatmentgroup=3;
run;
data Biochemistry;
    Length LABEL $18;
    item=6; coll=8;col2=7; LABEL= ' ';treatmentgroup=3;
run;
options mlogic mprint ;
%macro LabAbnormal (VarCount=,VarN=,file=,x=);
proc freq data=&file noprint;
    tables &VarCount*treatmentgroup / out=percent (DROP=PERCENT);
    tables &VarN*treatmentgroup /out=outN (DROP=PERCENT);
run;
data N; set outN;
    if &VarN=0 then delete;
    keep COUNT treatmentgroup;
    RENAME COUNT=N;
run;
proc sort data=percent; by treatmentgroup;run;
data nN; merge percent N ;by treatmentgroup;
    LENGTH LABEL $25;
    if &varCount=0 then delete;
    LABEL =PUT(COUNT,4.)|| '/' || PUT(N,4.);
    col2=1;
    if &VarCount=1 then coll=&x;
    if &VarCount=2 then coll=&x+1;
    if &VarCount=3 then coll=&x+2;
    if &VarCount=4 then coll=&x+3;
run;

data percent; merge percent N;by treatmentgroup;
    LENGTH LABEL $25;
    Percent=COUNT/N*100;
    if &varCount=0 then delete;
    LABEL = PUT((Percent),5.3)|| '%';
    col2=2;
    if &VarCount=1 then coll=&x;
    if &VarCount=2 then coll=&x+1;
    if &VarCount=3 then coll=&x+2;
    if &VarCount=4 then coll=&x+3;
run;
data &VarCount (KEEP=coll col2 treatmentgroup label); set nN percent;
run;
%mend LabAbnormal;
%macro LabAbnormalall (VarCount=,VarN=,file=,x=);
proc freq data=&file noprint;
    tables &VarCount / out=percent (DROP=PERCENT);
    tables &VarN /out=outN (DROP=PERCENT);
run;
data N; set outN;
    if &VarN=0 then delete;

```

```

keep COUNT;
RENAME COUNT=N;
do i= 1 to 5;
    output;
end;
run;
data nN; merge percount N ;
    LENGTH LABEL $25;
    if &varCount=0 then delete;
    LABEL =PUT(COUNT,4.)||'/'|| PUT(N,4.);
    col2=1;
    if &VarCount=1 then coll=&x;
    if &VarCount=2 then coll=&x+1;
    if &VarCount=3 then coll=&x+2;
    if &VarCount=4 then coll=&x+3;
run;
data percent; merge percount N;
    LENGTH LABEL $25;
    Percent=COUNT/N*100;
    if &varCount=0 then delete;
    LABEL = PUT((Percent),5.3)||'%';
    col2=2;
    if &VarCount=1 then coll=&x;
    if &VarCount=2 then coll=&x+1;
    if &VarCount=3 then coll=&x+2;
    if &VarCount=4 then coll=&x+3;
run;
data &VarCount (KEEP=coll col2 treatmentgroup label); set nN percent;
run;
%mend LabAbnormalall;

%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_haemoglobin,VarN=haemoglobin2,file=ABnormalLabAss,x=1)
%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_wbc,VarN=wbc2,file=ABnormalLabAss,x=8)
%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_neutrophil,VarN=neutrophil2,file=ABnormalLabAss,x=12)
%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_totalbilirubin,VarN=totalbilirubin2,file=ABnormalBioAss,x=16)
%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_alt,VarN=alt2,file=ABnormalBioAss,x=20)
%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_creatinine,VarN=creatinine2,file=ABnormalBioAss,x=24)
%LabAbnormal(VarCount=ABnorm_creatinineclearance,VarN=creatinineclearance2,file=ABnormalBioAss,x=28)
data tab;
    coll=8; col2=2;treatmentgroup=2;
    do k= 1 to 2;
    do j= 1 to 2;
        do i= 2 to 5;
            output; coll=i+7;treatmentgroup=k;col2=j;
        end;
    end;
end;
drop i j k;
run;

```

```

data tab1; set tab;
  if coll=12 then do; coll=8;end;
run;
proc sort data=tab1; by coll treatmentgroup col2;run;
proc sort data=ABnorm_wbc; by coll treatmentgroup col2; ;run;
data ABnorm_wbc1; merge ABnorm_wbc tab1;by coll treatmentgroup;
  if LABEL='' and col2=1 then LABEL='./.';
  if LABEL='' and col2=2 then LABEL='.%';
run;

data Abnormals;
  set ABnorm_haemoglobin (In=a) ABnorm_wbc (In=b) ABnorm_neutrophil (In=c)
  ABnorm_totalbilirubin(In=d) ABnorm_alt(In=e)
  ABnorm_creatinine (In=f) ABnorm_creatinineclearance (In=g);
  if a then item=2;
  else if b then item=4;
  else if c then item=5;
  else if d then item=7;
  else if e then item=8;
  else if f then item=9;
  else if g then item=10;
run;
%LabAbnormalall
(VarCount=ABnorm_haemoglobin,VarN=haemoglobin2,file=ABnormalLabAss,x=1)
%LabAbnormalall (VarCount=ABnorm_wbc,VarN=wbc2,file=ABnormalLabAss,x=8)
%LabAbnormalall
(VarCount=ABnorm_neutrophil,VarN=neutrophil2,file=ABnormalLabAss,x=12)
%LabAbnormalall
(VarCount=ABnorm_totalbilirubin,VarN=totalbilirubin2,file=ABnormalBioAss,x=
16)
%LabAbnormalall (VarCount=ABnorm_alt,VarN=alt2,file=ABnormalBioAss,x=20)
%LabAbnormalall
(VarCount=ABnorm_creatinine,VarN=creatinine2,file=ABnormalBioAss,x=24)
%LabAbnormalall
(VarCount=ABnorm_creatinineclearance,VarN=creatinineclearance2,file=ABnorma
lBioAss,x=28)

data Abnormalsall;
  set ABnorm_haemoglobin (In=a) ABnorm_wbc (In=b) ABnorm_neutrophil (In=c)
  ABnorm_totalbilirubin(In=d) ABnorm_alt(In=e)
  ABnorm_creatinine (In=f) ABnorm_creatinineclearance (In=g);
  treatmentgroup=3;
  if a then item=2;
  else if b then item=4;
  else if c then item=5;
  else if d then item=7;
  else if e then item=8;
  else if f then item=9;
  else if g then item=10;
  if coll='' then delete;
run;

data Abnormalfinal;
  set Abnormals Abnormalsall plateletcount;

```

```

START+1;
FMTNAME='valuef';
run;
proc format CNTLIN=Abnormalfinal (KEEP= START LABEL FMTNAME);
proc sort data=Abnormalfinal; by treatmentgroup item col1 col2;
run;
ods rtf file='R:\2011\GUTH Tessy\results\Statistical Table 37 Abnormal
Lab.rtf';
proc tabulate data=Abnormalfinal style=[just=center background=white]
missing;
class item col1 col2 treatmentgroup / style=[background=white];
classlev item col1 col2 treatmentgroup / style=[background=white];
var START;
format item colitemfmt. col1 col1fmt. col2 col2fmt. treatmentgroup
rowallfmt.;
tables item=' '*col1=' '*col2='',
treatmentgroup=' '*START=' '*SUM=' '*F=valuef18.
/RTS=32 misstext=' ' box=[style=[background=white just=L]];
run;
ods rtf close;

```

Annexe 2 : Statistical Analysis Plan

Clinical study comparing the Nifurtimox-Eflornithine Combination with Eflornithine only regimen for the treatment of Trypanosoma brucei gambiense Humain African Trypanosomiasis in the meningo-encephalitic phase

Site Specific Study Protocol for TDR sponsored site in Omuga and Moyo, Uganda

Epicentre Protocol Identifier: NECT Trial
DNDi Protocol Number: HAT0105
WHO Protocol Number: NFE0105 (Omugo)
WHO Protocol Number: NFE0206 (Moyo)

Prepared by:
CRP-santé
1 A-B, rue Thomas Edison
L-1445 Strassen
Luxembourg

Principal Investigators:

Dr. Freddie Kansiime,
Deputy Director
Uganda Trypanosomiasis Control Council
Coordinating Office for Control of Trypanosomiasis in Uganda
P.O. Box 16345 Kampala Uganda
Phone (office): 25641250726
Phone (mobile): 25677528884
Fax: 25641541999

Clinical Coordinator:

Dr Juntra Karbwang
Switzerland
Phone (office): +41 227913868
Phone (emergency): +41 0796292163
Fax: +41 227914774

Medical Coordinator:

Dr Gerardo Priotto
Epicentre – 42-bis Bvd. Richard-Lenoir,
F-75011 Paris
Phone (office): (33)(0)1 40212848
Phone (emergency): (33)(0)1 43388121
Fax: (33)(0) 1 40212803
Email: gpriotto@epicentre.msf.org

Table of Contents

1.	Overview & Objectives	6
1.1.	Overall Study Objective	6
1.2.	Primary Study Objectives	6
1.3.	Secondary Study Objectives	6
2.	Background/Rationale	6
3.	Modifications from the protocol	6
4.	Investigational plan	7
4.1.	Study design	7
4.1.1.	<i>Inclusion criteria:</i>	7
4.1.2.	<i>Exclusion criteria:</i>	8
4.2.	Study Treatment	8
4.3.	Sample size and study duration	8
4.4.	Study plan	9
4.5.	Patient evaluation for efficacy and safety	9
4.5.1.	<i>Efficacy assessment at the end of treatment</i>	9
4.5.2.	<i>Efficacy assessments during follow-up</i>	10
4.5.3.	<i>Adverse events definitions and reporting</i>	10
4.6.	Timetable of activities during the study	11
5.	Analysis sets	12
5.1.	The safety analysis population	12
5.2.	The intention-to-treat (ITT) population (Full analysis)	12
5.3.	The per-protocol (PP) population:	12
5.4.	The modified full analysis (mITT) population	13
5.5.	Practical considerations	13
6.	Statistical methods	14
6.1.	General	14
6.2.	Statistical analysis	14
6.2.1.	<i>Homogeneity tests</i>	14
6.2.2.	<i>Test of non- inferiority</i>	14
6.2.3.	<i>Survival analysis</i>	15
6.2.4.	<i>Multivariate analysis</i>	15
6.3.	Study variables and analysis	15
6.3.1.	<i>Datasets analyzed</i>	15
6.3.2.	<i>Study discontinuations & patient disposition</i>	15
6.3.3.	<i>Definition of protocol deviation</i>	15
6.3.4.	<i>Demographics and baseline variables</i>	16
6.3.5.	<i>Efficacy analysis</i>	17
6.3.6.	<i>Compliance to treatment and hospitalization duration</i>	20
6.3.7.	<i>Safety Analysis</i>	20
a.	<i>Clinical adverse events</i>	20
b.	<i>Laboratory safety variables</i>	21
c.	<i>Vital signs</i>	21
6.3.8.	<i>Concomitant treatments</i>	22
6.3.9.	<i>Multiplicity issues</i>	22
6.4.	Data handling conventions	22
6.4.1.	<i>Missing data</i>	22
6.4.2.	<i>Windows for follow-up time points</i>	23

6.4.3.	<i>Unscheduled follow-up visits</i>	23
6.4.4.	<i>Coding dictionaries</i>	23
7.	Interim analyses & DSMB	24
8.	Software documentation	24
9.	Key derived variables	25
10.	References	26
11.	Appendices	27
	Data listings	67

Abbreviations and definitions

AE	Adverse Event
CSF	Cerebrospinal fluid
CBC	Complete Blood Count
CNS	Central Nervous System
D	Day
DNDi	Drugs for neglected diseases <i>initiative</i>
EoS	End Of Study
EoT	End Of Treatment
EC	Ethics Committee
FDA	Food and Drug Administration
hr	Hour(s)
HAT	Human African Trypanosomiasis
ICH	International Conference on Harmonization
ITT	Intention-to-treat
IV	Intravenous
M	Month
mAECT	Mini-anion exchange centrifugation technique
MSF	Médecins Sans Frontières
NECT	Nifurtimox- Eflornithine Combination Trial
PP	Per protocol
QBC	Quantitative Buffy Coat
SAP	Statistical Analysis Plan
SAE	Serious Adverse Event
tbg	<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>
TB	<i>Tuberculosis</i>
Tx	Treatment
TDR	UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases
WHO	World Health Organization
WBC	White Blood Cell
WCC	White Cell Count

1. Overview & Objectives

This document is the statistical analysis plan (SAP) for the NECT study. The purpose of this SAP is to provide a comprehensive and detailed description of the statistical analyses that will be carried out to assess the clinical efficacy and safety of the study treatment, as outlined in the study protocol. The SAP pre-specifies the statistical approaches to be used and is validated prior to any statistical look at the data and prior to the study database lock to ensure the credibility of the study findings.

In the case where specific HAT related issues were not specified in the protocol, the recommendations of the Informal consultation on Issues for Clinical Product Development for Human African Trypanosomiasis dated 9-10 September 2004 were considered [1].

1.1. Overall Study Objective

To compare the therapeutic combination of I.V. eflornithine + oral nifurtimox to the standard I.V. eflornithine regimen in terms of therapeutic efficacy and clinical safety, in patients suffering from *Trypanosoma brucei gambiense* (tbg) HAT in the meningo-encephalitic phase. If therapeutic non-inferiority is shown, the combination regimen will represent an alternative therapy with simpler and shorter administration regimen, shorter hospitalization, lower cost and some level of protection against the emergence of resistance.

1.2. Primary Study Objectives

The primary objective is to evaluate whether the efficacy of the nifurtimox-eflornithine combination in the treatment of second stage HAT patients is non-inferior to that of the standard eflornithine regimen.

1.3. Secondary Study Objectives

To compare the safety of the two treatment regimens in terms of:

- Incidence of adverse events (AEs) by severity and relationship to treatment
- Proportion of patients without major AEs (grade 3 or 4, NIH/NCI Common Toxicity Criteria)
- Incidence of adverse events leading to discontinuation
- Incidence of serious adverse events (SAE)

To determine the duration of survival without laboratory signs of parasitic infection up to 18 months after treatment.

2. Background/Rationale

Full details of the background and rationale for the study are provided in Section 1 of the study protocol.

3. Modifications from the protocol

Data analysis sets: beside some rewording revisions, data analysis sets were revised and modified on the basis of the informal consultation document [1] as follows.

- Safety population:
 - No modification
- Intention-to-treat population (ITT):
 - No modification
- Per Protocol definition (PP): 1 point was added to the definition
 - Patient included in the PP population must have received at least 95% of the protocol-defined dose.
- Modified intention to treat (mITT): 2 points were added to the original definition
 - Patient included in the mITT population must have received at least 85% of the protocol-defined dose.
 - Patient who reached the following endpoints are also included in the population: death, non-responder, probable relapse and relapse.

Refer to section 5 to see the entire definitions.

End of treatment efficacy assessment: The parasitological assessments in blood and lymph node were not performed/or reported during the trial (see CRF page 20). The CSF assessments only can be analysed.

Time points for follow-up windows: The windows for follow-up were not defined in the study protocol. The definitions of the informal consultation document were considered to fix the follow-up windows [1].

Adverse event criteria: The criteria characterizing adverse events (intensity, drug-event relationship, outcome and action taken) were revised according to the variables defined in the CRF [5].

4. Investigational plan

4.1. Study design

This is a randomized, controlled, open-label, non-inferiority clinical trial.

A blinded design was not acceptable since the different modes of administration of nifurtimox (oral) and eflornithine (6-hourly for 14 days or 12-hourly for 7 days infusion) would require a double dummy design and thus 42 placebo infusions of 2 hours duration in the patients on the investigational regimen.

Randomization was in blocks, the codes were electronically generated. Each site had an independent series.

4.1.1. Inclusion criteria:

All patients suffering from Tbg HAT, meeting the following criteria

- Confirmed second-stage *T.b. gambiense* infection: presence of the parasite in blood, lymph node fluid or cerebrospinal fluid (CSF) and >20 white blood cells/ μ L in CSF. In presence of blood in the CSF, lumbar puncture must be done again or the patient cannot be included in the study.
- And of age 15 years or older.
- And resident in maximum distance or boundaries defined by each site.

- And written informed consent of the patient or of legally acceptable representative if the patient is a minor (<18 years for both gender in Uganda and Angola, <18 years for males and <16 for females in the Democratic Republic of Congo) or unable to communicate.

4.1.2. Exclusion criteria:

A patient will be excluded if the patient fulfils one or more of the following criteria:

- Pregnant woman (systematic testing (urine HCG) of women of childbearing potential)
 - Treated for late-stage HAT during the last 36 months. Patients previously treated for first stage (pentamidine) can be included.
 - Unlikely to have access to the treatment centre or to be accessible at their place of residence for 18 months after treatment.
 - Unable to take oral medication
 - Suffering from conditions other than second stage HAT that seriously limit the chances of survival over 18 months time
 - Severe anaemia (Hb<5g/dl)
 - Severe underlying diseases upon admission (e.g. active tuberculosis (TB) and/or being treated for TB; Bacterial or cryptococcal meningitis; Stages 3 or 4 HIV/AIDS according to the WHO clinical definition)
 - Renal failure based on clinical examination combined with biochemistry calculated creatinine clearance <20mL/min (Cockcroft's equation)
 - Males:
 - Creatinine clearance
- $$(\text{mL/min}) = \frac{Wt(\text{kg}) * 140 - \text{age}(\text{years})}{72 * \text{serum creatinine } 9\text{mg/dL}}$$
- Females: 0.85 x the above value
 - Hepatic failure based on clinical examination combined with biochemistry total bilirubin > 50 µmol/L, ALT/GPT >70UI/L.
 - Patients diagnosed with HAT but not included in the study will be treated in accordance with the routine treatment at the site.

4.2. Study plan

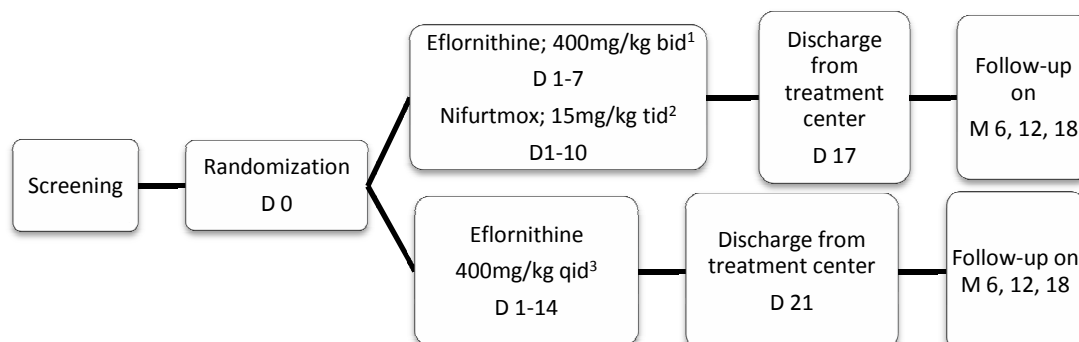


Figure 1: Study Plan

¹ Twice a day

² Three times a day

³ Four times a day

Patients were randomized 1:1 on D0 (inclusion date) without any stratification. They were hospitalized in the HAT treatment centre throughout the treatment period plus a period of post-treatment observation. Unless further follow-up in hospital was needed due to adverse events, patients on the investigational treatment were hospitalized for about 18 days; patients on the comparator standard eflornithine treatment were hospitalized for about 22 days.

Patients were followed for 18 months. The patient returned to the study site for all scheduled follow-up visits until completion of the study 18 months after the end of the treatment or until day of failure. The duration of an individual's study participation was around 19 months including 18 to 22 days of hospitalization and 18 months of out-patients follow up.

4.3. Patient evaluation for efficacy and safety

4.3.1. Efficacy assessment at the end of treatment

- Parasitological assessments: examination of CSF for T.b. gambiense. A lumbar puncture will be performed 12-24 hours (T12) after the last dose.
- Surrogate marker assessment: WCC and IgM titre in CSF

4.3.2. Efficacy assessments during follow-up

Efficacy assessments performed during follow-up include:

- Clinical evaluation including signs and symptoms of HAT (Statistical Table 36)
- Parasitological assessments and laboratory evaluations (Statistical Table 22)
 - The presence of parasites will be tested in all three body fluids (blood, CSF and lymph node fluid, if palpable nodes are present)
 - The IgM titer in the CSF.
 - This will require one blood sample of 5 ml, a lymph sample of 0.5ml (in case of palpable lymph nodes) and a lumbar puncture for a 5ml CSF sample.

As non-validated parameters, the CSF IgM titer and the signs and symptoms of HAT will not be used to assess efficacy. However, data available to date suggest that an increase in the IgM titer may precede the presence of detectable levels of parasites. Thus, the CSF IgM titer will be used to identify patients who may benefit from additional follow up. The same concept applies to the HAT-consistent clinical features.

4.3.3. Adverse events definitions and reporting

An adverse event is defined as any untoward medical occurrence (any unfavorable and unintended sign, symptom or disease, including an abnormal laboratory finding) in temporal association with the use of the investigational treatment and may or may not be causally related to it (WHO/TDR 2001).

Abnormal laboratory (haematology and biochemistry) results will be considered adverse events if the abnormality occurs or worsens after institution of HAT treatment.

An adverse event will be defined as serious if it is fatal or life-threatening, requires or prolongs hospitalization, or results in persistent or significant disability, is a congenital anomaly / birth defect, results in an important medical event that may not be immediately life threatening or does not directly result in death or hospitalization, but which may jeopardize the patient or may require intervention to prevent the other outcomes listed above. [2]

Other events or any additional adverse experience or abnormal laboratory values occurring during the study period, defined by the protocol as serious or which the investigator considers significant enough, or that suggest a significant hazard, contra-indications, side effect or precaution, must be handled as serious adverse events.

Any overdosing meeting a seriousness criterion should be reported as a SAE.

All adverse events emerging during the study period will be recorded with their onset time and duration, and characterized according to the following criteria:

Intensity: mild, moderate, severe, very severe, as per CTC guidelines (NCI/CTEP/NIH 1999[3])

Drug-event relationship: not related, unlikely, possible, probable, definite, unknown (WHO/TDR/2001[4])

Outcome: complete recovery, still present, sequelae, death (WHO/TDR 2001[4])

Action taken: study drug treatment continued, study drug treatment suspended, medication taken (>1 choice possible)

Timetable of activities during the study

Table 25: Timetable of activities during the study

Activity	Hospitalization				Follow-up			
	Pre Tx	Tx	End Tx	Observ	Months			Unplanned Visits ³
		D1-10/14 ¹	(T12)	7 days	6	12	18	
Enrolment procedure	X							
Pre-treatment	X							
Treatment		X						
Clinical Evaluation	X	X		X	X	X	X	X
Adverse Events		X		X	X	X	X	X
Parasitology								
CTC/QBC/mAEC T	X			X	X	X	X	X
GP (if adenopathy)	X			X	X	X	X	X
LP(+WCC&IgM)	X		D11/15	X	X	X	X	X
Haematology								
Hb	X		D11/15	D17/21	A	A	A	A
Total WBC	X		D11/15	D17/21	A	A	A	A
Differential WBC	X		D11/15	D17/21	A	A	A	A
Biochemistry²								
Bilirubin ²	X		D11/15	A	A	A	A	A
Creatinin ²	X		D11/15	A	A	A	A	A
ALT ²	X		D11/15	A	A	A	A	A
Pharmacokinetics²			D11/15					

¹ Day 1-10 for patients on the investigative treatment, day 1-14 for patients on the standard eflornithine treatment;

² For a sub-sample of consecutive patients (except in Uganda and Angola);

³ Either spontaneous visits by patient's decision or scheduled by the investigator;

A = only if abnormal values were recorded at the previous evaluation;

Tx = Treatment; D = Day; T12 = 12-24 hours after initiation of the last dose administration.

CTC = Capillary Tube Centrifugation; QBC = Quantitative Buffy Coat;

mAECT = mini-anion exchange centrifugation technique,

WCC = White Cell Count, WBC= White Blood Cell, LP = lumbar puncture

ALT = Alanin-Aminotransferase, GP = lymph node aspirate

5. Analysis sets

The definitions of the analysis sets have been revised on the basis of the Recommendations of the Informal Consultation on Issues for Clinical Product development for Human African Trypanosomiasis [1].

The following datasets will be defined and analyzed:

5.1. The safety analysis population

All patients enrolled in the study who received at least one dose of the study medication.

5.2. The intention-to-treat (ITT) population (Full analysis):

All patients enrolled in the study who:

- received at least one dose of study medication

AND

- died during treatment or were non-responders **OR**
- reached a protocol-defined endpoint (probable relapse, relapse or death during follow-up [all causes of deaths]) **OR**
- for whom efficacy evaluation data at the test-of-cure visit (18 months) or a protocol defined earlier time-point are available

5.3. The per-protocol (PP) population:

All patients enrolled in the study who:

- received at least one dose of study medication **AND**
 - died during treatment or were non-responders **OR**
 - for whom treatment was discontinued because of treatment-related adverse events

OR

- completed the protocol-defined treatment ($\geq 95\%$) **AND**
 - reached one of the protocol-defined endpoints (probable relapse, relapse or death during follow-up [all causes of deaths except death clearly unrelated to HAT and treatment]) before the test-of-cure visit (18 months) **OR**
 - have a test-of-cure visit assessment (at 18 months).

5.4. The modified full analysis (mITT) population:

All patients enrolled in the study who:

- received at least one dose of study medication **AND**
 - died during treatment or were non-responders **OR**
 - for whom treatment was discontinued because of treatment-related adverse events

OR

- received a defined minimum amount of treatment ($\geq 85\%$) **AND**
 - reached a protocol-defined endpoint (probable relapse, relapse or death during follow-up [all causes of deaths]) **OR**
 - for whom efficacy evaluation data at the test-of-cure visit (18 months) or a protocol defined earlier time-point are available

5.5. Practical considerations

Patients who are completely lost to follow up are defined as patients for whom an evaluation at the end of treatment is available, but had no evaluation thereafter. They are included in the safety analysis and excluded from the ITT, mITT and PP populations.

Patients who are partially followed up are defined as patients for whom at least one efficacy assessment after EoT evaluation is available.

Deaths cases during follow-up that are clearly unrelated to the study treatment and HAT (e.g. a car accident) are excluded from the PP analysis. In the ITT and mITT analysis, they are defined as patients with partial follow up and for whom at least one efficacy assessment after EoT evaluation is available.

6. Statistical methods

6.1. General

All amendments to the current version of the SAP will be clearly documented in the clinical study report and discussed beforehand with the Sponsor (WHO/TDR) with justifications for the amendments.

Table structures are provided in the appendix to give an indication of the appearance of the statistical output. However, these may be modified during the reporting of the study.

6.2. Statistical analysis

6.2.1. Homogeneity tests

- If **continuous variables** are normally distributed, then they will be compared and presented with a p-value from a t-test. Otherwise in the case where the normality of the continuous variables cannot be assumed, the Mann-Whitney-Wilcoxon test will be applied.
- **Proportion (dichotomous) data** will be compared using a Pearson's chi-squared test. If expected cell frequencies are small (less than 5) then Fisher exact test will be used.
- **Categorical variables** will be (similarly to proportions) evaluated using a Pearson's chi-squared test. Again, if expected cell frequencies are small (less than 5) then Freeman-Halton (exact) test will be used.

The significance level has been set at the 5%.

Quantitative variables (continuous data) will be presented as follows:

- sample size, number of missing values
- mean, standard deviation
- median, Q1, Q3
- 95% confidence interval of the mean (or median depending on the assumptions made/test applied)
- minimum, maximum

Qualitative variables (proportion and categorical data) will be presented as follows:

- sample size, number of missing values
- percentages
- 95% confidence interval of the percentages (if test applied)

6.2.2. Test of non-inferiority

In a non-inferiority study, the point of interest is the difference observed between the two groups: Combination Therapy (CT) minus Standard Therapy (ST). The clinically non-inferiority margin (δ) is 10%.

Null hypothesis:

H_0 : The combination therapy N+E is inferior to the standard therapy E.

In mathematical terms: $H_0: D = p_{CT} - p_{ST} \leq -\delta$.

Alternative hypothesis:

H_1 : The combination therapy is non-inferior to the standard therapy E, *i.e.*:

$$H_1: D = p_{CT} - p_{ST} > -\delta$$

The risk of error has been set at 5% (alpha error), assuming 90% confidence interval around this difference in cure rates with a one-tailed test:

- If the lower limit is below -10%, the null hypothesis showing that there is a difference between the two groups cannot be rejected. The combination treatment is inferior to the standard treatment.
- If the lower limit is above -10%, the null hypothesis may be rejected and the alternative hypothesis accepted. The combination treatment is non-inferior to the standard treatment.

The primary analysis will be performed on the ITT, MITT and per protocol populations.

6.2.3. Survival analysis

A secondary efficacy outcome will be the duration of parasite free survival up to 18 months after treatment. The survival curves for each group will be compared using Kaplan-Meier technique (which includes dropouts). The log rank test will be used for the comparison of survival curves of the two treatment groups. In the case the survival curves cross each other, the log-rank test is not appropriate and therefore the Wilcoxon (Breslow) test will be used.

6.2.4. Multivariate analysis

Certain clinical and laboratory variables might be confounding factors which must be taken into account during the analysis. Regression analysis will be used to obtain an estimate of the relative risk adjusted for such variables.

6.3. Study variables and analysis**6.3.1. Datasets analyzed**

The number of patients in each sets analysis (safety population, ITT, PP and mITT) will be tabulated and listings of patients excluded from each analysis set will be provided (Statistical Table 6).

6.3.2. Study discontinuations & patient disposition

Reasons for premature discontinuations and their frequencies will be tabulated (Statistical Table 7 - Treatment discontinuations Statistical Table 7). A description of screening failures will not be provided since only randomized patients are recorded in the CRF.

6.3.3. Definition of protocol deviation

Protocol deviations will be listed and finalized prior to the data review. The sponsor will be responsible for classifying all deviations as either major or minor. Patients with major protocol violations will be excluded from the PP dataset.

Major protocol deviations will be reviewed during data review. It will include but not be limited to:

- violation of entry criteria
- study withdrawal for reasons other than either treatment failure or treatment intolerance/no acceptance
- lack of efficacy data necessary for the primary analysis
- randomization errors (for example, differences between treatment assigned and treatment taken)
- lack of treatment compliance for reasons other than treatment intolerance/no acceptance or the miss dosage of nifurtimox or eflornithine (to be defined by the sponsor at the final data review)
- contraindicated concomitant medications:
- e.g. metronidazole should not be prescribed concomitantly to patients receiving nifurtimox because of its similar side effects.
- malaria treatment should be completed prior to patient inclusion. All patients will be tested for malaria and those positive will receive Arthemeter-Lumefantrine combination (Coartem®). The HAT treatment will be started at least 1.5 days after the last dose of antimalarial.

Major protocol deviations will be tabulated (Statistical Table 8).

6.3.4. Demographics and baseline variables

Homogeneity between the treatment groups will be analyzed on demographic and baseline characteristics (see Homogeneity tests Section 6.2.1). For selected baseline variables, the homogeneity between the study centers will also be verified. (Statistical Table 9). If there are any significant differences between the treatment populations, these will be described and the final results interpreted bearing these observations in mind.

The following variables will be described for the PP, ITT and mITT populations and presented using descriptive statistics:

- Demographic data (Statistical Table 10)
 - Age
 - ethnic group (African-non African)
 - sex,
 - height
 - screening mode
- History of Trypanosomiasis (Statistical Table 11)
- Medical History (Statistical Table 12)
- Signs and Symptoms of Second Stage African Trypanosomiasis (Statistical Table 14)
- Diagnosis of African Trypanosomiasis (Statistical Table 16)
 - Blood:
 - CTC
 - Lymph node aspirate :

- Microscopic examination of lymph node aspirates
 - CSF :
 - Double centrifugation of CSF
 - White blood Cell (WCC) in CSF
 - CSF IgM titre
- Vital signs (Statistical Table 17)
 - Temperature, weight, BMI
 - Systolic and diastolic blood pressure, heart rate, respiratory rate
 - Glasgow coma score
 - Karnofsky index (Karnofsky performance scale)
- Laboratory evaluations including (
-
-
- Statistical Table 18)
 - Haematology:
 - Haemoglobin
 - Platelet count
 - WBC: Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil, Others
 - Biochemistry:
 - Alanine aminotransferase(ALT)
 - Total bilirubin
 - Creatinine
 - Creatinine Clearance
 - Pregnancy Test for women

6.3.5. Efficacy analysis

a. Classification of responses to treatment and actions to be taken

Table 26: Classification of responses to treatment and actions to be taken

At the control LP at the end of treatment:		Category
Trypanosomes are present in CSF	Treatment failure	Non-responder
At any control visit:		
Trypanosomes are present in blood, CSF or lymph	Treatment failure	Relapse
CSF WCC has increased by > 20 cells/μL two times consecutively (regardless of IgM titer)	Suspected treatment failure	Probable Relapse
CSF WCC increased by > 20 cells/μL AND IgM increased by ≥ 2 titers	To control in one month	Uncertain evolution
At 18 months:		
Trypanosomes are present in blood, CSF or lymph	Treatment	Relapse

	failure	
Trypanosomes are absent from blood and CSF (and lymph if adenopathy) AND CSF WCC is > 20 cells per μL	Suspected treatment failure	Probable Relapse
Trypanosomes are absent from blood and CSF (and lymph if adenopathy) AND CSF contains ≤ 20 cells per μL	Cured	Cured

b. Primary efficacy indicator

The primary outcome (efficacy) is the overall cure rate and will be presented in Statistical Table 19 and Figure 13. Non-inferiority test will be done on this primary efficacy indicator (see test of non-inferiority Section 6.2.2).

c. Secondary efficacy indicators

The duration of survival without laboratory signs of parasitic infection, up to 18 months after treatment. Kaplan-Meier method will be performed on the ITT, PP and mITT analysis sets. (Figure 14, Figure 15, Figure 16)

The other secondary efficacy indicators are listed in the table below and analyzed as Statistical Table 20. Homogeneity tests between the treatment groups will be performed (see Homogeneity tests Section 6.2.1)

Table 27: Efficacy indicators

Indicator	Nominator includes:	Denominator
Treatment failure rate	Sum of patients who • Died during treatment due to HAT • Died during treatment due to Tx related AEs • Died during follow up (likely) due to HAT • Died during follow up (likely) due to Tx related AEs • Died due to unknown causes • Were non responders at EoT visit • Relapsed • Probably relapsed	Full analysis set
Relapse rate	• Non-responders • Relapsed • Probably relapsed	Full analysis set Per protocol set
Parasitologically confirmed relapsed rate	• Non-responders • Relapsed	Full analysis set Per protocol set
Relapse rate 12 months post	• non-responders • relapsed	Full analysis set

treatment	probably relapsed	
Overall fatality rate	Sum of patients who - died during treatment (likely) due to HAT - died within 30 days of Tx start (likely) due to Tx related AEs - died during treatment due to unknown causes	Safety analysis set
HAT or Treatment related fatality rate	Sum of patients who - died during treatment due to HAT - died within 30 days of Tx start due to Tx related AEs	Safety analysis set
Overall Cure rate	- cured - probably cured	Full analysis set Per protocol set
Cure rate	cured	Full analysis set Per protocol set
Treatment response rate	responders at EoT control	Safety analysis set

d. Missing conclusive efficacy assessment

Given the geographic areas in which HAT occurs, characterized by remoteness, lack of transportation infrastructure, high population mobility, an above-average risk of civil unrest and the long follow up time required, the proportion of patients partially or totally lost to follow up is expected to be high despite the fact that provisions are taken to maximize follow up. Historical data, even for studies with active follow up, suggest average loss to follow up rates of around 20-30% at 12-18 months post treatment (WHO Informal Consultation on Issues for Clinical Product Development for Human African Trypanosomiasis, September 2004).

The following rules will be used for classifying patients for efficacy analysis when 18 months follow up data are not available.

Table 4: Classification of patients missing a conclusive efficacy assessment

Results of interim follow-up evaluation	Classified as:
Complete lost to follow-up (LTFU)	Unknown (excluded)
If the last control done fell into the category “To control in one month”(uncertain evolution)	Probable relapse
If the last control done did not fall into the category “To control in one month” (uncertain evolution)	Probable cure
The patient was seen by a member of the investigating team (including the specifically trained community workers) in a good general status at 18 months or later, but refuses to come for a control	Probable cure

6.3.6. Compliance to treatment and hospitalization duration

Compliance to treatment variables will be presented in Statistical Table 23 and Statistical Table 24. Homogeneity tests between the treatment groups will be performed (see Homogeneity tests Section 6.2.1). Compliance evaluation will be performed on the 3 analysis sets (ITT, PP and mITT)

- Number of treatment administrations
- Number of patients with n missed doses
- Number of patients with n repeated nifurtimox doses in case of vomiting
- Mean dose per day
- Number of patients with the x % deviations of total dose (thresholds fixed at 85, 95, 105 and 115%)
- Duration of treatment (hours)
- Duration of hospitalization (days)
- Duration of observation period

6.3.7. Safety Analysis

Descriptive analyses of the safety criteria will be carried out on the safety data set.

a. Clinical adverse events

Homogeneity tests between the treatment groups will be performed (see Homogeneity tests Section 6.2.1) on the following safety indicators (Statistical Table 25):

- The number and proportion of patients with treatment-emergent deaths (defined as deaths within 30 days from initiation of treatment) by likely cause of death (HAT, AEs of the treatment, causes unrelated to HAT or treatment for HAT, unknown causes).
- The number and proportion of patients with treatment-emergent Serious Adverse Events by relationship to treatment and onset time (during hospitalization, plus deaths $\leq$ D30).
- The number and proportion of patients with permanent treatment interruption.
- The number and proportion of patients with temporary treatment suspensions (at least 1, more than 1).
- The number and proportion of patients with grades 3 and 4 AEs (severe AEs) (Common Toxicity Criteria guidelines, NIH/NCI) during the hospitalization period.
- The number and proportion of patients with adverse events during hospitalization by severity and relationship to study treatment.
- The number and proportion of patients with repeated AEs (only done on specific events like nausea or vomiting).

All safety data will be included in the data listings and summary tables including the number and proportion of patients with a specific adverse event (Treatment emerging AEs Statistical Table 26).

AE listings will be presented and sorted by patient number, primary system organ class, preferred term and verbatim text for all adverse events recorded during the study and will include AE onset day, duration (or ongoing), outcome, intensity, seriousness, relationship and action taken.

b. Laboratory safety variables

The following variables:

- Haematology:
 - Haemoglobin,
 - Platelet count,
 - white blood cells count
 - Neutrophil
 - Lymphocyte
 - Monocyte
 - Eosophil
 - Basophil
- Biochemistry:
 - Total bilirubin
 - ALT
 - Creatinine
 - Creatinine clearance

will be collected and analyzed within treatment groups and globally from patients' full blood samples on D0, D 11/15, D 17 /21, M 6, M12 and M18 (Statistical Table 38)

Descriptive statistics for all of the available time points (D0, D 11/15, D 17 /21, M 6, M12 and M18 (EoS)) will be done.

When relevant for some parameters, for example platelet or neutrophil count, changes from baseline will also be tabulated comparing: D0 to D11/15, D0 to D17/21 D0 to M6, D0 to M12 and D0 to M18. The changes from baseline will be determined for each patient using the formula.

$$100 * \frac{\text{timepoint} - \text{baseline}}{\text{baseline}} .$$

The mean of this ratio change will be calculated. The t-test will be used to compare the means in Haemoglobin, platelet counts, WCC and neutrophil count. In the case the normality assumption is violated, the Wilcoxon-Mann-Whitney test will be applied.

In addition, the number and proportion of patients with abnormal laboratory results will be analyzed and summarized in Statistical Table 37.

The threshold values were defined by using CTCAE [6].

c. Vital signs

The following variables:

- Body weight(kg)

- BMI(kg/m²)
- Heart rate
- Systolic blood pressure (mmHg)
- Diastolic blood pressure (DBP) (mmHg)
- Respiratory rate (breaths/min),
- Body temperature(°C)
- Glasgow coma score
- Karnofsky index

will be collected and analyzed within treatment groups and globally as follows:

Descriptive statistics for all of the available time points (D0, D1 – D17/21, M6, M12 and M18 (EoS)). (Statistical Table 36)

Changes from baseline will calculate for each patient using the formula:

$$100 * \frac{\text{timepoint} - \text{baseline}}{\text{baseline}}$$

comparing baseline to D11/15, D17/21, M6, M12 and M18 (weight, BMI, Glasgow coma score, Karnofsky index). The mean of this ratio change will calculated.

The t-test will performed to compare the means. In the case the normality assumption is violated, the Wilcoxon-Mann-Whitney test will be applied.

A by patient listing of vital signs safety variables, including unscheduled visit values, will also be provided.

6.3.8. Concomitant treatments

Concomitant treatments will be described on the basis of the safety data set.

The number of concomitant treatments per patient -before, during and after study treatment- will be tabulated and treatment groups will be compared using the homogeneity tests (Statistical Table 39).

Concomitant treatments will be classified by therapeutic area according to the WHO-DRUG dictionary using the "anatomical therapeutic chemical" (ATC) classification. (First level – anatomical main group, second level – therapeutic group, fourth level – chemical substance) (Statistical Table 40, Statistical Table 41, Statistical Table 42, Statistical Table 43)

6.3.9. Multiplicity issues

Control of the type I error is ensured by the single hypothesis test being performed for the primary analysis at the 0.05 one-sided significance level.

No adjustments for multiplicity will be made for secondary analyses.

6.4. Data handling conventions

6.4.1. Missing data

- The number of observations, where the data is missing will be reported, data will not be imputed unless specified otherwise
- In order to calculate the age of the patients using the date of birth, if the day of birth is unknown, it will be replaced by “15”, and if the month is unknown, it will be replaced by “6”.
- If the data is missing, a category “missing“ will be displayed in the listing and appropriate tables (for example when the grade of an AE is missing or Glasgow coma score was not determined).

6.4.2. Windows for follow-up time points

The windows for follow-up time points were not especially defined in the protocol. Therefore, the window for time points defined in Recommendations of the Informal Consultation on Issues for Clinical Product Development for HAT dated 9-10 September 2004 are considered:

Follow-up visit (ideal follow-up time)	Protocol-defined acceptable time window around the ideal follow up time	Actual time follow-up data are obtained for subjects
6 months	At 6 months $\pm$ 2 weeks after EoT	5-9 months after EoT
12 months	At 12 months $\pm$ 4 weeks after EoT	10-16 months after EoT
18 months	At 18 months $\pm$ 4 weeks after EoT	17-21 months after EoT

6.4.3. Unscheduled follow-up visits

Data from unscheduled follow-up visits will only be tabulated in listings.

6.4.4. Coding dictionaries

The following dictionary versions will be used on this study:

- MedDRA - Latest version available at the beginning of coding (will be confirmed in the final version of the SAP)
- WHODrug - Latest version available at the beginning of coding (will be confirmed in the final version of the SAP)

Dictionary updates will not be carried out throughout the study. The version of MedDRA and WHODrug used at the beginning of coding will be used throughout the study.

7. Interim analyses & DSMB

A Data Safety Monitoring Board (DSMB), composed of four members independent of the investigator and sponsors, has been set up prior to study initiation. The DSMB monitors the study in order to ensure that harm is minimized and benefits maximized for the subjects. It will review the study data at pre-determined intervals and issue recommendations about stopping or not the study before completion.

Early stopping rules:

The first 30 patients included in the combination regimen arm were closely monitored and their adverse events were reported immediately as they occurred to the DSMB. The data obtained with this first group were submitted to the DSMB before continuing enrolment. The combination regimen having shown no excess toxicity or failure, the study was allowed to continue.

Every hundred patients included, the treatment groups will be compared by the DSMB (independently of the investigators) regarding:

- The lethality,
- The frequency of serious adverse effects
- The frequency of major adverse events (grade 3 and 4)
- The efficacy

One such review has taken place before the finalization of this protocol amendment. No formal analysis is planned. If, however, the DSMB feels that these interim data should undergo a formal statistical analysis, such an analysis will be performed and the target enrolment patient numbers adjusted accordingly, if necessary.

The enrolment will be stopped if:

- The proportion of patients who died or patients with serious adverse events is significantly higher in one treatment group as compared to the other group.
- Continuation of the study is futile because the non-inferiority of nifurtimox –eflornithine efficacy has been either demonstrated or excluded with lower than anticipated patient numbers.

Patients who completed treatment at the time the trial is stopped will be followed up as per protocol. Patients who started but did not yet complete treatment will complete their treatment with the regimen that gave the better risk-benefit.

8. Software documentation

All summaries and statistical analyses will be generated using SAS Version 9.2.

9. Key derived variables

Derived variable	Derivation algorithm
Relapse	Yes if • CTC blood test is positive OR • Microscopic of examination of lymph aspirates is positive OR • Trypanosomiasis in CSF is positive
Probable Relapse	Yes if • CTC blood test is negative AND • Microscopic of examination of lymph aspirates is negative or not done AND • Trypanosomiasis in CSF is negative AND • Clearance of parasitaemia with CSF WBC > 20 /μl
Cured	Yes if • CTC blood test is negative AND • Microscopic of examination of lymph aspirates is negative or not done AND • Trypanosomiasis in CSF is negative AND • Clearance of parasitaemia with CSF WBC < 20 /μl
Treatment Failure at EoS	Yes if • Relapsed • Death (except clearly unrelated to HAT/tx) • Probably relapsed • Unknown
Treatment Success at EoS	Yes if • Cured • Probably Cured¹

¹Patients with a favorable evolution during follow up period, but who did not come to last follow up visit at 18 months are considered as probably cured (see Table 4: Classification of patients missing a conclusive efficacy assessment on page 18)

10. References

1. Recommendations of the Informal Consultation on Issues for Clinical Product Development for Human African Trypanosomiasis, WHO, 9-10 September 2004
2. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Statistical Principles for Clinical Trials E9. Revised 5 Feb 1998
3. National Cancer Institute, Cancer Therapy Evaluation Program, Common Toxicity Criteria , version 2.0,1999 (<http://ctep.info.nih.gov>)
4. World Health Organization/TDR, 2001. Standard Operating Procedures for Clinical Investigators (TDR/PRD/SOP/01.1) in Workbook for Investigators (TDR/PRD/GCP/02.1b) p.197-255
5. Case Report Form, Clinical Study comparing the Nifurtimox-Eflornithine combination with the standard Eflornithine regimen for the treatment of *trypanosoma brucei gambiense* Human African Trypanosomiasis in the meningo-encephalitic phase, Version No.1.5 (02/09/06)
6. National Cancer Institute, Cancer Therapy Evaluation Program, Common Toxicity Criteria , version 4.03, 2010 (<http://ctep.info.nih.gov>)

11. Appendices

Statistical Table 1 - Number of patients enrolled.....	29
Statistical Table 2 - Disposition of included patients per centre	29
Statistical Table 3 - Follow-up Compliance by study treatment: number of patients with follow-up assessment or reached an endpoint earlier.....	29
Statistical Table 4 - Follow-up Compliance by study center: number of patients with follow-up assessment or reached an endpoint earlier.....	29
Statistical Table 5 - Disposition of included patients per analysis set.....	30
Statistical Table 6 - Patients excluded from ITT/PP/MITT	30
Statistical Table 7 - Treatment discontinuations	30
Statistical Table 8 - Major protocol deviations	30
Statistical Table 9 - Baseline characteristics (ITT, PP, MITT)	31
Statistical Table 10 - Demographic Characteristics (ITT,PP,mITT)	33
Statistical Table 11 - History of HAT (ITT, PP, mITT)	33
Statistical Table 12 - Relevant Medication History / Current Medical Conditions (ITT, PP, mITT)	34
Statistical Table 13 - First Signs of HAT observed (ITT, PP, MITT).....	34
Statistical Table 14 - Signs and symptoms of Second Stage African Trypanosomiasis by presence and ongoing (ITT, PP, MITT).....	34
Statistical Table 15 - Signs and symptoms of Second Stage African Trypanosomiasis by intensity (ITT, PP, MITT).....	36
Statistical Table 16 - Diagnosis of African Trypanosomiasis (ITT, PP, MITT)	38
Statistical Table 17 - Vital signs at baseline (ITT, PP, mITT)	39
Statistical Table 18 - Laboratory Assessments at baseline (ITT, PP, MITT).....	41
Statistical Table 19 - Primary Efficacy Indicator: Overall Cure Rate at the EoS.....	43
Statistical Table 20 - Secondary Efficacy Indicators at EoS.....	43
Statistical Table 21 - Parasitological Assessments at EoT (ITT, PP, MITT)	44
Statistical Table 22 - Parasitological Assessments and Laboratory Evaluation on M6, M12, M18 (ITT, PP, MITT)	44
Statistical Table 23 - Study drugs administration compliance at D1-D10/D14 (ITT, PP, mITT).....	46
Statistical Table 24 - Number of patients with 95-105 % adherence	47
Statistical Table 25 - Adverse events (safety population)	48
Statistical Table 26 - AEs by SOC and PT (safety).....	48
Statistical Table 27 - AEs leading to treatment discontinuation by SOC and PT (safety)	49
Statistical Table 28 - AEs by intensity: mild, moderate, severe, very severe by SOC and PT (safety)	49
Statistical Table 29 - Severe AEs (grade 3 & 4) by SOC and PT (safety)	49
Statistical Table 30 - Serious AEs by SOC and PT (safety).....	49
Statistical Table 31 - AEs by outcome by SOC and PT (safety).....	49
Statistical Table 32 - AEs by relationship unknown, unlikely, possibly, probably, definitely related and not related to treatment by SOC and PT (safety).....	50
Statistical Table 33 - AE day of onset by SOC and PT (safety).....	50
Statistical Table 34 - AE duration by SOC and PT (safety)	50
Statistical Table 35 - AEs occurring after the treatment period by SOC and PT (safety)	50
Statistical Table 36 - Clinical Assessments (Safety)	51
Statistical Table 37 - Number of patients with abnormal results until discharge (safety).....	57
Statistical Table 38 - Laboratory Assessments (safety).....	59
Statistical Table 39 - Number of (prior, concomitant and post) treatment per patient	65
Statistical Table 40 - Concomitant treatment prior to treatment (ITT, PP, MITT)	65
Statistical Table 41 - Concomitant treatment during treatment (ITT, PP, MITT).....	65
Statistical Table 42 - Concomitant treatment posterior to treatment (ITT, PP, MITT).....	66
Statistical Table 43 - Concomitant treatment during follow up (ITT, PP, MITT)	66

Figure 1 - Overall Cure rates	66
Figure 2 - Kaplan-Meier analysis representing the event-free survival by treatment (ITT)....	66
Figure 3 - Kaplan-Meier analysis representing the event-free survival by treatment (mITT)	66
Figure 4 - Kaplan-Meier analysis representing the event-free survival by treatment (PP)	66

1. Study Patients

1.1. Disposition of patients

Statistical Table 1 - Number of patients enrolled

Number of centers	Number of patients	Date of first patient enrolled	Date of last patient enrolled	Date of first patient completed follow-up	Date of last patient completed follow-up
X	X				

Statistical Table 2 - Disposition of included patients per centre

Centre	Statistic	NECT	eflornithine	All
Omugo	n(%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)
Moyo	n(%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)
Total	n(%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)

Statistical Table 3 - Follow-up Compliance by study treatment: number of patients with follow-up assessment or reached an endpoint earlier

Follow-up	Statistic	NECT	eflornithine	All	p-value
6 months (5-9)	n / N	XX/XXX	XX/XXX	XX/XXX	
	%	XX%	XX%	XX%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX
12 months (10-16)	n / N	XX/XXX	XX/XXX	XX/XXX	
	%	XX%	XX%	XX%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX
18 months (17-21)	n / N	XX/XXX	XX/XXX	XX/XXX	
	%	XX%	XX%	XX%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX

Statistical Table 4 - Follow-up Compliance by study center: number of patients with follow-up assessment or reached an endpoint earlier

Follow-up	Statistic	Omugo	Moyo	All	p-value
6 months (5-9)	n / N	XX/XXX	XX/XXX	XX/XXX	
	%	XX%	XX%	XX%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX
12 months (10-16)	n / N	XX/XXX	XX/XXX	XX/XXX	
	%	XX%	XX%	XX%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX.XX, XX.XX]	[XX%, XX%]	X.XXX
18 months (17-21)	n / N	XX/XXX	XX/XXX	XX/XXX	
	%	XX%	XX%	XX%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX

Statistical Table 5 - Disposition of included patients per analysis set

Dataset	Statistic	NECT	eflornithine	All
Included	n	XX	XX	XX
Safety	n			
ITT	n			
PP	n			
MITT	n			

Statistical Table 6 - Patients excluded from ITT/PP/MITT

Patient Number	Centre	Treatment Group	Reason
...	X	X	...
...			

1.2. Treatment discontinuations

Statistical Table 7 - Treatment discontinuations

Study Status	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
Completed	n(%)	XX (XX.X%)		
Withdrawn (reasons below):				
- Withdrawal of consent / non-compliance	n(%)	XX (XX.X%)		
- Serious adverse event(s)	n(%)	XX (XX.X%)		
- Adverse event(s) CTC grade $\geq 3^1$ provided that the CTC grade of this event on admission was less than 3, or	n(%)	XX (XX.X%)		
- Vomiting within 30 minutes after the replaced dose	n(%)	XX (XX.X%)		
- Unable to take oral medication for the combination arm	n(%)	XX (XX.X%)		
- Pregnancy detected after initiation of treatment	n(%)	XX (XX.X%)		
- Occurrence of renal or hepatic failure during treatment	n(%)	XX (XX.X%)		
- Anaemia (Hb< 5g/dl)	n(%)	XX (XX.X%)		
- Investigator's decision	n(%)	XX (XX.X%)		
- Lost to follow up	n(%)	XX (XX.X%)		
- Other	n(%)	XX (XX.X%)		

1.3. Major protocol deviation

Statistical Table 8 - Major protocol deviations

Patient number	Clinic code	Treatment Group	Major Deviation
...	X	X	
...			

2. Homogeneity of baseline characteristics between the study centers

Statistical Table 9 - Baseline characteristics (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	Omugo (N=XXX)	Moyo (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Age (years)	Missing	X			
	n	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Sex	Missing	X			
Male	n (%)	XX (XX.X%)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			
Female	n (%)	XX (XX.X%)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
Ethnic group	Missing				
Black	n (%)				
	[95% CI]				
Other	n (%)				
	[95% CI]				
Screening mode	Missing				
Active	n(%)				
	[95% CI]				
Passive	n(%)				
	[95% CI]				
First Signs observed	Missing				
(months)	n				
	Mean(SD)				
	[95% CI]				
	Median[Q1,Q3]				
	Min., Max.				
HAT within the past 36 months					
Missing	n				
Yes	n (%)				
	[95% CI]				
No	n (%)				
	[95% CI]				
If yes, stage of HAT					
Missing	n				
Early Stage	n (%)				
	[95% CI]				
Late Stage	n (%)				
	[95% CI]				
If first Stage, treatment					
Pentamidine	n (%)				

Item	Statistic	Omugo (N=XXX)	Moyo (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Not known	[95% CI]				
	n (%)				
BMI	[95% CI]				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
Glasgow coma score	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Karnofsky Index	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				

3. Patients characteristics at baseline

3.1. Demographic Characteristics

Statistical Table 10 - Demographic Characteristics (ITT,PP,mITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Age (years)	Missing	X			
	n	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Sex	Missing	X			
Male	n (%)	XX (XX.X%)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			
Female	n (%)	XX (XX.X%)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
Ethnic group	Missing				
Black	n (%)				
	[95% CI]				
Other	n (%)				
	[95% CI]				
Height (cm)	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
Screening mode	Missing				
	n(%)				
	[95% CI]				
	n(%)				
	[95% CI]				

3.2. History

Statistical Table 11 - History of HAT (ITT, PP, mITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
HAT within the past 36 months					
Missing	n	X	X	X	
Yes	n (%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	
No	n (%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
If yes, stage of HAT					
Early Stage	n (%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)	

	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	
Late Stage	n (%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
If first Stage, treatment					
Pentamidine	n (%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	
Not known	n (%)	XX(XX%)	XX(XX%)	XX(XX%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX

Statistical Table 12 - Relevant Medical History / Current Medical Conditions (ITT, PP, mITT)

History/Condition	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

3.3. Signs and Symptoms of HAT

Statistical Table 13 - First Signs of HAT observed (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
First Signs observed	Missing	X	X	X	
(months)	n	XX	XX	XX	
	Mean(SD)	XX.XX(X.XX)	XX.XX(X.XX)	XX.XX(X.XX)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
	Median[Q1,Q3]	XX.X[XX.XX,XX.XX]	XX.X[XX.XX,XX.XX]	XX.X[XX.XX,XX.XX]	
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX	XX.XX, XX.XX	XX.XX, XX.XX	

Statistical Table 14 - Signs and symptoms of Second Stage African Trypanosomiasis by presence and ongoing (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Headache					
Present	n(%)	XX(XX.XX %)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)			
Pruritus					
Present	n(%)	XX(XX.XX %)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)			
Tremor					
Present	n(%)	XX(XX.XX %)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)			

Speech Impairments			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Abnormal Movements			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Lymphadenopathy			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Insomnia: Day-time Sleep			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Insomnia: Night-time Sleep			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Walking Disability			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
General Motor Weakness			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Unusual Behavior			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Inactivity			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Aggressivity			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Disturbance of Menstrual Cycle (female only)			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Anaemia			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	

	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Diarrhea			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Malaise			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	
Others			
Present	n(%)	XX(XX.XX %)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Ongoing	n(%)	XX(XX.XX %)	

Statistical Table 15 - Signs and symptoms of Second Stage African Trypanosomiasis by intensity (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
Headache				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Pruritus				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Tremor				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Speech Impairments				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Abnormal Movements				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
3	n(%)			
4	n(%)			
Lymphadenopathy				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Insomnia: Day-time Sleep				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Insomnia: Night-time Sleep				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Walking Disability				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
General Motor Weakness				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Unusual Behavior				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Inactivity				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Aggressivity				
Missing	N			

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Disturbance of Menstrual Cycle (female only)				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Anaemia				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Diarrhea				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Malaise				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			
Others				
Missing	N			
1	n(%)			
2	n(%)			
3	n(%)			
4	n(%)			

4. Diagnosis of African Trypanosomiasis and Parasitological Assessments

Statistical Table 16 - Diagnosis of African Trypanosomiasis (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
Blood				
Capillary tube centrifugation Technique (CTC)				
Missing	N	XX(XX%)		
Negative	n(%)	XX(XX%)		
Positive	n(%)	XX(XX%)		
Not done	n(%)	XX(XX%)		

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
<u>Lymph node aspirate</u>				
Microscopic of examination of lymph node aspirates				
Missing	N			
Negative	n(%)			
Positive	n(%)			
Not Done	n(%)			
<u>CSF</u>				
Double centrifugation of CSF				
Missing	N			
Negative	n(%)			
Positive	n(%)			
Not Done	n(%)			
White blood cells(WCC)	Missing			
in CSF (µl)	N			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Categorization of WCC				
0-5	n(%)			
6-20	n(%)			
21-100	n(%)			
>100	n(%)			
CSF IgM titre	Missing			
	N			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			

4.1. Vital signs and laboratory assessments at baseline

Statistical Table 17 - Vital signs at baseline (ITT, PP, mITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Weight (kg)	Missing	X			
	n	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
BMI (kg/m ²)	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Systolic blood pressure	Missing				

(mmHg)	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Diastolic blood pressure	Missing
(mmHg)	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Heart rate (/min)	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Respiratory rate (/min)	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Body temperature (°C)	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Glasgow coma score	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Karnofsky index (%)	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.

Statistical Table 18 - Laboratory Assessments at baseline (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
<u>Haematology</u>					
Haemoglobin (g/dl)	Missing	XXX			
	n	X			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Platelet Count	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
WBC	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Neutrophil	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Lymphocyte	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Monocyte	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Eosinophil	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Basophil	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
Others	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Biochemistry					
Total bilirubin	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
ALT	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Creatinine	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Creatinine clearance	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Pregnancy	Missing				
	Negative				
	Positive				
	Not done				
	Not applicable (Male)				

5. Efficacy results

5.1. Primary Efficacy indicator

Statistical Table 19 - Primary Efficacy Indicator: Overall Cure Rate at the EoS

Analysis population	Arm	Cured	Cure rate	Difference in cure rates	90% CI	p-value
ITT	NECT	XX/XXX	XX.X%			
	eflornithine	XX/XXX	XX.X%	XX	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
MITT	NECT	XX/XXX	XX.X%			
	eflornithine	XX/XXX	XX.X%	XX	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
PP	NECT	XX/XXX	XX.X%			
	eflornithine	XX/XXX	XX.X%	XX	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX

5.2. Secondary Efficacy indicators

Statistical Table 20 - Secondary Efficacy Indicators at EoS

Item	Analysis population	Statistic	NECT	eflornithine	All	p-value
Treatment failure rate	ITT	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
Relapse rate	ITT	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
	PP	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
Parasitologically confirmed relapsed Rate	ITT	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
	PP	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
Relapse rate 12 months post treatment	ITT	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
Overall fatality rate	Safety	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
HAT or Treatment related fatality rate	Safety	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX
Cure rate	ITT	n/N % [95% CI]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/ XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	XX/XXX XX.X% [XX.XX%, XX.XX%]	X.XXX

Treatment response rate	PP	n/N	XX/XXX	XX/ XXX	XX/XXX	X.XXX
		%	XX.X%	XX.X%	XX.X%	
		[95% CI]	[XX.XX%, XX.XX%]	[XX.XX%, XX.XX%]	[XX.XX%, XX.XX%]	
	Safety	n/N	XX/XXX	XX/ XXX	XX/XXX	
		%	XX.X%	XX.X%	XX.X%	
		[95% CI]	[XX.XX%, XX.XX%]	[XX.XX%, XX.XX%]	[XX.XX%, XX.XX%]	

Statistical Table 21 - Parasitological Assessments at EoT (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
CSF				
Double centrifugation of CSF				
Missing	n			
Negative	n(%)			
Positive	n(%)			
Not Done	n(%)			
White blood cells(WCC) in CSF (/µl)	Missing			
	n			
	Mean (SD)			
	[95% CI]			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Classification of WCC				
0-5	n(%)			
6-20	n(%)			
21-100	n(%)			
>100	n(%)			
CSF IgM titre	Missing			
	n			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			

Statistical Table 22 - Parasitological Assessments and Laboratory Evaluation on M6, M12, M18 (ITT, PP, MITT)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
Blood				
Capillary tube centrifugation Technique (CTC)				
Missing	n	XX(XX%)		
Negative	n(%)	XX(XX%)		
Positive	n(%)	XX(XX%)		
Not done	n(%)	XX(XX%)		
Lymph node aspirate Microscopic of examination of lymph node aspirates				
Missing	n			
Negative	n(%)			
Positive	n(%)			

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
Not Done	n(%)			
<u>CSF</u>				
Double centrifugation of CSF				
Missing	n			
Negative	n(%)			
Positive	n(%)			
Not Done	n(%)			
White blood cells(WCC)	Missing			
in CSF (/µl)	n			
	Mean (SD)			
	[95% CI]			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Classification of WCC				
0-5	n(%)			
6-20	n(%)			
21-100	n(%)			
>100	n(%)			
CSF IgM titre	Missing			
	n			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			

6. Compliance Treatment

Statistical Table 23 - Study drugs administration compliance at D1-D10/D14 (ITT, PP, mITT)

Item	Statistic	nifurtimox 1 (N=XXX)	eflornithine 1 (N=XXX)	eflornithine 2 (N=XXX)
Number of treatment administration				
	Missing			
	n			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Number of patients with the following numbers of missed doses				
0	n (%)			
1	n (%)			
2	n (%)			
3	n (%)			
...	n (%)			
Number of patients with the following numbers of repeated nifurtimox doses in case of vomiting within 30 min				
0	n (%)			
1	n (%)			
2	n (%)			
...	n (%)			
Mean dose per day				
	Missing			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Number of patients with the following deviations (D) of total dose				
	Missing			
D < 85%	n (%)			
D < 95%	n (%)			
95% ≤ D ≤ 105%	n (%)			
D > 105%	n (%)			
D > 115%	n(%)			
Duration of treatment administration (hours)				
Mean Duration	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
< fixed duration	n (%)			
=fixed duration	n (%)			
>fixed duration	n(%)			
Duration of pretreatment (Days)				
Mean Duration	Missing			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Duration of hospitalization (days)				

Item	Statistic	nifurtimox 1 (N=XXX)	eflornithine 1 (N=XXX)	eflornithine 2 (N=XXX)
Mean Duration	Missing			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			
Duration of observation period from EoT to discharge (days)				
Mean Duration	Missing			
	Mean (SD)			
	Median [Q1,Q3]			
	Min., Max.			

Statistical Table 24 - Number of patients with 95-105 % adherence

Analysis population	Statistic	NECT	eflornithine	All	p-value
ITT	n / N	XX / XXX	XX / XXX	XX / XXX	
	%	XX.X%	XX.X%	XX.X%	
	[95% CI]	[XX%,XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX
PP	n / N	XX / XXX	XX / XXX	XX / XXX	
	%	XX.X%	XX.X%	XX.X%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX
mITT	n / N	XX / XXX	XX / XXX	XX / XXX	
	%	XX.X%	XX.X%	XX.X%	
	[95% CI]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	[XX%, XX%]	X.XXX

7. Safety Evaluation

Statistical Table 25 – Summary of Treatment emerging AEs (1st dose to discharge) and SAEs (within 30 days after 1st dose) (safety population)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Number of deaths during treatment	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one SAE	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one severe AE (intensity grade 3 & 4) (clinical & lab)	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one severe AE (intensity grade 3 & 4) (clinical)	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one severe AE (intensity grade 3 & 4) (lab)	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Number of patients with permanent treatment interruption	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Number of patients with temporary treatment interruption	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one AE (clinical & lab)	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one AE (clinical)	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one AE (lab)	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
At least one AE (possibly/ probably/ definitely) related to treatment	n (%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX

7.1. Clinical Adverse Events

7.1.1. Treatment emerging AEs

Statistical Table 26 - AEs by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
...	...	...	...	...	

Statistical Table 27 - AEs leading to treatment discontinuation by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

Statistical Table 28 - AEs by intensity: mild, moderate, severe, very severe by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

Statistical Table 29 - Severe AEs (grade 3 & 4) by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

Statistical Table 30 - Serious AEs by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

Statistical Table 31 - AEs by outcome by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

Statistical Table 32 - AEs by relationship unknown, unlikely, possibly, probably, definitely related and not related to treatment by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)
...	...	...	...	...

Statistical Table 33 - AE day of onset by SOC and PT (safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class				
Preferred term	Missing	XXX		
	n	X		
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)		
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]		
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX		

Statistical Table 34 - AE duration by SOC and PT (safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
System organ class				
Preferred term	Ongoing	XXX		
	n	X		
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)		
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]		
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX		

7.1.2. AEs reported during follow-up

Statistical Table 35 - AEs occurring after the treatment period by SOC and PT (safety)

	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
System organ class	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXXX
Preferred term	n(%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	XX (XX.X%)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXXX
...	...	...	...	...	

7.2. Vital signs

Statistical Table 36 - Clinical Assessments (Safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Weight (kg)					
D 11/15	Missing	X			
	N	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
D 17/21	Missing	X			
	N	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Follow-up on M6, M12, M18	Missing	X			
	n	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Change Baseline- D 11/15	Missing	X			
	n	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Stationary weight (within 4%)	n(%)	XX(XX%)			
Weight loss Grade1 (5-9%)	n(%)	XX(XX%)			
Weight loss Grade 2 (10-19%)	n(%)	XX(XX%)			
Weight loss Grade 3 (≥20%)	n(%)	XX(XX%)			
Change Baseline- D 17/21	Missing	X			
	n	XXX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Stationary weight (within 4%)	n(%)	XX(XX%)			
Weight loss Grade1	n(%)	XX(XX%)			

(5-9%)			
Weight loss Grade 2 (10-19%)	n(%)	XX(XX%)	
Weight loss Grade 3 (≥20%)	n(%)	XX(XX%)	
Change Baseline- M6	Missing	X	
	n	XXX	
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]	
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX	
Change Baseline- M12	Missing	X	
	n	XXX	
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]	
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX	
Change Baseline- M18	Missing	X	
	n	XXX	
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)	
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]	X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]	
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX	
BMI (kg/m²)			
D 11/15	Missing		
	n		
	Mean (SD)		
	Median [Q1,Q3]		
	Min., Max.		
D 17/21	Missing		
	n		
	Mean (SD)		
	Median [Q1,Q3]		
	Min., Max.		
Follow-up on M6, M12, M18	Missing		
	n		
	Mean (SD)		
	Median [Q1,Q3]		
	Min., Max.		
Change Baseline- D 11/15	Missing		
	n		
	Mean (SD)		
	[95% CI]		
	Median [Q1,Q3]		

	Min., Max.
Change Baseline-	Missing
D 17/21	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- M6	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline-	Missing
M12	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline-	Missing
M18	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Systolic blood pressure (mmHg)	
D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6,	Missing
M12, M18	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Diastolic blood pressure (mmHg)	
D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]

	Min., Max.
D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6, M12, M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
Heart rate (/min)	
D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6, M12, M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Respiratory rate (/min)	
D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6, M12, M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Body temperature (°C)	
D 11/15	Missing
	n

	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6, M12, M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Glasgow coma score	
D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6, M12, M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- M6	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.

Change Baseline- M12	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Karnofsky index (%)	
D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Day 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Follow-up on M6, M12, M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- D 11/15	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- D 17/21	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline- M6	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]

	Min., Max.
Change Baseline-M12	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.
Change Baseline-M18	Missing
	n
	Mean (SD)
	[95% CI]
	Median [Q1,Q3]
	Min., Max.

7.3. Laboratory adverse events and assessments

Statistical Table 37 - Number of patients with abnormal results until discharge (safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
<u>Haematology</u>					
Haemoglobin decrease					
<LLN	n /N				
	%				
<10g/dL	n /N				
	%				
<8 g/dL	n /N				
	%				
Platelet count decrease					
<LLN	n/N				
	%				
<75000/mm3	n /N				
	%				
<50000/mm3	n /N				
	%				
<25000/mm3	n /N				
	%				
WBC decrease					
<LLN	n/N				
	%				
<3000/mm3	n /N				
	%				
<2000/mm3	n /N				
	%				
<1000/mm3	n /N				
	%				
Neutrophil decrease					

<LLN	n/N
	%
<1500/mm3	n /N
	%
<1000/mm3	n /N
	%
<500/mm3	n /N
	%
<u>Biochemistry</u>	
Total bilirubin increase	
>ULN	n/N
	%
>1.5 ULN	n /N
	%
>3 ULN	n /N
	%
>10 ULN	n /N
	%
ALT increase	
>ULN	n /N
	%
>3 ULN	n/N
	%
>5 ULN	n/N
	%
>20 ULN	n/N
	%
Creatinine increased	
>ULN	n/N
	%
>1.5 ULN	n /N
	%
>3 ULN	n/N
	%
>6 ULN	n /N
	%
Creatinine clearance decrease	
<LLN	n /N
	%
<60 ml/min/1	n /N
	%
<30 ml/min/1	n /N
	%
<15 ml/min/1	n /N
	%

Statistical Table 38 - Laboratory Assessments (safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
<u>Haematology</u>					
Haemoglobin (g/dl)					
D11/15	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
D17/21	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Follow-up on M6, M12, M18	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Change Baseline- D 11/15	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
Change Baseline- D 17/21	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
Platelet Count	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
D11/15	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
D17/21	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Follow-up on M6, M12, M18	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Change Baseline- D 11/15	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
Change Baseline- D 17/21	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
WBC D11/15	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
D17/21	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Follow-up on M6, M12, M18	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
Change Baseline- D 11/15	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
Change Baseline- D 17/21	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
Neutrophil D11/15	n				
	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
D17/21	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
Follow-up on M6, M12, M18	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
Change Baseline- D 11/15	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
Change Baseline- D 17/21	Mean (SD)				
	[95% CI]				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
Lymphocyte D11/15	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
D17/21	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
Follow-up on M6, M12, M18	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
Monocyte D11/15	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
D17/21	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Follow-up on M6, M12, M18	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Eosinophil D11/15	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
D17/21	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Follow-up on M6, M12, M18	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Basophil D11/15	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
D17/21	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Follow-up on M6, M12, M18	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
Others	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
	Mean (SD)				

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
D11/15	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
D17/21	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Follow-up on M6, M12, M18	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
<u>Biochemistry</u>					
Total bilirubin					
D11/15	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
D17/21	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Follow-up on M6, M12, M18	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
ALT					
D11/15	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
D17/21	Missing				
	n				
	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
Follow-up on M6, M12, M18	Missing				
	n				

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Creatinine	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
D11/15	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
D17/21	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
Follow-up on M6, M12,	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
M18	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
Creatinine clearance	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
D11/15	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
D17/21	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
Follow-up on M6, M12,	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				
M18	Mean (SD)				
	Median [Q1,Q3]				
	Min., Max.				
	Missing				
	n				

8. Concomitant Treatment

Statistical Table 39 - Number of (prior, concomitant and post) treatment per patient

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)	p-value
Prior	n	XX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Concomitant	n	XX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			
Post	n	XX			
	Mean (SD)	XX.XX (X.XX)			
	[95% CI]	[XX.XX, XX.XX]			X.XXX
	Median [Q1,Q3]	XX.X [XX.X, XX.X]			
	Min., Max.	XX.XX, XX.XX			

Statistical Table 40 - Concomitant treatment prior to treatment (Safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
ATC	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			
DCI	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			

Statistical Table 41 - Concomitant treatment during treatment (Safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
ATC1	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			
DCI	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			

Statistical Table 42 - Concomitant treatment posterior to treatment (Safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
ATCI	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			
DCI	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			

Statistical Table 43 - Concomitant treatment during follow up (Safety)

Item	Statistic	NECT (N=XXX)	eflornithine (N=XXX)	All (N=XXX)
ATC	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			
DCI	Nb TRT			
	Nb Patient			
	% Patient			

9. Figures

Figure 13 - Overall Cure rates

Figure 14 - Kaplan-Meier analysis representing the event-free survival by treatment (ITT)

Figure 15 - Kaplan-Meier analysis representing the event-free survival by treatment (mITT)

Figure 16 - Kaplan-Meier analysis representing the event-free survival by treatment (PP)

Data listings

The following listings will be included in the clinical study report. They will include all patients included in the study and all visit information will be presented chronologically (including unscheduled visits).

Patient Data Listings**Discontinued Patients**

- Study discontinuations

Protocol Deviations

- Protocol deviation

Demographic Data and baseline characteristics by patient

- Dates of visits
- General information
- History of HAT (time and drug of prior HAT treatments)
- Signs and symptoms of HAT
- Inclusion / exclusion criteria

Drug administration by patient

- Treatment dose

Vital signs by patient**Adverse Event listings by patient****a. during hospitalization**

- All adverse events
- Serious adverse events

b. during follow-up

- All adverse events
- Serious adverse events

Concomitant Medication listings prior, during and after treatment by patient

- All concomitant medication

Medical History listings by patient

- All medical history

Listing of individual laboratory measurements by patient

- Laboratory Results - Parasitology
- Laboratory Results - Haematology
- Laboratory Results - Biochemistry

Discharge sheet by patient**Case summary and termination sheet by patient**