

體外診斷醫療器材的臨床試驗

曾嶽元^{1,2}

¹國泰綜合醫院病理暨檢驗醫學部，台北，台灣

²輔仁大學醫學系，台北，台灣

摘要

高風險體外診斷用新醫療器材必須通過臨床試驗（clinical trial）評估後始得上市。一般而言，臨床試驗由試驗委託者發起，經過資訊收集、概念形成、資源整合、團隊建立後，即可研擬試驗並撰寫計畫書。試驗乃根據研究之目的而設計，必須通過倫理審查後方得執行。數據的收集和統計需根據事先擬定的方法而行。臨床試驗的目的是提供有效的科學證據給審核機關及其諮議委員會（advisory committee），希望經過評估其體外診斷用新醫療器材技術後，得到「合理的保證其安全及有效性（reasonable assurance of safety and effectiveness）」之結論。（生醫2011;4(4):179-186）

關鍵字：體外診斷醫療器材（in vitro diagnostic device; IVD）、臨床試驗（clinical trial）、安全性（safety）、有效性（efficacy; effectiveness）



前言

臨床試驗（clinical trial）又謂之臨床研究（clinical study; clinical investigation）或實地試驗（field trial），這是以人（human subject）為對象之一種前瞻（prospective）且客觀（objective）的研究；旨在探討藥物、輻射、手術、醫材、精神治療和另類療法等醫療干預（intervention）之所宣稱（intended claims）的安全性（safety）和有效性（efficacy; effectiveness）。就體外診斷醫療器材

（in vitro diagnostic device; IVD）而言，臨床試驗就是要確認新的第三等級IVD是否能夠安全地反映或預測臨床情況或疾病。因此，IVD的臨床試驗包含但不等於「臨床性能特徵（clinical performance characteristics）」的評估。

對於擬測試之IVD，在臨床試驗計畫書中要列出其名稱，並提供該產品之基本資訊，若可能的話還可說明其安全性，以及解釋該產品為何較已上市者為佳。以下是一個範例，來說明這類IVD之適當的描述。

通訊作者：曾嶽元 教授

電話：886-2-2690-7965 ext 2519

傳真：886-2-2691-9800

地址：106 台北市仁愛路四段280號 病理暨檢驗醫學部

電子郵件：jeffbucknell@gmail.com

本□□□（商品名）檢驗套組是一種以（方法或技術）為基礎的檢測，它是用來定量（或定性）ABC檢體中之XYZ（基因名或病原體等名稱）的DNA（或RNA轉錄物或蛋白質）。此方法可檢出XYZ型別（或基因型別）。適用於此檢驗套組的ABC檢體包括…（指出檢體種類及收集此檢體的醫材）。

本文根據臨床試驗計畫書的重要部份來說明。為舉例方便起見，會以人類乳突病毒（human papillomavirus; HPV）和人類免疫缺乏病毒（human immunodeficiency virus; HIV）的分子檢驗套組為例說明。

臨床試驗之目的

試驗之主要目的（primary objective）只有一個，但次要之目的（secondary objective）可以有好幾個。目標（endpoints）是對應於研究目的之臨床或實驗的結果，若試驗中包含檢測的主要目標和次要目標，則必須分別詳細敘述。研究之目的和目標須在擬定計畫書之前就思考好，因為如此才能設計出一個完整的計畫。

基本上，臨床試驗幾乎都是比較性的（comparative），因此就必須有科學上合理的對照組來比較兩者間的差異。譬如，新的醫材是用於某項檢驗，而目前市面上已有用於此檢測的醫材，那麼計畫書就需提出說明此新醫材如何與現有的醫材作比較。假說之證明可以是較優（superior）、不劣於（non-inferior）或等同於（equivalent）。若要證明「不劣於」，則對照品必須是已在國內上市者。臨床試驗所用之對照組必須是同時的（concurrent），或者自我的對照組（self-control）；後者又稱為「交叉的對照

組（crossover control）」。

一旦試驗開始進行了就不可修改，除非主管單位同意否則不可擅自變更假說。

臨床試驗之設計

IVD的「臨床性能特徵」包括臨床靈敏度（clinical sensitivity）、臨床特異性（clinical specificity）以及陽性和陰性的預測值（predictive value）。臨床靈敏度又稱為診斷靈敏度（diagnostic sensitivity），指的就是某檢測方法偵測疾病的能力；而臨床特異性就是受檢者無病時該檢測結果呈現陰性的頻率。譬如，如果某試驗的IVD宣稱可偵測糞便中的大腸癌細胞，那麼該醫材之臨床靈敏度指的是，在大腸癌的病人中有多少人用此醫材檢驗是陽性的？特異性指的是，沒有大腸癌或癌前期的人群中有多少人以此醫材檢驗是陰性的？

診斷靈敏度和特異性常常以病理切片、病原體培養或臨床現況作為「黃金標準（gold standard）」。

在測定靈敏度和特異性時，計算者不能事先知道病人的情況，亦即應以盲目的方式（blinded fashion）進行。有的時候，計算靈敏度和特異性必須有大量的陽性病例，這對某些疾病而言是不可能做到的。譬如，在正常細胞學的婦女中建立HPV檢驗醫材的臨床靈敏度和特異性就相當困難，因為這些婦女得到子宮頸癌的機會很低，她們在做HPV檢驗時不會被送去做陰道鏡檢查，所以也無從得知有病之個案數。

不論如何，臨床性能特徵必須以前瞻性研究來證明，而且必須在三個有代表性的試驗地點執行，但其中一個可為自家的實驗室。臨床試驗的科學完整性及其數據的可信度端視試驗是如何設計而定。病人之間的差異性（patient-to-patient variability）可藉由「交

又設計 (crossover design) 來控制。然而，交叉設計的分析較為複雜，因為病人對任何一種醫療干預的反應都常會與另一種醫療干預相關。將研究的範圍縮小可減低設計的複雜性，但是付出的代價是該醫材將來所能宣稱的部分必然也會受到限制。

在試驗設計中要完整地描述設計型態，例如是否為隨機的、雙盲的或開放的 (open-labeled)、單組 (single arm)、雙組 (two arm) 或多組 (multiple arm) 的。此外也要詳述其他的試驗設計部份，包括圖解 (schematic diagram)、數據收集方法、對照組的型式、樣本數的判斷、如何隨機分組以及有無分層 (stratification) 處理、如何確保測試的產品與對照品有當責的流程 (accountability procedures)、如何維持隨機密碼 (randomization codes) 與解密 (breaking codes) 原則。計畫書中也要明確地定義何謂「有效的參數 (effectiveness parameter)」，以及何時且如何評量、記錄並分析這些參數。也需明確說明結果判定的基準。

臨床試驗的設計沒有固定的模式。例如當新醫材與上市的醫材作比較而出現不一致的結果時，在研究設計上除了可藉由追蹤這些個案來得到答案外，還可將這些樣本中的一部份 (約100個) 以其他的檢驗 (如探針雜交法或即時擴增法等等不相同的方法) 來作進一步的判斷。基本上，試驗的設計必須遵循現有的科學理論且合乎邏輯。在此筆者以美國食品藥物管理局 (Food and Drug Administration; FDA) 對HIV的核酸檢驗法 (nucleic acid testing; NAT) 為例，來介紹三種試驗的設計。

首先以「NAT篩檢捐贈之血液是否帶有HIV-1病毒」為例，來說明臨床試驗的設計。方法之一是，

在三個不同地點測試至少1000個來自不同風險及不同時期的HIV-1血清陽性病人的檢體。其中至少有200個檢體是來自臨床上診斷為後天免疫缺乏症候群 (acquired immunodeficiency syndrome; AIDS) 的病人。其中至少要有20至30%的樣本來自女性，以便執行單一性別上的分析。此外還需分析來自不同地方之所有病毒亞型 (每種至少有20例) 的檢體，以便評估檢驗套組在偵測不同HIV-1病毒株時的靈敏度。此外，至少要有200個樣本是HIV-2陽性的檢體 (樣本可取自血庫)，以便評估單一捐血之篩檢的臨床靈敏度。

再以「HIV核酸檢驗法作為預後方面的評估」為例，臨床試驗可設計為一種前瞻性研究來觀察不同疾病時期的病人，以病人的「無病期間 (disease-free interval)」作為主要研究目的。回溯性 (retrospective) 收集之檢體也可產生有用的數據。有時，一個檢驗的預後實用性，可因為和目前准予使用的核酸技術作比較而得到證明。當預後實用性是以「評估已知臨床結果之臨床試驗樣本」來定義時，那麼不管是前瞻性或是回溯性的研究，都必須以統計分析來決定核酸數值與疾病進展的相關預測值。此分析必須統合垂直和橫向的研究，內容亦須包含臨床結果的資訊。橫向的研究需使用臨床靈敏度的設計；對於垂直的研究，約需500位病人，這些病人必須分散在不同的疾病期。臨床結果可以定義為「進展到首次AIDS相關事件的時間或無病存活的期間」。上述各個研究都必須含有足夠數目的女性參與者，以便評估性別對預後實用性造成的差異。與有支持性的臨床和臨床前數據合併使用，就可以用比較的方法來評估，是否可將現行核准的檢驗套組修改後，得到等同或更好的性能。這也可用於評估新的方法。測試時需要至少150個臨床樣本，這些樣本的數據宜散佈在兩種檢

驗法（為測試用及參考用）的線性範圍內。此外，一組來自30名病患在不同時間點所抽取的一系列臨床檢體（起碼有1 log的變化）也應要加以評估，以比較兩種檢驗法對單一個案數據之讀取及讀取前後之變化。如果所測試的檢驗與已核准的檢驗在這些讀取上無法達到允收的一致性，那麼被測試的檢驗法就是不合格的。

最後以「HIV核酸檢驗法作為治療方面的監控」為例，臨床試驗可這麼設計：在前瞻性執行的試驗中，對已治療的病人，我們可比較新的檢驗法和已上市之定量檢驗套組的臨床實用性。以血漿內之病毒核糖核酸（ribonucleic acid; RNA）變化為基礎的隨機且對照的臨床試驗，可用於比較不同的藥物組合或新藥研究以作為現行療法的輔助。前瞻性臨床試驗之替代方法為使用已知臨床結果之研究案中所貯存之描述完整的檢體。然而，如果打算作回溯性研究的話，那麼所作之研究就必須符合現行的治療及處置。此外，很重要，在試驗開始前就必須確定有足夠的檢體量，以確保試驗可完成，而且當結果不一致時也有足夠的檢體作進一步的釐清。不管選用什麼方法來證明病人監控的臨床實用性，至少需要300位目前治療中的病人來接受病毒量的監控。被研究的族群中，還要包括因為疾病進展、病毒量改變或出現抗藥性而修改其療法的一小群病人。在這些研究中，要想辦法剖析性別及年紀（成人或小孩）對套組性能造成的差異。

受試族群與檢體方面的考量

受試族群（study population）為預期使用該醫材之人群。因此，臨床試驗所使用的檢體必須來自IVD的使用族群（intended population），如此方能評估該醫材是否符合IVD標籤上所宣稱之臨床性能。臨床

試驗必須在使用族群的代表群中進行，比較的兩組必須有相似之人口學特徵及罹病因子。因此，計畫書要描述受試族群的臨床及人口學特徵，且受試族群必須在試驗前就藉由納入條件（inclusion criteria）及排除條件（exclusion criteria）來清楚地定義。這些條件需由此方面的專家界定。除非是進行再現性（reproducibility）的研究，否則要儘量避免用同一個案進行多重試驗，以免影響統計和低估標準差。如果非得如此做的話，試驗委託者須解釋原因並選用適當的統計方法來調整受試者內（within-subject）之相關性。在計畫書中要清楚地描述試驗地點、病人的種類（門診或住院病人）、收集的方法。也要敘述試驗的中途退出條件（withdrawal criteria），及病人退出試驗時所應採取的步驟，包括受試者何時及如何退出研究、這些個案的數據如何處理、是否需要及如何補收受試者、如何追蹤退出研究的受試者。計畫書中也要敘述研究案之部份或全部終止的條件（stopping rules, discontinuation criteria）。

關於檢體方面，計畫書中要清楚地說明如何登錄及追蹤檢體之流程，例如從病變和非病變區做的切片，應分別標示。如此方可確保樣本在收集、儲存和傳送時的正確性。此外在採樣時也需遵守事先擬定的時間表。譬如測試HPV檢驗套組時，從子宮頸細胞學採樣到後續的陰道鏡檢查的時間要嚴加遵守。在此兩步驟間若拖得太久（譬如超過12個星期），有可能導致偏高的自行緩解率及其相關的子宮頸病變，如此則會影響所估算的臨床靈敏度及特异性。有時檢體必須包括血清和血漿或其他樣本，以釐清不同檢體型式的影響。譬如測試B型肝炎病毒檢驗套組時，就必須如此。必要時還需比較「新鮮抽取」與「冰凍檢體」之檢驗性能和檢體安定性。如果要合併數個檢體一起做檢驗（譬如捐血中心的HIV篩檢），則要提出理論基

礎，並將「檢體聚集一起時產生的干擾或基質變化，是否會影響檢驗的性能」之狀況一併列入考慮。

IVD的使用

計畫書中要清楚地說明使用IVD的情形，包括使用之頻率、期間，以及如何監控醫師和病人的順從性。在建立檢驗的性能特徵時，檢體正確地收集及處理是非常重要的。在IVD的使用說明中要詳列該醫材所需使用的檢體收集裝置。雖然不需對每一項列出的器材一一作分析，但是這些器材必須包含在臨床檢驗中。醫材中所指定使用的每一種檢體收集液，都要一一測試其分析及臨床性能。若IVD宣稱可用於細胞學檢體，那麼在設計其試驗前就要決定，所欲測試的樣本是分裝前的細胞檢體（亦即在玻片製作前所分裝的檢體）或殘餘的細胞學檢體（亦即在玻片製作後所分裝的檢體）。只有當細胞學收集系統被核准用在細胞學玻片前之分裝，細胞檢體才能事先分裝。如此方可確保病人的細胞學檢查不會被標示外（off-label）的處理過程破壞。從另一方面看來，若廠商使用細胞學的殘留檢體，則需要分析在備製細胞學玻片時所造成的沾染（carryover）。廠商若用核酸擴增檢驗法而擔心污染問題時，則需以間隔檢體收件系統（alternative specimen collection system）或其他被允許用於分裝前之系統來強調潛在的污染問題。

如果IVD之檢驗與藥物的使用有關，那麼該藥物的包裝（packaging）、標示（labeling）、劑量（dosage）、用量（dosage regimen）以及投藥方式（mode of administration）也需明確說明。此外，還需詳細描述每次追蹤的步驟及其訪視日程（visit schedule）。包括每次追蹤時要檢測的項目及要收集的資訊。如果已知某些藥物會干擾IVD的測量，則要明列出這些不應使用的藥物。

統計與樣本數

良好的試驗計畫書應詳細說明數據收集及分析的方法，包括方法的證實、數據的監控、統計的方法。由於統計已事先設計好了，所以除非試驗過程中發生不預期的偏差，否則分析方法早已在計畫書中決定了。也因此，主持人在試驗進行時即可收集到相關且適用的數據以得到客觀的結論。統計需針對研究之目的及其設定目標來設計，設計者要考慮到隨機及盲測的方法、潛在的混淆因子（potential confounders）、以及數據處理和數據監控的方式。

樣本數若太少會使結果不正確；太多則增加不必要的成本。一般而言，樣本數的估計（sample size estimation）受到醫材的科技層次、預期的用途（intended use）以及欲檢驗之生物學（如疾病）特性的影響。因此估算樣本數時應由主持人會同統計專家一起考量。考慮的要點包括研究的設計（是否要求所有的分組都有相同的樣本數）、參數值（如風險比）、統計分析法（如邏輯回歸分析）、變項種類（如二元變數、連續變項或存活率）、統計失誤（如 α 常定為0.05）、統計能力（如 $1-\beta$ 常定為0.9）、信賴區間。譬如某HPV檢驗套組擬宣稱可用於評估「不明惡性度之非典型鱗狀細胞（atypical squamous cells of undetermined significance；ASCUS）」變成惡性的風險，那麼就應考慮，到底需要多少ASCUS病人的樣本，才能達到一個評估點來計算臨床靈敏度及特異性和雙側95%信賴區間的下限。因為偽陰性的HPV檢驗會延後子宮頸癌的偵測及治療，所以臨床靈敏度是HPV檢驗最重要的性能參數。這是專家審查委員評估臨床有效性（clinical effectiveness）的重要依據。

簡單來看，最常用的樣本估算方式是將「臨床上有有意義之差異的估計變異性（an estimate of the variability of the clinically meaningful difference）」放在分子，把「估計能偵測到之臨床上有有意義的差異（an estimate of the clinically meaningful difference to be detected）」放在分母。因此對任何變項而言，變異性愈大，所需之樣本數就愈多。同樣地，對任何變項而言，臨床差異愈小，所需之樣本數就愈多。經過這些計算後，還需多加15%的樣本數以應付病人的不順從性（non-compliance）、退出（dropout）、失去追蹤（lost to follow-up）、數據的不完整（missing data）、治療的時程長度及反應等因素。此外，偶爾還需考量特別的因素，譬如現在擬作的試驗是與HPV基因型16和18有關的IVD，那麼此臨床試驗會碰到一個大問題：由於接種HPV疫苗的人數逐漸增加，子宮頸病變的盛行率勢必會減少。因此收案就一定愈來愈困難。所以除非試驗設計者能事先洞悉此事，在估算樣本數時，把疫苗接種率和疾病盛行率考慮進去。而把未接種疫苗比例較高的試驗地點，也納入臨床試驗中。否則試驗可能會因收案困難而窒礙難行。

有時因為基本數據的不明確，因此計畫設計者很難估計樣本數。這時倒可以從國外的經驗中得到參考的數目來預估。試舉兩例如下：

（1）以NAT篩檢多位捐血樣本聚集在一起的血液檢體是否帶有HIV-1病毒的時候，若不知樣本需多少才能得到有意義的結果，那麼美國FDA建議的樣本數如下：

- 檢驗的臨床靈敏度必須從測試1000個已知為血清陽性的檢體中求得，這些樣本分散在至少100個不同的聚集血液檢體中，其中至少25個聚集的血

液應含弱陽性檢體，而所有聚集的血液都應含數個陰性的檢體，且血清陽性的檢體在每個聚集中的位置都是隨機的。

- 評估各種HIV亞型或變異種以及HIV-2的偵測能力時，必須對每一病毒種類測試20個樣本。這些樣本可以用聚集的血漿再外加各種亞型或變異種，或以血清陰性的血漿稀釋病毒而得。

（2）關於「血清陽性的母親所生之嬰兒」是否感染到HIV，是很重要的議題。若廠商擬測試其HIV檢驗套組，是否可作為早期診斷使用時，美國FDA建議，特異性之建立需使用至少300名健康的成年人及約100至200個血清陰性的健康母親所生的嬰兒。早期診斷之臨床靈敏度的評估，需要測試至少200名血清陽性母親所生的嬰兒。從出生後6個星期內作檢驗，所得之數據應與已核准使用之抗體及抗原檢驗法作比較。某些案件也許需要長期追蹤以釐清檢驗結果。

臨床試驗主持人

臨床試驗之主要的研究人員為試驗委託者（sponsor）和試驗主持人（investigator）。前者為研究案的發啟人；後者為研究案之執行者。如果研究案是由一組人員執行，則該組之領導人為試驗主持人。試驗主持人必須是合格的專家（qualified expert）。若發啟人同時為執行者，則謂之試驗委託者及主持人（sponsor-investigator）。主持人及共同主持人為臨床試驗的關鍵人員，對受試者之醫療有直接的責任，對臨床試驗的執行也有直接的責任。

臨床試驗必須由合格的獨立研究人員擔任，因此

試驗計畫書需檢附試驗主持人相關的學經歷與研究經驗記錄，以判斷主持人及相關操作人員是否具備執行本試驗之能力。因此，計畫書必須提供以下資訊：

- 試驗委託者及監督者之姓名及住址。代表試驗委託者之醫學專家的姓名、頭銜及電話號碼。
- 計畫書簽署人的姓名及頭銜。
- 試驗主持人的姓名和頭銜：主持人以外之醫師若有負責試驗點相關的醫療決策，需提供其姓名、頭銜、地址及電話號碼。
- 試驗地點的地址和電話號碼：參與試驗的臨床實驗室及其他醫學和技術部門的名稱及其地址。

倫理考量

臨床試驗是以人為對象之合乎倫理的實驗。因此，臨床試驗必須要有知情同意書及機構審議會或人體試驗委員會（Institutional Review Board; IRB）的核准。在受試者保護方面，要提供的機制包括（1）安全的材料；（2）安全的設計；（3）良好的標準作業流程；（4）主持人的積極參與和優良的醫療水準；（5）負責的倫理委員會和資料安全監控委員會（data safety monitoring committee; DSMC）；（6）適當的保險。知情同意書要提供受試者公平適切之資訊，內容要包括：（1）產品使用說明及受試者注意事項；（2）告知各種不良反應之發生人數及比例；（3）不要用「非常的低」、「非常的輕微」等形容詞來說明副作用；（4）緊急聯絡人及聯絡方式；（5）本產品是否已在國內上市及全球上市的狀態；（6）避免過度使用醫學用語。如果受試者同意書是由外文直接翻譯，宜儘量用國人易懂的口語。

臨床試驗必須符合赫爾辛基宣言（Declaration of

Helsinki）。但試驗設計者必須要真正了解其精神，臨床試驗才能合乎倫理且對精確的問題提出解答。然而，目前台灣有許多研究人員及IRB委員都誤以為用「去連結（delink）」來保護個案的隱私即是最高倫理標準，任何研究案若與此原則砥觸即是冒犯倫理、不準執行的。然而倫理不應被如此簡化，因為「保護受試者」才是倫理的原則。研究人員不應假借保護隱私之名，而不顧個案和公共的安全。這種態度若不是太懶惰，就是太不負責了。如果不深加思慮而只是一味地去連結，這樣反而會傷害受試者。例如，「評估HIV-1病毒篩檢套組」的臨床試驗，就必須要使用連結的研究（linked study）。在HIV的篩檢試驗中，試驗主持人必須被允許辨識受試者的身分以便加以追蹤。如果出現陽性結果，捐血者就會被暫停捐贈，其血液會被安置在隔離區，直到檢驗結果被核酸擴增檢驗法重覆證明，或以臨床追蹤且於隨後的3至6個月以免疫方法檢測證明確實為真正的陽性個案。此外，試驗計畫書還需清楚定義，偽陽性的捐血者要以什麼方式恢復其身分。如果是用合併數個檢體一起做檢驗的方式篩檢HIV，那麼要有詳細的檢體調取流程，以便必要時可辨識陽性之合併聚集（pooled）的檢體中，到底哪一個檢體含有病毒。

結語

近年來台灣的生技產業蓬勃發展，IVD的研發因為投資成本遠低於新藥的開發，因此倍受注目。然而新的高風險IVD，必須透過優良的臨床試驗才能確認是否能夠安全地反映或預測臨床情況或疾病。臨床試驗的計畫書需依照「醫療器材優良臨床試驗準則」規範及格式撰寫。雖然行政院衛生署食品藥物管理局（Department of Health Food and Drug Administration，簡稱TFDA）目前不事先審查IVD的

臨床評估計畫書，但廠商根據一定的規模還是可擬出適當的計畫書。基本上，計畫書需明列該產品之已知或潛在的風險或益處、描述擬定招募的病人族群、說明試驗方法、使用時間表及總共時程等等。除了這些重點外，還需要注意一些細節，例如計畫書名稱、流水號、日期及中英文摘要。如有修正文件，也需註記其流水號及日期。對於計畫書中使用的術語要列一份解釋表；縮寫則列一份全名對照表。術語和縮寫都必須符合國際普遍接受的系統。例如細胞學的用語就應依照The 2001 Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (2001 Bethesda系統) 或更新版的Bethesda系統。最後，還要清楚地表示此研究試驗會依照試驗計畫書執行，並遵守優良臨床試驗規範 (Good Clinical Practice; GCP) 及其他相關的法規。總之，必須透過優良的臨床試驗才能確認新的第三等級IVD的安全性及有效性。

12. Matthews, JNS. Introduction to randomized controlled clinical trials, 2nd Ed. Boca Rato,, FL: Chapman & Hall/CRC, 2006, pp188-189



參考文獻

1. Premarket Approval (PMA) Manual. (1987). U.S. Department of Health and Human Services. FDA 87-4214.
2. Investigational Device Exemption Manual. (1990). U.S. Department of Health and Human Services. FDA 90-4159.
3. Regulatory Requirements for Medical Devices. (1992). U.S. Department of Health and Human Services. FDA 92-4165.
4. Food and Drug Administration. 21 CFR 800-1299 (Food and Drugs). Revised as of April 1993 pp 146-149. GPO 1993.
5. Friedman, L.M., C.D. Furberg, D.L. DeMets. (1985). Fundamentals of Clinical Trials (2nd ed). Mosby Year Book, (2nd ed), St. Louis.
6. Fleiss, J.L. The Design and Analysis of Clinical Experiments. (1986). John Wiley and Sons, New York.
7. Pocock, S.J. Clinical Trials: A Practical Approach (1983). John Wiley and Sons, New York.
8. Cox, D.R. Planning of Experiments. (1958). John Wiley and Sons, New York.
9. Cochran, W.G. and G.M. Cox. Experimental Designs. (1957). John Wiley and Sons, New York.
10. Meinert, C.L. Clinical Trials Design, Conduct, and Analysis. (1986). Oxford University Press, New York.
11. Montgomery, DC. Design and analysis of experiments, 4th Ed. New York, NY: John Wiley & Sons, 1997, p12