

## Conception et conduite des essais cliniques : *Rapport de la sous-commission Essais cliniques du Dry Eye WorkShop international (2007)*

**RESUME** Ce rapport récapitule quelques concepts universels sur les essais cliniques et les aspects spécifiques aux essais cliniques menées pour étudier les interventions thérapeutiques de la pathologie de l'œil sec. Il propose également des recommandations de conception et de méthodologie. Les singularités du syndrome de l'œil sec qui compliquent la conception des essais cliniques, notamment le manque de corrélation entre les signes et les symptômes, et l'effet lubrifiant (placebo) potentiel des interventions contrôlées sont examinées, ainsi que les stratégies mises en oeuvre dans les essais dans l'environnement ambiant et dans un environnement contrôlé défavorable.

**MOTS CLES** essais cliniques, DEWS, œil sec, yeux secs, Dry Eye WorkShop

### I. INTRODUCTION

**L**es études cliniques du syndrome de l'œil sec posent des problématiques particulières aux cliniciens, aux épidémiologistes, aux biostatisticiens et à tous ceux qui cherchent à obtenir l'autorisation réglementaire de médicaments ou d'autres thérapeutiques.<sup>1</sup> Ce rapport récapitule quelques concepts universels sur les essais cliniques, et examine d'autres aspects spécifiques à l'étude des interventions thérapeutiques pour la pathologie de l'œil sec. Le niveau de preuve des données issues d'essais cliniques est indiqué dans la bibliographie, conformément aux directives modifiées de l'American Academy of Ophthalmology Preferred Practices.

Publication acceptée en janvier 2007.

Membres du sous-comité des essais cliniques : **Kazuo Tsubota, MD (Président)**; Penny Asbell, MD; Murat Dogru, MD; Desmond Fonn, OD; Gary Foulks, MD (capitaine); Debra Schaumberg, ScD, OD, MPH; Oliver Schein, MD, MPH; Hitoshi Watanabe, MD.

Les intérêts personnels des membres du sous-comité sont renseignés en page 202 et 204.

Aucune reproduction n'est disponible. Les articles peuvent être consultés à l'adresse : [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org)

Toute correspondance concernant ce chapitre du Rapport DEWS doit être adressée à Kazuo Tsubota MD, Ophthalmology, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan. Tél. : 81-3-3353-1211. Fax : 81-3-3352-8703. E-mail : [tsubota@sc.itc.keio.ac.jp](mailto:tsubota@sc.itc.keio.ac.jp)

©2007 Ethis Communications, Inc. *The Ocular Surface* ISSN: 1542-0124. (Aucun auteur mentionné). Conception et conduite d'essais cliniques : rapport de la sous-commission Essais cliniques du International Dry Eye WorkShop (2007). 2007;5(2):153-162.

Ce rapport propose également des recommandations quant à la conception et à la méthodologie de ces essais.

### II. OBJECTIFS DE LA SOUS-COMMISSION ESSAIS CLINIQUES

Les objectifs de la sous-commission Essais cliniques étaient d'examiner de manière systématique la littérature, les procédures et les concepts relatifs aux essais cliniques en général, de considérer les facteurs spécifiques aux essais cliniques thérapeutiques de l'œil sec, et de présenter les lignes de conduite de ces essais.

### III. LIGNES DE CONDUITE GÉNÉRALES DES ESSAIS CLINIQUES

Le principe d'équilibre clinique (« équilibre ») doit être établi avant le lancement de tout essai clinique. En d'autres termes, l'incertitude sur l'efficacité de l'intervention considérée doit être suffisante pour justifier qu'une partie des participants à l'essai ne la reçoive pas et, dans le même temps, l'effet curatif potentiel de l'intervention doit être suffisant pour justifier d'y exposer l'autre partie des participants éligibles se prêtant à l'essai de leur plein gré. Ces conditions étant remplies, un certain nombre d'autres aspects de la conception et de la conduite de l'essai doivent être considérés pour obtenir des résultats valides (Tableau 1). Parmi les mesures importantes figurent : l'énoncé concis et spécifique de la visée de l'étude, la spécification du principal critère d'évaluation, l'estimation statistique de la taille de l'échantillon requis, la spécification de la durée du suivi, ainsi que la chronologie des visites initiales et de suivi, la sélection de la population étudiée, la définition du principal critère d'évaluation, la randomisation (tirage au sort) des intervention(s)/traitement(s), l'élaboration des stratégies qui assureront la bonne observance du protocole par les participants, ainsi qu'un taux de suivi équilibré et élevé. La définition de la structure organisationnelle et décisionnelle est également une mesure importante, de même que les modalités de recueil des données et de contrôle de la sécurité des patients.

#### A. Conception

La conception la plus souhaitable de l'essai clinique est prospective, randomisée, en double insu, en groupes parallèles ou en permutation croisée, avec placebo ou véhicule contrôlé. Les essais d'équivalence ou de supériorité sont également acceptables lorsqu'il s'agit de comparer une nouvelle thérapie à une thérapie autorisée ou largement utilisée ; dans ce cas, ils seront de type prospectif, randomisé et en insu.<sup>2-5</sup> L'idéal serait que les études en groupes parallèles permettent de comparer

**TABLE DES MATIÈRES**

I.	Introduction
II.	Objectifs de la sous-commission Essais cliniques
III.	Lignes de conduite générales des essais cliniques
A.	Conception
B.	Critères d'inclusion et d'exclusion
C.	Critères d'évaluation
D.	Taille de l'échantillon, randomisation et analyse de données
E.	Administration d'un essai clinique
IV.	Lignes de conduite des essais cliniques sur l'œil sec
V.	Observations expérimentales sur le syndrome de l'œil sec
A.	Particularités des essais cliniques sur l'œil sec
B.	Evaluation et paramètres d'évolution
C.	Recommandations pour les essais cliniques sur l'œil sec
VI.	Considération en vue de faciliter les essais cliniques multicentriques et collaboratifs au niveau international

des contextes environnementaux ou démographiques ou des activités. Lorsque la taille de l'échantillon est importante, la randomisation tend à garantir la répartition des caractéristiques démographiques parmi les groupes traités. La randomisation peut d'ailleurs être réalisée par sous-groupes (stratification) pour s'assurer plus avant de la répartition égale de certains facteurs démographiques, tels que l'âge ou le sexe. Il faut toutefois noter que la mise en place de cette technique est malheureusement souvent impraticable, et qu'elle augmente considérablement le nombre de patients à soumettre au recrutement.

En règle générale, les études conçues en permutation croisée présentent l'avantage que chaque patient est son propre témoin, mais elles sont également susceptibles d'introduire un biais majeur puisque, et c'est le cas des traitements de l'œil sec, les effets d'un traitement peuvent persister au-delà d'un autre. Par ailleurs, dans le cas d'interactions médicamenteuses, les effets séquentiels des médicaments ou traitements peuvent biaiser les résultats. Les trois présomptions suivantes sont inhérentes aux études en permutation croisée :

1) Le traitement n'est pas curatif.

**Tableau 1.** Caractéristiques d'un essai clinique bien conçu

1. Enoncé concis et précis de la question étudiée
2. Spécification du critère d'évaluation principal
3. Estimation statistique de la taille nécessaire de l'échantillon
4. Indication de la durée du suivi et calendrier précis des évaluations pendant l'essai et lors du suivi
5. Sélection de la population de l'étude
6. Définition du critère d'évaluation principal
7. Répartition aléatoire de l'intervention/du traitement
8. Stratégies qui assureront la bonne observance du protocole par les participants, ainsi qu'un taux de suivi équilibré et élevé
9. Définition de la structure organisationnelle et décisionnelle
10. Spécification des modalités de saisie des données et de surveillance de la sécurité des patients

- 2) Il n'y a pas de période de sevrage entre les périodes de traitement.
- 3) Pour contribuer à l'analyse, tous les patients doivent se soumettre à toutes les périodes.

L'idée selon laquelle une étude en permutation croisée présente un avantage par rapport à une étude parallèle repose sur l'hypothèse que la variabilité *intra*-patient est moindre que la variabilité *inter*-patient. Ce n'est pourtant pas toujours le cas. Des périodes de sevrage avec placebo peuvent être utilisées pour supprimer les effets prolongés de la thérapeutique précédente, pour autant que la période de sevrage soit suffisamment longue, sachant que la durée d'un sevrage effectif peut ne pas être connue ou varier en fonction des produits testés. Pour pallier à ce problème dans les essais en permutation croisée, une stratégie consiste à tirer au sort la séquence d'administration du produit testé et du produit de contrôle de façon à ce que certains individus commencent par recevoir la thérapie active et d'autres la thérapie de contrôle.

### B. Critères d'inclusion et d'exclusion

La définition des critères d'inclusion et d'exclusion est primordiale pour assurer l'intégrité de l'essai. Les critères d'inclusion doivent identifier un certain nombre de variables définissant spécifiquement la population à étudier (Tableau 2), notamment 1) la capacité des sujets à donner leur consentement éclairé, 2) leur capacité à se conformer au protocole, et 3) l'existence d'une pathologie suffisamment sévère pour démontrer l'effet statistiquement et cliniquement significatif de la thérapeutique. Des critères de diagnostic précis sont généralement définis pour s'assurer de l'homogénéité de l'état de la maladie dans la population sélectionnée, ce qui tend à augmenter le niveau de preuve.

Les critères d'exclusion permettent d'exclure, par exemple, 1) les sujets souffrant d'autres pathologies, les sujets qui risquent, pour différentes raisons, de ne pas se soumettre au protocole ou d'être perdus de vue, et 3) les sujets ayant démontré une hypersensibilité ou une intolérance à la thérapeutique proposée (Tableau 3).

Lors de la sélection des critères d'inclusion et d'exclusion, l'investigateur doit conserver à l'esprit le compromis inévitable entre la validité interne de l'essai et sa généralisation à la population atteinte de la maladie étudiée. Moins les critères d'inclusion et d'exclusion sont strictes, plus le recrutement est aisé et plus les résultats de l'étude pourront être généralisés à

**Tableau 2.** Critères d'inclusion d'un essai clinique

1. Les sujets sont capables de donner leur consentement éclairé.
2. Les sujets sont en mesure de respecter le protocole.
3. La gravité de l'affection permet de démontrer le bénéfice thérapeutique de manière significative aussi bien statistiquement que cliniquement.
4. Des critères de diagnostic précis sont définis pour assurer l'homogénéité pathologique de la population sélectionnée, ce qui tend à augmenter le niveau de preuve.
5. Les sujets sont capables de répondre au mécanisme d'action proposé de l'intervention à l'étude.

**Tableau 3.** Critères d'exclusion d'un essai clinique

1. Les sujets souffrent d'une autre pathologie susceptible d'interférer avec la réponse à la thérapeutique.
2. Les sujets ne respecteront probablement pas le protocole ou risquent d'être perdus de vue.
3. Les sujets ont une hypersensibilité ou une intolérance connue à la thérapeutique proposée.
4. Les sujets utilisent une thérapie concomitante qui a une incidence sur la fonction lacrymale ou l'intégrité de la surface oculaire.
5. Les sujets ont subi une chirurgie ou autre manipulation oculaire qui risque d'introduire un biais dans les critères d'évaluation ou d'interférer avec le mécanisme d'action de l'intervention à l'étude.

la population, mais l'hétérogénéité de l'état de la maladie chez les participants risque d'obscurcir les effets du traitement.

### C. Critères d'évaluation

Le critère d'évaluation choisi pour comparer les traitements doit être un événement clinique ou un critère de substitution. Le critère principal doit être sélectionné avant la date de début de recueil des données, puisque son taux d'occurrence a des répercussions sur plusieurs aspects de la conception de l'essai, notamment sa durée et la taille de l'échantillon. Bien que l'analyse post-hoc des critères d'évaluation soit parfois employée, les autorités de réglementation tendent à ne pas accepter de telles analyses, surtout dans les essais pivots. Il est toutefois licite dans la plupart des essais de recueillir et d'analyser les données en fonction de plusieurs critères d'évaluation secondaires. Ces données supplémentaires peuvent contribuer à l'évaluation globale des thérapeutiques à l'étude.

Les critères de substitution permettent de mesurer les critères cliniquement importants, mais difficiles à déterminer. Par exemple, pour évaluer la fréquence ou la durée de l'inconfort des participants au cours d'une journée, la mesure de la fréquence de l'instillation de gouttes de confort, peut être un critère de substitution subjectif et quantifiable. De même, la mesure de substitution objective de l'osmolarité du film lacrymal pourrait être la conductivité électrique d'un échantillon de larme. Une fois validés en tant que mesures pertinentes et fiables, les critères de substitution peuvent présenter un réel intérêt dans l'affection de l'œil sec ; la corrélation entre les signes et les symptômes étant faible, une preuve objective de modification des troubles est requise.

### D. Taille de l'échantillon, randomisation et analyse des données

La taille de l'échantillon d'un essai clinique doit être suffisante pour permettre l'analyse statistique sûre de l'hypothèse principale posée au départ. Un nombre suffisant de sujets offre également la possibilité d'établir des comparaisons statistiques entre les sous-groupes si cela s'avère souhaitable ou nécessaire pour clarifier la réponse thérapeutique. De la taille de l'échantillon dépend également la capacité de détecter des résultats significatifs aussi bien cliniquement que statistiquement. L'analyse statistique doit être adaptée à la taille, à la conception, aux critères d'évaluation et à la durée de l'essai. La possibilité de détecter une différence

donnée entre les traitements est directement proportionnelle à la taille de l'échantillon et indirectement proportionnelle au niveau alpha et à la variabilité. Le facteur clé est la sélection par les concepteurs de l'étude d'une différence cliniquement significative. A partir de là, ils peuvent déterminer le nombre de patients qui permettra de détecter une différence au moins équivalente à ce nombre.

En règle générale, la meilleure stratégie pour éviter le biais de sélection des traitements est le tirage au sort du groupe expérimental et du groupe de contrôle. Il existe plusieurs méthodes de randomisation, la plus répandue aujourd'hui étant la liste générée par ordinateur, qui peut être stratifiée plus avant par site et/ou par caractéristiques préalables existantes, telles que la sévérité de la maladie. Il convient d'enregistrer la description de la méthode de tirage au sort utilisée pour générer la répartition des traitements administrés. Cette description sera suffisamment détaillée pour qu'une personne puisse reproduire le calendrier d'administration des traitements, et la procédure d'affectation doit établir un suivi d'audit précis.

La nature du traitement reçu ne doit être connue ni du patient, ni du médecin, ni de la personne chargée de l'affectation des patients dans les groupes, tant que le patient n'a pas été officiellement sélectionné dans l'étude et inclus dans le tirage au sort. Il est préférable que l'essai soit mené en double insu jusqu'à la fin, et dans ce cas, l'affectation des patients dans un groupe ou dans un autre sera d'autant plus masquée tout au long de l'étude que la personne ou le groupe responsable des affectations sera externe au milieu hospitalier dans lequel l'étude est menée. Les investigateurs doivent également être conscients de la possibilité d'un biais de randomisation, notamment si l'échantillon est réduit, ce biais devant être contrôlé et évalué. Les caractéristiques fondamentales des groupes étudiés peuvent également varier du fait du hasard, et si ces différences sont importantes, elles peuvent influencer sur les comparaisons des traitements. La stratégie d'analyse des données de l'essai doit être définie et précisée à l'avance, et les méthodes d'analyse sélectionnées doivent être adaptées aux variables d'évaluation spécifiées.

L'analyse doit être réalisée selon le principe de « l'intention de traiter », c'est-à-dire que chaque sujet est inclus dans l'analyse dans le groupe que lui a attribué le tirage au sort, indépendamment du traitement effectivement reçu et de son observance du protocole (Tableau 4). Les bonnes pratiques cliniques stipulent que l'évaluation des patients qualifiés et les visites doivent être réalisées par la direction clinique (l'équipe organisationnelle, par exemple), avant le dévoilement de la répartition des traitements, de même que doivent être énoncés a priori dans le protocole et les méthodes d'analyse statistique la population principale concernée.

Il existe plusieurs méthodes statistiques pour la gestion des données manquantes, notamment la dernière observation

**Tableau 4.** Analyse des données: populations à analyser

1. Intention de traiter (ITT) : tous les sujets randomisés.
2. Intention de traiter modifiée (ITT) : tous les sujets randomisés qui ont reçu au moins une dose de médication
3. Sous traitement (PP) : tous les sujets randomisés qui ont terminé le traitement conformément au protocole

rapportée (**LOCF**, *last observation carried forward*) ou la substitution. L'idéal serait que les résultats soient concordants dans toutes les populations, en termes d'efficacité et de sécurité thérapeutiques, mais des différences peuvent apparaître, par exemple lorsque des sujets interrompent prématurément le traitement pour des raisons de sécurité ou d'absence de bénéfice. La permutation croisée des traitements, une mauvaise observance du protocole et les sujets perdus de vue pouvant mettre en jeu la validité des résultats, tout doit être fait pour assurer la conformité au protocole de l'essai et un suivi aussi complet que possible. Pour ce qui est des perdus de vue, des analyses basées sur plusieurs hypothèses causales peuvent être réalisées, de même que des analyses prenant en compte le traitement effectivement reçu et les différences d'adhésion au protocole, peuvent être réalisées dans un second temps. En aucun cas ce type d'analyse ne peut se substituer au principe fondamental d'intention de traiter.

De nombreux manuels de biostatistique présentent et expliquent les principales méthodes d'analyses des essais cliniques. Les analyses statistiques basées sur la comparaison de la proportion de patients dans chaque groupe ayant éprouvé l'évolution bénéfique escomptée sont généralement valides, pour autant que l'intensité du suivi est comparable dans les deux groupes de traitement, que le nombre de perdus de vue est limité et que les caractéristiques fondamentales des deux groupes sont comparables.

Le test exact de Fisher ou celui du Khi-2 peut être utilisé pour l'évaluation statistique de l'écart-type, sachant toutefois que la simple analyse de la proportion de patients ayant ressenti une amélioration ne tient pas compte de la durée du suivi. Ce facteur peut être important dans le cadre d'essais cliniques où les patients sont recrutés sur une longue période, puis suivis à diverses échéances, la durée du suivi variant d'un patient à un autre. Dans ce cas, les méthodes d'analyse avec table de survie offrent un moyen statistique de gérer les différentes durées du suivi. La stratification des sujets ou l'analyse multivariable permet de prendre en compte les différences au niveau des caractéristiques fondamentales. Les investigateurs doivent tenir compte du fait que la question de ce qui constitue une statistique significative est complexe, et ils doivent interpréter avec précaution les valeurs *P*, notamment parce que la majorité des essais fournissent des données relatives à plusieurs critères d'évaluation. Ces comparaisons statistiques ne peuvent pas être considérées indépendamment les unes des autres ; L'ajustement approprié suite à plusieurs comparaisons est impératif.

#### **E. Administration d'un essai clinique**

La réussite d'un essai clinique repose sur son organisation et son administration. Une structure organisationnelle est souhaitable dans le cas d'essais multicentriques à large population (la figure 1 illustre un exemple d'organigramme).

Pour éviter le haut risque d'erreurs ou de données manquantes, chaque étape de l'essai doit être préparée et les procédures standardisées consignées par écrit. Les annexes citées à la fin de ce chapitre sont accessibles sur le site : [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org). Un manuel de procédures doit être préparé (voir en annexe A les éléments de ce manuel).<sup>6-11</sup>

Les mesures à prendre pour l'assurance de la qualité

figurent dans les bonnes pratiques cliniques. L'annexe 2 présente le détail des directives à l'attention des promoteurs et des investigateurs ; celles-ci comprennent la conformité aux exigences réglementaires, notamment 1) le rôle du promoteur, 2) le rôle de l'investigateur, 3) le rôle du laboratoire d'investigation clinique et fonctionnelle, 4) la commission d'éthique ou de protection des personnes, 5) la Conférence internationale sur l'harmonisation, et 6) les directives réglementaires.<sup>12-30</sup> Le promoteur prépare une brochure pour l'investigateur décrivant le médicament testé (Annexe 3).<sup>31</sup> L'utilisation du produit médical sous investigation est détaillée (Annexe 4).<sup>32-36</sup> Les événements indésirables et les dispositions qui seront prises en cas de complication doivent être identifiés (Annexe 5).<sup>37-43</sup> L'investigateur soumettra la demande d'autorisation éthique au comité institutionnel désigné. Les données des essais cliniques doivent être disponibles à la fin de l'essai et de l'analyse des données.<sup>43</sup>

#### **IV. LIGNES DE CONDUITE DES ESSAIS CLINIQUES SUR LE SYNDROME DES YEUX SECS**

Les considérations générales sur les essais cliniques portant sur le syndrome des yeux secs incorporent les concepts clés présentés dans la section précédente. Les essais cliniques sur l'œil sec peuvent être prospectifs et menés en environnement normal ou en environnement défavorable. Il est souhaitable d'élaborer un protocole adapté aux mécanismes hypothétiques d'action du médicament ou de l'intervention à l'étude.

La conception d'un essai sur l'environnement doit incorporer les caractéristiques d'une étude prospective, randomisée, en double insu, avec placebo/véhicule contrôlé, telles que décrites plus haut. La durée de l'essai doit être suffisamment longue pour pouvoir démontrer l'efficacité et la sécurité de la thérapeutique.

Les critères d'inclusion et d'exclusion doivent identifier une population potentiellement sensible au traitement, sélectionnée de façon à éviter ou à minimiser la régression à la moyenne ou le biais d'observation. Cette démarche doit exclure : 1) la présence ou l'absence de toute maladie de la surface oculaire provoquant une sécheresse oculaire autre que l'affection pour laquelle le médicament est à l'étude ; 2) la présence ou l'absence d'une maladie systémique associée à l'œil sec autre que l'affection principale provoquant la sécheresse oculaire ; 3) l'utilisation de médicaments systémiques pouvant avoir une influence sur le film lacrymal, la sécrétion lacrymale ou la surface oculaire ; 4) l'utilisation concomitante ou préalable de médicaments topiques de l'œil susceptibles d'altérer l'effet du médicament évalué ; 5) les antécédents de chirurgie oculaire, y compris la chirurgie réfractive ou de la cornée et le tatouage de la paupière ; 6) la présence ou l'absence de maladie associée des glandes de Meibomius appropriée aux paramètres de l'essai ; et 7) la présence ou l'absence de port de lentilles de contact. Les patients utilisant régulièrement une thérapeutique lubrifiante qui n'interfère pas spécifiquement avec le mécanisme d'action du médicament ou de l'intervention testé peuvent à la rigueur être recrutés tout en poursuivant leur thérapie lubrifiante, mais celle-ci doit faire l'objet d'une surveillance.

La taille de l'échantillon doit permettre des analyses statistiques valides, ainsi que la comparaison statistique

## DEWS ESSAIS CLINIQUES

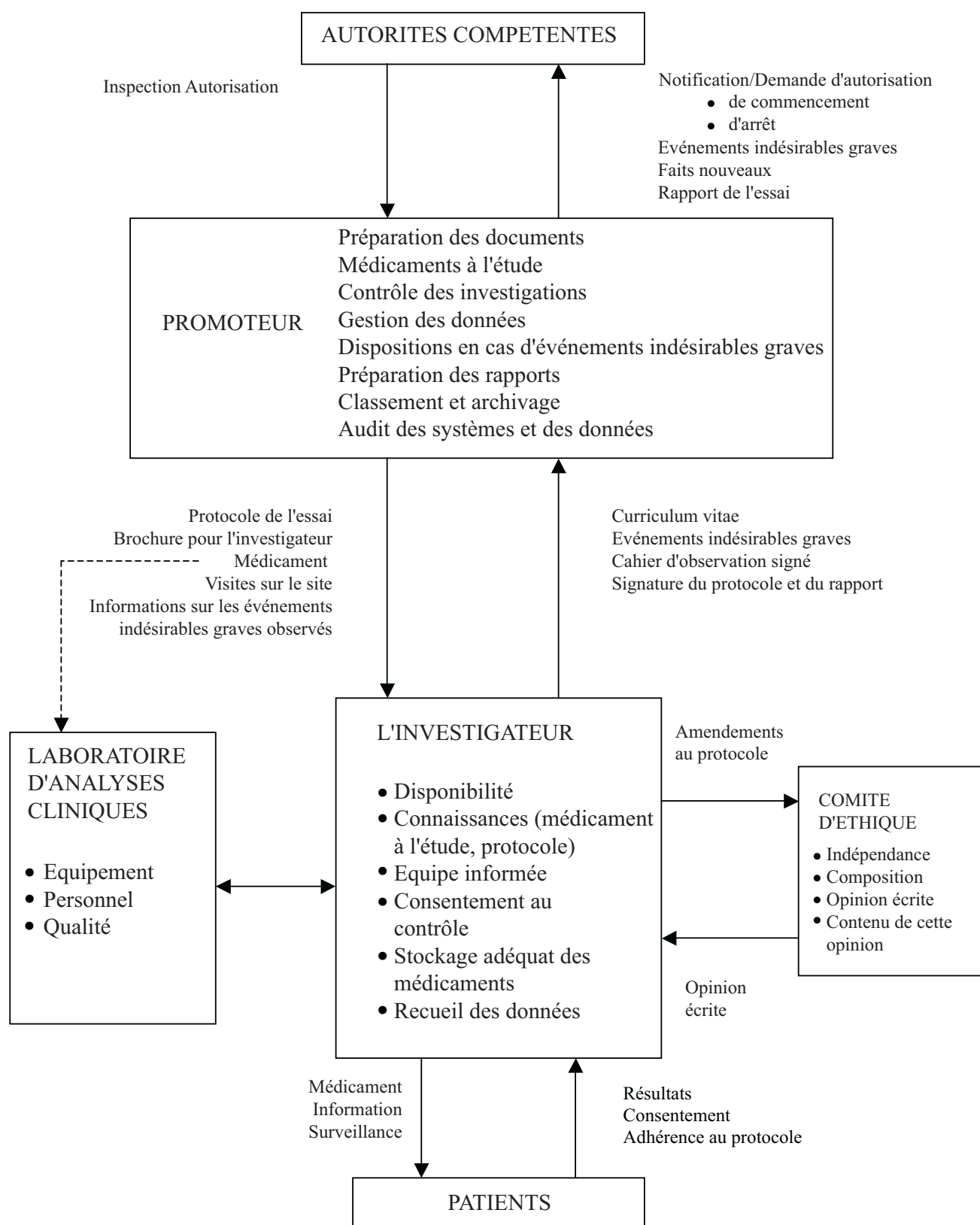


Figure 1. Organigramme de l'essai clinique. Reproduit avec l'autorisation de : Spriet A, Dupin-Spriet T. Clinical trials and quality (chapter 1), dans *Good practice of clinical drug trials*. Switzerland, Karger, 2005, ed 3, p 7.

de sous-groupes, au besoin. Elle doit fournir la puissance statistique qui étayera les conclusions de l'étude. Si les résultats sont comparables dans les deux groupes de traitement, la question de la puissance de l'étude à détecter une différence clinique significative doit être posée. On estime généralement la puissance minimale requise à 80 % (bêta). Les niveaux de gravité de la maladie doivent également être pris en compte et répartis uniformément dans les groupes pour ne pas introduire de biais susceptible de conclure à une réponse thérapeutique positive ou négative. Il convient de s'assurer que les sujets sont en mesure de respecter le protocole et de terminer l'essai.

Une conception de type CAE (Controlled adverse environment) permet de contrôler l'environnement et/ou les activités des sujets par l'introduction d'un stress exacerbant les signes et les symptômes cliniques de l'œil sec.<sup>44</sup> Ce type de test de provocation est particulièrement utile pour démontrer un effet pharmacologique dans un délai relativement court. L'humidité, la température et le flux d'air sont autant de variables environnementales contrôlables et manipulables, et les tâches visuelles permettent de surveiller le taux de clignement et la stabilité du film lacrymal. La conception de l'essai doit incorporer toutes les caractéristiques d'une étude prospective, randomisée, contrôlée, en insu (double si possible). L'adaptation possible du patient au stress environnemental doit être prise en compte dans l'analyse des données.<sup>45,46</sup> Si la population de patients est sélectionnée sur la base de la réponse naïve au stress environnemental, les résultats de l'essai sont plus difficiles à généraliser à toute la population atteinte de sécheresse oculaire.

## V. OBSERVATIONS EXPÉRIMENTALES SUR LE SYNDROME DE L'ŒIL SEC

### A. Particularités des essais cliniques sur l'œil sec

On observe un lien étroit entre les signes et les symptômes dans certains essais et pas dans d'autres. La majorité des essais thérapeutiques montrent une disparité entre les signes et les symptômes.<sup>47-76</sup> Dans ceux qui évaluent une thérapeutique topique pour l'œil sec, les conclusions présument une réponse prédominante au placebo ou au véhicule.<sup>1</sup> Bien que les effets placebo aient été observés dans de nombreux essais évaluant les symptômes, ceux-ci sont plus accentués dans les paramètres objectifs observés dans les essais cliniques sur l'œil sec. Cela peut s'expliquer partiellement par la régression à la moyenne. En effet, les essais cliniques antérieurs définissent les critères de sélection à un niveau minimum de sévérité qui, s'il permet de démontrer un effet mesurable, prédispose à la régression à la moyenne.

Outre l'effet humidifiant et lubrifiant de tout agent de contrôle appliqué localement pouvant améliorer les manifestations de l'œil sec, le simple fait de participer à un essai clinique améliore l'observance thérapeutique.<sup>3,5</sup> L'amélioration observée à la fois dans le groupe expérimental et dans le groupe de contrôle recevant un placebo après répartition aléatoire des sujets reflète probablement l'anticipation aussi bien du sujet que de l'observateur, et le souhait de l'effet bénéfique de toute thérapeutique. Ce phénomène peut influencer la réponse à l'un ou l'autre des traitements.

### B. Evaluation et paramètres d'évolution

La littérature révèle que le test de Schirmer, le temps de rupture du film lacrymal (TFBUT), les indices de coloration vitale et les symptômes d'inconfort sont les critères d'évaluation les plus répandus dans les essais cliniques sur l'œil sec. Une grande variété de marqueurs est également utilisée dans les essais selon la nature de la thérapeutique : larmes artificielles, anti-inflammatoires et secrétagogues. On observe que la durée des essais est relativement courte pour les essais sur les larmes artificielles (6 à 8 semaines) et un peu plus longue (8 à 12 semaines) pour les essais sur les agents anti-inflammatoires ou les secrétagogues, la durée du suivi variant de 3 à 12 mois.

Outre les critères d'évaluation mentionnés ci-dessus, les essais sur les agents anti-inflammatoires utilisent les examens et les marqueurs biologiques, y compris la cytologie par empreinte (nombre de cellules caliciformes, morphologie épithéliale, expression de HLA DR, CD3, 4, 8, 40, Apo2.7 et profils des cytokines). Les essais sur les secrétagogues évaluent l'osmolarité, ainsi que l'expression de MUC 1, 2, 4 et 5AC ARNm. Outre les critères d'évaluation mentionnés ci-dessus, les essais sur les dispositifs de rétention des larmes, tels que les lunettes et les bouchons ponctués, ont considéré le taux de clairance lacrymale, l'osmolarité du film lacrymal, l'indice de dynamique lacrymale (TFI) de même que la standardisation de la température et de l'humidité environnementales. Ces paramètres ont été utilisés pour évaluer les thérapeutiques suivantes : 1) larmes artificielles<sup>47-52</sup> ; 2) anti-inflammatoires, y compris corticoïdes<sup>53,54</sup> et cyclosporine<sup>55-61</sup> ; 3) sérum autologue<sup>62-66</sup> ; secrétagogues, y compris ceux pour la stimulation aqueuse<sup>67-72</sup> et mucinique<sup>73-78</sup> ; 4) dispositifs<sup>79-86</sup> ; et autres thérapeutiques diverses.<sup>87-88</sup>

### C. Recommandations pour les essais cliniques sur l'œil sec

Les critères d'inclusion dans un essai clinique sur l'œil sec doivent identifier, en fonction du mécanisme d'action du traitement ou de l'intervention proposé, une population potentiellement sensible sur laquelle l'efficacité du traitement ou de l'intervention pourra être démontrée. Les critères d'inclusion et d'exclusion doivent sélectionner une population spécifique en vue d'éviter ou de minimiser les biais et la régression à la moyenne. Les critères d'exclusion sont présentés en détail dans la section IV de ce chapitre.

Les protocoles élaborés spécifiquement autour des mécanismes d'action du médicament ou de l'intervention à l'étude sont les plus adaptés. Les critères d'évaluation sélectionnés doivent être cohérents avec ces mécanismes d'action. La sous-commission recommande vivement l'inclusion de marqueurs biologiques et/ou de marqueurs de substitution de l'état de l'affection dans les futurs essais, en tirant parti du développement technologique, mais reconnaît que la validation de ces marqueurs de substitution sera nécessaire. Par exemple, l'augmentation de l'osmolarité des larmes est un marqueur valide de l'œil sec, mais plusieurs méthodes de mesure de l'osmolarité sont possibles.

Les marqueurs de substitution peuvent être directs ou corrélatifs : les premiers sont dérivés des mêmes propriétés physiques ou chimiques que le marqueur principal, par ex. la conductivité des larmes comme mesure de leur osmolarité ; les seconds sont corrélatifs au marqueur principal, mais peuvent

également être produits par d'autres mécanismes, par ex. un niveau unique de cytokine inflammatoire comme marqueur d'inflammation.

Dans le syndrome de l'œil sec, l'environnement et les activités visuelles ayant une grande influence sur la variabilité d'un signe ou d'un symptôme, la mesure d'un marqueur de substitution fiable et durable de l'activité pathologique doit être considérée comme une mesure valide de l'efficacité de toute thérapeutique. Les critères d'évaluation doivent être précisément mesurables et reproductibles. Un test validé doit être utilisé pour mesurer le critère d'évaluation principal, qu'il s'agisse de mesurer les signes cliniques de la pathologie, les critères de substitution, les symptômes d'inconfort ou les troubles de la vision.<sup>89-96</sup> Le critère d'évaluation principal peut être un symptôme ou un signe, mais la réglementation en vigueur dans certains pays peut exiger les deux. Les symptômes doivent être mesurés à l'aide d'un système bien défini, tel que l'échelle visuelle analogique (VAS) ou l'échelle de Likert.<sup>2,97</sup>

En raison de l'importance de la réponse au placebo ou au véhicule dans les essais cliniques sur l'œil sec, la sous-commission a soumis plusieurs observations. Etant donné qu'il n'existe à l'heure actuelle aucun placebo sans effet lubrifiant, il convient de considérer un groupe de sujets ne recevant aucun traitement. Une telle conception présente des vertus, bien qu'elle puisse être soumise à des contraintes du comité institutionnel et bien que les patients tendent à utiliser des lubrifiants en vente libre qui peuvent limiter le niveau de preuve. En l'absence d'un tel protocole, la sous-commission recommande 1) un essai randomisé, en insu, où le début du traitement n'est connu ni de l'investigateur ni du sujet, ou 2) un essai avec période de sevrage, où tous les patients commencent par recevoir une médication active, puis sont répartis de manière aléatoire dans un groupe expérimental et dans un groupe de contrôle. Le principal avantage de cette conception est que tous les sujets reçoivent une médication active à un moment ou à un autre de l'essai, ce qui tend à augmenter le nombre de patients désireux de participer à l'essai.

La sous-commission recommande l'inclusion des critères suivants :

1. Mesure objective de la fonction visuelle (par ex. Acuité des fonctions visuelles) ;
2. Détermination du volume et de la production de larmes (par ex. test de Schirmer ou test de dilution à la fluorescéine) ;
3. Détermination de la stabilité du film lacrymal (par ex. TFBUT à la fluorescéine ou TFBUT non invasif, tel que vidéokératographie)<sup>96</sup> ;
4. Mesure de la composition des larmes (par ex. osmolarité, détermination du contenu protéique ou mesure des médiateurs inflammatoires dans les larmes) ;
5. Mesure de l'intégrité de la surface oculaire.

A l'heure actuelle, la méthode de détermination de l'intégrité de la surface oculaire par coloration à la fluorescéine et vert de lissamine ou rose bengale remporte un consensus (pour connaître les concentrations appropriées et les filtres à utiliser, voir le rapport de la sous-commission Méthodologie du diagnostic),<sup>98</sup> bien que les limites de cette méthode aient été documentées dans des essais cliniques antérieurs.<sup>58,69,76</sup> Un

système de graduation standardisé doit évaluer séparément la coloration de la cornée et celle de la conjonctive, et ces mesures doivent être enregistrées à la fois séparément et ensemble en vue de l'analyse (voir le rapport de la sous-commission Méthodologie du diagnostic).<sup>98</sup> Le système de graduation doit autoriser un ou deux points de coloration dans le quadrant nasal inférieur de la cornée car cela peut se produire chez les sujets sains.<sup>99-107</sup> De même, la coloration de la caroncule conjonctivale et du pli semi-lunaire ne doit pas être prise en compte car elle se produit chez la majorité des sujets sains.<sup>101</sup>

Les autres tests métrologiques pouvant être utilisés dans le contexte de certains protocoles incluent la cytologie par empreinte et la cytométrie du flux (voir les paramètres des méthodes appropriées et des procédures de coloration dans le rapport de la sous-commission Méthodologie du diagnostic).<sup>98</sup> Les avancées technologiques en matière de métrologie de la stabilité du film lacrymal, du volume du ménisque lacrymal, de la protection de la surface oculaire et de la perméabilité épithéliale permettront probablement dans l'avenir de mesurer plus précisément la fonction lacrymale et l'intégrité de la surface oculaire ; à l'heure actuelle en revanche, elles ne sont pas validées dans les essais cliniques.

L'analyse statistique d'une maladie multifactorielle présentant plusieurs paramètres cliniques d'anomalie du film lacrymal, d'altération de la surface oculaire et de déficience fonctionnelle peut aboutir à plusieurs indices de gravité de l'affection. Cette démarche a été utilisée dans l'évaluation des affections rhumatismales, avec le développement consensuel d'indices ACR (American Congress of Rheumatology) : ACR50 et ACR70, qui évaluent plusieurs descripteurs de la gravité de la maladie. L'évaluation de tels indices composites est insuffisante pour le syndrome de l'œil sec, et aucun indice validé n'est actuellement disponible. La commission considère que le développement et la validation de tels indices pour le syndrome de l'œil sec sont nécessaires, et devraient donner lieu à des délibérations futures.

L'évaluation des données de l'essai clinique repose sur une analyse statistique appropriée et soigneusement planifiée. La stratégie dépendra du critère principal d'évaluation sélectionné et sera choisie avant de commencer à recueillir les données. L'analyse primaire des données sera réalisée selon le principe général de l'intention de traiter.

## **VI. CONSIDÉRATION EN VUE DE FACILITER LES ESSAIS CLINIQUES MULTICENTRIQUES ET COLLABORATIFS AU NIVEAU INTERNATIONAL**

La sous-commission recommande le développement de critères d'essais internationaux. L'usage d'une terminologie commune est un aspect important de tels essais, qui nécessitera sans doute la traduction des termes dans les deux sens pour garantir la clarté et la précision. Toutes les connotations ou implications culturelles ou ethniques devront être levées dans la terminologie. L'interprétation des variables d'évaluation devra être uniforme, et les méthodes de mesure et d'enregistrement des données devront être standardisées. Il en est de même des procédures de test, qui devront utiliser des réactifs standardisés, des protocoles standardisés et enregistrer les résultats de manière cohérente. Le niveau de

qualification des observateurs et des personnes chargées du recueil des données, de même que le niveau de certification des investigateurs, des coordinateurs de la recherche et des techniciens. Tous les efforts doivent être faits pour réduire les biais relatifs aux caractéristiques propres aux populations (race, ethnicité, climat).

Ces annexes sont accessibles sur le site [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org):

- Annexe 1. *Outline of a manual of procedures*
- Annexe 2. *Guidelines for Good Clinical Practices*
- Annexe 3. *Writing the Investigator's Brochure for the tested drug*
- Annexe 4. *Using the investigational medicinal product*
- Annexe 5. *Adverse events and management issues*

## RÉFÉRENCES

(Parenthetical codes following some references indicate level of evidence according to the American Academy of Ophthalmology Preferred Practices guidelines.)

1. Foulks GN. Challenges and pitfalls in clinical trials of treatments for dry eye. *Ocul Surf* 2003;1:21-36
2. Chow SC, Liu J-P. Design and analysis of clinical trials: concept and methodologies. John C Wiley and Co, New York, 1998. pp5,6,180
3. Hrobjartsson A, Gotzsche PC. Is the placebo powerless? An analysis of clinical trials comparing placebo with no treatment. *N Engl J Med* 2001;345:1277-8
4. Wehrauch TR, Gauler TC. Placebo—efficacy and adverse effects in controlled clinical trials. *Arzneimittel-Forschung* 1999;49:385-93
5. Shapiro AK, Shapiro E. The powerful placebo. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1997, p149
6. Belorgey C, Demarez JP, Jaillon P, Giens XVII. Good clinical practice in clinical trials: training physicians, incentives to apply good clinical practice and assessment of compliance. *Therapie* 2002;57:339-46
7. Bohaychuk W, Ball G. *Conducting GDP-compliant clinical research*. Chichester, John Wiley and Sons: 1999
8. Bohaychuk W, Ball G. Standard operating procedures for clinical research personnel. *Quality Assurance J* Part 1, 1998;3:137-50. Part 2, 2000;4:31-46. Part 3, 2000;4:95-106. Part 4, 2000;4:151-68. Part 5, 2000;4:211-23. Part 6, 2001;5:37-47. Part 7, 2001;5:91-112. Part 8, 2001;5:163-73. Part 9, 2001;5:221-40. Part 10, 2002;6:23-32. Part 11, 2002;6:33-43. Part 12, 2002;6:103-11. Part 13, 2002;6:187-95. Part 14, 2002;6:235-44. Part 15, 2003;7:41-9. Part 16, 2003;7:100-12
9. Gerlis L. Sample standard operating procedures for good clinical practice. Richmond, PJB Publications, 1988
10. Spiet A, Dupin-Spriet T. Evaluation des thérapeutiques, in Herve P, Riffle G, Vuitton DA, et al (eds). *Transplantation d'organes et greffes de tissus*. Paris, INSERM, John Libbey, 1994;77-97
11. Spriet A, Dupin-Spriet T, Simon P. *Methodology of clinical drug trials*. Basel, Karger, 1994
12. DeAngelis C, Fontanarosa PB, Flanagan A. Reporting financial conflicts of interest and relationships between investigators and research sponsors. *JAMA* 2001;286:89-91
13. Decoster G, Wahl M. Insuring subjects in clinical trials: sponsors need to work through a regulatory maze. *Appl Clin Trials* 1998;7:30-6
14. Dupin-Spriet T, Spriet A. Des essais cliniques pour un dossier international. Quelles difficultés? *STP Pharma Pratiques* 1993;3:1-5
15. European Parliament and Council of the European Union. Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council of April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use. *Official Journal of the European Communities* L121/34-44/34-44.
16. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Explanatory note and comments to the ICH harmonized tripartite guideline E6: Note for Guidance on Good Clinical Practice (CPMP/ICH/135/95, CPMP/768/97. 8 September 1997
17. European Commission Enterprise Directorate-General. The rules governing medicinal products in the European Union. Volume 4, Good Manufacturing Practices, Annex 13, Manufacture of investigational medicinal products. July 2003
18. Horton R. Conflicts of interest in clinical research: opprobrium or obsession? *Lancet* 1997;349:1112-3
19. Hvidberg EF. Achieving investigator compliance. *Drug Information J* 1993;27:1107-10
20. Imada S. An update on good clinical practice legislation in Japan. *Quality Assurance J* 1998;3:37-42
21. Inoue K, Hasebe S. The quality assurance and quality control issue for sponsors on GCP compliance in Japan. *Quality Assurance J* 1999;3:65-9
22. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E3. Structure and content of clinical study report. November 1995
23. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E6. Note for guidance on good clinical practice. July 1996
24. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH topic E9. Statistical principles for clinical trials. February 1998
25. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic S4A. Note for guidance on duration of chronic toxicity in animals (rodent and non rodent toxicity testing). November 1998
26. European Agency for Evaluation of Medicinal Products. ICH topic M3(M). Note for guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. November 2000
27. Lacombe D. Insuring international clinical trials. An academic viewpoint. *Appl Clin Trials* 1998;7:24-9
28. Moses H, Martin JB. Academic relationships with industry. A model for biomedical research. *JAMA* 2001;285:933-5
29. US Code of Federal Regulations. Title 21: Food and Drugs. Part 50: Protection of human subjects. Part 56: Institutional review boards. Part 312: Investigational new drug application. April 2003
30. US Food and Drug Administration. Guidance for industry. Financial disclosure by clinical investigators. March 20, 2001
31. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E6. Good clinical practice consolidated guideline. Section 7: Investigator's brochure. July 1996
32. Dupin-Spriet T, Spriet A. Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments pour essai clinique, in *Medicament, Ethique et Réalité Industrielle. La réglementation pharmaceutique—Principes et philosophie*. Paris, Editions de Santé 1996
33. International Air Transport Association. IATA dangerous goods regulations 44th edition, 2003
34. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic Q1A (R2). Stability testing of new drug substances and products. August 2003
35. Lantz RJ Jr. Stability aspects of clinical supplies and scale-up studies. *Drug Development Industrial Pharmacy* 1984;10:1425-32
36. US Food and Drug Administration. Center for Drugs and Biologics. Office of Drug. Department of Health and Human Services. Guideline for submitting documentation for the stability of human drugs and biologics. Rockville, Food and Drug Administration, 1987
37. Begaud B, Evreux JC, Jouglard J, Lagier G. [Imputation of the unexpected or toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France]. *Therapie* 1985;40:111-8
38. European Commission Enterprise Directorate-General. Detailed guidance on the European database of suspected unexpected serious adverse reactions (Eudravigilance—clinical trial module). April 2003
39. European Commission Enterprise Directorate-General. Detailed guidance for the request for authorization of a clinical trial on a medicinal product for human use to the competent authorities, notification of substantial amendments and declaration of the end of the trial. April 2003
40. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E2A. Clinical safety data management: definitions and standards for expedited reporting: availability, notice. November 1994
41. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E2B (M). Maintenance of the ICH guideline on clinical safety data management: data elements for transmission of individual case safety reports. February 2001.
42. Karch FE, Lasagna L. Toward the operational identification of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1977;21:247-54
43. US Code of federal regulations title 21, volume 5. Part 312 Investigational New Drug application. Subpart B Section 312.32 IND safety reports.
44. Ousler G, Gomes PJ, Welch D, Abelson MB. Methodologies for the study of ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005;3:143-54

45. Ousler GW 3rd, Abelson MB, Nally LA, et al: Evaluation of time to 'natural compensation' in normal and dry eye subject populations during exposure to a controlled adverse environment. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1057-63
46. Abelson MB, Ousler GW3rd, Nally LA, et al: Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1121-5
47. Lopez Bernal D, Ubels JL. Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: effect of artificial tears and preservatives. *Curr Eye Res* 1991;10:645-56 (LA1)
48. Lopez Bernal D, Ubels JL. Artificial tear composition and promotion of recovery of the damaged corneal epithelium. *Cornea* 1993;12:115-20 (LA1)
49. Gilbard JP, Farris RL. Tear osmolarity and ocular surface disease in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1642-6 (LA1)
50. Christensen MT, Cohen S, Rinehart J, et al. Clinical evaluation of an HP-guar gellable lubricant eye drop for the relief of dryness of the eye. *Curr Eye Res* 2004;28:55-62 (LA1)
51. Sand BB, Mamer K, Norn MS. Sodium hyaluronate in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. A double masked clinical trial. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989;67:181-3 (LA1)
52. Nelson JD, Farris RL. Sodium hyaluronate and polyvinyl alcohol artificial tear preparations. A comparison in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1988;106:484-7 (LA1)
53. Pflugfelder SC, Maskin SL, Anderson B, et al. A randomized, double-masked, placebo-controlled, multicenter comparison of loteprednol etabonate ophthalmic suspension, 0.5%, and placebo for treatment of keratoconjunctivitis sicca in patients with delayed tear clearance. *Am J Ophthalmol* 2004;138:444-57 (LA1)
54. Avunduk AM, Avunduk MC, Varnell ED, Kaufman HE. The comparison of efficacies of topical corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory drops on dry eye patients: a clinical and immunocytochemical study. *Am J Ophthalmol* 2003;136:593-602 (LA1)
55. Gunduz K, Ozdemir O. Topical cyclosporin treatment of keratoconjunctivitis sicca in secondary Sjogren's syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1994;72:438-42 (LA1)
56. Laibovitz RA, Solch S, Andriano K, et al. Pilot trial of cyclosporine 1% ophthalmic ointment in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 1993;12:315-23 (LA1)
57. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The Cyclosporin A Phase 2 Study Group. *Ophthalmology* 2000;107:967-74 (LA1)
58. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology* 2000;107:631-9 (LA1)
59. Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120:330-7 (LA1)
60. Brignole F, Pisella PJ, De Saint Jean M, et al. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90-5 (LA1)
61. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, et al. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1489-96 (LA1)
62. Poon AC, Geerling G, Dart JK, et al. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1188-97 (LB2)
63. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, et al. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea* 2001;20:802-6 (LA2)
64. Kojima T, Ishida R, Dogru M, et al. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol* 2005;139:242-6 (LA1)
65. Noble BA, Loh RS, MacLennan S, et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004;88:647-52 (LA1)
66. Tsubota K, Goto E, Fujita H, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999;83:390-5 (LB2)
67. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG, Dart DA. Stimulation of tear secretion by topical agents that increase cyclic nucleotide levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:1381-8 (LA1)
68. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG, Dart DA. Stimulation of tear secretion and treatment of dry-eye disease with 3-isobutyl-1-methylxanthine. *Arch Ophthalmol* 1991;109:67;2-6 (LA1)
69. Tauber J, Davitt WF, Bokosky JE, et al. Double-masked, placebo-controlled safety and efficacy trial of diquafosol tetrasodium (INS365) ophthalmic solution for the treatment of dry eye. *Cornea* 2004;23:784-92 (LA1)
70. Mundasad MV, Novack GD, Allgood VE, et al. Ocular safety of INS365 ophthalmic solution: a P2Y(2) agonist in healthy subjects. *J Ocul Pharmacol Ther* 2001;17:173-9
71. Yerxa BR, Mundasad M, Sylvester RN, et al. Ocular safety of INS365 ophthalmic solution, a P2Y2 agonist, in patients with mild to moderate dry eye disease. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1251-7 (LB2)
72. Fujihara T, Murakami T, Fujita H, et al. Improvement of corneal barrier function by the P2Y(2) agonist INS365 in a rat dry eye model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:96-100
73. Fujihara T, Murakami T, Nagano T, et al. INS365 suppresses loss of corneal epithelial integrity by secretion of mucin-like glycoprotein in a rabbit short-term dry eye model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2002;18:363-70
74. Yerxa BR, Douglass JG, Elena PP, et al. Potency and duration of action of synthetic P2Y2 receptor agonists on Schirmer scores in rabbits. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):261-5
75. Nakamura M, Endo K, Nakata K, Hamano T. Gefarnate stimulates secretion of mucin-like glycoproteins by corneal epithelium in vitro and protects corneal epithelium from desiccation in vivo. *Exp Eye Res* 1997;65:569-74 (LA1)
76. Hamano T. Dry eye treatment with eye drops that stimulate mucin production. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:965-8 (LA2)
77. Jumbblatt JE, Cunningham LT, Li Y, Jumbblatt MM. Characterization of human ocular mucin secretion mediated by 15(S)-HETE. *Cornea* 2002;21:818-24 (LA1)
78. Jackson RS 2nd, Van Dyken SJ, McCartney MD, Ubels JL. The eicosanoid, 15-(S)-HETE, stimulates secretion of mucin-like glycoprotein by the corneal epithelium. *Cornea* 2001;20:516-21 (LA1)
79. Tuberville AW, Frederick WR, Wood TO. Punctal occlusion in tear deficiency syndromes. *Ophthalmology* 1982;89:1170-2 (LA1)
80. Willis RM, Folberg R, Krachmer JH, Holland EJ. The treatment of aqueous-deficient dry eye with removable punctal plugs. A clinical and impression-cytologic study. *Ophthalmology* 1987;94:514-8 (LA1)
81. Yen MT, Pflugfelder SC, Feuer WJ. The effect of punctal occlusion on tear production, tear clearance, and ocular surface sensation in normal subjects. *Am J Ophthalmol* 2001;131:314-23 (LA1)
82. Balaran M, Schaumberg DA, Dana MR. Efficacy and tolerability outcomes after punctal occlusion with silicone plugs in dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2001;131:30-6 (LA1)
83. Tsubota K, Yamada M, Urayama K. Spectacle side panels and moist inserts for the treatment of dry-eye patients. *Cornea* 1994;13:197-201 (LA2)
84. Tsubota K. The effect of wearing spectacles on the humidity of the eye. *Am J Ophthalmol* 1989;108:92-3 (LA2)
85. Gresset J, Simonet P, Gordon D. Combination of a side shield with an ocular moisture chamber. *Am J Optom Physiol Opt* 1984;61:610-2 (LA2)
86. Korb DR, Greiner JV, Glonek T, et al. Effect of periorcular humidity on the tear film lipid layer. *Cornea* 1996;15:129-34 (LA2)
87. Sommer A. Treatment of corneal xerophthalmia with topical retinoic acid. *Am J Ophthalmol* 1983;95:349-52 (LA1)
88. Nelson JD, Gordon JF. Topical fibronectin in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. Chiron Keratoconjunctivitis Sicca Study Group. *Am J Ophthalmol* 1992;114:441-7 (LA1)
89. Begley CG, Chalmers RL, Abetz L, et al. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4753-61 (LA1)
90. Begley CG, Caffery B, Chalmers RL, Mitchell GL. Dry Eye Investigation (DREI) Study Group. Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye. *Cornea* 2002;21:664-70 (LA1)
91. Nichols KK, Begley CG, Caffery B, Jones LA. Symptoms of ocular irritation in patients diagnosed with dry eye. *Optom Vis Sci* 1999;76:838-44 (LA1)
92. Schein OD, Tielsch JM, Munoz B, et al. Relation between signs and symptoms of dry eye in the elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology* 1997;104:1395-401 (LA1)
93. Bjerrum KB. Test and symptoms in keratoconjunctivitis sicca and their correlation. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;74:436-41 (LA1)
94. Bowman SJ, Booth DA, Platts RG, et al; UK Sjogren's Interest Group. Validation of the Sicca Symptoms Inventory for clinical studies of Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2003;30:1259-66 (LA1)
95. Nichols KK. Patient-reported symptoms in dry eye disease. *Ocul Surf* 2006;4:137-145
96. de Paiva CS, Lindsey JL, Pflugfelder SC. Assessing the severity of keratitis sicca with videokeratographic indices. *Ophthalmology* 2003;110:1102-9

## DEWS ESSAIS CLINIQUES

### (LA1)

97. [www.socialresearchmethods.net/kb/scallik.htm](http://www.socialresearchmethods.net/kb/scallik.htm) (Accessed July 24, 2006).
98. (No authors listed). Methodologies to diagnose and monitor dry eye: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:108-152
99. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003;22:640-50
100. Norn MS: Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol* 1972;Supp 113:3-66
101. Norn MS. Lissamine green vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol* 1973;51:483-91
102. Norn MS. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Kbh)* 1962;40:389-401
103. Norn MS. *External eye: methods of evaluation*. Copenhagen, Scriptor, 1974:51-5
104. Korb DR, Korb JM: Corneal staining prior to contact lens wearing. *J Am Optom Assn* 1970;41:228-32
105. Schwallie JD, McKenney CD, Long WD, McNeil A. Corneal staining patterns in normal non-contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 1997;74:92-8
106. Josephson JE, Caffery BE. Corneal staining characteristics after sequential instillations of fluorescein. *Optom Vis Sci* 1992;69:570-3
107. Caffery BE, Josephson JE. Corneal staining after sequential instillation of fluorescein over 30 days. *Optom Vis Sci* 1991;68:881-9.