

Microscopía confocal en oftalmología

Informe de síntesis de tecnología
emergente

Confocal microscopy in
ophthalmology. *Executive summary*

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA 2007/02-I

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACIÓN



Instituto
de Salud
Carlos III

Ministerio de Ciencia e Innovación

AIE
Agencia de Evaluación
de Tecnologías Sanitarias



MINISTERIO
DE SANIDAD
Y POLÍTICA SOCIAL

Plan de Calidad
para el Sistema Nacional
de Salud



JUNTA DE ANDALUCÍA
CONSEJERÍA DE SALUD



Impreso en cartulina FSC y papel fabricado con pasta libre de madera

Microscopía confocal en oftalmología

Informe de síntesis de
tecnología emergente

Confocal microscopy in
ophthalmology. *Executive
summary*

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA 2007/02-I

Cuadros Celorrio, Marta

Microscopía confocal en oftalmología. Informe de síntesis de tecnología emergente. Román Villegas Portero, Aurora Llanos Méndez- Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, 2010.

35 p; 24 cm. (Colección: Informes, estudios e investigación. Ministerio de Sanidad y Política Social. Serie: Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias)

1. Microscopía confocal 2. Técnicas de diagnóstico oftalmológico 3 Oftalmopatías / diagnóstico I. Villegas Portero, Román II. Llanos Méndez, Aurora III. Andalucía. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias IV. España. Ministerio de Sanidad y Política Social. V. España. Ministerio de Ciencia e Innovación

Autores: Marta Cuadros Celorrio, Román Villegas Portero, Aurora Llanos Méndez

Este documento se ha realizado en el marco de colaboración previsto en el Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud, al amparo del convenio de colaboración suscrito por el Instituto de Salud Carlos III, organismo autónomo del Ministerio de Ciencia e Innovación, y la Fundación Progreso y Salud de Andalucía

Edita: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía
Avda. de la Innovación s/n
Edificio RENTA SEVILLA - 2ª PLANTA
41020 Sevilla
España – Spain

ISBN: 978-84-96990-48-7

NIPO: 477-10-019-9

Depósito Legal: SE-5344-2010

Imprime: Gandulfo impresores, Sevilla.

Este documento puede ser reproducido en todo o en parte, por cualquier medio, siempre que se cite explícitamente su procedencia.

Microscopía confocal en oftalmología

Informe de síntesis de
tecnología emergente

Confocal microscopy in ophthalmology.
Executive summary



MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACION



Ministerio de Ciencia e Innovación

AIE Agencia de Evaluación
Instituto
de Salud
Carlos III
IIS de Tecnologías Sanitarias



MINISTERIO
DE SANIDAD
Y POLÍTICA SOCIAL

Plan de **Calidad**
para el Sistema Nacional
de Salud



Conflicto de Interés

Los autores declaran que no tienen intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Índice

Índice de Tablas y Figuras	7
Resumen ejecutivo	9
Executive summary	11
Introducción	13
Objetivos	17
Material y Métodos	19
Resultados	21
Discusión	33
Referencias	35

Índice de Tablas y Figuras

Tabla 1. Trabajos eliminados tras la lectura a texto completo	21
Tabla 2. Resumen de los estudios que usaban la microscopía confocal para un análisis cuantitativo de la córnea, capa por capa	23
Tabla 3. Descripción de los estudios incluidos	25
Tabla 4. Resultados de los estudios incluidos	29
Figura 1. Resultados de la estrategia de búsqueda	22

Resumen ejecutivo

Título: Microscopía confocal en oftalmología. Informe de síntesis de tecnología emergente..

Autores: Marta Cuadros Celorrio, Román Villegas Portero, Aurora Llanos Méndez.

Introducción. La microscopía confocal es un método diagnóstico no invasivo que permite obtener secciones ópticas del ojo, que proporcionan un estudio tridimensional de gran nitidez y contraste, así como de una mayor resolución vertical y horizontal. De este modo, se mejora sustancialmente las técnicas clásicas de microscopía óptica, resultando de gran interés para la oftalmología y más concretamente para el examen no invasivo de la córnea.

Objetivo. El propósito de este estudio fue valorar la eficacia de la microscopía confocal en el diagnóstico de enfermedades corneales, debido a su introducción reciente como técnica de exploración de la córnea.

Material y métodos. Se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura usando las bases de datos referenciales Current and Contents, Embase, Medline, Tripdatabase, Doyma e Índice Médico Español (IME). Además se consultaron TESEO, Tesis Doctorales en Red (TDR), Centre for Reviews and Dissemination (CRD), Cochrane Library, la Agencia Europea del Medicamento y la Food and Drug Administration (FDA). Se realizó la lectura crítica de los artículos seleccionados para valorar la calidad de los mismos.

Resultados. En una búsqueda inicial se identificó una revisión sistemática sobre el uso de la microscopía confocal en el estudio de la córnea. Tras su lectura exhaustiva y evaluada la calidad científica y metodológica de la misma, se decidió realizar una actualización de dicha revisión, estableciendo el límite temporal de búsqueda a partir de junio de 2006 (fecha de la búsqueda de la revisión sistemática). Se localizaron 553 registros. Tras eliminar los duplicados y los publicados antes de junio de 2006, se consideró la elegibilidad de 143 documentos. La selección sobre título y resumen descartó 125 estudios, leyéndose a texto completo 18 artículos. Como resultado, se excluyeron 13 documentos. Los 5 incluidos en este informe fueron considerados de buena calidad metodológica. Sólo un trabajo mostró discordancia entre las mediciones realizadas con microscopía confocal (método automático) y la especular. Los otros 4 artículos reflejaron una buena relación entre las técnicas de medida: microscopía confocal versus paquimetría por

ultrasonidos, microscopía especular o cultivo. Tres estudios mostraron la utilidad del microscopio confocal para observar y analizar el espesor de la córnea y la densidad corneal y un trabajo reflejó el valor de la microscopía confocal para el diagnóstico de infecciones corneales.

Conclusiones. La evidencia científica disponible fue escasa y heterogénea, no pudiendo recuperar resultados basados en evidencia científica suficiente para realizar recomendaciones. Sin embargo, la microscopía confocal podría ser una herramienta útil en el estudio de la córnea en el contexto de la evaluación clínica y de los diferentes medios diagnósticos morfológicos y funcionales que disponemos en la actualidad.

Executive summary

Title: Confocal microscopy in ophthalmology: Report summary of emergent technology.

Authors: Marta Cuadros Celorrio, Román Villegas Portero, Aurora Llanos Méndez

Introduction. Confocal microscopy is a non-invasive diagnostic method that enables optical sections of the eye to be obtained, with the possibility of making a very sharp, high contrast three-dimensional study, with greater vertical and horizontal resolution. This would substantially improve the classic techniques of optical microscopy, and be of great interest for ophthalmology and, more specifically, for the non-invasive examination of the cornea.

Objective. The intention of this study was to assess the effectiveness of confocal microscopy in the diagnosis of corneal diseases, due to its recent introduction as a technique of exploration of the cornea.

Materials and methods. A systematic review of the literature was carried out using the reference databases Current Contents, Embase, Medline, TRIP database and Índice Médico Español (IME). In addition TESEO, Tesis Doctorales en Red (TDR - Online Doctoral Theses), Centre for Reviews and Dissemination (CRD), Cochrane Library, the European Medicines Agency (EMA) and the Food and Drug Administration (FDA) were consulted. The selected articles were studied to assess their quality.

Results. An initial search located 553 records, and found a systematic review on the use of confocal microscopy in the study of the cornea. After an exhaustive reading of this review and the assessment of its scientific and methodological quality, it was decided to update of review, limiting the search date parameters from June 2006 (date of the search of the systematic review) to March 2008. After eliminating duplicates and those published before June 2006, the eligibility of 143 documents was considered. Selection, based on title and summary, discarded 125 studies, leaving 18 articles that had their full text read. As a result, 13 documents were excluded. The five included in this report were considered to have had good methodological quality. Three studies showed the usefulness of confocal microscope in observing and analysing corneal thickness and density, and one work reflected the value of confocal microscopy for the diagnosis of corneal infections. Only one work showed discrepancy between the measurements made with confo-

cal (automatic method) and specular microscopy. The other four articles reported a good relationship between the measurement techniques: confocal microscopy versus pachymetry by ultrasound, specular microscopy or culture.

Conclusions. The scientific evidence available was scarce and heterogeneous. Nevertheless confocal microscopy could be a useful tool in the study of the cornea in the contexts of clinical assessment and the different morphological and functional diagnostic methods currently available.

Introducción

Definición

La microscopía confocal es un método diagnóstico no invasivo que se encuentra englobado dentro de la microscopía óptica, concretamente de la microscopía de fluorescencia. El principio de la microscopía confocal se basa en la eliminación de la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera del foco. Para ello se ilumina una pequeña zona de la muestra a estudio y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces procedentes de los planos inferiores y superiores (1).

Un microscopio confocal es básicamente un microscopio óptico que incluye una fuente de luz láser y un sistema electrónico que ayuda a la captación de imágenes. Gracias a ello se consigue, por un lado, un aumento en la resolución y por otro, la obtención de imágenes de secciones ópticas extremadamente finas, eliminando así la interferencia que produce la luz que llega de los diferentes campos ópticos de todo el grosor de la muestra a estudio, consiguiendo así que el enfoque se realice sobre un único plano (confocal). Por ello y debido a que las imágenes obtenidas son imágenes digitales, se pueden obtener aumentos superiores a la microscopía óptica (2).

El tipo de muestra que se puede analizar con un microscopio confocal es muy variado. Los más usuales son cortes de tejidos animales y vegetales, células en cultivo y superficie de metales. En cambio, en el campo de la oftalmología la exploración se realiza directamente sobre el ojo (3), existiendo un contacto mínimo con la córnea.

Componentes de un microscopio confocal

Los principales componentes de un microscopio confocal son (4):

1) Láser, como fuente luminosa temporal, que focaliza el haz de luz en un solo punto de la muestra, de modo que barre la muestra plano a plano, creando multitud de imágenes bidimensionales que un ordenador interpreta, generando finalmente una imagen tridimensional del objeto a estudio.

2) Diafragmas que limitan la accesibilidad del haz. Se encuentran situados antes y después de la lente, permitiendo enfocar la iluminación en un único punto.

- Un diafragma de iluminación localizado tras la fuente luminosa denominado “pinhole de excitación”, cuya utilidad es eliminar la luz proveniente

de planos superiores e inferiores al plano focal, aumentando con ello la claridad y resolución de la imagen.

- Un diafragma de detección, de tamaño variable situado entre la lente y el fotodetector, denominado “*pinhole* de emisión”.

3) Software que permite mejorar la calidad de la imagen por disminución de la sensibilidad de los fotodetectores a intensidades bajas de fluorescencia, con lo que se reduce el ruido de fondo.

Algunos factores, como la apertura variable del *pinhole*, la precisión, número y velocidad del barrido pueden influir en la obtención de una buena imagen (5).

Tipos de microscopios confocales

Actualmente existen dos microscopios confocales disponibles en el mercado con un único punto de iluminación que requieren un sistema de barrido del ojo a estudio (6;7):

- *Slit Scanning Confocal Microscope* (SSCM). Se emplea un haz de láser fijo y la preparación se rastrea mediante la utilización de una platina motorizada en el microscopio.
- *Laser Scanning Confocal Microscope* (LSCM). En este caso el barrido se realiza moviendo el haz de láser, gracias a unos espejos galvanométricos que permiten modificar el punto de incidencia del haz de láser en el ojo.

Los SSCM disponibles comercialmente en este momento son: ConfoScan P4 (Tomey Corporation, Cambridge, MA, USA), ConfoScan 4 (Nidek Technologies, Gamagori, Japón) y Microphthal (Helmut Hund, Wetzlar, Alemania) mientras que sólo hay un LSCM, el Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Corneal Module (RCM) (Heidelberg Engineering, GmbH, Alemania).

Además, existen otros sistemas de multi-haz, que incluyen: *Disc Scanning Confocal Microscope* (DSCM) y el *Tandem Scanning Confocal Microscope* (TSCM). En estos casos el *pinhole* de detección es sustituido por un disco giratorio con cientos de aperturas agrupadas en pares (disco de nipkow), lo que permite barrer la muestra con múltiples puntos de luz simultáneamente.

La precisión en la medida del espesor de la córnea está limitada por su movimiento durante la exploración. El contacto entre la córnea y las lentes del objetivo del *Tandem Scanning* estabiliza la córnea para que las diferencias en medidas consecutivas sean inferiores a 25 μm , aunque se han observado variaciones mayores (8;9). Otros microscopios, como el ConfoScan (z-CS4), han introducido sistemas para reducir el movimiento entre la córnea y el objetivo.

Aplicación en oftalmología

El uso clínico de la microscopía confocal es relativamente reciente (10) y está aún por generalizarse, aunque se ha utilizado con frecuencia a la hora de tomar decisiones sobre la cirugía de cataratas, en pacientes con distrofias corneales o para analizar la viabilidad de las córneas donantes para la queratoplastia. En resumen, su uso potencial podría extenderse a la evaluación general de la córnea.

Tecnologías alternativas

Para la evaluación corneal existen numerosos instrumentos que difieren entre sí en la técnica que emplean (11):

1. Paquimetría (ópticos o por ultrasonidos). Determina el espesor corneal, el cual es un indicador de la fisiología endotelial. La paquimetría por ultrasonidos es el método de elección en la actualidad para medir el grosor de la córnea (12).
2. Biomicroscopía con lámpara de hendidura. Evalúa de un modo semicuantitativo el espesor corneal, la profundidad de la cámara anterior, detalles de alteraciones en las diversas capas de la córnea, estado de la película lagrimal, etc.
3. Microscopía especular. Permite la visualización del mosaico endotelial corneal, así como el recuento endotelial por área de superficie y determinar si existe algún cambio en la forma o tamaño de las células endoteliales.

Estos tres tipos de dispositivos fueron los métodos comparativos más empleados en los estudios encontrados en la bibliografía consultada. No obstante, para el estudio de la córnea pueden también emplearse:

1. Instrumentos de simple magnificación, como lupas o lentes condensantes (como en el oftalmoscopio indirecto) y linternas de mano.
2. Queratometría. Determina la curvatura corneal promedio de una zona a 3 mm de la córnea central. Generalmente se obtienen 2 cantidades, que son las correspondientes al meridiano horizontal y vertical de la córnea evaluada. Los resultados se expresan en milímetros de radio de curvatura o en dioptrías.
3. Topografía corneal computarizada. Evalúa la superficie corneal completa de manera computarizada, obteniéndose mapas a color de las diferentes zonas de la córnea con su respectiva curvatura. Es útil para descartar enfermedades que alteran la forma corneal (queratocono, degeneración marginal de Terrien, etc.), en la determinación de los diversos tipos de as-

tigmatismo, en el estudio pre y post-quirúrgico de la cirugía de miopía y/o astigmatismo y en la evolución post-quirúrgica de pacientes sometidos a cirugía de cataratas y trasplante de córnea.

Objetivos

Los objetivos generales de los informes de síntesis de tecnologías emergentes son:

- Detectar precozmente nuevas tecnologías o cambios en las existentes con impacto potencial sobre el Sistema Sanitario.
- Sintetizar la información disponible sobre las tecnologías detectadas.

Los objetivos específicos se centran en valorar la eficacia de la microscopía confocal en el diagnóstico de enfermedades corneales.

Material y Métodos

Tipo de estudio

Revisión sistemática de la literatura. La metodología se basa en una búsqueda estructurada en bases prefijadas, lectura crítica de la literatura localizada, síntesis de los resultados y valoración de los mismos en relación al contexto del Sistema Sanitario Público Español.

Búsqueda bibliográfica

La búsqueda se centra en localizar informes de evaluación, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos aleatorizados, estudios de cohortes y estudios de pruebas diagnósticas.

Estrategia de búsqueda. Se diseñaron estrategias de búsquedas (Anexo 1) para las siguientes bases de datos referenciales [sin límite de inicio hasta marzo de 2008]: Current and Contents, Embase, MedLine, Tripdatabase, Doyma e Índice Médico Español (IME). Asimismo, se consultaron bases de datos de tesis doctorales, tales como TESEO del Ministerio de Educación y Ciencia y Tesis Doctorales en Red (TDR) Además, se examinaron Centre for Reviews and Dissemination (CRD) y Cochrane Library para localizar informes de evaluación y revisiones sistemáticas así como la Agencia Europea del Medicamento (EMEA) y la *Food and Drug Administration* (FDA).

Criterios de inclusión/exclusión

Para la selección de los estudios se definieron los siguientes criterios de inclusión:

- **Población:** pacientes oftalmológicos.
- **Intervención:** estudio de la córnea mediante microscopía confocal.
- **Comparación:** otra técnica de evaluación de la córnea.
- **Resultados:** sensibilidad, especificidad, límite de detección, validez, fiabilidad y reproducibilidad.
- **Idioma:** español e inglés.

Asimismo, se eliminaron: series de casos, revisiones narrativas, trabajos con menos de 15 participantes estudiados, trabajos con animales, estudios “*in vitro*”, protocolos, encuestas, cartas al editor, comentarios y comunicaciones a congresos.

Lectura crítica

Se evaluó la calidad metodológica de los artículos seleccionados en base a los criterios CASPe para pruebas diagnósticas (Critical Appraisal Skills Programme Español).

Resultados

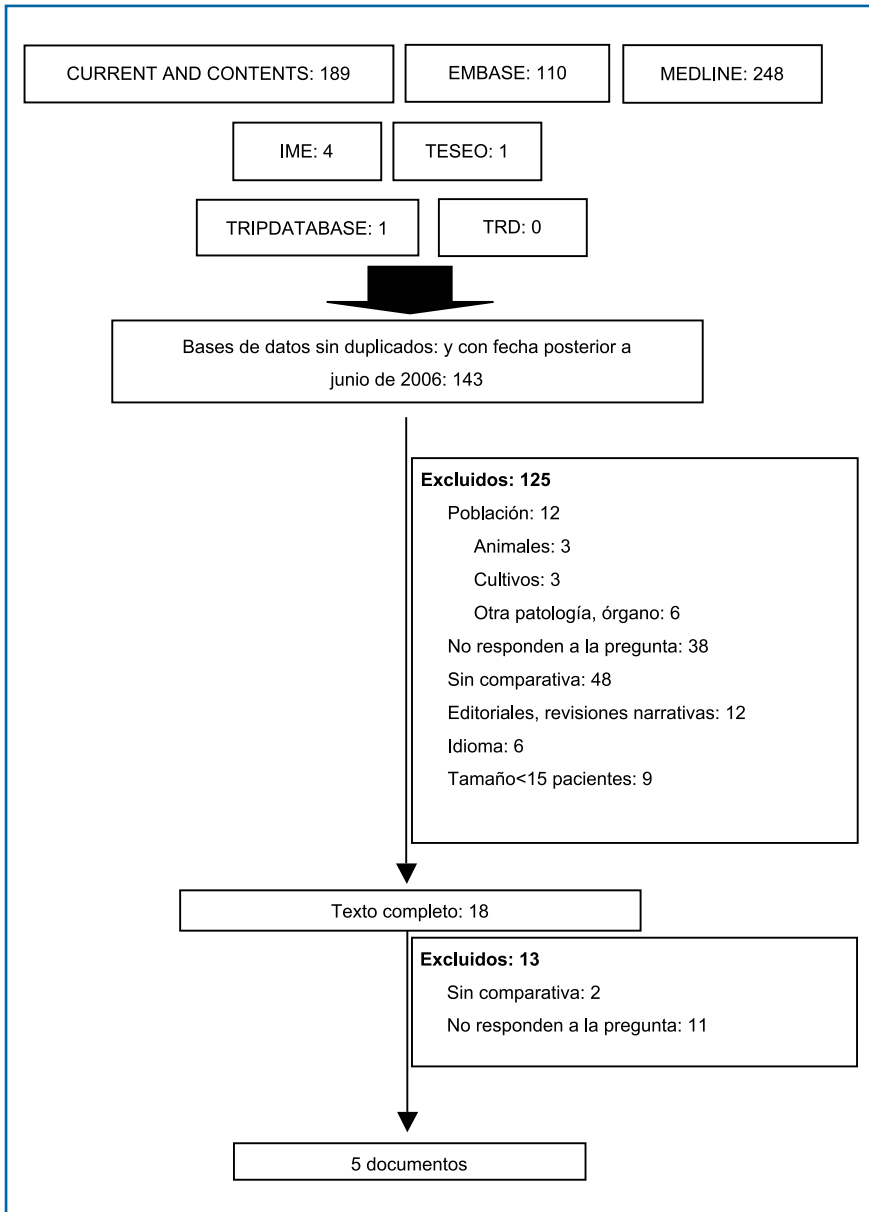
Resultado de la búsqueda

En una búsqueda inicial, se localizó un trabajo que pretendía proporcionar una visión amplia de cómo la microscopía confocal ha contribuido al conocimiento de la córnea(5). Consideramos, según la escala CASPe, que la metodología de trabajo de esta revisión sistemática era clara, explícita y contestaba a la pregunta formulada, aunque la búsqueda bibliográfica se limitó a MedLine y PubMed. De este modo, la presente revisión sistemática toma como punto de partida la fecha de la búsqueda bibliográfica de dicha publicación (1 de junio de 2006).

Se localizaron 143 estudios para su lectura inicial en las bases de datos referenciales Current and Contents, Embase y MedLine (Figura 1). A continuación se realizó una selección sobre abstract, descartándose inicialmente 125 estudios. Se leyeron a texto completo 18 artículos, de los que se excluyeron 13 documentos (Tabla 1). Finalmente, se incluyeron 5 trabajos en este informe.

Tabla 1. Trabajos eliminados tras la lectura a texto completo	
Autor	Principal motivo de eliminación
Babu K(11)	No respondían a la pregunta de investigación
Brasnu E(12)	
Efron N(13)	
Kobayashi A(14)	
Labbe A(15)	
Midena E(16)	
Niederer RL(17)	
Szaflik JP(2)	
Szaflik JP(18)	
Weed KH(19)	
Ying L(20)	
Hu Y(21)	No comparaban con otra técnica
Zhao C(22)	

Figura 1. Resultados de la estrategia de búsqueda



Descripción de los resultados de las intervenciones

Revisión sistemática

Esta revisión sistemática tuvo como objetivo principal la descripción de cómo la microscopía confocal “*in vivo*” ha contribuido a conocer mejor la córnea humana sana, enferma y post-cirugía(5). La búsqueda bibliográfica se limitó a MedLine y PubMed, con fecha final de la búsqueda fijada en junio de 2006. Se localizaron más de 240 artículos aunque sólo se incluyeron originales y revisiones. El número final de documentos incluidos no aparece claramente explicado en el texto. Los documentos recuperados se presentaron agrupados de acuerdo a la capa de la córnea que estudiaban, pudiéndose encontrar el mismo trabajo analizado varias veces (Tabla 2). Además se presentaron trabajos relacionados con la identificación de microorganismos, tales como *acanthamoeba keratitis*, hongos, *staphylococcus wernerii*, *streptococcus viridans*, y seguimiento post-cirugía.

Tabla 2. Resumen de los estudios que usaban la microscopía confocal para un análisis cuantitativo de la córnea, capa por capa(5)

Localización	Nº trabajos	Población	Medida resultado
Epitelio	6	Sanos	Densidad celular
	1	Distrofia endotelial de Fuch	
Querato-citos	18	Sanos	Densidad celular y en 12 trabajos el grosor total
	1	Queratoconos	
	1	Usuarios de lentes de contacto	
	9	Distrofia endotelial de Funch	
Endotelio	8	Sanos	Densidad celular
	1	Usuarios de lentes de contacto	
	2	Distrofia endotelial de Funch	
Nervios	4	Sanos	Densidad nervios y en 2 trabajos el diámetro y frecuencia de moldura

Los autores de esta revisión no describieron ni analizaron las diferencias o similitudes de los trabajos incluidos, más bien comentaron someramente los resultados encontrados en cada estudio. Concluyeron que la microscopía confocal ayudaba al entendimiento de la fisiología y patología corneal y que en los próximos años el microscopio confocal será una herramienta útil en el estudio de la córnea.

Artículos originales

Los documentos recuperados presentaron una gran heterogeneidad en cuanto a las medidas de resultado. En la Tabla 3 se presentan algunos detalles sobre población, patología, modelo de microscopio confocal y técnica de comparación de los 5 documentos incluidos. El tamaño de la muestra osciló entre 15 y 133 individuos. El modelo de microscopio confocal más empleado fue CS3 (n=3) y z-CS4 (n=2). La paquimetría por ultrasonidos (n=2) y los métodos de cultivo (n=2) fueron las técnicas de comparación más frecuentemente elegidas. Cabe mencionar que cuatro trabajos que medían el grosor, morfología y densidad corneal lo hacían en individuos sanos o en muestras procedentes de BioBancos(23-26). No obstante, fueron incluidos en la presente revisión debido a que determinadas patologías corneales, tales como las cataratas, están relacionadas con alteraciones a este nivel.

Los principales problemas metodológicos fueron los siguientes (Anexo 2):

- No se definieron los criterios de inclusión/exclusión en la mayoría de los trabajos(23,24,26). La no definición de estos criterios impide que podamos replicar el trabajo y no permite conocer si la muestra escogida representa a la población. En definitiva, se compromete la potencialidad de generalización (validez externa) de los resultados.
- No se describió la intervención con suficiente detalle como para permitir su replicación en un artículo(27), ni se realizó una doble lectura de la prueba con el fin de determinar la variabilidad inter-observador(24,25,27).

De los 5 estudios que evaluaban la capacidad diagnóstica de la microscopía confocal, todos fueron clasificados de buena calidad: 2 medían el grosor de la córnea(23,24); 1, la densidad celular(26); 1, la morfología de la córnea(25) y 1 evaluaba el uso de la microscopía confocal para el diagnóstico de infecciones corneales(27).

Tabla 3. Descripción de los estudios incluidos						
Autor	Población	Patología	Modelo confocal	Técnica de comparación	Medida de resultados	
Brugin E(23)	44 ojos (44 pacientes)	Ninguna	z-CS4	PUS	Espesor corneal Reproducibilidad intra-instrumental Reproducibilidad inter-observador	
Kanavi M(27)	133 ojos (133 pacientes)	Queratitis infecciosa	CS3	Cultivo	Concordancia inter-técnicas Diagnóstico de infección por <i>Acanthamoeba</i> y hongos	
McIaren JW(24)	15 pacientes	Ninguna	z-CS4 TSCM	PUS	Espesor corneal	
Sheng HP(25)	29 usuarios de lentes 30 no usuarios de lentes	Ninguna	CS3	ME	Densidad corneal Porcentaje de células hexagonales Coeficiente de variación	
Szafik JP(26)	16 córneas (BioBanco)	Ninguna	CS3	ME	Densidad endotelial	

CS3: ConfoScan 3
 HRTII-RCM: Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Corneal Module
 LH: lámpara de hendidura
 ME: microscopía especular
 PUS: paquimetría por ultrasonidos
 TSCM: *Tandem Scanning Confocal Microscope*
 z-CS4: ConfoScan 4 con el adaptador en anillo

Principales resultados

Grosor de la córnea

El objetivo de Brugin et al. (2007)(23) fue comparar la reproducibilidad y validez de la microscopia confocal versus paquimetría por ultrasonidos en la medida del espesor central de la córnea (*central corneal thickness*, CCT). Para ello utilizaron un microscopio confocal (ConfoScan4, CS4) equipado con un sistema adaptador (*z-ring adapter*) que compensaba los movimientos de la córnea. Para un total de 44 individuos sanos, la media del grosor corneal determinada por paquimetría por ultrasonidos fue de $512,6 \pm 65,8 \mu\text{m}$ versus $487,8 \pm 60,1 \mu\text{m}$ obtenido mediante el z-CS4 ($p < 0,0001$). Sin embargo, z-CS4 mostró una alta reproducibilidad intra-instrumental (coeficiente de correlación ICC=0,989; IC_{95%}=0,982-0,993; $p < 0,0001$) e interobservador (ICC=0,896; IC_{95%}=0,830-0,937; $p < 0,0001$). Este trabajo concluye que z-CS4 es un método preciso, no invasivo y reproducible para la medida del grosor corneal, que podría evitar algunos inconvenientes de la paquimetría por ultrasonidos asociados al contacto con el ojo, como el riesgo de infección o las molestias ocasionada a los pacientes.

McLaren et al. (2007)(24) utilizaron los microscopios confocales z-CS4 y TSCM, junto con un dispositivo de paquimetría por ultrasonidos para determinar la precisión del sistema adaptador (*z-ring adapter*). Se llevó a cabo en 15 voluntarios sanos. La media de las medidas del espesor corneal medido por z-CS4 ($529 \pm 35 \mu\text{m}$) no difirió significativamente del obtenido por TSCM ($531 \pm 30 \mu\text{m}$). Ambos microscopios confocales mostraron córneas más delgadas que la paquimetría por ultrasonidos ($567 \pm 35 \mu\text{m}$) ($p < 0,0001$) aunque los coeficientes de correlación fueron excelentes ($r = 0,94$, $p < 0,0001$). Establecen que existe una buena concordancia entre los resultados de los dos microscopios confocales.

Morfología corneal

En este estudio, Sheng et al. (2007)(25) analizaron la morfología endotelial de la córnea mediante un microscopio confocal CS3 y un microscopio especular en 29 usuarios y 30 no usuarios de lentes de contacto. Este microscopio confocal incluyó un software de análisis de imágenes automático y semiautomático, aunque contó con una importante limitación al carecer de sistema adaptador para reducir los movimientos de la córnea. La morfología del endotelio corneal se describió mediante tres aspectos: la densidad de células endoteliales (número de células endoteliales por milímetro cuadrado), el porcentaje de células hexagonales y el coeficiente de variación del área celular (media del área celular dividida por la desviación estándar de dicha área). Los resultados se expresaron como las dife-

rencias medias en las mediciones obtenidas con cada uno de los métodos a estudio con respecto al de referencia. La medida de densidad endotelial obtenida fue similar con ambos métodos. Los valores del coeficiente de variación y del porcentaje de células hexagonales variaron significativamente según se usara el método confocal automático o la microscopía especular. Sin embargo, existió una buena concordancia entre CS3 semiautomático y microscopía especular.

Densidad de células endoteliales

Szafflik (2007)(26) evaluó el uso del microscopio confocal en la obtención de imágenes de 16 córneas conservadas en Bio-Bancos a 4°C. Se tomaron imágenes de estructuras corneales, como epitelio, nervios, estroma y endotelio, mediante microscopía confocal y especular. Considerando la media de la densidad endotelial, no hubo diferencias significativas ($p=0,347$) entre la microscopía especular ($2168,6\pm 404$ células/mm²) y la confocal ($2090,9\pm 369,1$ células/mm²).

Diagnóstico de infecciones

Para este estudio, Kanavi et al. (2007)(27) incluyeron un total de 133 individuos con un historial clínico variado: un 21% y un 38,3% tuvieron traumatismo y cirugía ocular previa, respectivamente, y un 21% fueron usuarios de lentillas. Tras el uso de anestesia tópica, se tomó la imagen del ojo con CS3. Posteriormente, se procedió al cultivo del “raspado” de la córnea y/o lentes de contacto. Los cultivos identificaron 40 infecciones por bacterias, 16 por hongos y 15 por *acanthamoeba* spp, mientras que la microscopía confocal detectó 50 casos. De acuerdo a los resultados presentados, la microscopía confocal en la detección de queratitis por *acanthamoeba* spp fue 100% sensible, con especificidad de 84%, mientras que en las queratitis fúngicas estos valores fueron 94% y 78%, respectivamente.

Tabla 4. Resultados de los estudios incluidos		
Autor	Variable	Resultado
Brugin E(23)	Espesor corneal	z-CS4: 487,8±60,1µm
		PUS: 512,6±65,8 µm
	Reproducibilidad intra-instrumental	ICC =0,989 (p<0,0001)
	Reproducibilidad inter-observador	ICC =0,896 (p<0,0001)
Kanavi M(27)	Concordancia entre confocal y PUS	ICC =0,921 (p<0,0001)
	Detección de Hongos	S: 100%
	Detección de Acanthamoeba	S: 94%
		E: 84%
McIaren JW(24)	Espesor corneal 2 medidas de cada instrumento	z-CS4: 529+35/530±37 µm
		TSCM: 531+30/529±31 µm
		PUS: 567+35/566±35 µm. Este resultado se comparó con MC (p<0,0001)
	z-CS4 versus PUS	r=-0,91 p<0,0001
	TSCM versus PUS	r=-0,94 p<0,0001
	z-CS4 versus TSCM	r=-0,93 p<0,0001

Tabla 4. Resultados de los estudios incluidos (continuación)

Autor	Variabile	Resultado	Densidad corneal (media, DS, 95%LoA)	% células hexagonales (media, DS, 95%LoA)	Coefficiente de variación (media, DS, 95%LoA)
Sheng HP(25)	CS3 versus ME*	CS3			
		A	-46±158 (-356 a 263)	-9,2±8,9 (-26,6 a 8,3) p<0,0001	8,9±9,4 (-7,6 a 25,4) p<0,0001
		SA	-66±120 (-302 a 170)	2,4±7,5 (-12,4 a 8,3)	0,2±4,4 (-8,4 a 8,8)
		A	155±233 (-302 a 613)	-10±9 (-27,5 a 7,6) p<0,0001	9,4±8,5 (7,3 a 26,1) p<0,0001
		SA	101±263 (-416 a 618)	-3,1±10,2 (-23 a 16,9) p<0,1	3,6±8 (-12,1 a 19,2) p<0,025
Szaflik JP(26)	Densidad de células endoteliales	ME: 2168,6 ± 404,0 células/mm ² CS3: 2090,9 ± 369,1 células/mm ²			

A: automático. CS3: ConfoScan 3. DS: desviación estándar. E: especificidad. HRTII-RCM: Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Corneal Module. ICC: *IntraClass Correlation Coefficient*

ME: microscopia especular. MC: microscopia confocal. PUS: paquimetría por ultrasonidos. S: sensibilidad. SA: semiautomático. TSCM: *Tandem Scanning Confocal Microscope*. z-CS4: ConfoScan 4 con el adaptador en anillo. 95%LoA: 95% límite de acuerdo

* La morfología del endotelio corneal se describió mediante tres aspectos: la densidad de células endoteliales (número de células endoteliales por milímetro cuadrado), el porcentaje de células hexagonales y el coeficiente de variación del área celular (media del área celular dividida por la desviación estándar de dicha área). Solo se presentaron los datos de concordancia de las estimaciones de ConfoScan3 y el microscopio especular. Los resultados corresponden a las diferencias medias en las mediciones obtenidas con cada uno de los métodos a estudio con respecto al de referencia.

Discusión

La microscopía confocal es un método de exploración no invasivo, que requiere de un mínimo contacto entre la córnea y las lentes del objetivo, introducido recientemente en oftalmología. Con este método diagnóstico preciso, reproducible y rápido, es posible obtener imágenes de todas las capas corneales, incluso en aquellas córneas con disminución de la transparencia(28). En el presente trabajo se ha pretendido comprobar la eficacia de la microscopía confocal en el diagnóstico de enfermedades corneales.

Dos de los estudios recuperados pusieron de manifiesto la utilidad del microscopio confocal para observar y analizar el espesor de la córnea(23,24), donde las medidas obtenidas en población sana no se alejaron de los valores medios establecidos. En ambos estudios z-CS4 mostró córneas más delgadas y una alta reproducibilidad intra-instrumental e inter-observador(23) y una correlación con los otros microscopios utilizados(24). Estos resultados podrían tener un papel potencialmente relevante en la valoración de los cambios dinámicos y estructurales de la córnea, de importancia en el diagnóstico y evaluación de diferentes patologías. De esta forma, la medida del espesor por microscopía confocal tendría valor para determinar el estado funcional del endotelio y así valorar el riesgo de descompensación con anterioridad a la realización de una intervención de cataratas, establecer la situación del injerto corneal o guiar el tratamiento de un caso de edema herpético disciforme(29).

Un único trabajo midió la densidad endotelial usando microscopía especular y confocal, no observándose diferencias significativas entre las mediciones(26). Sin embargo, los resultados no pueden ser generalizados a otros sujetos o poblaciones ya que en los estudios no se definieron los criterios de inclusión/exclusión de los sujetos estudiados.

En cuanto a la valoración de la morfología del endotelio corneal, el único trabajo localizado mostró diferencias significativas entre las medidas recogidas por la microscopía confocal (método automático) y la especular(25). El método automático sobreestimó el grado de polimegetismo y pleomorfismo.

En el diagnóstico de infecciones corneales(27,30), la microscopía confocal tuvo una sensibilidad y especificidad de un 100% y un 84%, respectivamente, en la detección de queratitis por *acanthamoeba spp* y de un 94% y un 78% cuando la queratitis fue de origen fúngico aunque la intervención no se describió con suficiente detalle.

Entre las desventajas que presenta la microscopía confocal está su principal limitación técnica, la falta de reproducibilidad topográfica procedente de los

movimientos involuntarios de la córnea durante la exploración⁵, que aunque dura alrededor de varios segundos, es tiempo suficiente para que cualquier movimiento axial de la córnea modifique la posición del endotelio o superficie epitelial(24). ConfoScan (ConfoScan4, z-CS4) ha intentado solucionar este problema para mejorar la calidad de las imágenes corneales, desarrollando un adaptador que reduce el movimiento entre la córnea y las lentes del objetivo.

A la vista de estos resultados, no se disponen de suficientes datos para realizar recomendaciones debido al reducido número de estudios recuperados así como a la heterogeneidad de los mismos. Si bien, la microscopía confocal podría ser una herramienta útil en el estudio de la córnea en el contexto de la evaluación clínica y de los diferentes medios diagnósticos morfológicos y funcionales disponibles en la actualidad(31).

Referencias

- 1 Cavanagh HD, El Agha MS, Petroll WM, Jester JV. Specular microscopy, confocal microscopy, and ultrasound biomicroscopy: diagnostic tools of the past quarter century. *Cornea* 2000;19(5):712-722.
- 2 Szafflik JP. Comparison of in vivo confocal microscopy of human cornea by white light scanning slit and laser scanning systems. *Cornea* 2007;26(4):438-445.
- 3 Pucciarelli M. Microscopia confocal [Internet]. Monografias.com, Sin fecha [Consultada en 16/06/2008] URL: <http://www.monografias.com/trabajos16/confocal/confocal.shtml> (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/5omqqNoFH>)
- 4 Efron N. Contact lens-induced changes in the anterior eye as observed in vivo with the confocal microscope. *Prog Retin Eye Res* 2007;26(4):398-436.
- 5 Patel DV, McGhee CN. Contemporary in vivo confocal microscopy of the living human cornea using white light and laser scanning techniques: a major review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35(1):71-88.
- 6 Li HF, Petroll WM, Moller-Pedersen T, Maurer JK, Cavanagh HD, Jester JV. Epithelial and corneal thickness measurements by in vivo confocal microscopy through focusing (CMTF). *Curr Eye Res* 1997;16(3):214-221.
- 7 McLaren JW, Nau CB, Erie JC, Bourne WM. Corneal thickness measurement by confocal microscopy, ultrasound, and scanning slit methods. *Am J Ophthalmol* 2004;137(6):1011-1020.
- 8 Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, Shields W, Lemp MA. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J* 1990;16(1):65-73.
- 9 Lavado Landeo L. Córnea. En: Salaverry García O, editor. *Cirugía IV: Oftalmología*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2000. p. 53-71.
- 10 Dueker DK, Singh K, Lin SC, Fechtner RD, Minckler DS, Samples JR et al. Corneal thickness measurement in the management of primary open-angle glaucoma: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 2007;114(9):1779-1787.
- 11 Babu K, Murthy KR. Combined fungal and acanthamoeba keratitis: diagnosis by in vivo confocal microscopy. *Eye* 2007;21(2):271-272.

- 12 Brasnu E, Bourcier T, Dupas B, Degorge S, Rodallec T, Laroche L et al. In vivo confocal microscopy in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2007;91(5):588-591.
- 13 Efron N, Morgan PB, Makrynioti D. Chronic morbidity of corneal infiltrative events associated with contact lens wear. *Cornea* 2007;26(7):793-799.
- 14 Kobayashi A, Fujiki K, Fujimaki T, Murakami A, Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopic findings of corneal stromal dystrophies. *Arch Ophthalmol* 2007;125(9):1168-1173.
- 15 Labbe A, Nicola RD, Dupas B, Auclin F, Baudouin C. Epithelial basement membrane dystrophy: evaluation with the HRT II Rostock Cornea Module. *Ophthalmology* 2006;113(8):1301-1308.
- 16 Midena E, Brugin E, Ghirlando A, Sommovilla M, Avogaro A. Corneal diabetic neuropathy: a confocal microscopy study. *J Refract Surg* 2006; 22(9 Suppl):S1047-S1052.
- 17 Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Age-related differences in the normal human cornea: a laser scanning in vivo confocal microscopy study. *Br J Ophthalmol* 2007;91(9):1165-1169.
- 18 Szaflik JP, Kaminska A, Udziela M, Szaflik J. In vivo confocal microscopy of corneal grafts shortly after penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol* 2007;17(6):891-896.
- 19 Weed KH, MacEwen CJ, Cox A, McGhee CN. Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilising in vivo confocal microscopy. *Eye* 2007;21(5):614-623.
- 20 Ying L, Xiao Z, Liuxueying Z, Yumei J. Clinical use of in vivo confocal microscopy through focusing in corneal refractive surgery. *J Refract Surg* 2006;22(9 Suppl):S1041-S1046.
- 21 Hu Y, Adan ES, Matsumoto Y, Dogru M, Fukagawa K, Takano Y, et al. Conjunctival in vivo confocal scanning laser microscopy in patients with atopic keratoconjunctivitis. *Mol Vis* 2007; 13:1379-1389.
- 22 Zhao C, Lu S, Tajouri N, Dosso A, Safran AB. In vivo confocal laser scanning microscopy of corneal nerves in leprosy. *Arch Ophthalmol* 2008;126(2):282-284.
- 23 Brugin E, Ghirlando A, Gambato C, Midena E. Central corneal thickness: z-ring corneal confocal microscopy versus ultrasound pachymetry. *Cornea* 2007;26(3):303-307.
- 24 McLaren JW, Nau CB, Patel SV, Bourne WM. Measuring corneal thickness with the ConfoScan 4 and z-ring adapter. *Eye Contact Lens* 2007;33(4):185-190.

- 25 Sheng H, Parker EJ, Bullimore MA. An evaluation of the ConfoScan3 for corneal endothelial morphology analysis. *Optom Vis Sci* 2007;84(9):888-895.
- 26 Szaflik JP. White light confocal microscopy of preserved human corneas from an eye bank. *Cornea* 2007;26(3):265-269.
- 27 Kanavi MR, Javadi M, Yazdani S, Mirdehghanm S. Sensitivity and specificity of confocal scan in the diagnosis of infectious keratitis. *Cornea* 2007;26(7):782-786.
- 28 Beuerman RW. Confocal microscopy: into the clinic. *Cornea* 1995;14(1):1-2.
- 29 Arffa RC. Grayson: enfermedades de la córnea. 4ª ed. Madrid: Harcourt Brace de España; 1999.
- 30 Matsumoto Y, Dogru M, Sato EA, Katono Y, Uchino Y, Shimmura S et al. The application of in vivo confocal scanning laser microscopy in the management of Acanthamoeba keratitis. *Mol Vis* 2007; 13(7):1319-1326.
- 31 Pueyo V, Larrosa JM, Polo V, Pérez-Íñigo A, Ferreras A, Honrubia FM. Análisis de la distribución de anillo neuroretiniano por sectores mediante láser confocal de barrido en el diagnóstico del glaucoma. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2006;81(3):135-140.

ISBN 978-84-96990-48-7



9 788496 990487

Precio 10€