



Universidad de Valladolid



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

INSTITUTO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA

(IOBA)

**Evaluación de la Fiabilidad de la
Paquimetría de No Contacto tras
la Fotoablación de la Córnea con
Láser Excimer**

Presentada por D. Alberto López Miguel para optar al grado
de doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por el Dr. Miguel José Maldonado López



Universidad de Valladolid

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

(Art. 21 del R.D. 1393/2007 de 29 de octubre y Art. 4 c) de la Normativa para la defensa de la Tesis Doctoral)

D. Miguel José Maldonado López, con D.N.I. nº 25149997-T profesor titular del departamento de Cirugía, Otorrinolaringología, Oftalmología y Fisioterapia de la Facultad de Medicina e investigador principal del Instituto de Oftalmobiología Aplicada, como Director de la Tesis Doctoral titulada “ FIABILIDAD DE MEDIDA DE LA PAQUIMETRÍA CORNEAL MEDIANTE TÉCNICAS DE NO CONTACTO TRAS ABLACIÓN CORNEAL CON LÁSER EXCIMER”, presentada por D. Alberto López Miguel, alumno del programa de Doctorado en Ciencias de la Visión impartido por el Instituto de Oftalmobiología Aplicada autoriza la presentación de la misma, considerando que es APTA para su defensa.

Valladolid, 18 de Junio de 2012

El Director de la Tesis,

Fdo.: Miguel J. Maldonado López

ILMO. SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO



Universidad de Valladolid



COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN

La Comisión de Investigación del IOBA, en su reunión del 20 de junio de 2012, ha analizado su proyecto de tesis doctoral titulado:

“Evaluación de la Fiabilidad de la Paquimetría de No Contacto tras la Fotoablación de la Córnea con Láser Excimer”, no encontrando ninguna objeción para poder ser remitido a la Comisión de Docencia y Doctorado del IOBA.

Y para que así conste se expide el presente certificado,

En Valladolid, a 20 de junio de 2012

Fdo.: M^ª Paz García García
Secretaria de la Comisión de Investigación

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

- Maldonado MJ, López-Miguel A, Nieto JC, Cano-Parra J, Calvo B, Alió JL. Reliability of Noncontact Pachymetry after Laser in Situ Keratomileusis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2009;50:4135-41. PMID: 19357360.
- López-Miguel A, Nieto JC, Díez-Cuenca M, Piñero DP, Maldonado MJ. Agreement of non-contact pachymetry after LASIK: comparison of combined scanning-slit/Placido disc topography and specular microscopy. *Eye* 2010;24:1064-70. PMID: 19786958.
- López-Miguel A, Martínez-Almeida L, Mateo ME, Coco-Martín MB, Alió JL, Maldonado MJ. Dependability of Pachymetry Measurements after Myopic Advanced Surface Ablation Using Scanning-slit Topography and Specular Microscopy. Enviado a *J Cataract Refract Surg*

ABREVIATURAS

ANOVA: analysis of variance (término anglosajón cuyo significado es: análisis de la varianza).

ASA: ablación de superficie avanzada.

D: dioptrías.

EPI-LASIK: epipolis láser in-situ keratomileusis.

kDa: kilodaltonio.

LASEK: láser epithelial keratomileusis.

LASIK: láser in-situ keratomileusis.

LED: light-emitting diode (término anglosajón).

LC: Límites de concordancia.

MHz: megaherzio.

ME: microscopio especular.

mm: milímetro.

Nm: nanómetro.

OCT: Optical Coherence Tomography (término anglosajón cuyo significado en castellano es tomografía de coherencia óptica)

PRK: Photorefractive keratectomy (término anglosajón cuyo significado en castellano es queratectomía fotorrefractiva).

TBH: Topografía de barrido de hendidura.

µm: micras.

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN	17
1.1 CÓRNEA	17
1.1.1 DESARROLLO EMBRIOLÓGICO.....	17
1.1.2 ANATOMÍA DE LA CÓRNEA	18
1.1.3. HISTOLOGÍA DE LA CÓRNEA	21
1.1.3.1 Película Lagrimal.....	22
1.1.3.2. Epitelio	23
1.1.3.3 Membrana de Bowman.....	26
1.1.3.4 Estroma.....	26
1.1.3.5 Membrana de Descemet	28
1.1.3.6 Endotelio.....	29
1.2 PAQUIMETRÍA	30
1.2.1 DE CONTACTO.....	31
1.2.1.1 Paquimetría Ultrasónica Convencional	31
1.2.1.2 Biomicroscopía Ultrasónica	32
1.2.2 DE NO CONTACTO	33
1.2.2.1 Tomografía de Coherencia Óptica.....	34
1.2.2.2 Fotografía rotacional de Scheimpflug	35
1.2.2.3 Reflectometría Óptica de Baja Coherencia	36
1.2.2.4 Topografía de barrido de Hendidura	37
1.2.2.5 Microscopía Especular	38
1.3 CIRUGÍA REFRACTIVA CORNEAL TRAS ABLACIÓN CON LÁSER EXCIMER.	39
1.3.1 LAMELAR	41
1.3.2 ABLACIÓN DE SUPERFICIE AVANZADA.....	45
2. JUSTIFICACIÓN	51
3. HIPÓTESIS	55
4. OBJETIVOS	57
4.1 GENERAL	57

4.2 ESPECÍFICOS	57
5. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS	59
5.1 PACIENTES	59
5.2 TÉCNICAS DE EVALUACIÓN PAQUIMÉTRICA	60
5.2.1 TOPOGRAFÍA DE BARRIDO DE HENDIDURA	60
5.2.2 MICROSCOPIA ESPECULAR.....	62
5.3 DISEÑO DE LOS ESTUDIOS.	63
5.3.1 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad en LASIK.	64
5.3.2 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad en ASA.....	64
5.3.3 Reproducibilidad inter-observador de la paquimetría central tras fotoablación con láser excimer.....	65
5.3.4 Repetibilidad de la paquimetría mínima y paracentral de la técnica tbh tras fotoablación con láser excimer.....	66
5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	66
5.4.1 Repetibilidad intra-sesión.....	66
5.4.2 Reproducibilidad inter-sesión	67
5.4.3 Intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas	68
5.4.4 Reproducibilidad inter-observador.....	70
6. RESULTADOS	72
6.1 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN, REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN E INTERCAMBIABILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA CENTRAL EN LASIK UTILIZANDO LAS TÉCNICAS TBH Y ME.	72
6.1.1 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN EN LASIK	72
6.1.2 REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN EN LASIK	73
6.1.3 INTERCAMBIABILIDAD ENTRE TBH Y ME EN LASIK.....	79
6.2 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN, REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN E INTERCAMBIABILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA CENTRAL EN ASA UTILIZANDO LAS TÉCNICAS TBH Y ME.	83
6.2.1 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN EN ASA.....	83

6.2.2 REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN EN ASA	84
6.2.3 INTERCAMBIABILIDAD ENTRE TBH Y ME EN ASA	90
6.3 REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR DE LA PAQUIMETRÍA CENTRAL TRAS FOTOABLACIÓN CON LÁSER EXCIMER.....	94
6.3.1 REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR EN TBH	95
6.3.2 REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR EN ME	98
6.4 REPETIBILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA MÍNIMA Y PARACENTRAL DE LA TÉCNICA TBH TRAS FOTOABLACIÓN CON LÁSER EXCIMER.	101
7. DISCUSIÓN	104
7.1 De la Metodología Utilizada.....	104
7.2 De los Resultados obtenidos	108
7.2.1 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad de la paquimetría central en LASIK.....	109
7.2.1.1 Repetibilidad intra-sesión tras LASIK	109
7.2.1.2 Reproducibilidad inter-sesión tras LASIK	113
7.2.1.3 Intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas tras LASIK	116
7.2.2 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad de la paquimetría central en ASA.	119
7.2.2.1 Repetibilidad intra-sesión tras ASA	119
7.2.2.2 Reproducibilidad inter-sesión tras ASA	121
7.2.2.3 Intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas tras ASA	121
7.2.3 Reproducibilidad inter-observador de la paquimetría central tras láser excimer.....	123
7.2.4 Repetibilidad de la paquimetría mínima y paracentral tras láser excimer. ..	126
8. CONCLUSIONES	128
8.1 GENERAL.....	128
8.2 ESPECÍFICAS	128
9. BIBLIOGRAFÍA	130
10. ANEXOS	147

10.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO	147
10.2 ARTÍCULOS PUBLICADOS Y MANUSCRITOS ENVIADOS PARA REVISIÓN.....	153

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. Medidas físicas y propiedades ópticas de la córnea.

Tabla 2. Receptores neuronales corneales.

Tabla 3. Resultados del análisis ANOVA de la repetibilidad intra-sesión en LASIK para la paquimetría central.

Tabla 4. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-sesión en LASIK para la paquimetría central.

Tabla 5. Límites de concordancia del 95% correspondientes a la reproducibilidad inter-sesión en LASIK.

Tabla 6. Resultados del análisis ANOVA de la repetibilidad intra-sesión en ASA para la paquimetría central.

Tabla 7. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-sesión en ASA para la paquimetría central.

Tabla 8. Límites de concordancia para la reproducibilidad inter-sesión en ASA para la paquimetría central.

Tabla 9. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-observador de la técnica topografía de barrido de hendidura para la paquimetría central.

Tabla 10. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-observador de la técnica microscopía especular para la paquimetría central.

Tabla 11. Resultados del análisis ANOVA de la repetibilidad intra-sesión de la paquimetría mínima y paracentrales utilizando la topografía de barrido de hendidura tras láser excimer.

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Membrana de Descemet desprendida.

Figura 2. Endotelio corneal.

Figura 3. Imagen obtenida con la técnica de biomicroscopía de alta frecuencia.

Figura 4. Imagen de la paquimetría corneal obtenida con la técnica tomografía de coherencia óptica.

Figura 5. Imagen del segmento anterior obtenida con el sistema Pentacam.

Figura 6. Técnica de adquisición de la paquimetría a través de la topografía de barrido de hendidura.

Figura 7. Imagen de una cirugía LASIK.

Figura 8. Proyección del haz de luz en forma de hendidura utilizado por el sistema Orbscan II.

Figura 9. Técnica de medición de la paquimetría a través de microscopía especular.

Figura 10. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 con la técnica topografía de barrido de hendidura tras LASIK.

Figura 11. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 con la técnica de microscopía especular tras LASIK.

Figura 12. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida para la técnica topografía de barrido de hendidura.

Figura 13. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida para la técnica de microscopía especular.

Figura 14. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas con ambas técnicas tras LASIK.

Figura 15. Distribución de las diferencias entre técnicas paquimétricas tras LASIK.

Figura 16. Gráfico de análisis de regresión tipo Bland & Altman entre las técnicas paquimétricas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular tras LASIK.

Figura 17. Distribución de los residuos sobre la diferencia de las medias de las dos técnicas paquimétricas de no contacto.

Figura 18. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 tras ASA con la técnica topografía de barrido de hendidura.

Figura 19. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 tras ASA con la técnica microscopía especular.

Figura 20. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida tras ASA para la técnica topografía de barrido de hendidura.

Figura 21. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida tras ASA para la técnica de microscopía especular.

Figura 22. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias obtenidas con ambas técnicas paquimétricas tras ASA.

Figura 23. Distribución de las diferencias entre técnicas paquimétricas tras ASA.

Figura 24. Gráfico de análisis de regresión tipo Bland & Altman entre las técnicas paquimétricas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular tras ASA.

Figura 25. Distribución de los residuos de la diferencia sobre las medias de las dos técnicas paquimétricas de no contacto tras ASA.

Figura 26. Gráfico tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas por ambos observadores.

Figura 27. Distribución de las diferencias entre observadores utilizando el topógrafo de barrido de hendidura.

Figura 28. Gráfico tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas por ambos observadores para la microscopía especular.

Figura 29. Distribución de las diferencias entre observadores para la técnica paquimétrica de microscopía especular.

Figura 30. Procedimiento de enfoque previo a la adquisición de la paquimetría con la técnica de topografía de barrido de hendidura.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CÓRNEA

1.1.1 DESARROLLO EMBRIOLÓGICO

La córnea deriva embriológicamente, tanto del ectodermo como de la cresta neural, y esta a su vez del mesénquima. Entorno a la sexta o séptima semana de gestación, el mesénquima periocular, empieza a condensarse alrededor del tejido precursor del futuro nervio óptico (Gipson, 1994; Atchison, 1989). La porción externa de este mesénquima, formará, fundamentalmente la córnea y la esclera, mientras que la porción externa, la úvea.

El epitelio, que es la primera estructura en aparecer y deriva del ectodermo, se observa por primera vez aproximadamente a los 27 días post-fecundación (Maurice, 1977). Posteriormente, sobre el día 33, las células mesenquimales de la cresta neural migran centripetamente entre la parte anterior del cristalino ya formado y la parte externa del ectodermo, para formar el endotelio inicial formado por tan solo dos capas (Barraquer, 2004). Alrededor del día 49 se produce una segunda migración del mesénquima, que penetra entre el epitelio y endotelio para formar lo que posteriormente será el estroma.

Más avanzado el proceso embrionario, sobre las 8 semanas, se produce la formación de una lámina fina sobre la que descansa el endotelio, la cual es la membrana de Descemet. Mientras que hasta el quinto mes no

se empieza a identificar lo que va a ser la membrana de Bowman (McMenamin cols., 1997)

El grosor y el diámetro de la córnea se va incrementando progresivamente durante el desarrollo embrionario. La transparencia es gradual alcanzando antes del nacimiento su valor final debido sobre todo a la maduración e hidratación del endotelio.

1.1.2 ANATOMÍA DE LA CÓRNEA

La córnea forma parte del segmento anterior del ojo y es la estructura más importante de la superficie ocular. Esta estructura es transparente y avascular, sus funciones son principalmente la refracción y transmisión de la luz y la protección del contenido intraocular. Tiene una morfología cóncava-convexa y representa la sexta parte de la circunferencia del ojo. Se caracteriza por un engrosamiento centro-periférico, ya que la paquimetría media central se sitúa en 535 micras mientras que los valores cercanos a la esclera, en el área limbal, son de alrededor de 670 micras. Siendo el limbo la zona de transición entre ambas estructuras. (Bennett y Rabbetts, 1998; Doughty y Zaman, 2000).

La córnea alcanza el tamaño adulto en el primer año de vida y mide aproximadamente entre 10.50 y 11.50 mm en el meridiano horizontal, mientras que en el vertical la magnitud se sitúa entre 11.00 y 11.50 mm (Atchison, 1989; Rodríguez cols., 1982).

Las medidas anatómicas y las propiedades ópticas de la córnea se determinan en la tabla 1 (Duke-Elder y Wybar, 1961; Bennett y Rabbetts, 1998; Doughty y Zaman, 2000).

Tabla 1: Medidas físicas y propiedades ópticas de la córnea.
Adaptado de Villa y Santodomingo (2010).

Diámetro	10.50 - 11.50 mm (horizontal) 11.00 – 12.50 mm (vertical)
Paquimetría central	535 micras
Radio de curvatura	Anterior: 7.8 mm. Posterior: 6.2 – 6.8 mm
Poder refractivo de la superficie anterior	48.83 D
Poder refractivo de la superficie posterior	-5.88 D
Poder refractivo total	43.05 D
Índice de refracción	1.376
Contenido en agua	78%
Contenido en colágeno	15%
Contenido en proteínas	5%

D: Dioptrías.

La córnea, en su parte anterior, está recubierta por la película lagrimal que lubrica la superficie y la protege de agresiones externas y además proporciona una superficie regular para la refracción de la luz (Barraquer, 2004). La córnea tiene un enorme poder de refracción,

alcanzando valores cercanos a las 44 dioptrías (D) (Krachmer y cols., 1997). La transparencia de la córnea es fundamental para conseguir una adecuada transmitancia óptica; dicha transparencia se debe a diversos factores entre los que se encuentran: la homogeneidad del epitelio, el tamaño y la disposición del componente celular y extracelular del estroma (Beuerman cols., 2004).

La inervación de la córnea depende de los nervios ciliares largos que derivan de la rama oftálmica del nervio trigémino. Tras formar un plexo anular en el limbo, pierden su vaina de mielina y penetran en el estroma, perforan la membrana de Bowman y acaban en el epitelio, donde se encuentran sus terminaciones nerviosas (Müller cols., 1997). Algunos nervios superficiales penetran por la región subconjuntival y espiescleral, pero la mayoría penetran por la esclera. Existen numerosísimas terminaciones a este nivel, mas en la parte central que en la periferia, siendo la córnea uno de los tejidos más inervados del cuerpo (Rózsa y Beberman, 1982) lo que explica que sea un tejido altamente sensible y en el cual la percepción dolorosa aparece como respuesta a estímulos muy pequeños (Müller cols, 1997).

Se diferencian tres tipos de terminaciones nerviosas (Tabla 2): nociceptivas, de temperatura y polimodales que responden a estímulos mecánicos y químicos (Millodot y O'Leary, 1981). Cuando se daña alguna de estas terminaciones, la regeneración no recupera exactamente la sensibilidad específica anterior.

Tabla 2: Receptores neuronales corneales. Tabla adaptada de Belmonte cols. (2004).

Tipo de receptor	Estimulo al que responde	Sensación	Inervación
Nociceptivo	Fuerza	Dolor agudo	20%
Polimodal	Temperatura extrema. Irritantes químicos. Mediadores endógenos de la inflamación.	Irritación	70%
Temperatura	Frio	Frio	100%

Los nervios tienen, en este tejido, la función de proteger, fundamentalmente con el desencadenamiento de los reflejos corneales producidos en respuesta a la presión y otros estímulos y una función trófica, ya que su disminución o pérdida de funcionalidad puede llegar a producir queratitis neuroparalítica (Villa y Santodomingo, 2010).

1.1.3. HISTOLOGÍA DE LA CÓRNEA

Histológicamente se puede dividir en cinco capas: Epitelio, Capa de Bowman, Estroma, Membrana de Descemet y Endotelio.

1.1.3.1 Película Lagrimal

La película lagrimal tiene un grosor aproximado de $7\mu\text{m}$ formando una barrera entre el epitelio corneal y el medio externo (Thoft y Friend, 1983). Aporta nutrientes, protege al ojo evitando la deshidratación, posee factores antisépticos y arrastra productos de desecho; y a la vez, permite las funciones ópticas de refracción y transmisión de la luz eliminando las irregularidades del epitelio corneal y favoreciendo un índice de refracción óptimo (Lambers, 1994).

Históricamente, la película lagrimal se ha dividido en tres capas:

.- La capa lipídica: Es la capa más externa de la película lagrimal, su principal función es retrasar la evaporación de la capa acuosa, tiene un espesor de $0.1 - 0.5 \mu\text{m}$ y contiene lípidos del tipo monoesteres de cera, esterres de esterol, triglicéridos, digliceridos, colesterol, ácidos grasos libres, fosfolípidos y otros (Lambers, 1994; Nicolaidis, 1986). Es segregada principalmente por las glándulas de Meibomio de los párpados superior e inferior, y en menor grado por las de Zeis y Moll (De Dartt y Sullivan, 2000).

.- La capa acuosa: Tiene aproximadamente $6 \mu\text{m}$ de espesor, y está compuesta por un líquido acuoso e iones de sal inorgánica, glucosa y diversas proteínas. Es segregada por la glándula lagrimal principal y por las glándulas lacrimales accesorias de Krausse y Wolfring y los epitelios corneal y conjuntival (De Dartt y Sullivan, 2000). Es una

fuelle de agua, glucosa, inmunoglobulinas y enzimas antimicrobianas (Arffa y Grayson, 1999).

.- La capa de mucina: Elaborada a partir de la secreción de las células caliciformes conjuntivales y las células planas estratificadas de los epitelios corneal y conjuntival (Lambers, 1994; De Dartt y Sullivan, 2000). Su espesor es de 0.2-0.5 μm y cubre las superficies celulares epiteliales. La mucina disminuye la tensión superficial entre la superficie epitelial y la película lagrimal favoreciendo la extensión de esta última (Arffa y Grayson, 1999).

Sin embargo, estudios recientes han demostrado que en vez de una capa acuosa y otra de mucina claramente diferenciadas, debajo de la capa lipídica existe una especie de gel muco-acuosa cuya densidad se va reduciendo a medida que se acerca a la capa lipídica (Beuerman cols., 2004)

1.1.3.2. Epitelio

Es escamoso, estratificado y no queratinizado, formado por 5-6 capas de células en su parte central que aumentan a 8-10 en su zona periférica. En la parte más superficial existen células escamosas planas con forma poligonal y aunque morfológicamente son clasificadas como no queratinizadas, son capaces de expresar una particular combinación de 55/64 kDa queratina. Las células intermedias columnares poligonales tienen forma irregular con un

núcleo oval y están interdigitadas con las células superficiales y con las basales. Las células basales, en la parte más profunda, son las más prominentes, tienen forma columnar y se presentan muy juntas; formando la lámina basal (Rodríguez cols., 1982).

Todas ellas forman una capa de espesor uniforme y gran regularidad. Están relacionadas por distintos tipos de unión que, confieren una gran estabilidad al epitelio (desmosomas), ponen en contacto a las células e impiden el paso de sustancias al espacio intercelular en unos casos (tight junctions); o sirven de conducto para el paso de iones y pequeñas moléculas solubles en agua, entre células (gap junctions) en otros (Barraquer, 2004; McMenamin cols., 1997). En la parte externa existen pequeñas vellosidades y micropilis, que se adhieren a la capa mucínica de la película lagrimal, estabilizándola y reforzándola como barrera, evitando de esta forma, que las bacterias tengan capacidad de unirse a un epitelio íntegro (Gipson, 1994).

El epitelio central esta exento de melanocitos y de células presentadoras de antígeno o de Langerhans, que sin embargo si se pueden encontrar en el epitelio periférico (Villa y Santodomingo, 2010)

En su conjunto, posee un grosor aproximado de 50-56 μm que se engrosa en la zona periférica (Barraquer, 2004). Se renueva cada 7 días, a partir de una célula primordial (célula madre o stem cell) que se divide en dos. Una de estas células hija no pierde su condición de primordial, pero la otra sigue dividiéndose hacia la diferenciación terminal (Cotsarelis cols., 1989; Dua y Azuara-Blanco, 2000).

Conforme se va dividiendo, migra centripetamente desde el epitelio basal del limbo, a una velocidad de 123 μm /semana, produciéndose la descamación en la superficie, tras la migración; renovándose así, de manera continua (teoría del movimiento XYZ de Thoft y Friend, 1983)

Entre sus funciones, además de la de mantener la transparencia y la refracción de la córnea, se encuentra la de proteger y actuar de barrera frente a las agresiones externas. Solamente se han descrito 5 microorganismos capaces de traspasar el epitelio intacto: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, y *Corynebacterium* spp (Bergmanson 2001). Tiene mucha resistencia a la abrasión del propio parpadeo o de cuerpos extraños y una alta capacidad de regeneración (Gipson, 1994). Igualmente actúa como estabilizador de la lágrima a través de las microvellosidades digitiformes.

A continuación, en profundidad, entre las células epiteliales columnares y la membrana de Bowman, se encuentra la membrana basal epitelial, que se compone de una lámina lúcida, de unos 23 nm de espesor, y una lámina densa de unos 48 nm. (Barraquer, 2004). Las células basales están conectadas con la membrana basal por hemidesmosomas (Villa y Santodomingo, 2010).

1.1.3.3 Membrana de Bowman

La capa o membrana de Bowman es una zona acelular, de 8 a 10 μm de espesor, situada debajo del epitelio. Es una capa acelular hallada sólo en primates. Está compuesta por fibras de colágeno (tipos I, III, V y VI) de pequeño diámetro (20-30 nm) dispuestas aleatoriamente en una matriz de condrotin/dermatan (Komai y Ushiki, 1991; Hay, 1980). Según aumenta la profundidad, estas fibrillas aumentan de tamaño y de longitud y se van ordenando y transformando en el estroma. La membrana de Bowman termina abruptamente en el limbo.

Proporciona una importante barrera para la córnea en la invasión por tumores o patógenos (Hay, 1980). Al contrario que el epitelio, esta capa no tiene capacidad regeneradora y aunque si se lesiona, se forma otra capa de características similares, la nueva no alcanza el espesor de la original (Arffa y Grayson, 1999).

1.1.3.4 Estroma

Capa transparente, de tejido conectivo denso, formada por agua fundamentalmente y por fibras de colágeno tipo I (aunque existen otros tipos en menor proporción) ordenadas en hasta 250 láminas, que se ordenan paralelas entre si y a la superficie de la córnea. El colágeno mantiene una dirección igual dentro de cada lámina, pero se mantiene una orientación oblicua entre láminas (Gipson, 1994).

Estas láminas, son de muy similar calibre (22-35 nm) y están uniformemente espaciadas (41 nm) aunque se entrecruzan más densamente en el tercio anterior que en los dos tercios posteriores, donde se disponen paralelas a la superficie de la córnea (Villa y Santodomingo, 2010). Este tipo de disposición, depende mayoritariamente, de la hidratación, metabolismo y nutrición de los elementos estromales (Forrester cols., 1966). Gracias a esta peculiar disposición se asegura una tensión uniforme en toda la estructura de la córnea y se facilita la transparencia y se disminuye la dispersión de las ondas (Maurice, 1957). Tiene en total, un espesor que supone casi el 90% de la córnea con un grosor aproximado de 500 μm , carece de vasos y tejido linfático pero posee terminaciones nerviosas.

El espacio interfibrilar contiene proteoglicanos de tipo keratán y dermatán sulfato capaces de atrapar cationes y agua, y de unirse a las fibras de colágeno de forma ordenada, lo que facilita el ordenamiento y espaciamiento fibrilar. Entre las láminas, se encuentran los queratocitos (o fibroblastos), que sintetizan proteoglicanos y colágeno. Su forma es plana de manera que también se ordenan de forma paralela a la superficie y se entrelazan entre si con uniones tipo gap. Existen unos 2,4 millones (Moller-Pederson y cols. 1994) y en condiciones de agresión, son capaces de restaurar las estructuras lesionadas formando un papel primordial en la cicatrización corneal (Arffa and Grayson 1999, Komai and Ushiki 1991, Müller cols., 1995).

1.1.3.5 Membrana de Descemet

La membrana de Descemet (Figura 1) es una capa homogénea y fina con un grosor aproximado de 2-20 μm (Arffa y Grayson 1999). Es una lámina basal gruesa producida por el endotelio que se puede dividir en, una zona anterior ya presente en el feto y menos uniforme, y una zona posterior homogénea que aparece después del nacimiento. Su espesor aumenta con el paso del tiempo a un ritmo aproximado de 1 μm cada década, y su magnitud es de 3 μm al nacer hasta 8-10 μm en el adulto; creciendo más en las mujeres y llegando a casi el doble que en los hombres hacia los 70 años. (Arffa y Grayson, 1999; Johnson cols., 1982).

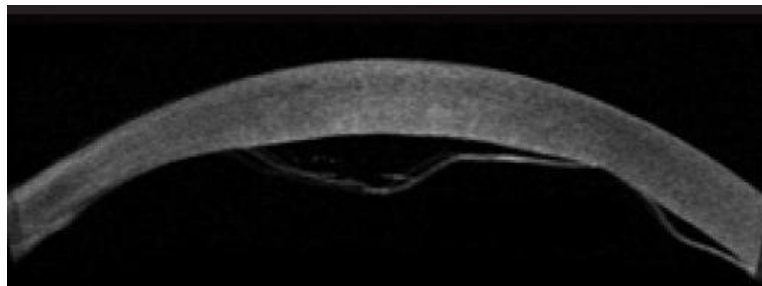


Figura 1. Membrana de Descemet desprendida (Kothari y cols. 2011).

En la parte periférica, aparecen engrosamientos localizados de la membrana de Descemet, que reciben el nombre de cuerpos de Hassall-Henle y que contienen restos celulares y otros depósitos de naturaleza desconocida y que se relacionan con el envejecimiento del ojo normal. Esta capa, es la responsable de la elasticidad y

capacidad de deformidad de la córnea por su alto contenido en colágeno V, VIII, IX y XII y glicoproteínas de membrana como laminina y fibronectina. A diferencia de la capa de Bowman la membrana de Descemet se desprende del estroma con facilidad y es capaz de regenerarse con rapidez tras una lesión (Arffa y Grayson, 1999).

1.1.3.6 Endotelio

Se trata de una capa única de células planas hexagonales de bordes nítidamente delimitados (Figura 2), con forma cuboidea en los primeros años de vida que se va aplanando con el paso del tiempo (Maurice, 1957). La función del endotelio es regular el fluido que entra en la córnea desde la cámara anterior (Villa y Santodomingo, 2010). Existe una pérdida celular fisiológica, con un recuento aproximado de unas 4000 células/mm² al momento de nacer, 2500/mm² en la edad media de la vida y unas 2000/mm² en la tercera edad. Se ha descrito que el número mínimo de células necesarias para mantener la transparencia corneal es de 700 a 1000 células/mm² (Bennett y Rabbetts, 1998; Martínez de la Casa cols., 2004). Consecuentemente, con el paso del tiempo, o ante una agresión, la densidad y regular disposición típica de las córneas jóvenes cambia, ya que cuando una célula endotelial muere, es remplazada por las células vecinas que rellenan el espacio disminuyendo de esta forma, la densidad de la zona y con ello la

transparencia. (Maurice, 1957; Waring y Bourne, 1982). Esta pérdida endotelial se manifiesta por el polimegatismo (diversidad de tamaño entre las células), pleomorfismo (diversidad de formas) y aumento de la poligonalidad de las células que permanecen, lo que va asociado a un incremento de la permeabilidad (Waring y Bourne, 1982).

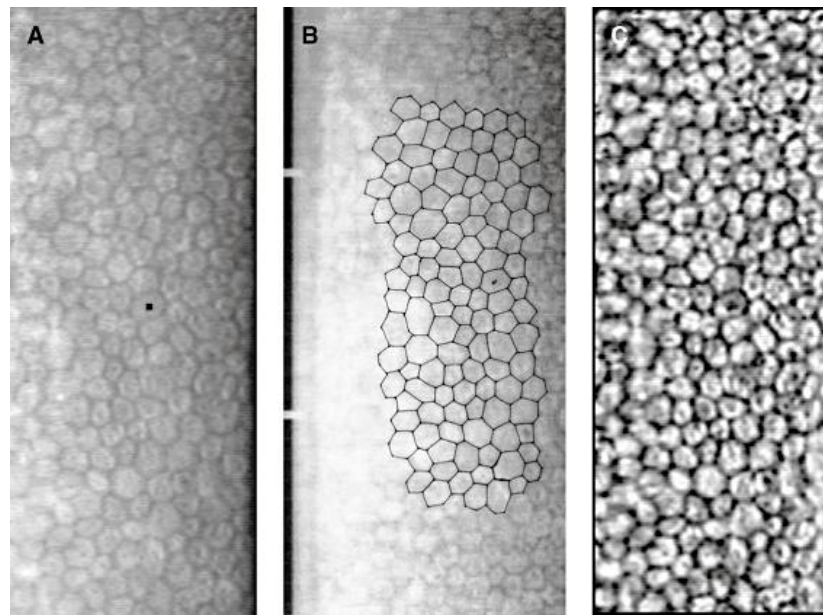


Figura 2. Endotelio corneal (Doughty y Aakre, 2008).

1.2 PAQUIMETRÍA

Se denomina *paquimetría* al grosor de la córnea en cualquiera de sus localizaciones. La determinación de la magnitud corneal, es decir, de la paquimetría, es necesaria para la monitorización y diagnóstico de diferentes patologías corneales como puedan ser las ectasias primarias o secundarias a cirugía láser excimer, o el edema corneal primario (ej. Distrofia endotelial

de Fuchs) o secundario a cirugía de catarata por facoemulsificación (Aldave cols., 2003; Rosa y Cennamo, 2002). Igualmente, conocer su magnitud es necesaria para el diagnóstico de la hipertensión ocular o el glaucoma (Gordon y cols., 2002) y es fundamentalmente útil, en la evaluación preoperatoria del paciente en cirugía refractiva primaria o secundaria con fines refractivos y terapéuticos (Sharma y cols., 2005 y 2008).

Las técnicas paquimétricas actuales se pueden clasificar principalmente basándose en la presencia o ausencia de contacto corneal para su medición.

1.2.1 DE CONTACTO

1.2.1.1 Paquimetría Ultrasónica Convencional

La paquimetría ultrasónica la introdujo Kremer en el mundo de la oftalmología durante la década de los 80 y sigue siendo considerada como el “gold-standard” para la medición del grosor corneal. Es una técnica no invasiva, sin embargo existe contacto con la córnea, por lo tanto se realiza bajo anestesia tópica. Para la adquisición de la medida se utiliza una sonda ecográfica (normalmente de 20 MHz) que se coloca sobre la superficie corneal. Dicha sonda emite ecos cuya reflexión también se recibe y digitaliza, de tal forma que se genera una medida paquimétrica. Dicha medida es solo relativamente exacta, ya que el lugar exacto de la reflexión

ultrasónica en la parte posterior de la córnea se desconoce (Ishibazawa y cols., 2011; Kawana y cols., 2004).

Debido a la necesidad de que la sonda contacte con el epitelio corneal, esta técnica posee numerosas desventajas como es la necesidad de instilar anestesia tópica produciendo malestar ocular, también existe posibilidad de producir contaminación microbiana y/o daño epitelial por existir contacto entre la sonda y la córnea, e incluso es posible que se produzca desplazamiento del flap corneal en los operados de cirugía refractiva corneal tipo LASIK. Además, la fiabilidad de la medida depende muy considerablemente de la experiencia del examinador, ya que esta variará en función de la presión ejercida con la sonda y de la localización de la misma sobre la córnea (Ishibazawa y cols., 2011; Kawana y cols., 2004). Por lo tanto, es más adecuado utilizar una técnica de no contacto que sea tan fiable como la ultrasónica y que además no ofrezca diferencias sistemáticas con dicha técnica de ultrasonido, con el objetivo de evitar todo este tipo de desventajas.

1.2.1.2 Biomicroscopía Ultrasónica

La biomicroscopía ultrasónica se basa igualmente en la tecnología de ultrasonidos, sin embargo le diferencia de la convencional en que los ultrasonidos que se emiten poseen 50 MHz, lo cual produce una mayor visibilidad de las estructuras observadas en el segmento anterior (Figura 3). En este caso, la sonda realiza una especie de

movimiento en forma de arco que posibilita la emisión de multitud de ultrasonidos que posteriormente son digitalizados dando lugar a una imagen de gran resolución del segmento anterior. Al igual que la técnica de ultrasonidos convencionales, la adquisición es incómoda para el paciente porque debe permanecer aún más tiempo sin moverse y además el ojo debe estar inmerso en suero salino (Javaloy y cols., 2004; Piñero y cols., 2008).

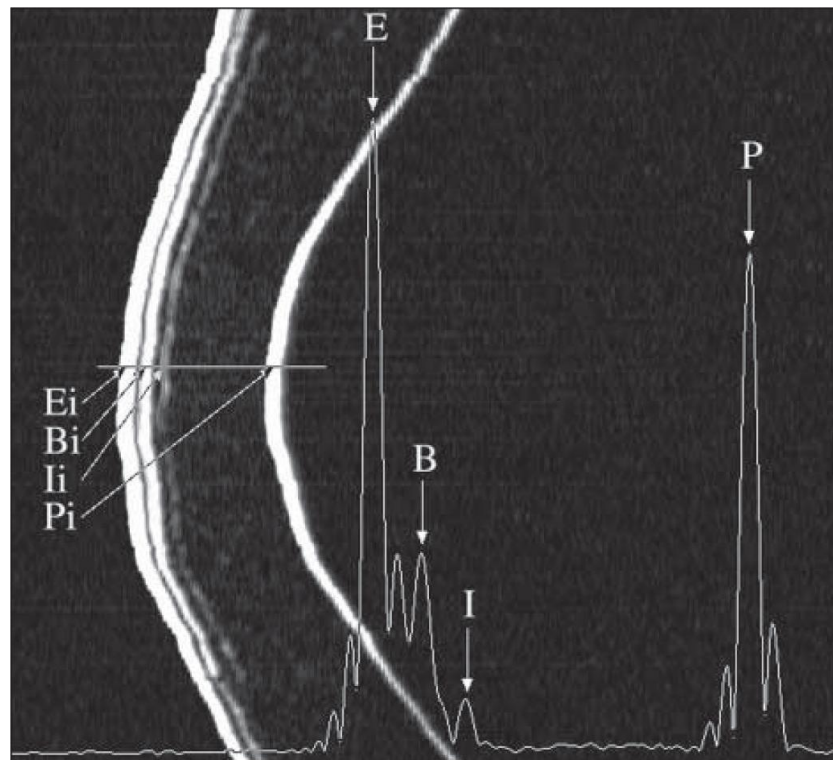


Figura 3. Imagen obtenida con la técnica de biomicroscopía de alta frecuencia (Reinstein y cols., 2010).

1.2.2 DE NO CONTACTO

Hoy en día existe una preferencia por el uso de las técnicas de no contacto cuando se desea evaluar la paquimetría, ya que de esta forma

se evitan todas las desventajas asociadas al uso de una sonda de medición. A continuación se detallan las técnicas paquimétricas de no contacto más utilizadas actualmente.

1.2.2.1 Tomografía de Coherencia Óptica

La tomografía de coherencia óptica se basa en la técnica de interferometría de Michelson, de tal forma que compara un rayo de referencia respecto del reflejado del tejido ocular (Maldonado y cols., 2000). La técnica consiste en la emisión de un rayo con una longitud de onda aproximada de 840nm que es dividido en dos rayos; uno que atraviesa las diferentes estructuras anatómicas y otro que se refleja en un espejo de referencia. Existe un detector capaz de analizar las diferencias entre ambos rayos reflejados que traduce la información en términos de distancia y de dispersión, por lo que el tejido se puede caracterizar con precisión micrométrica (Fujimoto y cols., 1995). Esta técnica tomográfica ha evolucionado considerablemente durante la última década pudiendo ofrecer una resolución espacial de incluso 5 μm (Figura 4).

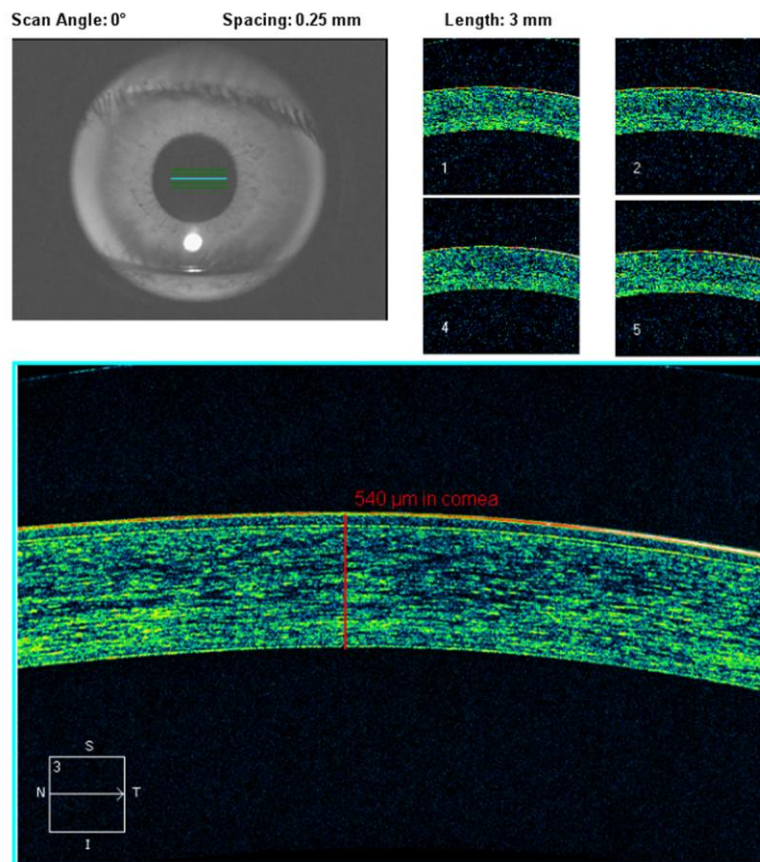


Figura 4. Imagen de la paquimetría corneal obtenida con la técnica tomografía de coherencia óptica (Correa-Pérez y cols., 2012).

1.2.2.2 Fotografía rotacional de Scheimpflug

La fotografía rotacional de Scheimpflug (Figura 5) es capaz de digitalizar imágenes del segmento anterior ocular utilizando una cámara rotatoria que captura las imágenes que se obtienen tras emitir luz monocromática con una fuente tipo LED (Light-Emitting

Diode) cuya longitud de onda es de 475 nm. Ambos sistemas emisores de luz y captadores de imágenes rotan alrededor del eje óptico ocular para conseguir mayor profundidad de foco. El sistema Pentacam (Oculus) se basa en esta técnica y es capaz de rotar 180 grados para adquirir 25 imágenes que contiene 500 medidas paquimétricas (Lackner y cols., 2005).

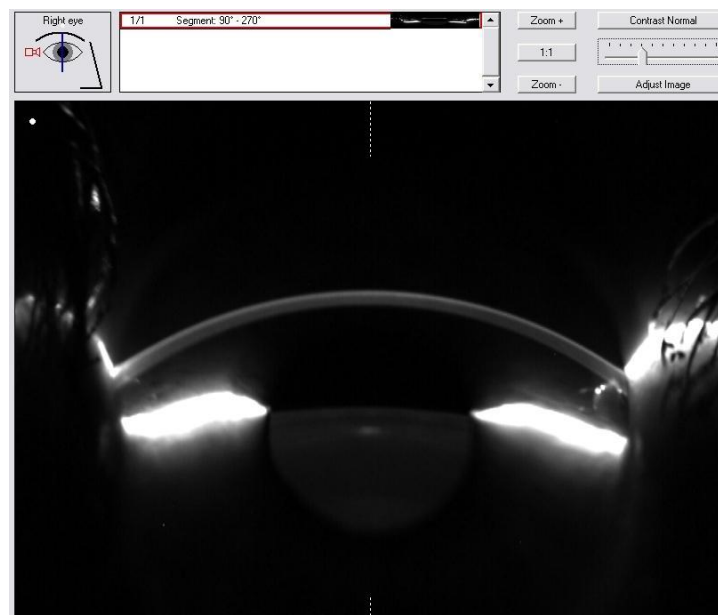


Figura 5. Imagen del segmento anterior obtenida con el sistema Pentacam (Oculus).

1.2.2.3 Reflectometría Óptica de Baja Coherencia

La técnica de reflectometría óptica de baja coherencia se basa en el principio de interferometría de Michelson (al igual que el “OCT”) por lo que utiliza dos haces de luz paralelos cuya longitud de onda es de 780 nm utilizando un diodo super-luminiscente (López-Miguel A y cols., 2012). Sus propiedades ópticas basadas en una importante

anchura espectral (20-30 nm) permiten a la técnica poseer una longitud de coherencia baja dando lugar a una resolución de aproximadamente 30 μm . El Lenstar LS 900 (Haag-Streit AG) se basa en esta técnica de adquisición y no solo aporta información de la paquimetría corneal sino también de la profundidad de la cámara anterior y de la longitud axial.

1.2.2.4 Topografía de barrido de Hendidura

El topógrafo comercial denominado Orbscan II (Bausch & Lomb) posee la tecnología de barrido de hendidura (Figura 6), la cual utiliza 40 haces ópticos proyectados sobre la cámara anterior con un ángulo de 45 grados, siendo dicha proyección de haces grabada y posteriormente digitalizada para la reconstrucción tridimensional de la cámara anterior ocular. El software que posee el topógrafo es capaz de compensar posibles movimientos oculares mínimos, ya que monitoriza el ojo durante la adquisición. Para la reconstrucción de la topografía corneal el software analiza las imágenes obtenidas de la reflexión de ambas caras anterior y posterior de la córnea dando lugar a los mapas de elevación anterior y posterior, cuya substracción da lugar al mapa paquimétrico (Lattimore y cols., 1999).

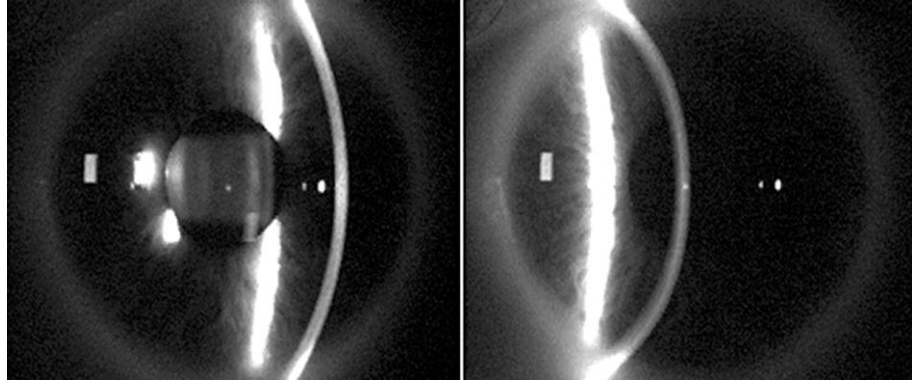


Figura 6. Técnica de adquisición de la paquimetría a través de la topografía de barrido de hendidura. Imágenes de los haces de luz en forma de hendidura proyectados en el segmento anterior ocular.

1.2.2.5 Microscopía Especular

La microscopía especular es una técnica óptica descrita por Vogt en 1920, que no solo permite evaluar la características endoteliales in vivo (González-Méijome y cols., 2010), sino que además aporta información sobre la paquimetría corneal (Modis y cols., 2001a). A través de la proyección de una luz en forma de hendidura se puede cuantificar la distancia entre el rayo reflejado por la cara anterior y posterior de la córnea, dando lugar al grosor corneal.

1.3 CIRUGÍA REFRACTIVA CORNEAL TRAS ABLACIÓN CON LÁSER EXCIMER.

La córnea es la primera superficie (sin tener en cuenta la película lagrimal) en la que inciden los rayos de luz, por lo tanto es el lugar donde se produce el mayor cambio de índice de refracción, lo cual implica que esta zona del ojo será la que mayor poder de refracción aporte al sistema óptico ocular; por lo tanto, pequeños cambios en su curvatura pueden llegar a tener grandes consecuencias refractivas. Consecuentemente, la mayor parte de la técnicas de cirugía refractiva corneal tienen por objetivo alterar de una u otra manera, la forma de la córnea.

José Barraquer reconoció este hecho y fue el primero en introducir y desarrollar técnicas de cirugía refractiva (O'Keefe y Kirwan, 2010). El término cirugía refractiva corneal data de 1949 cuando el Dr. José Barraquer (Bogotá, Colombia) la describió como "modificación de la refracción del ojo por una intervención quirúrgica plástica de la córnea" (Barraquer, 1949; Barraquer, 1958; Barraquer y Gutiérrez, 1999). Dicha intervención quirúrgica la podemos considerar como no invasiva ya que no es necesario penetrar el globo ocular para realizar la modificación óptica.

Posteriormente, en 1976 fue cuando se creó el primer láser excimer cuyo fin inicial fue el grabado de chips de silicona de ordenador. Era un láser de fluoruro de argón (ArF) que emitía con una longitud de onda de 193 nm y una onda de pulso de aproximadamente 10 ns. Estos láseres conseguían destruir y disipar la materia en pequeños fragmentos sin provocar ningún tipo de daño en los tejidos circundantes, ni tampoco efectos térmicos

(O'Keefe y Kirwan, 2010). Esta técnica se conoció posteriormente como fotoablación.

En 1983, Trokel y cols. Detectaron las habilidades de este láser para ser aplicado en el tejido corneal por su gran precisión y porque la energía de los fotones del láser de 193 nm es de 6.4 eV, lo cual excede la fuerza de los enlaces covalentes que existen en muchas moléculas, pudiéndolos separar sin problema. El láser excimer tiene la propiedad de poder levantar o eliminar pequeñas y delgadas capas de células sin dañar los tejidos. Así, la capacidad de este láser para eliminar con precisión el tejido corneal, cambiando su forma y el poder de refracción, se hizo rápidamente evidente. Posteriormente, Munnerlyn y cols. (1988) diseñaron una fórmula matemática para calcular la profundidad de la ablación, el diámetro y la medida de los ángulos en la ablación con el objetivo de aplanar centralmente la córnea, eliminando más tejido en el centro y menos en la periferia (corrección miópica). El resultado fue que la parte central estaba expuesta a cada haz de pulso y la parte periférica a muchos menos pulsos. Inicialmente se utilizaban diámetros de 4 mm pero se asociaban a muchos problemas visuales nocturnos, los cuales se han ido reduciendo tras los cambios de perfil del láser o la incorporación de zonas transición (O'Keefe y Kirwan, 2010).

Las técnicas refractivas corneales se pueden dividir en:

- Técnicas que implican una adicción de tejido o polímeros: Epiqueratoplastia, epiqueratofaquia, implantes o anillos intracorneales (McGhee y cols., 1997; Ismail, 2002)

- Técnicas que consiguen una alteración de la forma de la córnea mediante la generación de calor dentro del estroma por contracción de las fibras de colágeno. Queratoplastia térmica con láser y queratoplastia conductiva (Alió y cols., 2005; Fernandez-Suntay y cols., 2004).
- Técnicas que implican una eliminación de tejido corneal aplicando láser excimer y consiguiendo modificar el poder refractivo de la córnea.

Dentro del último grupo la diferentes técnicas utilizadas actualmente se puede dividir en lamelares o superficiales. Dentro de las primeras se encuentra el “láser in-situ keratomileusis” (LASIK); y dentro de las superficiales o también denominadas técnicas de ablación avanzada de superficie (ASA), se encuentran la queratectomía fotorrefractiva [“Photorefractive keratectomy” (PRK)] asistida con alcohol, el “láser epithelial keratomileusis” (LASEK) y el “epipolis láser in-situ keratomileusis” (epi-LASIK) (McGhee y cols. , 1997).

1.3.1 LAMELAR

La técnica láser in-situ keratomileusis, LASIK (Figura 7), debe su nombre al término Keratomileusis, el cual procede del griego y significa “tallado de la córnea” (keras-con apariencia de cuerno-la córnea) y (smileusis-tallar) (Bores, 1994). El LASIK es la técnica de cirugía refractiva corneal láser más utilizada en el mundo (Duffey RJ y Leaming, 2011) y se ha convertido en la intervención quirúrgica para resolver problemas de refracción más aceptada, desde su introducción en 1990 (Varley y cols.,

2004; Argento y cols., 1997; Steinert y Bafna, 1998; Rashad, 1999; Rapuano, 2006, Sutton y Kim, 2010). El éxito del LASIK deriva de su eficacia, estabilidad, seguridad y una aceptable calidad de visión incluso en defectos de refracción medio-altos (Steinert y Bafna, 1998; Rashad, 1999; Rapuano, 2006).

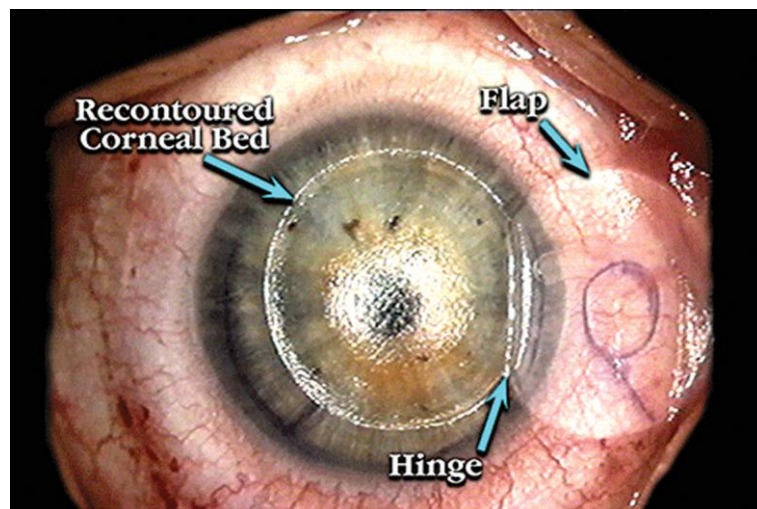


Figura 7. Imagen de una cirugía LASIK (Sutton y Kim, 2010).

Las indicaciones de dicha técnica se han modificado con el tiempo. Durante la década de los 90 se llegó a indicar incluso para miopías mayores de 15.00 D, hipermetropías por encima de 6D y astigmatismos mayores de 6D (Rashad, 1999; Choi y Wilson, 2001; Sugar y cols., 2002; Wu, 2002). Actualmente, dichas recomendaciones están caducas aunque Lindbohm y cols. (2009) ha publicado moderada estabilidad a largo plazo (5 años) incluso en pacientes entre 9.00 y 17.00 D. LASIK posee ciertas ventajas respecto a otras técnicas de cirugía de superficie (ASA) como son la rápida recuperación postoperatoria dando lugar a una agudeza visual aceptable a las pocas horas de la cirugía aun

existiendo edema del colgajo corneal (Varley y cols., 2004; Sugar y cols., 2002; Wu, 2002; Farah y cols., 1998); y dolor mínimo comparado con técnicas de superficie. También posee menor probabilidad de producir opacidad corneal a igual magnitud de substracción de tejido (Kim y cols., 2004). El colgajo que se crea antes de la ablación láser, contiene, las terminaciones nerviosas del epitelio por lo que apenas se produce dolor postoperatorio. Por otra parte, la conservación post-quirúrgica del epitelio corneal y de la membrana de Bowman provoca que la incidencia de opacidad corneal postoperatoria también es mucho menor que en otros tipos de cirugía refractiva (Ambrosio y cols., 2003; Varley y cols., 2004; Sugar y cols., 2002; Wu, 2002; Farah y cols., 1998; Kim y cols., 2004). Sin embargo, la técnica LASIK conlleva la posibilidad de importantes complicaciones relacionadas con el colgajo corneal y está más asociada a las ectasias secundarias que las técnicas de superficie (Sugar y cols., 2002; Farah y cols., 1998).

La rápida evolución de la cirugía refractiva y de los láseres, ha contribuido a que hoy en día, se pueda tratar a un rango muy variable de pacientes, aunque, las características del propio paciente, el tipo de láser utilizado, así como las preferencias del cirujano, determinan en último término, la técnica quirúrgica más adecuada (Choi y Wilson, 2001; Sugar y cols., 2002; Wu, 2002; Farah y cols., 1998; Ambrosio y Wilson, 2003). Igualmente, a pesar de unos excelentes resultados en términos de seguridad (Varley y cols., 2004), surgen problemas asociados a la cirugía, aunque esta haya sido definida como exitosa, como es la sintomatología en condiciones mesópicas bajas (Ambrosio y Wilson,

2003; Bailey y cols., 2003). El desarrollo de nuevos sistemas de microqueratotomía, láseres más eficientes y precisos, y especialmente la optimización de algoritmos para minimizar las aberraciones, han estado orientados a obtener los mejores resultados posibles en este campo (Rapuano, 2006; Macsai y Fontes, 2008; Kim y cols., 2004; Nordan y cols., 2003).

Existen contraindicaciones absolutas para la técnica LASIK que son principalmente la refracción inestable, paquimetría delgada, anomalías topográficas, patología ocular crónica incluidas las cataratas, respuesta cicatricial desmesurada, alteraciones del tejido conectivo. También existen contraindicaciones relativas como son la historia de queratitis por herpes simple o zoster que no hayan demostrado ausencia de síntomas durante el último año (de Rojas y cols. 2006 y 2007), síndrome de ojo seco moderado, úlceras corneales recurrentes y/o atopia (Sutton y Kim, 2010).

La técnica quirúrgica consiste brevemente en instilar en primer lugar de anestésico local y en desinfectar adecuadamente el ojo, la córnea se marca y posteriormente se aplica un láser de femtosegundo (Slade, 2007; Stonecipher y cols., 2006; Patel y cols., 2007) o un microqueratomo para crear un colgajo corneal que se ha ido reduciendo en grosor con el tiempo (rango: 80-180 μm) (Taneri y cols., 2004). Éste es delicadamente retirado para dejar expuesto el estroma corneal dónde se va a aplicar el láser excimer. Posteriormente el colgajo se reposiciona a su lugar de origen, una vez la ablación ha finalizado, comprobando la

perfecta re-colocación. Posteriormente, se aplican antibióticos y corticoides tópicos (Sutton y Kim, 2010).

1.3.2 ABLACIÓN DE SUPERFICIE AVANZADA

El conjunto de técnicas quirúrgicas englobadas en el grupo de ablación de superficie avanzada (ASA) se caracterizan por la retirada del epitelio corneal (siguiendo diferente metodología), la ablación de las estructuras situadas por debajo (Membrana de Bowman y estroma) y la recolocación o eliminación del epitelio previamente retirado.

Las ventajas de la ASA sobre el LASIK son: ausencia de complicaciones relativas al colgajo corneal, técnica menos invasiva, menor riesgo de ectasia a igual magnitud de ablación láser y ausencia de creación de un espacio virtual como es la interfase del colgajo en el LASIK (O'Keefe y Kirwan, 2010).

Las indicaciones para la utilización de técnicas tipo ASA son habitualmente: paquimetría relativamente delgada ($< 500 \mu\text{m}$) o córneas muy planas ($\leq 39 \text{ D}$), candidatos que realicen deportes de contacto o profesiones que requieran contacto físico, historia de erosión corneal recidivante o distrofia de la membrana basal (Vinciguerra y Muñoz, 2002; de Benito-Llopis y cols., 2007). Igualmente, es una buena opción en aquellos pacientes que hayan tenido problemas durante la microqueratotomía del LASIK (Weisenthal y cols., 2003; Salz, 2003).

Las contraindicaciones deberían ser similares a las del LASIK en términos de posibilidad de desarrollar ectasia post-quirúrgica, no

obstante, esta técnica podría llegar a considerarse adecuada en aquellos pacientes con formas frustres de ectasia corneal, ya que Alpíns y Stamatelatos (2007) no han encontrado progresión de la ectasia subclínica tras 5 años de seguimiento post-ASA; muy al contrario que otros autores que si han publicado tal progresión tras ASA (Reznik y cols., 2008). Por lo tanto, la aplicación de ASA en estos pacientes sigue siendo muy controvertida.

Dentro de las técnicas englobadas en el término ASA podemos encontrar pequeñas variaciones en la técnica quirúrgica. La selección de una u otra, depende principalmente de las preferencias del cirujano, ya que no se han publicado diferencias importantes entre una u otra en términos de agudeza visual, refracción residual u opacidad corneal a medio plazo (O'Doherty y cols., 2007; Teus y cols., 2008; Hondur y cols., 2008); ni se han encontrado tampoco diferencias significativas en los resultados postoperatorios en función de la reposición o no del epitelio (Taneri y cols., 2011b; Kalyvianaki y cols., 2008). Además, en términos de agudeza visual no corregida, Miyai y cols. (2008) no han encontrado diferencias significativas entre LASIK y ASA a los dos años post-cirugía corneal.

Queratectomía Fotorefractiva [(Photorefractive Keratectomy (PRK)]

La queratectomía fotorreactiva o PRK (término anglosajón) se describió por primera vez a principios de la década de los 80. En

1995 la FDA la aprobó para la corrección de la miopía y en 1998 para la de la hipermetropía (Wu y Demers, 1996). Esta fue la primera técnica disponible de ablación corneal con láser y consistía en la desepitelización mecánica de la superficie corneal y la posterior ablación de la membrana de Bowman y el estroma. Actualmente, la separación del epitelio no se realiza de forma mecánica (Pallikaris y cols., 1994), sino que se aplica habitualmente alcohol diluido que está en contacto con la córnea durante 20-30 segundos, al igual que para la técnica LASEK.

Láser Epithelial Keratomileusis (LASEK)

En 1996, Azar y cols. (2001) diseñaron un procedimiento que denominaron “alcohol-assisted flap PRK”, siendo posteriormente denominado LASEK por Camellin (2003); fue concebido como una mezcla entre PRK y el LASIK. Esta técnica implica la reducción química de las adhesiones del epitelio corneal, mediante la aplicación de una solución de alcohol diluida (15-30%), colocada sobre un instrumento especial que hace las veces de recipiente, de unos 8-9 mm de diámetro sobre la superficie corneal.

El alcohol favorece la pérdida de adhesión entre las uniones celulares, de tal manera que el epitelio puede ser desprendido con facilidad y retirado para realizar la ablación con láser excimer directamente sobre la membrana de Bowman y estroma, y

posteriormente ser recolocado en su situación inicial. (O'Keefe y Kirwan 2010).

Debido a las propias características de la técnica quirúrgica (al igual que la PRK), se aconseja en candidatos a cirugía refractiva que tengan historia de erosiones epiteliales recurrentes, pacientes jóvenes o que realicen deportes de contacto, y también en candidatos con una paquimetría preoperatoria reducida, ya que debilita la córnea en menor grado que el LASIK, desde el punto de vista biomecánico (Qazi y cols., 2009). Paralelamente, es una técnica más cómoda y menos traumática para realizar en pacientes con los ojos hundidos o con poca apertura palpebral, ya que en este campo, la aplicación del microqueratomo podría ser más difícil. Esta misma indicación ha de ser considerada también, en pacientes muy nerviosos o con alto grado de ansiedad. Y especialmente, en aquellos que hayan tenido alteraciones intraoperatorias durante la cirugía LASIK (ej. Agujero ojal) o también vayan a retratarse por regresión miópica tras cirugía primaria de LASIK.

Epipolis (epitelial) láser in-situ keratomileusis (epi-LASIK)

El tercer tipo más común de ASA es el epi-LASIK, que es una técnica descrita por Pallikaris y cols. en 2003 en el que se usa un epiqueratomo para separar mecánicamente la capa epitelial por debajo de la membrana basal y justo por encima de la membrana

de Bowman. Tras esto, la mayoría de las células resultan viables (Pallikaris y cols., 2003) y no existe la necesidad de usar alcohol, el cual es potencialmente toxico para el epitelio y el estroma corneal.

2. JUSTIFICACIÓN

La medida de la paquimetría central posee gran relevancia clínica en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades oculares porque es un indicador directo de la funcionalidad endotelial, estromal y epitelial de la córnea (Christensen y cols., 2008). La paquimetría es necesaria para realizar un adecuado seguimiento de patologías del segmento anterior como puedan ser las ectasias corneales primarias y secundarias (Schweitzer y cols., 2010); el edema corneal pre y post-queratoplastia (Chang y cols., 2010) o el producido por uso de lentes de contacto (Martín y cols., 2007). También es fundamental en el diagnóstico y pronóstico del glaucoma o la hipertensión ocular (Gordon y cols., 2002), debido a que se ha estimado que cada 40 μm de reducción sobre la paquimetría corneal media existe 1.71 veces más riesgo de desarrollar glaucoma de ángulo abierto.

Igualmente, en el ámbito de la cirugía refractiva, la magnitud del grosor corneal central es una variable esencial para determinar el procedimiento quirúrgico primario o secundario más adecuado para cada paciente (Randleman y cols., 2008a, 2008b; Binder, 2010), ya que se ha estimado que una paquimetría central total preoperatoria menor a 500 μm (Randleman, 2006) o una grosor residual del lecho estromal menor a 250 μm son una contraindicación para llevar a cabo dicha cirugía corneal (Randleman y cols., 2008a). Lo cual también debe aplicarse a aquellos pacientes a los que se vayan a realizar procedimientos quirúrgicos fototerapéuticos (Vinciguerra, 2005).

Existe un número cada vez más creciente de pacientes operados de cirugía refractiva corneal mediante láser excimer; por lo tanto, se antoja necesario conocer cuál es la fiabilidad de las medidas paquimétricas que habitualmente se obtienen en la consulta policlínica oftalmológica en dichos pacientes, porque su magnitud no solo tiene gran importancia en la evaluación del retratamiento refractivo con láser excimer, sino también en el posible futuro diagnóstico de glaucoma e incluso, en el cálculo de la lente intraocular más adecuada en la cirugía de catarata (Hamed y cols., 2002).

Históricamente, la técnica “gold standard” de medida paquimétrica ha sido la ultrasónica convencional debido a su gran simplicidad y fiabilidad (Ishibazawa y cols., 2011; Javaloy y cols., 2004). Sin embargo, esta técnica requiere contacto corneal con la sonda ultrasónica, lo cual conlleva numerosas desventajas como la utilización de anestésico tópico, el riesgo de contaminación microbiana o la posibilidad de crear daño en el epitelio corneal (Ishibazaw y cols., 2011; Javaloy y cols., 2004). Además, al ser un método manual, la fiabilidad de la medida puede llegar a variar excesivamente en función de la cantidad de indentación corneal que se realice o del posicionamiento de la sonda en cada medida (Kawana y cols., 2004). Por lo tanto, es preferible la utilización de métodos de no contacto automáticos que aporten la misma información sin causar tanta molestia ocular en el paciente y además, se realicen de forma aún más rápida.

La utilización de la técnica de topografía de barrido de hendidura (TBH), así como la basada en la microscopía especular (ME) para el diagnóstico de anomalías corneales, son procedimientos habituales en la clínica actual (Kaya y cols., 2008; Mathew y cols., 2011). Ambas técnicas diagnósticas

tienen la capacidad de ofrecer también medidas paquimétricas, por lo tanto, podrían ser buenas alternativas al uso de la técnica ultrasónica convencional en aquellos pacientes operados de cirugía refractiva corneal. Sin embargo, es fundamental conocer cuál es el error de medida aleatorio (repetibilidad y reproducibilidad) de estas técnicas de no contacto con el objetivo de realizar adecuadamente la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas.

Se debe tener en cuenta que existen básicamente dos tipos diferentes de errores cuando se realizan medidas biométricas, en este caso paquimétricas: errores sistemáticos (error de calibración y/o tendencias en función de la magnitud de medida), los cuales engloban principalmente las diferencias de medida de una determinada técnica en relación a la técnica considerada “gold standard”; y errores aleatorios, los cuales determinan fiabilidad (repetibilidad y reproducibilidad) de las medidas obtenidas por una técnica en función de la similitud de las medidas ofrecidas por dicha técnica, independiente de que exista o no un error sistemático (Bland M, 2000).

Los errores sistemáticos existentes entre las técnicas TBH y ME en relación al “gold standard” ultrasónico en pacientes ablacionados con láser excimer ya han sido publicados (Kawana y cols., 2004; Zhao y cols., 2007). Sin embargo, los errores aleatorios utilizando ambas técnicas TBH y ME no han sido estudiados ni en pacientes operados de LASIK ni de ASA. Consecuentemente, la presente tesis doctoral tiene por objetivo principal determinar la fiabilidad de medida de la paquimetría central de las técnicas TBH y ME en pacientes operados de cirugía refractiva corneal.

3. HIPÓTESIS

Las medidas de la paquimetría óptica de no contacto utilizando las técnicas denominadas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular son clínicamente fiables e intercambiables en pacientes operados de cirugía refractiva corneal primaria tras fotoablación con láser excimer.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

Establecer la fiabilidad de medida paquimétrica de no contacto de las técnicas denominadas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular en pacientes operados de cirugía refractiva corneal mediante laser excimer

4.2 ESPECÍFICOS

.- Determinar la repetibilidad intra-sesión y la reproducibilidad inter-sesión de la paquimetría central con las técnicas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular, y su intercambiabilidad en pacientes operados de LASIK.

.- Establecer la repetibilidad intra-sesión y la reproducibilidad inter-sesión de la paquimetría central con las técnicas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular, y su intercambiabilidad en pacientes operados de ASA.

.- Estimar la variabilidad existente en la medida de la paquimetría central realizada por dos examinadores utilizando las técnicas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular distintos en pacientes fotoablacionados con láser excimer.

.- Determinar si la fiabilidad de las medidas paquimétricas mínima y paracentral difieren de la central utilizando la técnica topográfica de barrido de hendidura en pacientes fotoablacionados con láser excimer.

5. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 PACIENTES

Los pacientes reclutados para el presente estudio científico fueron aquellos que previamente habían sido operados de cirugía refractiva corneal siguiendo las técnicas LASIK y ASA.

Los criterios de inclusión comunes para ambos grupos fueron: cirugía corneal láser excimer miópica primaria, ser mayor de 18 años y firmar el consentimiento informado.

Los criterios de exclusión comunes para ambos grupos fueron: ectasia post-cirugía láser, patología ocular activa, patología sistémica del tejido conectivo, embarazo o lactancia y retratamiento previo de cirugía corneal láser excimer.

Los criterios de exclusión específicos para los operados de LASIK fueron: hipermetropía post-operatoria mayor a 0.50 D, astigmatismo mixto y miopía o astigmatismo postoperatorio progresivo (este último se definió como un cambio en la refracción cilíndrica mayor a 0.25 D o en el eje mayor a 15 grados).

Los criterios de exclusión específicos de los pacientes operados de ASA fueron: agudeza visual inferior a la unidad a los 6 meses de la cirugía y opacidad corneal clínicamente significativa. Para determinar la ausencia de opacidad corneal se utilizó la escala de valoración biomicroscópica in vivo de Hanna que asigna un "0" a la ausencia de opacidad corneal clínicamente

significativa y un 4 al leucoma corneal (Hashemi y cols., 2004; Nakamura y cols., 2001).

5.2 TÉCNICAS DE EVALUACIÓN PAQUIMÉTRICA

5.2.1 TOPOGRAFÍA DE BARRIDO DE HENDIDURA

La topografía de barrido de hendidura (TBH) corneal, originaria del término anglosajón “scanning-slit”, la realiza el topógrafo comercial denominado Orbscan II (Bausch & Lomb), el cual al mismo tiempo utiliza la técnica del disco de Plácido para aportar información relativa a la queratometría corneal (Cairns, 2005).

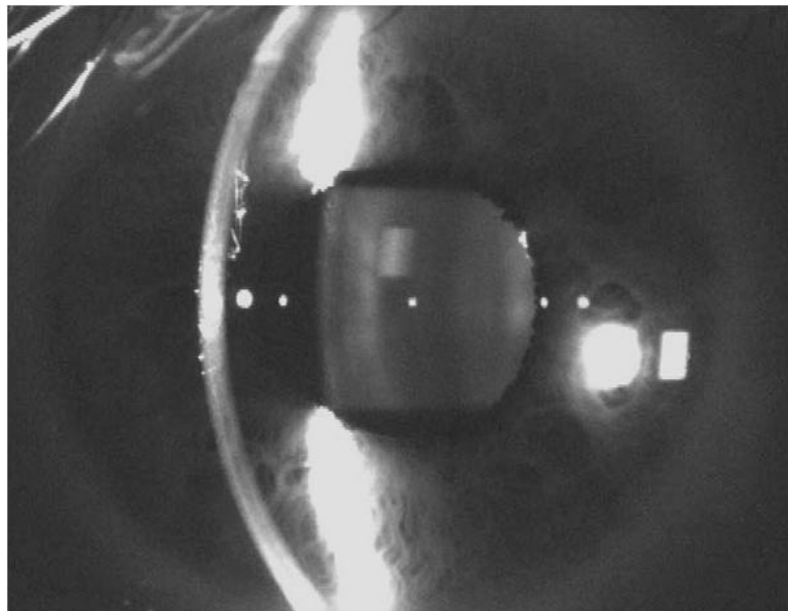


Figura 8. Proyección del haz de luz en forma de hendidura utilizado por el sistema Orbscan II.

La TBH es una técnica óptica de no contacto que proyecta 40 haces de luz (Figura 8) consecutivos hacia la córnea en forma de sección óptica dando lugar a 250 puntos cada uno. Dichas secciones ópticas tienen una altura de 12.50 mm y una anchura de 0.30mm. Se proyectan 20 secciones desde la derecha y otras 20 desde la izquierda, aunque todas poseen una angulación de 45 grados (Cairns, 2005).

Cuando los haces de luz atraviesan la córnea se produce una reflexión de la luz en la cara anterior y posterior, que es detectada por el sistema de imagen del topógrafo para obtener la información corneal necesaria para reconstruirla en forma de imagen topográfica. Una vez finalizado el proceso de captura, el software interno analiza la calidad de la imagen, la cual se ha podido deteriorar por el excesivo movimiento ocular que si es mínimo, se puede compensar a través del propio software del Orbscan II (Cairns, 2005). Una vez almacenadas las imágenes de alta calidad, el software del topógrafo es capaz de detectar el límite anterior de cada sección óptica capturada, que se utiliza para reconstruir topográficamente en tres dimensiones la cara anterior de la córnea utilizando un algoritmo de triangulación (Fam y cols., 2005). Dicho procesamiento es similar para la reconstrucción queratométrica a partir del disco de Plácido proyectado en la córnea. Posteriormente, se produce una segunda “triangulación” para recrear la información relativa a la cara posterior de la córnea, al iris y cristalino anterior, basándose en las reconstrucciones primarias de la cara anterior y en los distintos índices de refracción de cada estructura. Esta segunda “triangulación” utiliza el mapa de elevación de la cara anterior para determinar

exactamente la localización de entrada de los haces de luz de las secciones ópticas y el mapa de curvatura para estimar el ángulo de incidencia. Finalmente, el mapa paquimétrico corneal se obtiene tras el cálculo de las distancias existentes entre los diferentes puntos situados en ambos mapas de elevación anterior y posterior (Cairns, 2005).

5.2.2 MICROSCOPIA ESPECULAR

La microscopía especular (ME) es también una técnica óptica muy extendida en la clínica diaria ya que realizando una sola medida se obtiene información de la integridad endotelial y de la magnitud paquimétrica de la córnea (Ventura y cols., 2001).

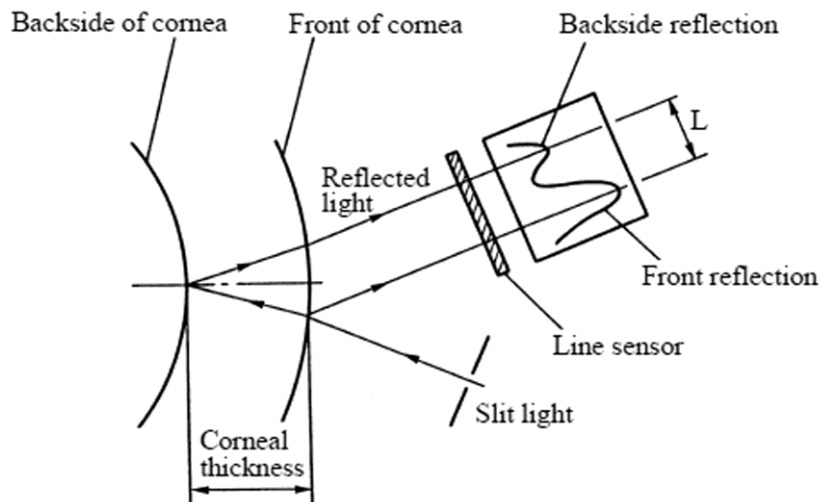


Figura 9. Técnica de medición de la paquimetría a través de microscopía especular (Manual de usuario de Topcon)

Al igual que la técnica TBH, utiliza un haz de luz en forma de sección óptica que se proyecta con una angulación determinada (entorno a 22 grados); dicho haz de luz se refracta y sobre todo, se refleja tanto en la cara anterior como en la posterior (Figura 9); por lo tanto, el sistema de imagen del ME es capaz de captar ambas reflexiones en ambas caras, y por medio de un sensor lineal determina la magnitud de la paquimetría en esa determinada localización (Topcon, manual de usuario).

5.3 DISEÑO DE LOS ESTUDIOS.

A continuación se detalla la metodología de medida realizada para cada objetivo específico.

Todas las medidas paquimétricas se realizaron siempre por un único observador experimentado cuando se evaluaron la repetibilidad intra-sesión, la reproducibilidad inter-sesión y la intercambiabilidad entre ambas técnicas paquimétricas para cada técnica de fotoablación láser (LASIK o ASA). El orden de adquisición de la paquimetría central cuando se utilizaron las dos técnicas de no contacto se aleatorizó siguiendo una tabla de aleatorización generada por un software específico. Cuando se evaluó la reproducibilidad inter-observador, el orden de adquisición de las medidas paquimétricas por cada observador, fue igualmente aleatorizado. Siempre se utilizó un único ojo de cada paciente para ser incluido en el estudio que igualmente se determinó de forma aleatoria siguiendo otra tabla distinta de aleatorización.

5.3.1 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad en LASIK.

En aquellos pacientes operados de LASIK que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión se evaluó la repetibilidad intra-sesión, la reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad de la paquimetría central de ambas técnicas de no contacto: TBH y ME.

Para evaluar la repetibilidad de ambas técnicas se realizaron 10 medidas consecutivas por el mismo examinador, con el mismo aparato y en el menor tiempo posible en 22 pacientes distintos.

Para evaluar la reproducibilidad, se realizó una medida paquimétrica llevada a cabo por el mismo examinador que la primera, durante una segunda sesión y siguiendo la misma metodología de medida que en la primera sesión. La primera sesión se realizó a los 6 meses de la cirugía LASIK primaria, mientras que la segunda sesión se realizó a los 9 meses del LASIK primario. Para evaluar la reproducibilidad inter-sesión se incluyeron un total de 50 pacientes.

Para evaluar la intercambiabilidad entre ambas técnicas paquimétricas se realizó una sola medida con cada técnica por un solo examinador en un orden aleatorizado en 118 pacientes a los 9 meses de operarse de miopía LASIK.

5.3.2 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad en ASA.

En aquellos pacientes operados de ASA que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión se evaluó la repetibilidad intra-sesión, la reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad de la paquimetría central de ambas técnicas de no contacto: TBH y ME.

Para evaluar la repetibilidad de ambas técnicas se realizaron 5 medidas consecutivas por el mismo examinador, con el mismo aparato y en el menor tiempo posible en 63 pacientes distintos.

Para evaluar la reproducibilidad, se realizó una medida paquimétrica llevada a cabo por el mismo examinador que la primera medida durante una segunda sesión, y siguiendo la misma metodología de medida que en la primera sesión. La primera sesión se realizó a los 6 meses de la cirugía ASA primaria, mientras que la segunda sesión se realizó con una semana de diferencia respecto de la primera. La reproducibilidad inter-sesión se evaluó en 24 pacientes distintos.

Para evaluar la intercambiabilidad entre ambas técnicas paquimétricas se escogió la primera medida paquimétrica de las 5 realizadas por el primer observador con ambas técnicas TBH y ME.

5.3.3 Reproducibilidad inter-observador de la paquimetría central tras fotoablación con láser excimer.

Para estimar como afecta la variabilidad de la medida de la paquimetría central realizándose por dos observadores distintos utilizando las

técnicas de no contacto TBH y ME, se evaluó la reproducibilidad inter-observador en pacientes fotoablacionados con láser excimer (técnica ASA) de forma primaria. Para ello, dos examinadores formados independientemente en la realización de ambas técnicas obtuvieron medidas de la paquimetría central. Se incluyeron un total de 63 pacientes.

5.3.4 Repetibilidad de la paquimetría mínima y paracentral de la técnica tbh tras fotoablación con láser excimer.

Para establecer la diferencia en la variabilidad de medida entre la paquimetría central y la correspondiente a la mínima y las zonas paracentrales superior, inferior, nasal y temporal, se evaluó la repetibilidad intra-sesión utilizando la técnica TBH en pacientes fotoablacionados con láser excimer (ASA) de forma primaria a los 6 meses de la cirugía. Se realizaron 5 medidas consecutivas por el mismo examinador, con el mismo aparato y en el menor tiempo posible en 63 pacientes distintos.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.4.1 Repetibilidad intra-sesión

Para calcular la repetibilidad intra-sesión de la paquimetría central utilizando las técnicas TBH y ME, y la paquimetría mínima y paracentrales (superior, inferior, nasal y temporal) utilizando la técnica TBH, se aplicó la metodología estadística de análisis de la varianza (término anglosajón "ANOVA") (Bland, 2000; Bland & Altman, 1996a). Por lo tanto, la desviación estándar intra-sujeto (DS_i) que se utilizó para determinar la variabilidad de la paquimetría, correspondió a la raíz cuadrada de los cuadrados medios intra-sujetos. La precisión también se calculó y se definió, desde un punto de vista estadístico, como la diferencia entre la paquimetría obtenida con el aparato de no contacto y la paquimetría verdadera (que es la paquimetría media que se obtendría realizando numerosas mediciones) para el 95% de las observaciones; la precisión tiene un valor estadístico de 1.96 veces la DS_i (Bland, 2000). También se calculó la repetibilidad y se definió como el valor máximo de la diferencia entre dos medidas consecutivas con una probabilidad de un 95%; la repetibilidad estadísticamente posee un valor de 2.77 veces la DS_i (Bland, 2000). El coeficiente de variación intra-sujeto (CV_i) también se halló, y se definió como el cociente entre la DS_i y la media de las observaciones; se expresó en términos porcentuales (Bland, 2000). Finalmente también se evaluó la fiabilidad intra-sesión del método de medida a través del coeficiente de correlación intra-clase (CCI) (Bland & Altman, 1996b).

5.4.2 Reproducibilidad inter-sesión

En primer lugar se aplicó el test t pareado con el objetivo de determinar si había diferencias sistemáticas significativas entre las medidas paquimétricas centrales obtenidas con ambas técnicas de no contacto (TBH y ME). Posteriormente, para calcular la reproducibilidad inter-sesión de la paquimetría central se utilizó metodología estadística descrita por Bland & Altman. Se obtuvieron gráficos representando las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones y las medias paquimétricas de ambas sesiones para determinar si había relación entre la diferencias paquimétricas y el rango de medida paquimétrico (Bland, 2000; Bland & Altman, 1986). El 95% de los límites de concordancia (LC) se definieron como la diferencia media entre la media de las paquimetrías centrales realizadas durante ambas sesiones ± 1.96 veces la desviación estándar (DS) de la diferencia entre sesiones. También se calculó la DS_i inter-sesión (metodología estadística ANOVA), la precisión (1.96 veces el DS_i inter-sesión), la reproducibilidad (2.77 veces el DS_i inter-sesión), y el CV_i inter-sesión que se definió como el cociente entre la DS_i inter-sesión y la media paquimétrica central en términos porcentuales (Bland, 2000). Finalmente, se calcularon los CCI inter-sesión para evaluar la fiabilidad inter-sesión del método de medida (Bland & Altman, 1996b).

5.4.3 Intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas

En primer lugar, el test t pareado se utilizó para determinar si había diferencias sistemáticas significativas entre las medidas paquimétricas centrales obtenidas con ambas técnicas de no contacto (TBH y ME).

Posteriormente, para calcular el grado de acuerdo o concordancia entre las dos técnicas paquimétricas de no contacto (TBH y ME) se utilizó metodología estadística tipo Bland & Altman. Por lo tanto, se realizaron gráficos representando las diferencias paquimétricas entre ambas técnicas y las medias paquimétricas de ambas técnicas para determinar si había relación entre la diferencias paquimétricas y el rango de medida paquimétrico (Bland, 2000; Bland & Altman, 1986). Igualmente se calculó el 95% de los límites de concordancia (LC), los cuales se definieron como la diferencia media entre la media de las medidas paquimétricas centrales obtenidas con cada técnica ± 1.96 veces la desviación estándar (DS) de la diferencia entre técnicas.

En el caso en que el análisis gráfico convencional tipo Bland & Altman demostrase que las diferencias entre las medidas paquimétricas centrales obtenidas por ambas técnicas tendían a ser mayores y/o menores en función de la magnitud de la paquimetría de forma significativa, conjuntamente con el análisis Bland & Altman convencional, también se aplicó el modelo de regresión basado en los residuos absolutos también descrito por Bland & Altman (1999), con el objetivo de conseguir un mejor ajuste tanto de la diferencia media entre técnicas como de los LC. Dicho modelo de regresión define de mejor forma la relación entre la diferencia y la magnitud media de las medias paquimétricas, dando lugar a una mejor descripción de la diferencia media entre ambas técnicas paquimétricas (Bland & Altman, 1999).

Aplicando el mencionado modelo de regresión de cálculo de los LC según Bland & Altman (1999), se definió mas acertadamente la

diferencia media entre técnicas y el 95% de los LC para cada magnitud paquimétrica evaluada.

5.4.4 Reproducibilidad inter-observador

Se utilizó el test t pareado para determinar si había diferencias sistemáticas significativas entre las medidas de paquimetría central obtenidas por cada observador para cada técnica de no contacto evaluada (TBH y ME).

Se calculó la DS_i inter-observador utilizando el análisis ANOVA, la precisión (1.96 veces el DS_i inter-observador), la reproducibilidad (2.77 veces el DS_i inter-observador), y el CV_i inter-observador, el cual se definió como el cociente entre la DS_i inter-observador y la media paquimétrica central en términos porcentuales (Bland, 2000). Finalmente, se calcularon los CCI inter-observador para evaluar la fiabilidad inter-examinador del método de medida (Bland & Altman, 1996b). En el caso en que se cumpliera la asunción de ausencia de relación significativa entre la magnitud paquimétrica y la DS, los resultados obtenidos a través de la metodología estadística ANOVA, no se consideraron fiables, ya que la variabilidad de la medida dependía de la propia magnitud de medida (Bland & Altman, 1996c).

Para determinar la reproducibilidad inter-observador también se utilizó de nuevo el análisis gráfico convencional tipo Bland & Altman, de tal forma que se obtuvieron gráficos representando las diferencias paquimétricas entre ambos examinadores y sus medias paquimétricas

con el objetivo de determinar si había relación entre las diferencias paquimétricas y el rango de medida paquimétrico (Bland, 2000; Bland & Altman, 1986). El 95% de los LC se definieron como la diferencia media entre la media de las paquimetrías centrales obtenidas por ambos observadores ± 1.96 veces la desviación estándar (DS) de la diferencia entre examinadores.

Todas las variables se introdujeron en una base de datos específicamente creada para la ocasión y se analizaron utilizando el programa SPSS para Windows (SPSS, Cary, NC). Se calcularon las medias y las DS para aquellas variables que mostraron distribución paramétrica evaluada con el test Kolmogorov-Smirnov. Por el contrario, en las variables que tenían distribución no paramétrica se calculó el valor de la mediana (percentil 50) y el rango intercuartil (valores comprendidos entre el percentil 25 y 75). El coeficiente de correlación por rangos de Kendall se utilizó para determinar si existía relación significativa entre las medias paquimétricas y sus DS, antes de realizar los análisis de repetibilidad y reproducibilidad para cada técnica paquimétrica. El coeficiente de correlación de Spearman se utilizó para determinar si había asociación significativa entre las diferencias y las magnitudes medias paquimétricas tras realizar el análisis gráfico tipo Bland & Altman. Para todos los análisis estadísticos un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo.

6. RESULTADOS

6.1 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN, REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN E INTERCAMBIABILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA CENTRAL EN LASIK UTILIZANDO LAS TÉCNICAS TBH Y ME.

6.1.1 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN EN LASIK

La repetibilidad se estudio en 22 ojos de 22 pacientes (7 hombres y 15 mujeres). La edad media fue de 32.9 +/- 7.6 años (rango: 24-49). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.5 D (rango intercuartil: -0.25 a -1.00 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.50 D (rango intercuartil: -0.5 a -0.75 D).

No hubo correlación significativa entre la DS de las medidas paquimétricas y la media de las 10 paquimetrías repetidas para la técnica TBH ($p = 0.5$) ni para la técnica ME ($p = 0.7$).

En la tabla 3 se muestra la media de las paquimetrías centrales medidas con las técnicas TBH y ME, la DS_i, la precisión, la repetibilidad y el CV_i intra-sesión. El valor de los CCI intra-sesión fue de 0.98 (95% IC: 0.96-0.99) para la técnica TBH y 0.99 (95% IC: 0.97-0.99) para la técnica ME.

Tabla 3. Resultados del análisis ANOVA de la repetibilidad intra-sesión en LASIK para la paquimetría central.

TÉCNICA	Paquimetría Media Total (Rango)	DS_i (95% IC)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC)	Repetibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC)	CV_i (%) (95% IC)
TBH (µm)	474.9 (380 –548)	7.31 (6.59/8.03)	14.3 (12.9/15.7)	20.2 (18.2/22.2)	1.5 (1.3/1.8)
ME (µm)	482.8 (409-539)	4.61 (4.15/5.06)	9.0 (8.1/9.9)	12.8 (11.5/14.0)	1.0 (0.6/1.2)

DS_i: Desviación estándar intra-sujeto. IC: Intervalo de confianza. CV_i: Coeficiente de variación intra-sujeto. TBH: Topografía de barrido de hendidura. ME: Microscopía especular.

6.1.2 REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN EN LASIK

La reproducibilidad inter-sesión se analizó en 50 ojos de 50 pacientes (23 mujeres y 27 hombres) cuya media de edad fue de 34.6 +/- 8.1 años (Rango: 26-48). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.50 D (Rango intercuartil: 0.00 a -0.75 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.5 D (Rango intercuartil: -0.50 a -1.00 D).

En la tabla 4 se muestra la media de las paquimetrías centrales obtenidas con las técnicas TBH y ME durante ambas sesiones, la DS_i, la precisión, la reproducibilidad y el CV_i inter-sesión. El valor de los CCI inter-sesión fue de 0.95 (95% IC: 0.91-0.97) para la técnica TBH y 0.96 (95% IC: 0.92-0.98) para la técnica ME.

Tabla 4. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-sesión en LASIK para la paquimetría central.

TÉCNICA	Paquimetría Media Total (Rango) (μm)	DS_i (95% IC)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC)	Reproducibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC)	CV_i (%) (95% IC)
TBH (μm)	441.3 (353-533)	10.64 (5.23/15.87)	20.8 (10.25/31.10)	29.5 (14.48/43.95)	2.41 (1.18/3.59)
ME (μm)	456 (397/540)	7.05 (3.75/10.80)	13.8 (7.35/21.17)	19.5 (10.38/29.91)	1.54 (0.82/2.36)

DS_i: Desviación estándar intra-sujeto. IC: Intervalo de confianza. CV_i: Coeficiente de variación intra-sujeto. TBH: Topografía de barrido de hendidura. ME: Microscopía especular.

Las diferencias paquimétricas medias entre los valores obtenidos durante la primera y segunda sesión para la técnica TBH fue de $-2.84 \mu\text{m}$ (95% IC: -7.08 a -1.40) $\pm 14.92 \mu\text{m}$ y para la técnica ME fue de $0.60 \mu\text{m}$ (95% IC: 2.32 a -3.52) $\pm 10.05 \mu\text{m}$; no siendo la diferencia significativa en ninguno de los dos casos ($p= 0.18$ y $p= 0.67$, respectivamente).

Los gráficos tipo Bland & Altman (Figura 10 y 11) demostraron que no había relación entre las diferencias y las magnitudes paquimétricas para ninguna de las dos técnicas. En la figura 12 y 13 se demuestra que las diferencias paquimétricas entre sesiones siguió una distribución normal, de tal forma que se confirmó la idoneidad del análisis Bland & Altman.

Los LC superior e inferior, así como la anchura de los mismos para las

diferencias paquimétricas halladas entre ambas sesiones se muestran en la tabla 5.

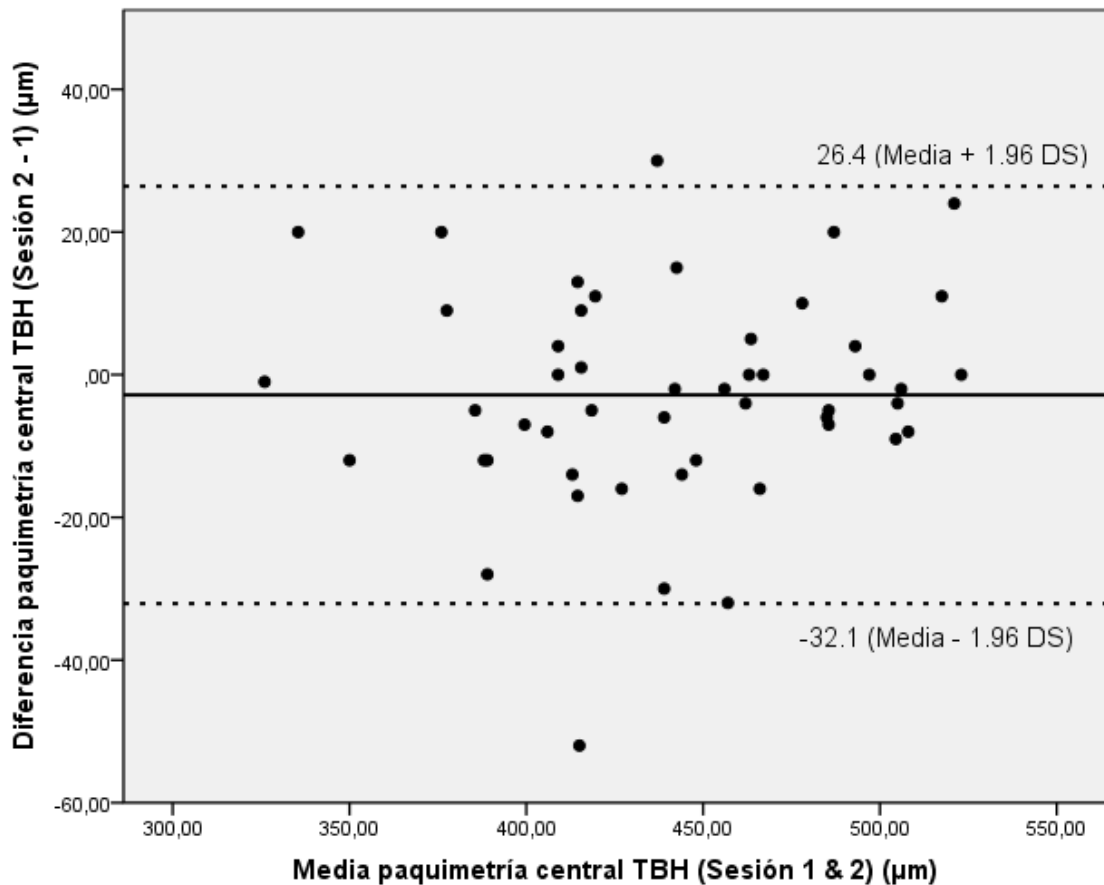


Figura 10. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 con la técnica topografía de barrido de hendidura tras LASIK. Las líneas horizontales continuas determinan la diferencia media (sistemática) entre sesiones. Las líneas discontinuas superiores indican al límite de concordancia superior y las líneas inferiores muestran el límite de concordancia inferior.

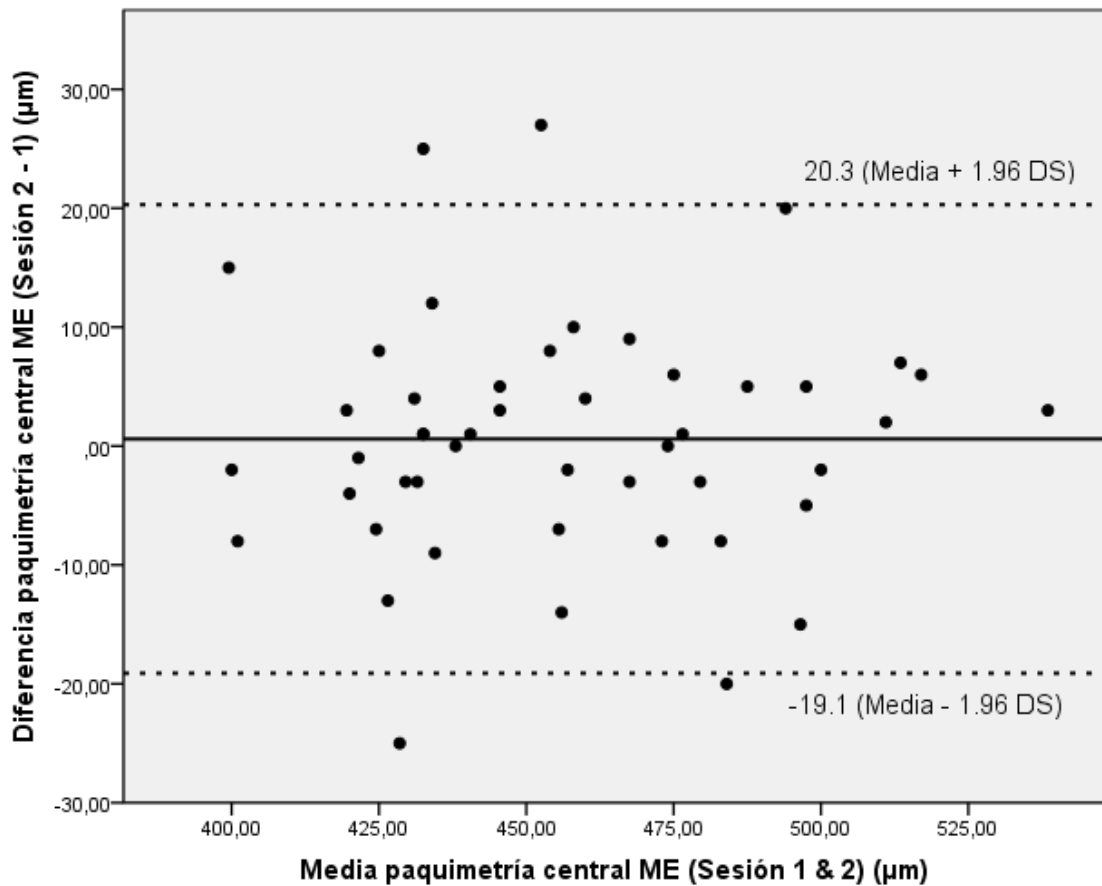


Figura 11. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 con la técnica de microscopía especular tras LASIK. Las líneas horizontales continuas determinan la diferencia media (sistemática) entre sesiones. Las líneas discontinuas superiores indican al límite de concordancia superior y las líneas inferiores muestran el límite de concordancia inferior.

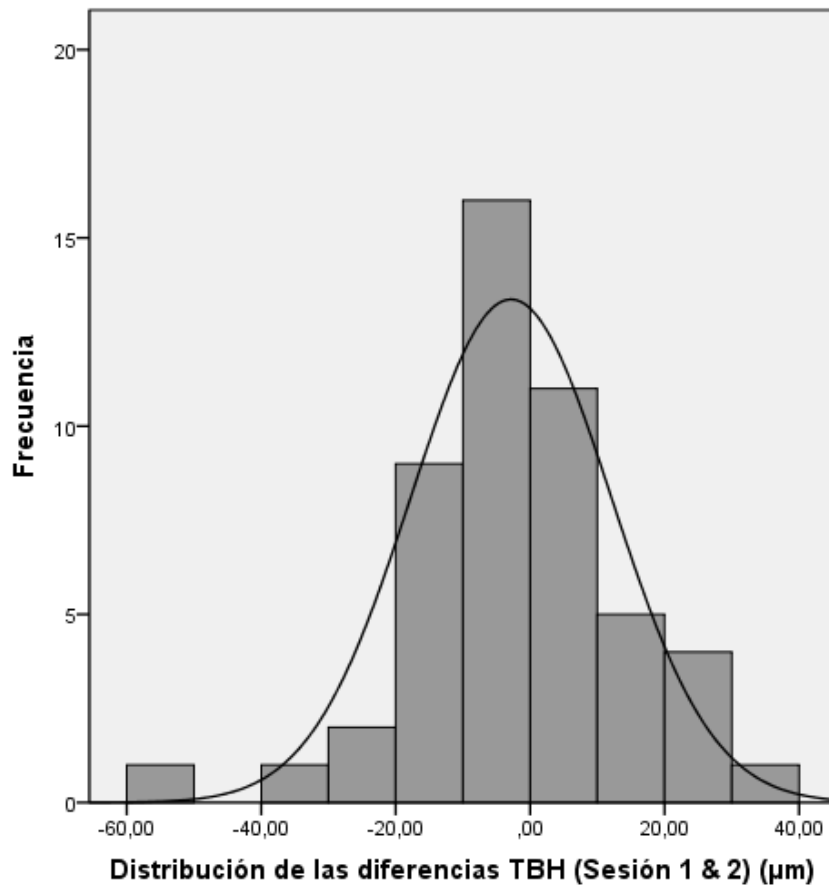


Figura 12. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida para la técnica topografía de barrido de hendidura.

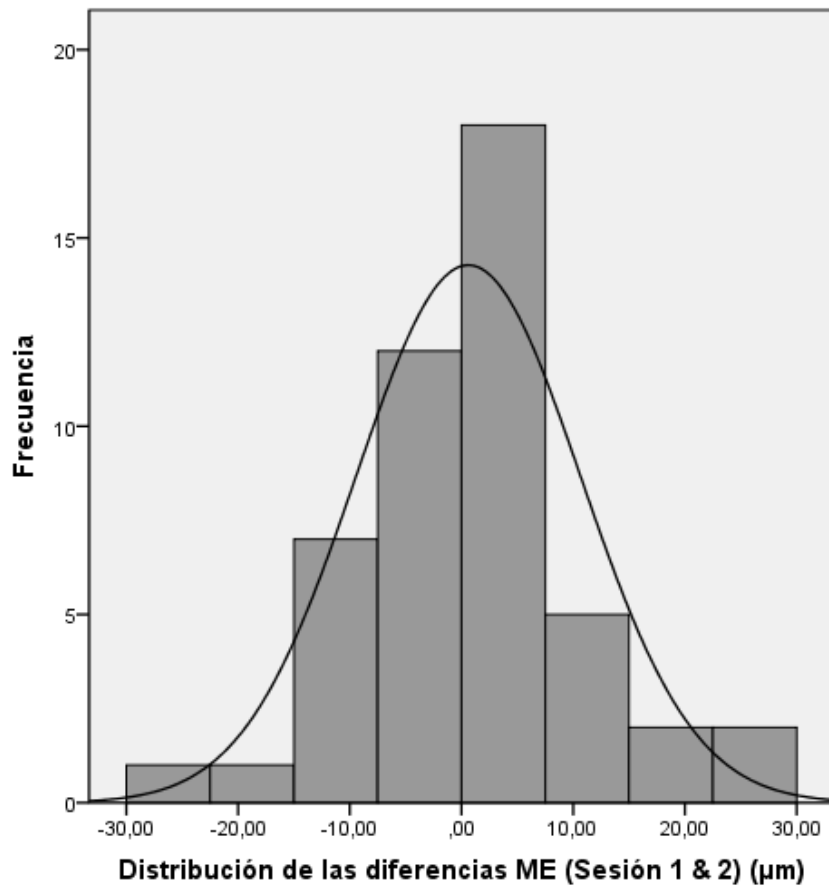


Figura 13. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida para la técnica de microscopía especular.

Tabla 5. Límites de concordancia del 95% correspondientes a la reproducibilidad inter-sesión en LASIK para la paquimetría central.

	Topografía de Barrido de Hendidura	Microscopía Especular
LC Superior (95% IC)	26.4 (23.4 / 29.4) µm	20.3 (17.9 / 22.8) µm
LC Inferior (95% IC)	-32.1 (-35.1 / -29.1) µm	-19.1 (-21.6 / -16.7) µm
Anchura del LC	58.5 µm	39.4 µm

IC: Intervalo de confianza. LC: Límites de concordancia

6.1.3 INTERCAMBIABILIDAD ENTRE TBH Y ME EN LASIK

Se evaluó la intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas tras cirugía de miopía LASIK en 118 pacientes (65 mujeres y 53 hombres), los cuales tenían una media de edad de 30.45 +/- 7.48 años. La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.00 D (Rango intercuartil: 0.25 a -0.75 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.25 D (Rango intercuartil: -0.00 a -0.50 D).

La paquimetría media obtenida con la técnica TBH fue de 447.5 +/- 49.8 μm (Rango: 343 – 548) y con la técnica ME fue de 461.4 +/- 35.3 μm (Rango: 392-540). La diferencia entre ambas técnicas fue de 13.8 (95% IC: 9.8 – 17.1) +/- 22.3 μm , siendo estadísticamente significativa ($p < 0.0001$).

El análisis gráfico Bland & Altman convencional (Figura 14) mostró no solo las diferencias sistemáticas entre técnicas paquimétricas, sino también la asociación inversa ($\rho = -0.652$, $p \leq 0.001$) existente entre las diferencias paquimétricas y la magnitud de la paquimetría media de ambas técnicas. La anchura total de los LC del 95% fue igual a 87.45 μm ; el límite superior de los LC fue 57.5 μm y el límite inferior de los LC fue -29.9 μm .

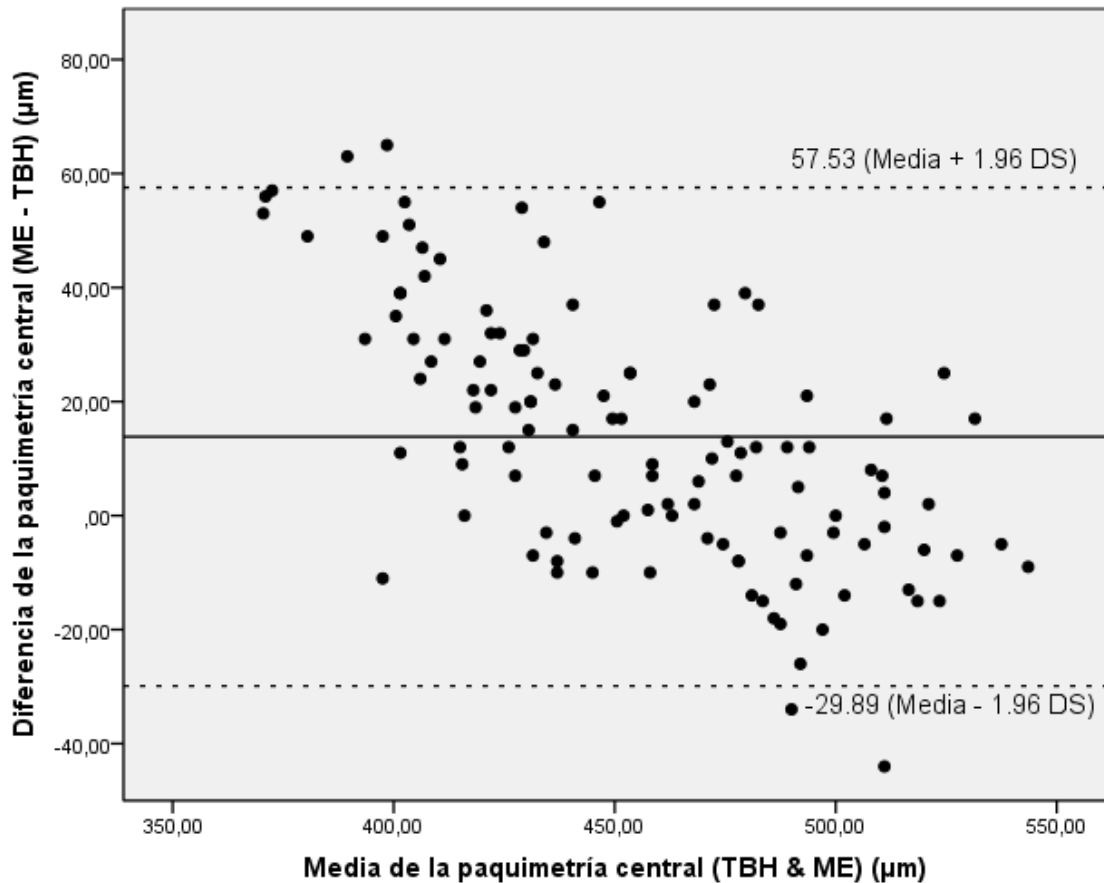


Figura 14. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas con ambas técnicas tras LASIK. La línea horizontal continua determina la diferencia media (sistemática) entre métodos paquimétricos. La línea discontinua superior indica el límite de concordancia superior y la inferior el límite de concordancia inferior.

La asunción necesaria para demostrar la idoneidad del análisis gráfico Bland & Altman, consistente en la distribución cercana a la normal de las diferencias entre paquimetrías obtenidas por ambas técnicas se demostró a través de la figura 15.

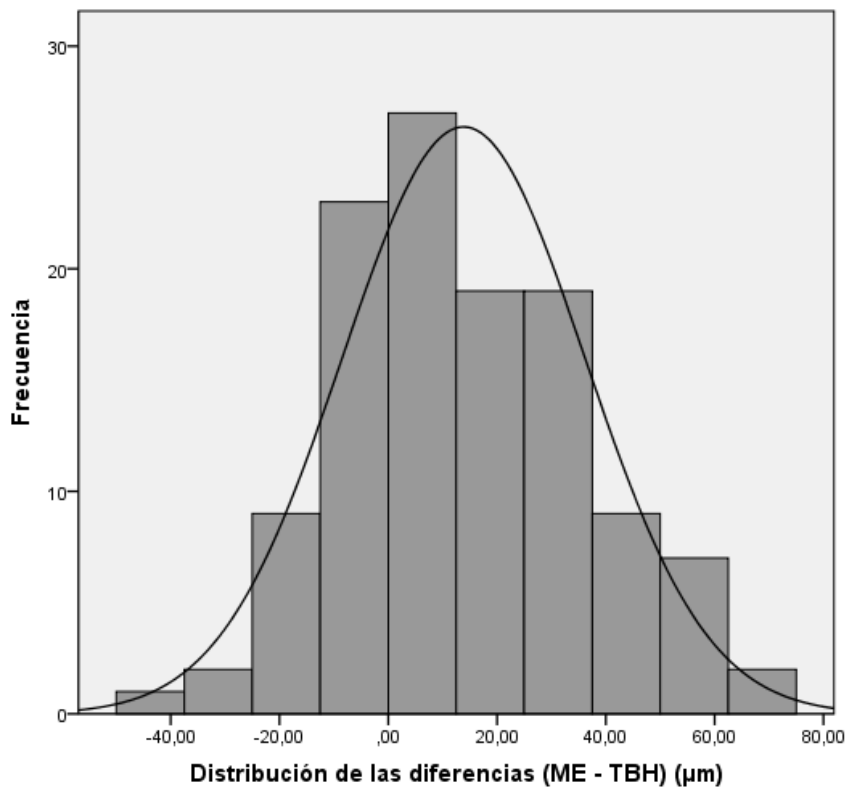


Figura 15. Distribución de las diferencias entre técnicas paquimétricas tras LASIK.

El análisis de regresión de Bland & Altman que se realizó debido a las tendencias de las diferencias medias entre técnicas paquimétricas a ser negativas a medida que incrementaba la magnitud de la paquimetría, resultó en las siguientes ecuaciones para el cálculo de las rectas de regresión que se observan en la figura 16:

$$\text{Diferencia (ME - TBH)} = 174.23 - 0.353 \times \text{Media paquimétrica.}$$

$$\text{Límite superior del LC} = 206.11 - 0.351 \times \text{Media paquimétrica.}$$

$$\text{Límite inferior del LC} = 142.39 - 0.355 \times \text{Media paquimétrica.}$$

La asunción de normalidad de la distribución de los residuos del modelo de regresión de Bland & Altman que relaciona las diferencias y las medias paquimétricas, se confirmó a través de la figura 17.

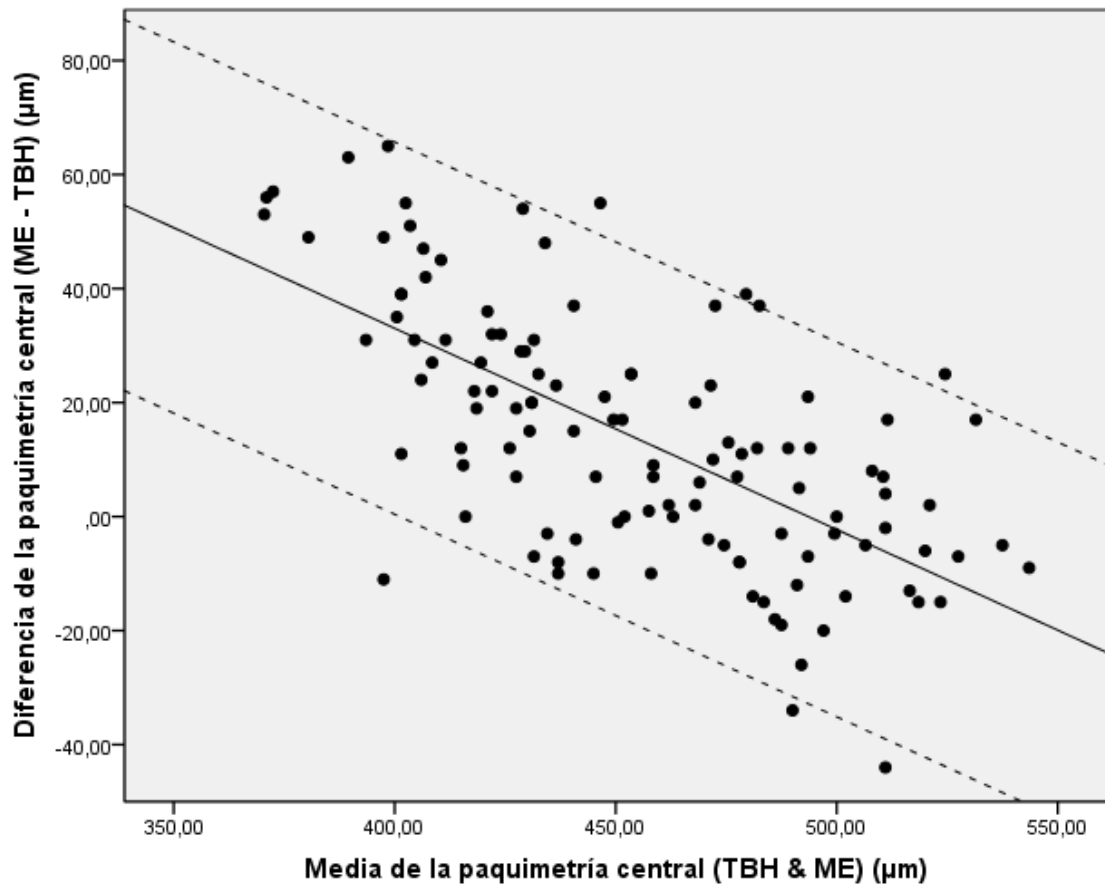


Figura 16. Gráfico de análisis de regresión tipo Bland & Altman entre las técnicas paquimétricas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular tras LASIK. La línea horizontal continua describe la diferencia media entre técnicas. La línea discontinua superior indica al límite de concordancia superior y la línea inferior muestra el límite de concordancia inferior.

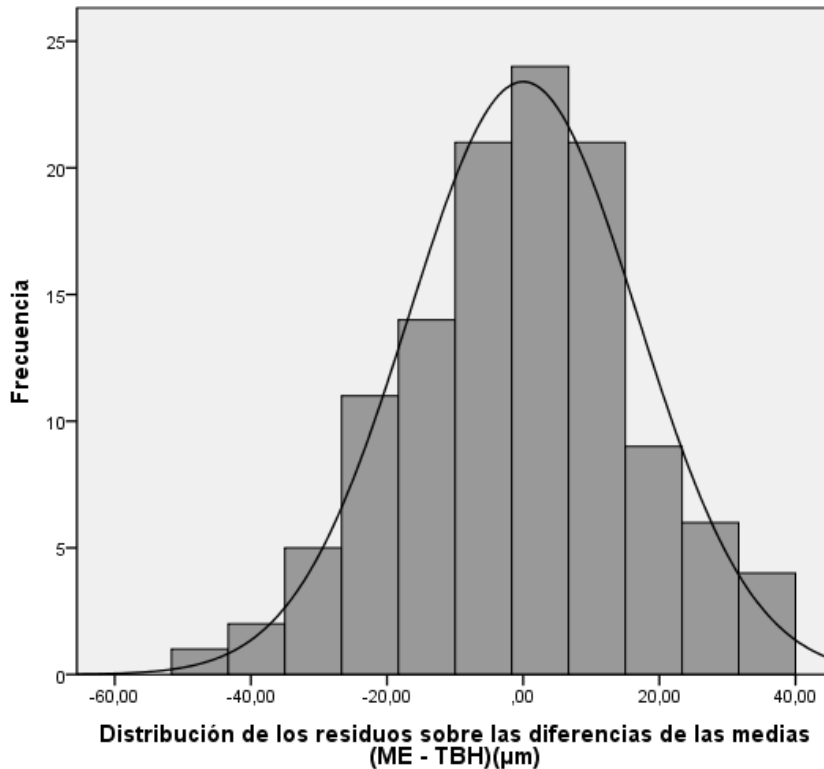


Figura 17. Distribución de los residuos sobre la diferencia de las medias de las dos técnicas paquimétricas de no contacto.

6.2 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN, REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN E INTERCAMBIABILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA CENTRAL EN ASA UTILIZANDO LAS TÉCNICAS TBH Y ME.

6.2.1 REPETIBILIDAD INTRA-SESIÓN EN ASA

La repetibilidad se estudio en 63 ojos de 63 pacientes (26 hombres y 37 mujeres). La edad media fue de 32.2 +/- 6.1 años (rango: 21-45). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.00 D (Rango intercuartil: 0.25 a -0.25 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.25 D (Rango intercuartil: -0.00 a -0.50 D).

No hubo correlación significativa entre la DS de las medidas paquimétricas y la media de las 5 paquimetrías repetidas para la técnica TBH ($p= 0.06$) ni para la técnica ME ($p= 0.7$).

En la Tabla 6 se muestra la media de las paquimetrías centrales que se obtuvieron con las técnicas TBH y ME, la DS_i, la precisión, la repetibilidad y el CV_i intra-sesión. El valor de los CCI intra-sesión fue de 0.97 (95% IC: 0.96-0.99) y 0.99 (95% IC: 0.98-0.99) para la técnica TBH y ME, respectivamente.

Tabla 6. Resultados del análisis ANOVA de la repetibilidad intra-sesión en ASA para la paquimetría central.

TÉCNICA	Paquimetría Media Total (Rango) (µm)	DS_i (95% IC)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC)	Repetibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC)	CV_i (%) (95% IC)
TBH (µm)	468.04 (386 – 583)	7.35 (6.71/7.99)	14.40 (13.15/15.66)	20.36 (18.58/22.13)	1.57 (1.43/1.70)
ME (µm)	455.14 (378-572)	3.81 (3.48 / 4.14)	7.46 (6.82/8.11)	10.55 (9.63/11.46)	0.83 (0.76/0.90)

DS_i: Desviación estándar intra-sujeto. IC: Intervalo de confianza. CV_i: Coeficiente de variación intra-sujeto. TBH: Topografía de barrido de hendidura. ME: Microscopía especular.

6.2.2 REPRODUCIBILIDAD INTER-SESIÓN EN ASA

La reproducibilidad inter-sesión se analizó en 24 ojos de 24 pacientes (18 mujeres y 6 hombres). La media de edad de los pacientes incluidos

fue de 33.08 +/- 5.1 años (Rango: 28-42). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.00 D (Rango intercuartil: 0 a -0.25) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.25 D (Rango intercuartil: -0.00 a -0.50).

La media de las paquimetrías centrales obtenidas con las técnicas TBH y ME durante ambas sesiones, la DS_i, la precisión, la reproducibilidad y el CV_i inter-sesión se describen en la tabla 7. El resultados de los CCI intra-sesión fue de 0.94 (95% IC: 0.85-0.97) y 0.95 (95% IC: 0.90-0.97) para la técnica TBH y ME, respectivamente.

Tabla 7. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-sesión en ASA para la paquimetría central.

TÉCNICA	Paquimetría Media Total (Rango) (µm)	DS_i (95% IC)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC)	Reproducibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC)	CV_i (%) (95% IC)
TBH (µm)	460.29 (393 – 544)	12.22 (8.76/15.68)	23.95 (17.16/30.73)	33.84 (24.26/43.43)	2.65 (1.90/3.40)
ME (µm)	445.75 (382-521)	8.37 (6.00 /10.74)	16.40 (11.76/21.05)	23.18 (16.62/29.74)	1.87 (1.34/2.41)

DS_i: Desviación estándar intra-sujeto. IC: Intervalo de confianza. CV_i: Coeficiente de variación intra-sujeto. TBH: Topografía de barrido de hendidura. ME: Microscopía especular.

Las diferencias medias de las paquimetrías medidas durante la primera y segunda sesión fue -0.91µm (95% IC: -8.36 / 6.53) y -2.00 µm (95% IC: -7.03 / 3.03) para la técnica TBH y ME, respectivamente. Dichas

diferencias no fueron significativas en ninguno de los dos casos ($p= 0.41$ y $p= 0.80$, respectivamente).

Los gráficos tipo Bland & Altman (Figura 18 y 19) demostraron que la distribución de las diferencias entre sesiones no dependía de la magnitud de la paquimetría. Sin embargo, en la figura 20 se observa que la distribución de las diferencias para la técnica TBH no siguió una distribución normal, al contrario que para la técnica ME (Figura 21). Los LC superior e inferior, así como la anchura de los mismos para las diferencias paquimétricas halladas entre ambas sesiones se muestran en la Tabla 8.

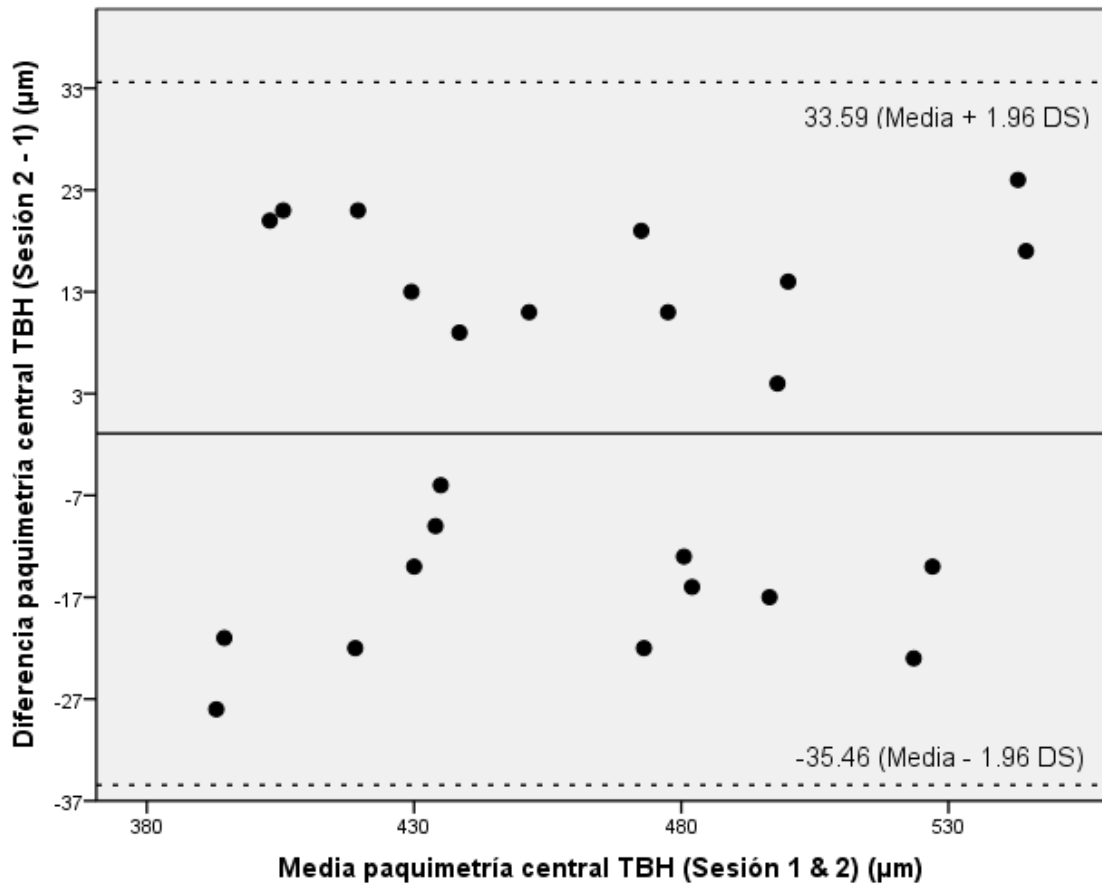


Figura 18. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 tras ASA con la técnica topografía de barrido de hendidura. Las líneas horizontales continuas determinan la diferencia media (sistemática) entre sesiones. Las líneas discontinuas indican el límite de concordancia superior e inferior.

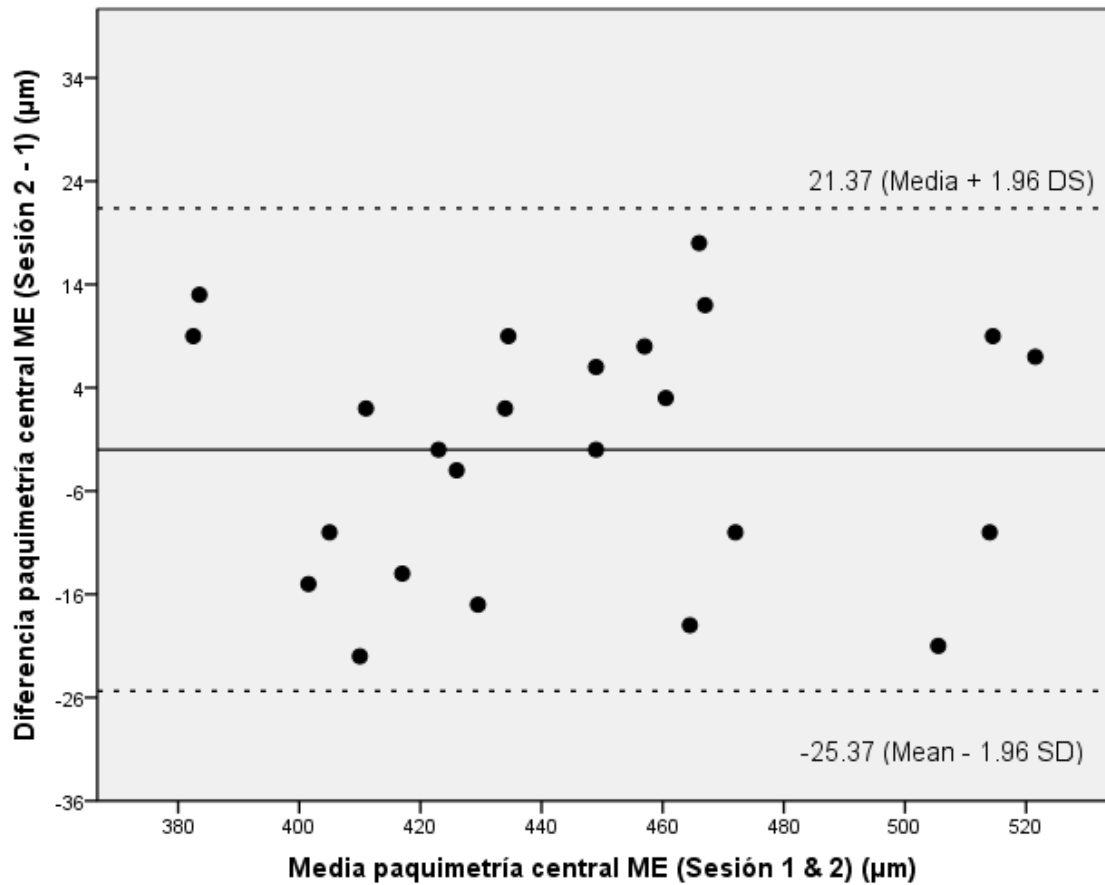


Figura 19. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas durante la sesión 1 y 2 tras ASA con la técnica microscopía especular. Las líneas horizontales continuas determinan la diferencia media (sistemática) entre sesiones. Las líneas discontinuas indican el límite de concordancia superior e inferior.

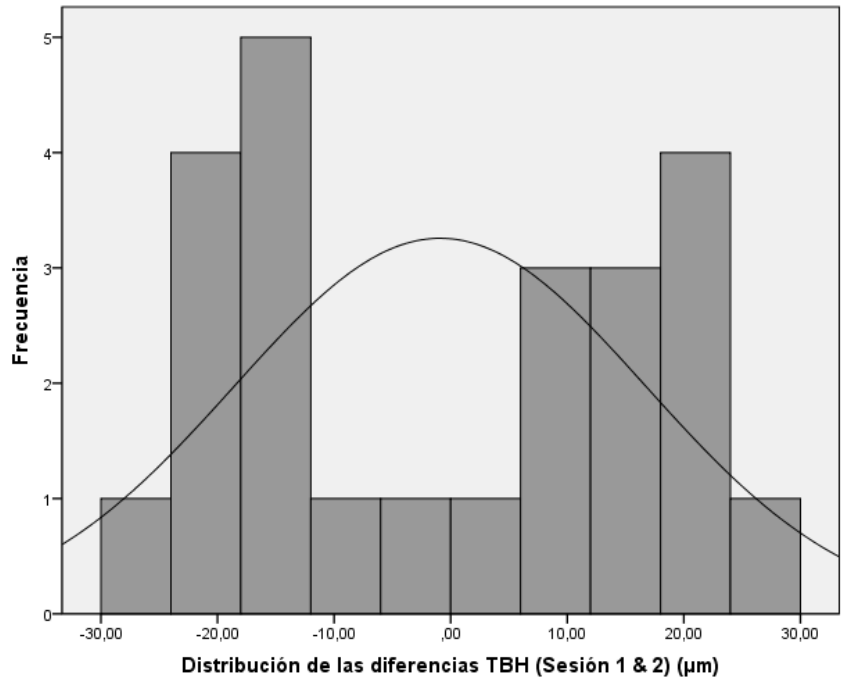


Figura 20. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida tras ASA para la técnica topografía de barrido de hendidura.

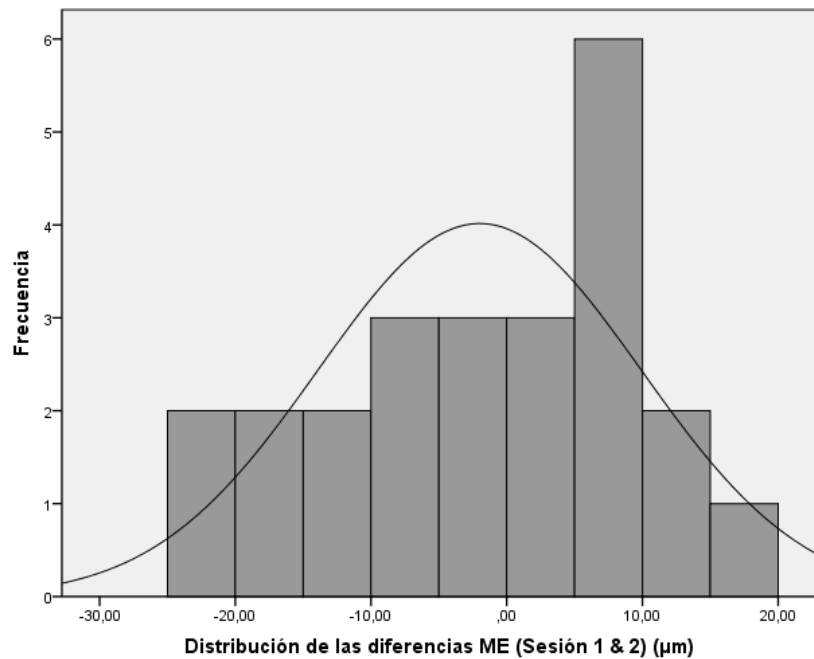


Figura 21. Distribución de las diferencias paquimétricas entre ambas sesiones de medida tras ASA para la técnica de microscopía especular.

Tabla 8. Límites de concordancia para la reproducibilidad inter-sesión en ASA para la paquimetría central.

	Topografía de Barrido de Hendidura	Microscopía Especular
LC Superior (95% IC)	33.59 (20.69 / 46.49) μm	21.37 (12.64 / 30.01) μm
LC Inferior (95% IC)	-35.46 (-48.36 / -22.56) μm	-25.37 (-34.09 / -16.64) μm
Anchura del LC	69.05 μm	46.74 μm

IC: Intervalo de confianza. LC: Límite de confianza

6.2.3 INTERCAMBIABILIDAD ENTRE TBH Y ME EN ASA

Se analizó la intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas en 63 ojos de 63 pacientes (26 hombres y 37 mujeres). La edad media fue de 32.2 +/- 6.1 años (rango: 21-45). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.00 D (Rango intercuartil: 0.25 a -0.25 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.25 D (Rango intercuartil: -0.00 a -0.50 D).

La magnitud de la paquimetría correspondiente a la técnica TBH fue de 468.04 +/- 48.51 μm (Rango: 379 – 581) y a la técnica ME fue de 454.65 +/- 41.07 μm (Rango: 378-577). La diferencia entre ambas técnicas fue de 13.4 (95% IC: 8.49 / 18.29) +/- 19.5 μm , siendo estadísticamente significativa ($p < 0.0001$).

El análisis gráfico Bland & Altman convencional (Figura 22) mostró la existencia de una asociación directa ($\rho = 0.45$, $p = 0.001$) entre la

magnitud de la diferencia ente técnicas y la magnitud de la paquimetría media. La anchura total de los LC del 95% fue igual a 76.28 μm ; el límite superior de los LC fue 51.5 μm y el límite inferior de los LC fue -24.7 μm .

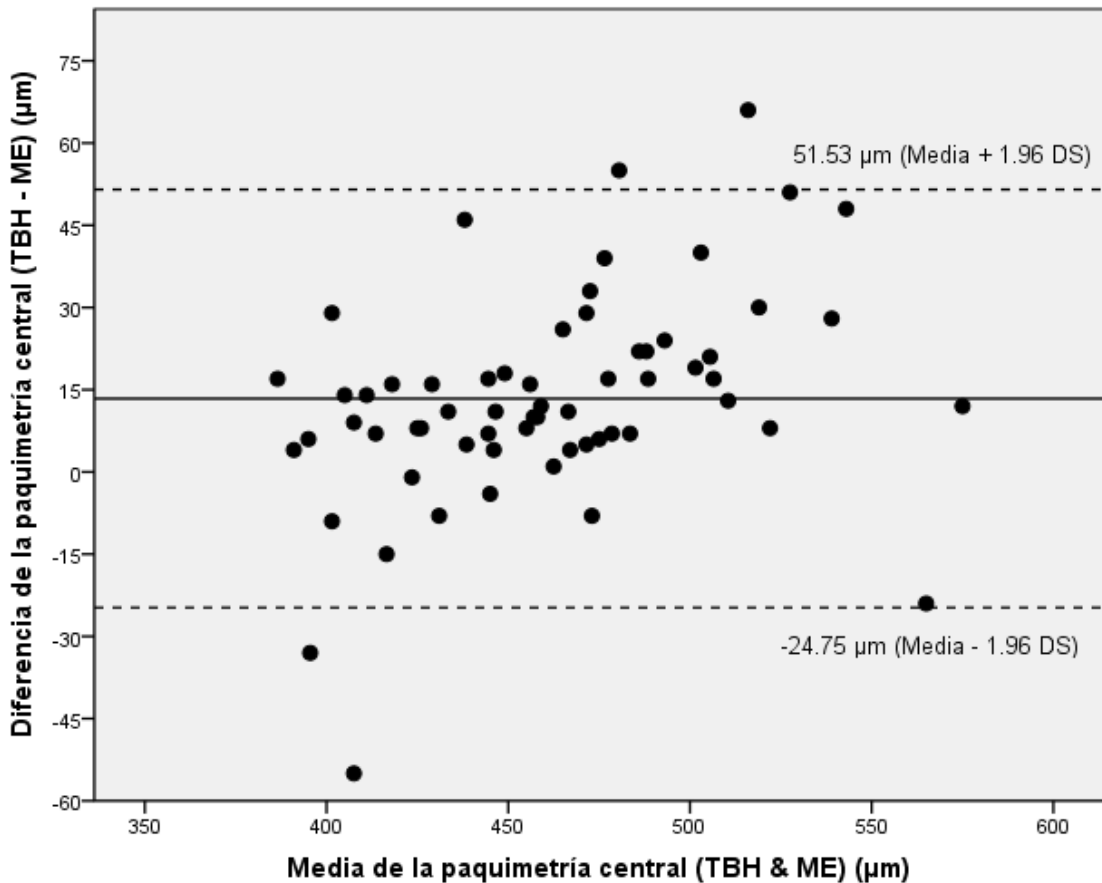


Figura 22. Gráficos tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias obtenidas con ambas técnicas paquimétricas tras ASA. La línea horizontal continua determina la diferencia media (sistemática) entre métodos paquimétricos. La línea discontinua superior indica el límite de concordancia superior y la inferior el límite de concordancia inferior.

La asunción necesaria para demostrar la idoneidad del análisis gráfico Bland & Altman, consistente en la distribución cercana a la normal de las diferencias entre paquimetrías obtenidas por ambas técnicas se demostró a través de la figura 23.

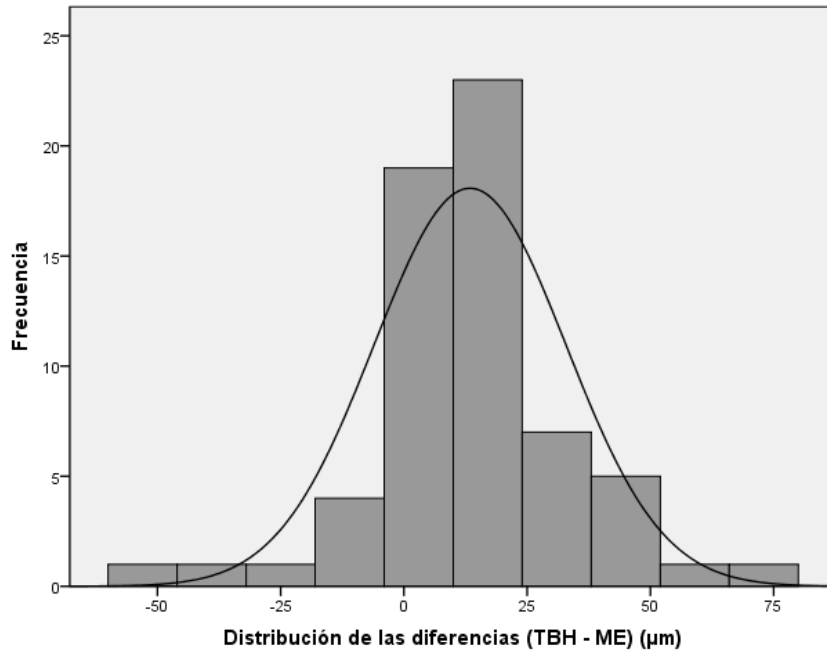


Figura 23. Distribución de las diferencias entre técnicas paquimétricas tras ASA.

Tras realizar el análisis de regresión de Bland & Altman se obtuvieron las siguientes ecuaciones para el cálculo de las rectas de regresión que se observan en la figura 24:

$$\text{Diferencia media (TBH - ME)} = -66.49 + 0.17 \times \text{Media paquimétrica.}$$

$$\text{Límite superior del LC} = -80.31 + 0.26 \times \text{Media paquimétrica.}$$

$$\text{Límite inferior del LC} = -52.60 + 0.08 \times \text{Media paquimétrica.}$$

La asunción de normalidad de la distribución de los residuos del modelo de regresión de Bland & Altman que de las diferencias sobre las medias paquimétricas, se confirmó como se observa en la figura 25.

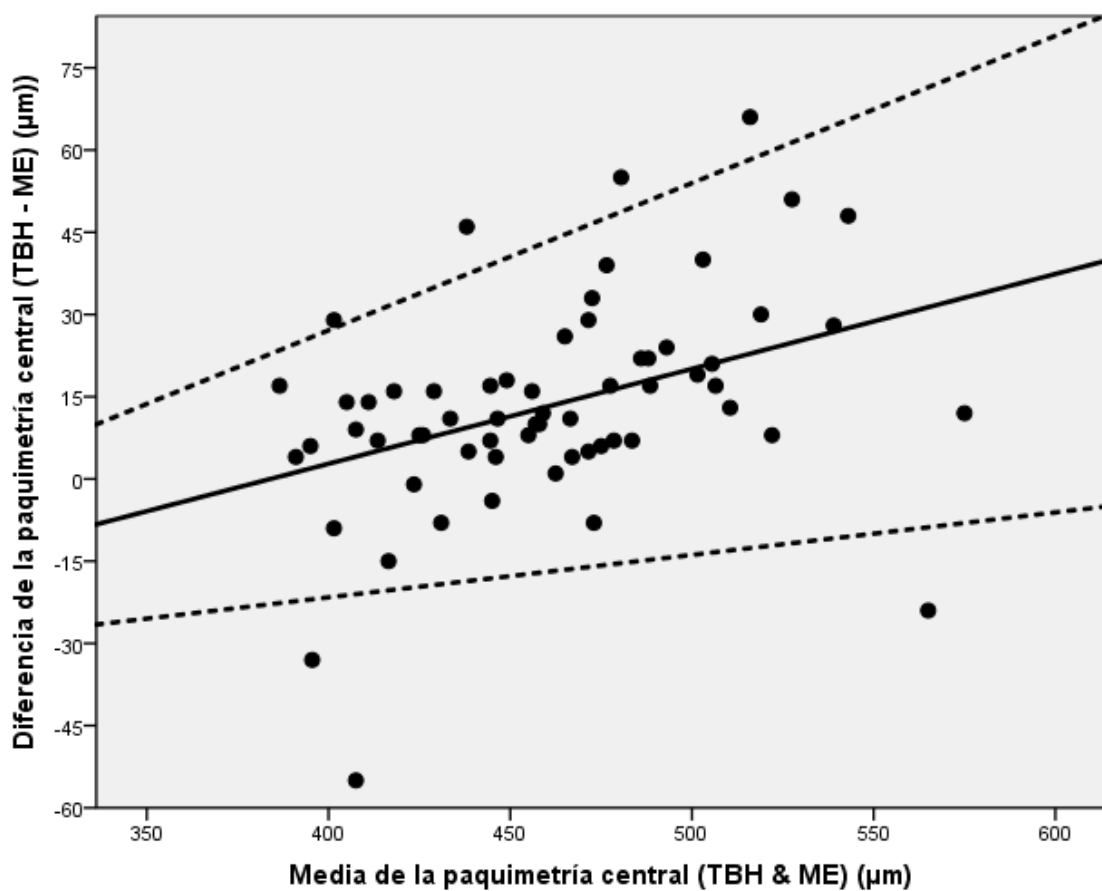


Figura 24. Gráfico de análisis de regresión tipo Bland & Altman entre las técnicas paquimétricas topografía de barrido de hendidura y microscopía especular tras ASA. La línea horizontal continua describe la diferencia media entre técnicas. La línea discontinua superior indica el límite de concordancia superior y la línea inferior muestra el límite de concordancia inferior.

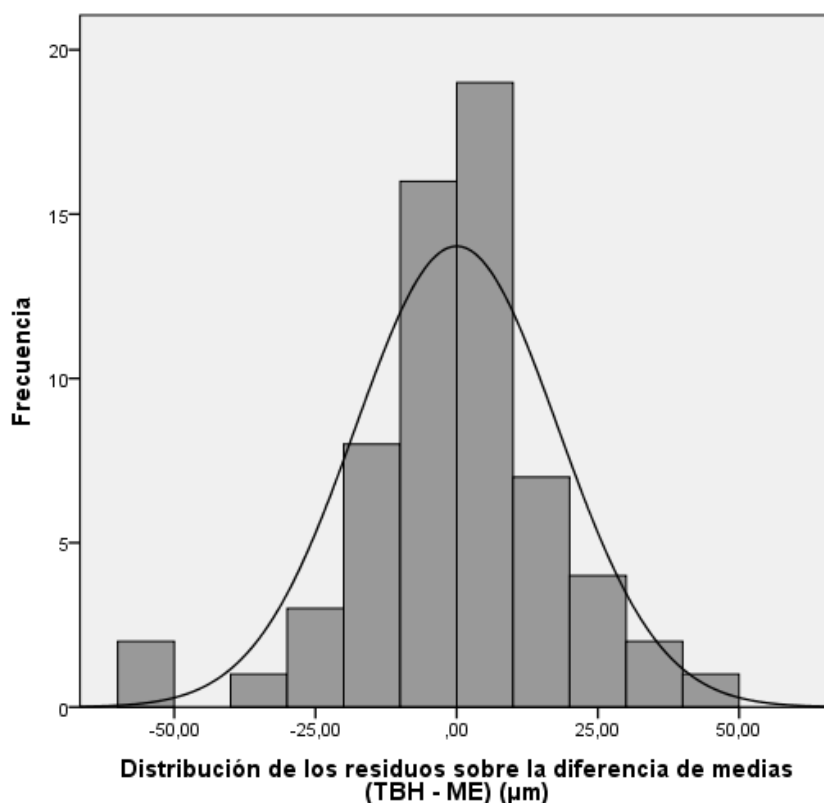


Figura 25. Distribución de los residuos de la diferencia sobre las medias de las dos técnicas paquimétricas de no contacto tras ASA.

6.3 REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR DE LA PAQUIMETRÍA CENTRAL TRAS FOTOABLACIÓN CON LÁSER EXCIMER.

La reproducibilidad inter-observador se analizó en 63 ojos de 63 pacientes (26 hombres y 37 mujeres) operados de miopía siguiendo la técnica ASA. La edad media fue de 32.2 +/- 6.1 años (Rango: 21-45). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.0 D (Rango intercuartil:

0.25 a -0.25 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.25 D (Rango intercuartil: -0.00 a -0.50 D).

6.3.1 REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR EN TBH

La paquimetría central media obtenida por el primer observador fue de 468.04 +/- 48.51 μm (Rango: 379 – 581) y por el segundo observador fue de 467.58 +/- 46.92 μm (Rango: 387-577). La diferencia media entre ambos observadores fue de -0.46 (95% CI, -2.93/2.01) +/- 9.82 μm , no siendo estadísticamente significativa ($p= 0.14$).

En la tabla 9 se muestra la media de las paquimetrías centrales medidas por ambos observadores, la DS_i , la precisión, la reproducibilidad y el CV_i inter-observador. Existió una correlación inversa significativa entre la DS de las medidas paquimétricas y la media de las mismas ($\tau = -0.26$; $p = 0.002$); por lo tanto, los valores de la tabla 9 no son fiables, ya que no se cumplió dicha asunción del análisis ANOVA debido a que la DS era significativamente mayor a menor magnitud paquimétrica. El valor de los CCI intra-sesión fue de 0.97 (95% IC: 0.96 - 0.99).

Tabla 9. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-observador de la técnica topografía de barrido de hendidura para la paquimetría central.

TÉCNICA	Paquimetría Media Total (Rango) (μm)	DS_i (95% IC)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC)	Reproducibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC)	CV_i (%) (95% IC)
TBH* (μm)	467.81 (383 – 579)	6.90 (5.69/8.10)	13.52 (11.15/15.87)	19.11 (15.76/22.43)	1.47 (1.21/1.73)

* Los valores no son estimaciones fiables por la existencia de una relación significativa entre la DS y la magnitud paquimétrica media para esa variable, por lo tanto no cumplen la asunción necesaria para que los resultados del ANOVA sean consistentes. DS_i: Desviación estándar inter-observador. IC: Intervalo de confianza. CV_i: Coeficiente de variación inter-observador. TBH: Topografía de barrido de hendidura.

El análisis gráfico convencional de Bland & Altman demostró que la magnitud de las diferencias entre observadores era mayor cuanto menor era la paquimetría (Figura 26). La anchura total de los LC del 95% fue igual a 38.58 μm ; el límite superior de los LC fue 18.8 μm y el límite inferior de los LC fue -19.7 μm .

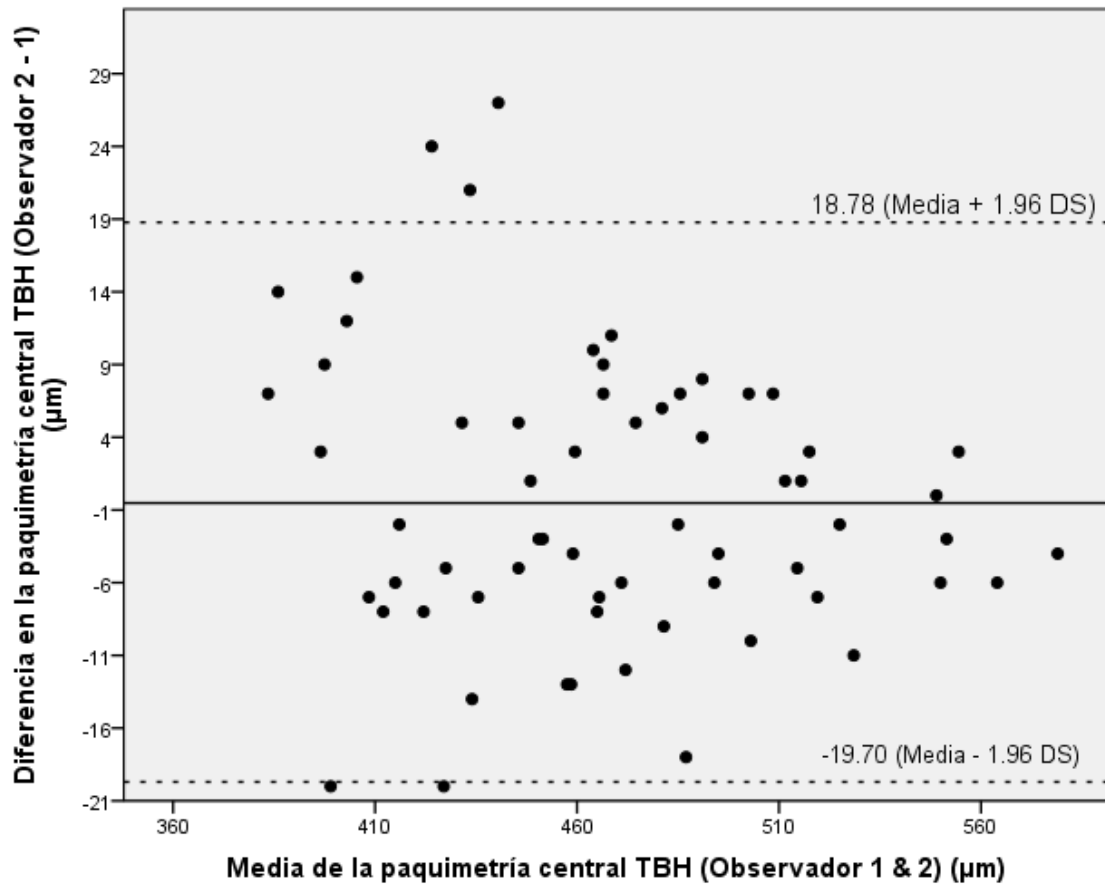


Figura 26. Gráfico tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas por ambos observadores. La línea horizontal continua determina la diferencia media (sistemática) entre observadores. La línea discontinua superior indica el límite de concordancia superior y la inferior el límite de concordancia inferior.

La asunción necesaria para demostrar la idoneidad del análisis gráfico Bland & Altman, consistente en la distribución cercana a la normal de las diferencias entre paquimetrías obtenidas por ambos examinadores se demostró a través de la figura 27.

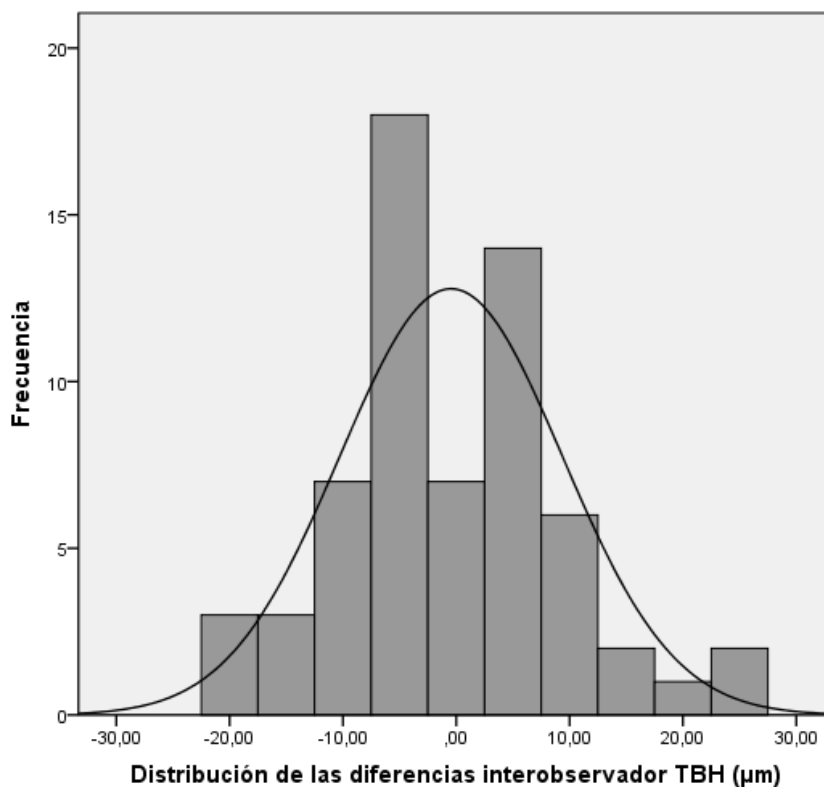


Figura 27. Distribución de las diferencias entre observadores utilizando el topógrafo de barrido de hendidura.

6.3.2 REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR EN ME

La media paquimétrica central obtenida por el primer observador fue de 454.65 +/- 41.07 μm (Rango: 378 – 577) y por el segundo observador fue de 455.66 +/- 40.79 μm (Rango: 374-576). La diferencia media entre ambos observadores fue de 1.01 (95% CI, -0.33/2.36) +/- 5.36 μm, no siendo estadísticamente significativa (p=0.71).

En la tabla 10 se muestra la media de las paquimetrías centrales obtenidas por ambos observadores, la DS_i , la precisión, la reproducibilidad y el CV_i inter-observador. El valor de los CCI inter-observador fue de 0.98 (95% IC: 0.98-0.99).

Tabla 10. Resultados del análisis ANOVA de la reproducibilidad inter-observador de la técnica microscopía especular para la paquimetría central.

TÉCNICA	Paquimetría Media Total (Rango) (μm)	DS_i (95% IC)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC)	Reproducibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC)	CV_i (%) (95% IC)
ME (μm)	455.16 \pm 40.93 (376-576)	3.83 (3.16 / 4.50)	7.50 (6.19/8.82)	10.61 (8.75/12.46)	0.84 (0.69/0.98)

DS_i : Desviación estándar inter-observador. IC: Intervalo de confianza. CV_i : Coeficiente de variación inter-observador. ME: Microscopía especular.

El análisis gráfico Bland & Altman convencional (Figura 28) no demostró que existiese ningún tipo de relación entre las diferencias y las medias paquimétricas obtenidas por ambos observadores. La anchura total de los LC del 95% fue igual a 21.03 μm ; el límite superior de los LC fue 11.5 μm y el límite inferior de los LC fue -9.5 μm .

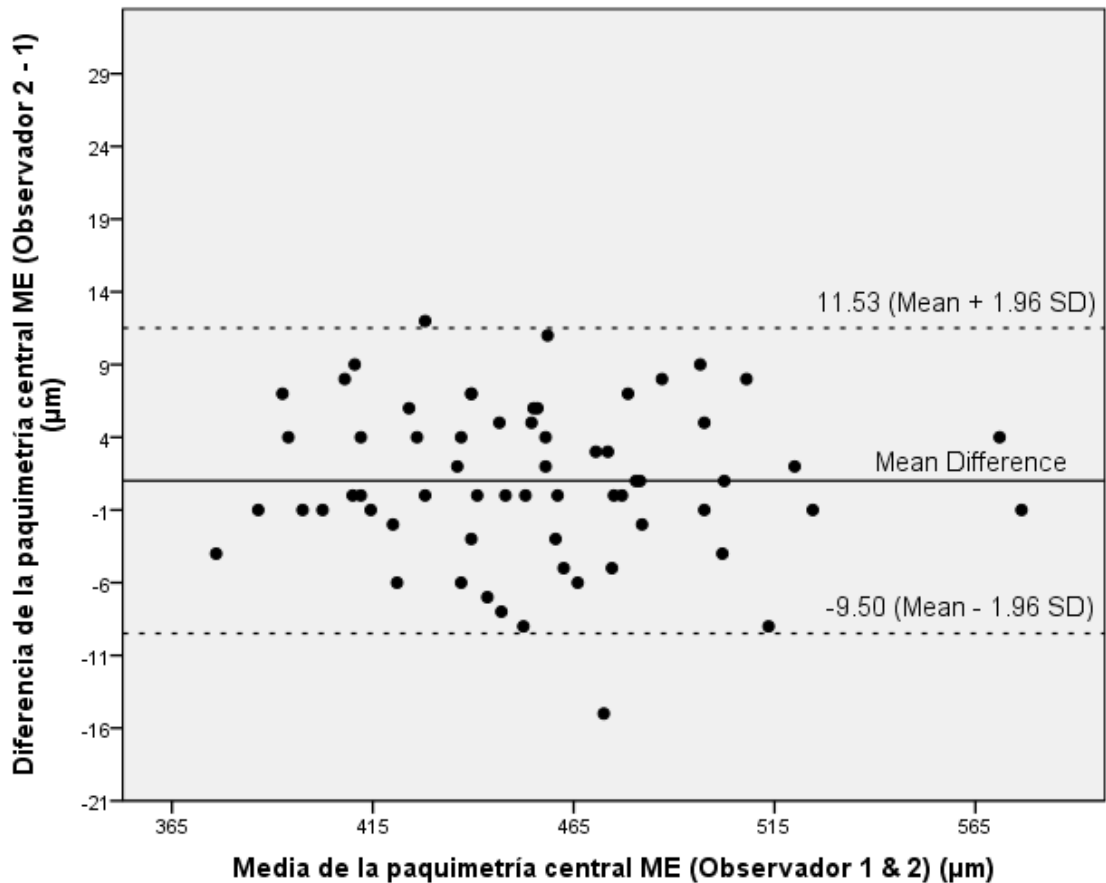


Figura 28. Gráfico tipo Bland & Altman mostrando la distribución de las diferencias en función de las medias paquimétricas obtenidas por ambos observadores para la microscopía especular. La línea horizontal continua determina la diferencia sistemática entre observadores. La línea discontinua superior indica el límite de concordancia superior y la inferior el límite de concordancia inferior.

La asunción necesaria para demostrar la idoneidad del análisis gráfico Bland & Altman, consistente en la distribución normal de las diferencias entre paquimetrías obtenidas por ambos observadores se demostró a través de la figura 29.

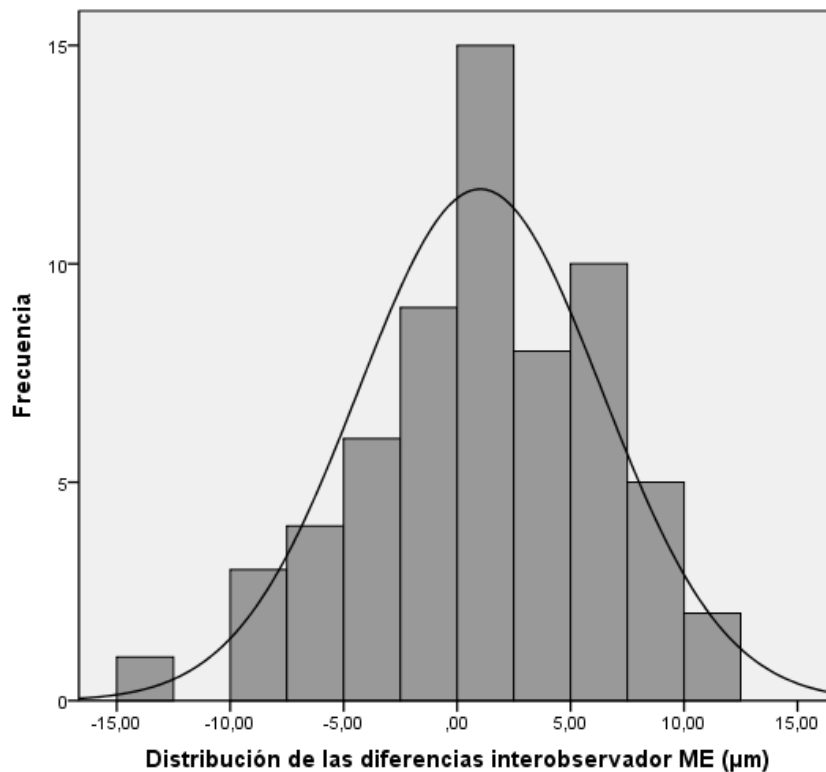


Figura 29. Distribución de las diferencias entre observadores para la técnica paquimétrica de microscopía especular.

6.4 REPETIBILIDAD DE LA PAQUIMETRÍA MÍNIMA Y PARACENTRAL DE LA TÉCNICA TBH TRAS FOTOABLACIÓN CON LÁSER EXCIMER.

Para analizar la repetibilidad intra-sesión de la paquimetría mínima y la paracentral (superior, inferior, nasal y temporal) se midieron 63 ojos de 63 pacientes (26 hombres y 37 mujeres). La edad media fue de 32.2 +/- 6.1 años (Rango: 21-45). La mediana de la esfera postoperatoria fue de -0.00 D (Rango intercuartil: 0.25 a -0.25 D) y del astigmatismo postoperatorio fue de -0.25 D (Rango intercuartil: -0.0 a -0.50 D).

La tabla 11 muestra la media de las paquimetrías mínimas y paracentrales (superior, inferior, nasal y temporal) utilizando la técnica TBH, la DS_i , la precisión, la repetibilidad y el CV_i intra-sesión, además del valor de los CCI intra-sesión tras cirugía corneal láser excimer. Hubo correlación significativa entre la DS de las medidas paquimétricas y la media de las 5 paquimetrías repetidas para la paquimetría mínima ($\tau = -0.19$; $p = 0.03$) y para la paquimetría inferior ($\tau = -0.27$; $p = 0.001$); por lo tanto, los valores que se obtuvieron para dichas variables no deben considerarse como una estimación fiable por no cumplir con la asunción del análisis ANOVA. Todas las DS_i calculadas para las áreas paracentrales a través de ANOVA fueron significativamente ($p \leq 0.001$) mayores a la obtenida para la paquimetría central ($7.35 \mu\text{m}$) en el mismo grupo de pacientes.

Tabla 11. Resultados del análisis ANOVA de la repetibilidad intra-sesión de la paquimetría mínima y paracentrales utilizando la topografía de barrido de hendidura tras láser excimer.

LOCALIZACIÓN CORNEAL	Paquimetría Media Total (Rango) (μm)	DS_i (95% IC) (μm)	Precisión (1.96 x DS_i) (95% IC) (μm)	Repetibilidad (2.77 x DS_i) (95% IC) (μm)	CV_i (%) (95% IC) (μm)	CCI (95% IC)
MÍNIMO*	456.93 (368 – 572)	9.59 (8.75/10.43)	18.79 (17.15/20.44)	26.56 (24.23/28.89)	2.09 (1.91 /2.28)	0.96 (0.94/0.97)
SUPERIOR	602.00 (527 – 674)	13.69 (12.49/14.88)	26.83 (24.48/29.16)	37.92 (34.59/41.21)	2.27 (2.07/2.47)	0.88 (0.83/0.92)
INFERIOR*	595.51 (524 – 679)	11.22 (10.24/12.20)	21.99 (20.07/23.91)	31.07 (28.36/33.79)	1.88 (1.71/2.04)	0.89 (0.84/0.92)
NASAL	609.78 (527 – 691)	11.02 (10.06/11.98)	21.59 (19.71/23.48)	30.52 (27.86 /33.18)	1.80 (1.65 /1.96)	0.97 (0.96/0.98)
TEMPORAL	566.08 (468– 680)	12.80 (11.69/13.92)	25.08 (22.91/27.28)	35.45 (32.38/38.55)	2.26 (2.06/2.40)	0.91 (0.88/0.94)

* Los valores no son estimaciones fiables por la existencia de una relación significativa entre la DS y la magnitud paquimétrica media para esa variable, por lo tanto no cumplen la asunción necesaria para que los resultados del ANOVA sean estimaciones consistentes. DS_i: Desviación estándar intra-sujeto. IC: Intervalo de confianza. CV_i: Coeficiente de variación intra-sujeto.

7. DISCUSIÓN

7.1 De la Metodología Utilizada

La calidad de cualquier medida ocular depende tanto de su exactitud como de su fiabilidad, independientemente de la especialización sanitaria que estemos tratando (Latour y cols., 1997). La exactitud informa del grado en el que realmente se está midiendo el objeto de interés, mientras que la fiabilidad determina el grado de similitud de diversos valores cuando la medida se obtiene en varias ocasiones. Estos dos conceptos en ciencias de la salud son de suma importancia, ya que pueden existir aparatos diagnósticos de medida que aporten medidas muy exactas (en términos medios) pero poco fiables (gran variabilidad de medida); y pueden existir aparatos que sean muy fiables (poca variabilidad de medida) pero no sean nada exactos (calibración incorrecta). En la presente tesis doctoral no se ha evaluado la exactitud de las técnicas TBH y ME tras ablación láser excimer porque ya ha sido reportada (Kawana y cols., 2004), sino la fiabilidad de medida de ambas técnicas paquimétricas tras las dos técnicas refractivas quirúrgicas más comunes: LASIK y ASA.

PERTINENCIA DE LA METODOLOGÍA UTILIZADA

Análisis de la varianza (ANOVA)

Cuando se realiza una comparación entre más de dos grupos de datos, como se ha realizado en los estudios descritos anteriormente, la utilización de numerosos test t de Student pareado es un error metodológico debido a que se debería entonces utilizar comparaciones múltiples, por el contrario el análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas es la metodología más adecuada por poder evaluar a la vez numerosos grupos (Bland & Altman, 2000; Altman, 1996). Igualmente, realizar un análisis gráfico convencional de Bland & Altman (Diferencias frente a medias) para evaluar también medidas repetidas es erróneo, porque dicho test se desarrolló para evaluar la concordancia entre dos grupos de datos obtenidos tras realizar las mediciones en una sola ocasión (ej. Dos medidas con técnicas distintas o dos medidas días distintos) y no en ocasiones repetidas de forma consecutiva durante una misma sesión (Myles, 2007).

Coefficiente de correlación intra-clase (CCI)

Para evaluar el grado de consistencia (concordancia, acuerdo) entre variables cuantitativas se debe utilizar el CCI y no el coeficiente de correlación lineal de Pearson, ya que dicho coeficiente lineal presenta una limitación muy importante y es que aunque dos técnicas ofrezcan valores sistemáticamente distintos, si son proporcionales, el coeficiente de correlación de Pearson puede ser máximo ($r = 1$), aunque la concordancia

entre medidas sea pobre. Dicho error se debe a que el coeficiente de correlación de Pearson mide solamente la asociación lineal que existe entre dos variables, y no la coherencia entre medidas (Bland & Altman, 1996b). Además, dicho coeficiente evalúa pares ordenados de las medidas obtenidas, por lo tanto si varía el orden de los pares también varía el valor del coeficiente. Finalmente, el coeficiente de Pearson no es capaz de evaluar la correlación cuando se realizan más de dos medidas. Por el contrario, el CCI es capaz de evaluar la correlación existente cuando se realizan numerosas medidas, ya que no solo evalúa la correlación (concordancia) entre medidas par a par en un orden concreto, sino que evalúa todos los posibles ordenes de pares posibles; también puede evaluar la concordancia cuando hay más de dos pares de medidas, ya que estima la correlación media entre todos los posibles pares de observaciones (Bland & Altman, 1996b).

Metodología Bland & Altman

La metodología estadística descrita por Bland & Altman tiene por objetivo conseguir una mejor descripción de la relación existente entre diferentes métodos de medida de un mismo elemento o diferentes observadores midiendo un mismo elemento o la medición de dicho elemento utilizando la misma técnica en días distintos, siempre y cuando comparemos un solo par de observaciones (Bland & Altman, 1999).

Intentar determinar si existe concordancia (acuerdo) entre dos grupos de medidas realizando únicamente un test t de Student pareado es un error

debido a que este solo aportará datos relativos a la significación estadística sobre la diferencia media entre las medias de ambos grupos, es decir, indicará si existen o no diferencias sistemáticas; además, el hecho de que dichas diferencias sistemáticas sean estadísticamente significativas no implica que lo sean clínicamente; e igualmente, la ausencia de significación estadística entre grupos tampoco implica que exista concordancia clínica entre ambos grupos de medida (Bland & Altman, 1999). Por lo tanto, Bland & Altman ha propuesto calcular los límites de concordancia (acuerdo) (LC) del 95% tras realizar el test t de Student pareado.

Dichos LC del 95% se calculan sumando y restando 1.96 DS a la diferencia media (sistemática) entre grupos de medidas, de tal forma que obtenemos la anchura de los LC del 95%. Estos valores extremos (límites) determinan el rango dentro del cual estarán la mayoría de las diferencias esperables entre ambos grupos de medida para el 95% de las observaciones (Bland & Altman, 1999). Dicha anchura debe interpretarse desde un punto de vista clínico, ya que aunque no existan diferencias significativas entre grupos de medidas tras realizar la t de Student pareado, puede que la anchura de los LC del 95% sea clínicamente excesiva.

Paralelamente al cálculo de los LC del 95% se debe realizar el análisis gráfico y estadístico (correlación entre diferencias y medias) para determinar si existen variaciones importantes en las diferencias entre grupos de medida en función de la magnitud de medida, como así ocurrió en nuestro estudio cuando comparamos las paquimetrías centrales obtenidas por ambas técnicas (Figura 14 y 22). En el caso en el que la diferencia sea mayor o menor a medida que es mayor la magnitud media,

como sucedió para la intercambiabilidad entre métodos tras LASIK y ASA (se visualizó gráficamente y se demostró estadísticamente), Bland & Altman (1999) ha propuesto un método basado en los residuos absolutos a partir del análisis de regresión, que fue el que se aplicó en los mencionados casos con el objetivo de obtener una mejor definición de las diferencias medias y los LC del 95% entre paquimetrías (Figura 16 y 24).

7.2 De los Resultados obtenidos

Las medidas paquimétricas que se realizan tanto en un ámbito de investigación como en condiciones de atención clínica a pacientes, deben ser fiables con el objetivo de realizar una toma de decisiones diagnósticas o de tratamiento lo más adecuadas que sea posible. Por lo tanto, la fiabilidad de medida (error aleatorio) de cualquier paquímetro (o cualquier instrumento oftálmico) debería ser clínicamente evaluada previamente a su uso comercial. Dicha cuestión es fundamental debido a que los resultados de las medidas paquimétricas afectarán a las decisiones médicas que se realicen cuando haya que aconsejar la realización de un re-tratamiento post-cirugía corneal láser (Randleman y cols., 2009), o se deba llevar a cabo un diagnóstico de glaucoma o de hipertensión ocular (Gordon y cols., 2002), o incluso, sea necesaria la paquimetría para mejorar el cálculo de la potencia de la lente intraocular pseudofáquica post-láser excimer (Geggel, 2009). Por lo tanto, en el presente estudio se determinó por primera vez la fiabilidad de medida paquimétrica intra-sesión, inter-sesión, inter-observador e intercambiabilidad de dos técnicas de no contacto (TBH y ME)

ampliamente utilizadas en el ámbito clínico (Kaya y cols., 2008; Mathew y cols., 2011) tras cirugía corneal láser excimer.

7.2.1 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad de la paquimetría central en LASIK.

7.2.1.1 Repetibilidad intra-sesión tras LASIK

Los valores de fiabilidad de medida intra-sesión de la paquimetría central obtenidos por ambas técnicas TBH y ME en pacientes operados de LASIK miópico (Tabla 3) se pueden considerar clínicamente buenos. La repetibilidad ($2.77 \times DSi$) se debe entender como la máxima diferencia esperable entre dos medidas paquimétricas consecutivas realizadas durante una misma sesión en un mismo paciente por el mismo observador. Aunque la técnica ME obtuvo mejores valores de repetibilidad ($12.8 \mu m$) que la técnica TBH ($20.2 \mu m$), una diferencia de $7.4 \mu m$ entre ambas se puede considerar clínicamente irrelevante. Además, ambas técnicas consiguieron valores similares de CCI (TBH = 0.98, ME = 0.99).

Las 10 medidas paquimétricas se realizaron con ambas técnicas de la forma más rápida posible y sin que el paciente retirase la cabeza de la mentonera de sujeción en ambos casos. Sin embargo, el tiempo de adquisición de las 10 medidas fue inevitablemente mayor con la técnica TBH que con la ME debido al tipo de metodología de alineación y enfoque que sigue cada técnica. Dicho sistema en el

caso de la técnica TBH es más complicado de conseguir que el sistema del ME, así que la obtención de la medida conlleva mayor tiempo. Por lo tanto, dicha limitación va en contra de la obtención de medidas altamente repetibles en el caso de la TBH, ya que cuanto más se tarde en realizar todas las medidas, más probable es que aparezca cierta fatiga por parte del paciente, reduciéndose la colaboración del mismo, y dificultando la alineación del sistema de adquisición.

La repetibilidad intra-sesión de la paquimetría central utilizando la técnica TBH en córneas sanas se ha determinado previamente utilizando el CVi. Jonuscheit & Doughty (2007) han estimado un CVi de 0.86% [Repetibilidad ($2.77 \times \text{DSi}$): $12.67 \mu\text{m}$] tras realizar tres medidas consecutivas. Dicho valor es mejor que el que se obtuvo en nuestro estudio tras LASIK (1.5%), aunque la diferencia en términos de repetibilidad ($2.77 \times \text{DSi}$) entre ambos casos (sanos – LASIK) no fue mayor de $8\mu\text{m}$.

Dichas diferencias mínimas existentes entre pacientes sanos y operados de LASIK miópico es probable que se deban a la pérdida leve de la total transparencia corneal existente en los primeros meses tras LASIK. Se ha demostrado que los errores sistemáticos (calibración) de la medida paquimétrica usando la técnica TBH incrementan cuando existe presencia de opacidad corneal (Boscia y cols., 2002; Fakhry y cols., 2002), y que dichos errores son mayores cuanto mayor es la pérdida de transparencia corneal (Altan-Yaycioglu y cols., 2007). La paquimetría medida con la técnica TBH se obtiene

tras la substracción del mapa posterior del anterior, en términos de distancia. La reconstrucción del mapa posterior depende de la refracción del haz de luz incidente en la cara anterior corneal y de la transmitancia corneal. Es probable que la obtención de la reflexión del haz de la cara posterior corneal cuando este se vea afectado por la pérdida de transparencia corneal sea errónea (Boscia y cols., 2002). Por lo tanto, es inevitable que dicha distorsión en el haz de luz varíe levemente en distintas medidas consecutivas, dando lugar a una pobre reconstrucción de la cara posterior, de la cual se deriva la paquimetría ofrecida por la técnica TBH.

En el caso de córneas tras LASIK, estudios de análisis corneal a través de microscopía confocal (Pisella y cols., 2001) han demostrado que tras la cirugía existe opacidad subclínica provocada por el acumulo de partículas reflectivas localizadas en la zona de la interfase del colgajo corneal. Además, también existe un incremento del número de queratocitos asociados a los procesos de cicatrización en dicha zona corneal, por lo que la transparencia pre-quirúrgica se reduce inevitablemente. Igualmente, se ha descrito la existencia de edema postoperatorio del colgajo corneal durante las primeras semanas tras la cirugía (Nagy y cols., 2004). Estos hallazgos es probable que provoquen cambios en la refracción del haz de luz emitido por la técnica TBH que dan lugar a un mapa de elevación posterior falsamente más cóncavo de lo que realmente es, según se ha demostrado con la técnica de fotografía rotacional de Scheimpflug (Ha y cols., 2009).

En lo que respecta a la técnica de ME, se ha determinado una repetibilidad intra-sesión de 11.13 μm para la paquimetría central en córneas sanas, mientras que en córneas a los 3 meses post-LASIK la variabilidad incluso se ha estimado levemente menor (10.77 μm) (Zhao y cols., 2007); lo cual indica que la técnica ME posee similar fiabilidad clínica durante una misma sesión de medida, independientemente de que los pacientes estén o no operados de LASIK. En nuestro estudio se obtuvo un valor de repetibilidad para dicha técnica levemente más elevado (12.8 μm) comparado con dichos valores publicados por Zhao y cols. (2007), sin embargo, la diferencia no posee relevancia clínica.

La técnica con mejor repetibilidad intra-sesión reportada de la paquimetría central en pacientes operados de LASIK es la biomicroscopía ultrasónica de alta frecuencia digital. Reinstein y cols. (2010) han determinado una repetibilidad ($2.77 \times \text{DSi}$) de 4.65 μm tras realizar 5 medidas, sin embargo, esta técnica requiere contacto y es aún más incómoda que la técnica ultrasónica convencional. La repetibilidad de la técnica ultrasónica convencional tras LASIK se ha estimado en 10.61 μm (Zhao y cols., 2007), mientras que la que han determinado Jonuscheit & Doughty (2007) en córneas sanas ha sido de 11.85 μm . Por otra parte, técnicas paquimétricas de no contacto como la de fotografía rotacional de Scheimpflug (Pentacam, Oculus) ofrece una repetibilidad de la paquimetría central de 10.62 μm (Huang y cols., 2011), valor similar a la ME en nuestro estudio. Mucho más fiable podría ser la técnica de tomografía de coherencia

óptica de dominio de Fourier, cuyo valor de repetibilidad publicado es de 5.38 μm (RTvue-100, Optovue) (Huang y cols., 2011). Sin embargo, se debe tener en cuenta que dicho valor de fiabilidad intra-sesión se ha calculado para la paquimetría media de los 2 mm centrales corneales, y no para un solo punto o localización corneal como es nuestro caso para las técnicas TBH y ME. Por lo tanto, debemos concluir que la fiabilidad de medida intra-sujeto intra-sesión de la técnica TBH y ME tras LASIK es buena, porque la ME ofrece valores similares a la convencional ultrasónica, y las diferencias con la TBH son clínicamente no significativas.

7.2.1.2 Reproducibilidad inter-sesión tras LASIK

Para evaluar la reproducibilidad de las medidas paquimétricas inter-sesión se obtuvieron valores a los 6 y a los 9 meses de la cirugía primaria de LASIK confirmando que no existía un cambio de refracción significativo, ya que la regresión miópica tras LASIK está altamente asociada al engrosamiento del epitelio corneal (Spadea y cols., 2000). Además, se seleccionó este periodo postoperatorio, ya que a los 9 meses es cuando normalmente se considera la estabilidad topográfica y refractiva para decidir si retratar o no a los pacientes que no hayan alcanzado la emetropía (Maldonado, 2002). No existieron diferencias significativas entre las medidas paquimétricas obtenidas durante la primera y segunda sesión con ninguna de las dos técnicas (TBH: $p= 0.185$; ME: $p=0.679$). Más

importante aún es la magnitud de la reproducibilidad ($2.77 \times DS_i$) obtenida en el presente estudio (TBH = $29.5 \mu\text{m}$; ME = $19.5 \mu\text{m}$), ya que posee gran valor para los profesionales clínicos porque determina el umbral, en términos de diferencia paquimétrica, a partir del cual se puede considerar que existe un cambio real en el grosor corneal central entre dos visitas consecutivas realizadas en días distintos.

Al igual que ya sucedió con la fiabilidad de medida intra-sesión la técnica ME fue superior a la TBH, aunque la diferencia en la reproducibilidad inter-sesión entre ambas fue de únicamente $10\mu\text{m}$. Como es de esperar, los valores de reproducibilidad inter-sesión fueron peores que los de repetibilidad intra-sesión para ambas técnicas, ya que a las propias fuentes de la variabilidad intra-sesión, hay que sumar las de la propia reproducibilidad inter-sesión. La más importante (una vez que se da por hecho que no ha habido cambios paquimétricos reales) es la localización de la medida de la paquimetría central. En ambas técnicas únicamente se utiliza una mentonera para posicionar la cabeza del paciente, y la paquimetría central se determina por la fijación visual del paciente en un punto concreto. Al realizar una segunda sesión de medidas paquimétricas es imposible determinar que se este realizando la medición paquimétrica exactamente en la misma localización corneal porque el paciente nunca va a colocar su cabeza exactamente en la misma posición que durante la primera sesión. Por lo tanto, a no ser que exista algún sistema de reconocimiento anatómico, similar al que ya

existe para la medición de las aberraciones oculares de alto orden (Prakash y cols., 2011), es extremadamente complicado que coincidan ambas localizaciones corneales.

Si la reproducibilidad ($2.77 \times DS_i$) es peor en la técnica TBH que la ME, es de esperar que la anchura de los LC del 95% también sea mayor, como así ocurrió en nuestro estudio (TBH: $58.5 \mu\text{m}$; ME: $39.4 \mu\text{m}$). Sin embargo, dicha anchura es menor, en algún caso, a la propia reproducibilidad de la paquimetría ultrasónica convencional, ya que los LC del 95% que se han publicado en córneas sanas varían de $103.4 \mu\text{m}$ (CCI = 0.75) (Rah y cols., 2006) a $46 \mu\text{m}$ (Marsich y Bullimore, 2000). Por otra parte, Alumbrad y cols. (2011) han establecido una anchura similar ($41 \mu\text{m}$) para la técnica ultrasónica, aunque ellos no realizaron los cálculos para una sola medida por sesión, sino que hicieron la media de tres medidas consecutivas por sesión, y posteriormente computaron dicha media. Este tipo de metodología, lógicamente, también mejoraría los datos obtenidos para ambas técnicas de no contacto en nuestro estudio. Estos mismos autores también han analizado la reproducibilidad de la ME en pacientes sanos (siguiendo la misma técnica de computación de medias), obteniendo una anchura de $21 \mu\text{m}$ frente a las $39 \mu\text{m}$ que obtuvimos nosotros en pacientes tras LASIK. Teniendo en cuenta que otros autores no encontraron diferencias clínicas en la repetibilidad intra-sesión con la técnica ME entre sujetos sanos y pacientes tras LASIK (Zhao y cols., 2007), la diferencia de anchura de los LC del 95% entre nuestro estudio y el de

Almubrad y cols. (2011) demuestra que la realización de varias medidas paquimétricas en lugar de una sola, mejora considerablemente la fiabilidad de la técnica de medida.

Marsich y Bullimore (2000) han determinado una anchura de los LC del 95% más reducida (27 μm) que la nuestra para la técnica TBH en córneas sanas. Por lo tanto, es bastante posible que al igual que sucedió para la repetibilidad intra-sesión, la posible falta de transparencia corneal total en los pacientes de LASIK produzca leves alteraciones en la técnica de adquisición TBH que incremente la variabilidad de las medidas, dando lugar a una peor reproducibilidad comparado con córneas sanas. Finalmente, solo se han publicado valores de reproducibilidad inter-sesión (en términos de CV_i) para la técnica de fotografía rotacional de Scheimpflug en pacientes sanos.; Fu y cols. (2011) han determinado un valor de CV_i de 1.19% mientras que los valores que nosotros encontramos fueron de 1.54% para la ME y 2.41 para la TBH. Se puede concluir que ambas técnicas paquimétricas de no contacto son válidas para el seguimiento de los pacientes operados de LASIK, siendo la ME superior a la TBH y a la propia técnica ultrasónica convencional.

7.2.1.3 Intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas tras LASIK

En nuestro estudio encontramos una diferencia sistemática de 13.8 μm entre los valores medios paquimétricos obtenidos por la TBH y la

ME, siendo menores los primeros. Estos resultados son similares a los que previamente ha publicado Kawana y cols. (2004) quien ha estimado incluso una diferencia mayor entre ambas técnicas (22.3 μm) en pacientes con LASIK y en pacientes con queratocono (27.2 μm) (Kawana y cols., 2005). Sin embargo, el hallazgo más importante se observa cuando analizamos el grado de acuerdo entre ambas técnicas realizando el análisis gráfico convencional de Bland & Altman (Figura 14).

Se observó una tendencia de la diferencia paquimétrica a ser negativa a medida que la magnitud paquimétrica era mayor. Este hecho es de suma importancia, ya que el valor de la diferencia sistemática entre técnicas pasa a un segundo plano, debido a que en córneas por debajo de 420 μm , la técnica ME es muy probable que ofrezca valores paquimétricos mayores a la TBH; sin embargo, en córneas tras LASIK más gruesas de 500 μm es mucho más probable que la técnica TBH obtenga valores mayores que la ME. Debido a este tipo de relación existente entre los valores de la paquimetría obtenidos por ambas técnicas también se realizó un estudio estadístico más exhaustivo a través del modelo de regresión también descrito por Bland & Altman (1999). De esta forma, se obtuvieron las fórmulas de regresión que definieron de forma más exacta la naturaleza de la relación entre ambas magnitudes paquimétricas tanto para la diferencia media como para los LC del 95% (Figura 16). La tendencia que hemos encontrado en nuestro estudio entre la técnica TBH y ME tras LASIK es similar a la encontrada en córneas

normales entre ambas técnicas al realizar el análisis convencional de los LC de Bland & Altman (Jonuscheit y Doughty, 2009), aunque dicha tendencia no era tan pronunciada. Se puede determinar que dicha tendencia descrita entre estas técnicas se debe a la TBH, ya que Chakrabarti y cols. (2000) ha publicado esta misma relación entre las medidas paquimétricas obtenidas por TBH y ultrasonografía convencional, no solo en sujetos sanos sino también en pacientes operados de LASIK; mientras que Tam y cols. (2003) no ha encontrado variabilidad en las diferencias paquimétricas dependiendo de la magnitud de la paquimetría cuando ha evaluado la técnica ME y ultrasónica convencional, al igual que Zhao y cols. (2007) tras LASIK.

Las tendencias previamente descritas al calcular las diferencias paquimétricas en función de las magnitudes paquimétricas, es probable que se deban a las características propias del método de adquisición de la TBH. El haz de luz que atraviese la córnea cuando se realiza la medida paquimétrica con la técnica TBH verá alterada su trayectoria debido a la opacidad subclínica existente en los pacientes tras LASIK. El cambio de trayectoria de dicho haz de luz se puede deber al acumulo de partículas reflectivas en la interfase del colgajo o al incremento del número de queratocitos también en la interfase (Pisella y cols., 2001). Dicha alteración en el haz de luz también puede ser debida a la formación de nuevo colágeno tipo III y vacuolas de proteoglicano existentes tras la cirugía LASIK (Boscia y cols., 2002). Todos estos factores pueden dar lugar a errores

sistemáticos de medida de la TBH comparado con la técnica ultrasónica (Cheng y cols., 2006) o con la técnica ME, como es nuestro caso.

Es muy probable que las diferencias entre TBH y el resto de técnicas paquimétricas se deban a la leve pérdida de transparencia en pacientes tras LASIK, sin embargo dicha opacidad subclínica no explica porque existe también cierta tendencia del TBH a infraestimar la paquimetría en córneas delgadas sanas y especialmente, a sobrestimar en córneas gruesas (Hashemi y cols., 2007; González-Méijome y cols., 2003). Por lo tanto, es posible que también el propio algoritmo de reconstrucción no esté creado para el análisis de córneas esféricas y menos aún oblatas como son las que se obtienen tras ablación con láser excimer, ya que según ha hipotetizado previamente Chakrabarti y cols. (2000), la utilización de polinomios de bajo orden para regularizar la reconstrucción de una córnea sana puede que no sea adecuado para otro tipo de perfiles corneales.

7.2.2 Repetibilidad intra-sesión, reproducibilidad inter-sesión e intercambiabilidad de la paquimetría central en ASA.

7.2.2.1 Repetibilidad intra-sesión tras ASA

Los valores de repetibilidad intra-sujeto intra-sesión obtenidos en pacientes operados de miopía tras ASA fueron adecuados tanto para la técnica TBH (20.4 μm) como para la técnica ME (10.5 μm). Para

evaluar la repetibilidad tras ASA, se decidió realizar únicamente 5 medidas en vez de 10, como se realizó en el caso del LASIK, ya que se deseaba comprobar si un menor número de medidas paquimétricas podría dar lugar a una mejora clínica de la repetibilidad de ambas técnicas. Sin embargo, al comparar ambos resultados (LASIK y ASA), en el caso de TBH la diferencia en la repetibilidad ($2.77 \times DS_i$) es de únicamente $0.2 \mu\text{m}$, y en el caso de la ME la diferencia es de $2.3 \mu\text{m}$, por lo tanto no existieron mejoras clínicamente relevantes en la fiabilidad de medición de ambas técnicas, dando por hecho que el resto de variables que afectan la fiabilidad de medición son iguales para ambos grupos de pacientes.

Por otra parte, la ausencia de diferencias relevantes entre las técnicas LASIK y ASA demuestra que ambas técnicas de medición paquimétrica se comportan de manera muy similar en pacientes ablacionados con láser excimer independientemente de la técnica quirúrgica utilizada, una vez que se ha confirmado que los pacientes a los que se les realizó ASA no poseían opacidad corneal significativa tras evaluación biomicroscópica. Este hecho se debe tener muy en cuenta, ya que varios autores han encontrado una mayor incidencia de opacidad corneal leve tras ASA tanto en pacientes operados de miopía (Dawson DG y cols., 2008) como de hipermetropía (El-Agha y cols., 2003) comparado con aquellos a los que se les realizó la técnica LASIK.

7.2.2.2 Reproducibilidad inter-sesión tras ASA

Al igual que ha sucedido para la repetibilidad intra-sesión, los valores de la reproducibilidad inter-sesión para la técnica ME (Reproducibilidad $(2.77 \times DS_i) = 23.2 \mu\text{m}$) fueron mejores que para la técnica TBH ($33.8 \mu\text{m}$). Estos valores son de suma importancia para la evaluación corneal en el seguimiento de los pacientes postoperados de ASA, ya que diferencias superiores a dichos umbrales (23.2 y $33.8 \mu\text{m}$) indican un cambio real en la paquimetría del paciente, mientras que diferencias inferiores en sucesivas visitas se deben considerar meras variaciones paquimétricas atribuibles a la variabilidad propia de cada técnica.

Al igual que ya sucedió en el caso de la repetibilidad intra-sesión, la diferencias observadas entre los resultados de fiabilidad inter-sesión entre ambas técnicas quirúrgicas fueron mínimas, aunque peores para la técnica ASA. En el caso de la técnica TBH, las diferencias entre procedimientos quirúrgicos fueron de $4.3 \mu\text{m}$ (LASIK = $29.5 \mu\text{m}$) y en el caso de la ME fueron de $3.7 \mu\text{m}$ (LASIK = $19.5 \mu\text{m}$).

7.2.2.3 Intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas tras ASA

Los resultados obtenidos cuando se evaluó la intercambiabilidad entre ambas técnicas paquimétricas tras ASA fueron conceptualmente similares a los de LASIK, es decir, no se puede determinar una diferencia sistemática constante (compensable con

un factor de corrección), sino que la diferencia entre técnicas depende de la magnitud paquimétrica, por lo tanto ambas técnicas no son intercambiables. Al igual que ya sucedió en pacientes operados de LASIK, en córneas cuyo grosor sea de alrededor de 400 μm la técnica ME es más posible que ofrezca valores mayores a la TBH, mientras que en córneas cuyo grosor sea cercano a 500 μm , la técnica TBH es más probable que obtenga valores mayores que la ME (Figura 22). Debido al hecho de que la diferencia entre técnicas depende de la magnitud paquimétrica, también se aplicó el modelo de regresión descrito por Bland & Altman con el objetivo de obtener un mejor ajuste tanto en la línea que describe la diferencia media entre técnicas como las dos que describen los LC al 95% (Figura 24). Paralelamente a este hecho, se debe tener en cuenta que las distintas diferencias sistemáticas encontradas cuando en nuestro estudio se evaluó la intercambiabilidad entre técnicas paquimétricas (TBH y ME) en ambos tipos de técnicas refractivas corneales (LASIK y ASA), sea seguramente debida en primer lugar a que se utilizó un factor acústico diferente para cada técnica quirúrgica, 0.94 para LASIK y 0.92 para ASA. En segundo lugar, a que aunque la técnica especular fue la misma, para los pacientes tras LASIK se utilizó el aparato Topcon SP-2000P y para los post-ASA se usó el Topcon SP-3000P. A priori ambos aparatos se basan en la misma técnica de medición pero puede que ofrezcan medidas ligeramente distintas ya que Suzuki y cols., (2003) reportó que el Topcon SP-2000P infraestimaba la paquimetría alrededor de 23 μm comparado con la

técnica ultrasónica, mientras que recientemente Almubrad y cols. (2011) ha publicado una infraestimación media de 30 μm para el Topcon SP-3000P, aunque González-Pérez y cols. (2011) ha encontrado también un diferencia de únicamente 25 μm . Y finalmente en tercer lugar, a que la magnitud paquimétrica media de los pacientes operados de ASA era mayor a los de LASIK, y como se ha mencionado anteriormente, la diferencia sistemática entre técnicas depende de la magnitud paquimétrica.

7.2.3 Reproducibilidad inter-observador de la paquimetría central tras láser excimer.

Los resultados obtenidos para la reproducibilidad inter-observador con la técnica TBH indicaron que existía una relación significativa entre la magnitud de la medida y la DS; por lo tanto, los valores obtenidos tras aplicar la técnica ANOVA para estimar la reproducibilidad inter-observador ($2.77 \times DS_i$) no son fiables al no cumplirse la asunción de ausencia de relación significativa entre la DS y la magnitud de medida. Es posible que la relación inversa entre la variabilidad de medida y el grosor corneal se pueda deber al grado de transparencia corneal postoperatoria, a la posible dificultad de la técnica SST para caracterizar córneas oblatas o a la diferente habilidad de enfoque de la córnea que poseía cada observador previo a la adquisición de la paquimetría (Figura 30).

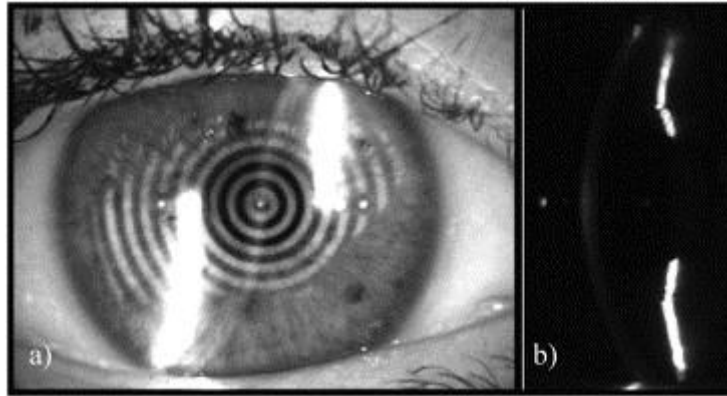


Figura 30. Procedimiento de enfoque previo a la adquisición de la paquimetría con la técnica de topografía de barrido de hendidura (Cairns, 2005).

Aunque se incluyeron pacientes operados de ASA sin opacidad corneal clínicamente significativa, es bastante probable que aquellos pacientes que tenían menor paquimetría fueran los que recibieron mayor cantidad de ablación láser, lo cual está directamente relacionado con el grado de opacidad corneal postoperatoria (Pietilä y cols., 2004), y fueron consecuentemente también los que pudieran tener mayor opacidad subclínica dando lugar a una menor fiabilidad de medida paquimétrica. Igualmente, aquellos que tenían menor paquimetría tras ASA podrían ser también los que presentaban un perfil corneal más oblato, y es posible que la técnica SST pueda presentar ciertas dificultades en la reconstrucción de córneas no prolatas como ya ha hipotetizado previamente Chakrabarti y cols. (2001). Finalmente, también es posible que la diferente técnica o habilidad de enfoque entre los distintos observadores previo a la adquisición de la paquimetría, haya provocado que a menor paquimetría mayor variabilidad de medida.

Lackner y cols. (2005) han evaluado previamente la reproducibilidad inter-observador de la paquimetría central utilizando la técnica TBH, pero en córneas sanas. Ellos reportaron una anchura de los LC del 95% para el análisis convencional Bland & Altman de 97 μm , más del doble del valor que nosotros encontramos (38 μm). Lo cual indica que muy posiblemente, la técnica de adquisición de cada observador era diferente, ya que otras variables como la transparencia corneal o el perfil oblato tras cirugía láser excimer no han podido provocar un incremento de la variabilidad de las medidas paquimétricas.

Por el contrario, la técnica ME no mostró ningún tipo de asociación entre la DS y la media paquimétrica, ni entre la diferencia entre observadores y la media paquimétrica tras realizar el análisis convencional de Bland & Altman (Figura 28), dando lugar una LC del 95% excelente (21.03 μm). Ogbuehi & Almubrad (2005) han estudiado también la reproducibilidad inter-observador utilizando la técnica ME, la anchura de los LC del 95% que ellos obtuvieron fue incluso mayor: 31 μm .

Si tenemos en cuenta que la reproducibilidad inter-observador de la paquimetría central ultrasónica en córneas sanas ha dado lugar a una anchura de los LC de 19 μm (CCI = 0.99) (Guvant y cols., 2003); la técnica ME se puede considerar tan adecuada como el “gold standard” ultrasónico para que se realice en la clínica diaria por varios observadores formados en la adquisición de forma independiente. Por el contrario, es aconsejable que la paquimetría adquirida con la técnica SST se realice siempre por la misma persona.

7.2.4 Repetibilidad de la paquimetría mínima y paracentral tras láser excimer.

Se evaluó la fiabilidad de medida de la técnica SST tras ablación con láser excimer para conocer tanto si la paquimetría correspondiente al punto más fino de la córnea era consistente, como para determinar si la paquimetría medio-periférica era menos repetible que la central, como ya se había publicado anteriormente en córneas sanas.

La paquimetría mínima no era repetible, ya que se demostró una relación significativa entre la DS y la magnitud media, por lo tanto los resultados del ANOVA mostrados en la tabla 11 son valores que no son estimaciones consistentes para dicha variable.

En lo que respecta a la fiabilidad de medida paquimétrica medio-periferia, los valores correspondientes a la localización inferior (3-mm paracentral) tampoco fueron fiables debido de nuevo a la asociación significativa existente entre la DS y la magnitud de dicha variable. El resto de localizaciones paracentrales cumplieron con dicha asunción para el análisis ANOVA y mostraron valores de CV_i (DS_i / media) comprendidos entre 1.8% (nasal) y 2.27% (superior), siendo superiores a los obtenidos para la paquimetría central (1.57%) de forma significativa. En esta ocasión es más aconsejable aportar los valores de CV_i que los de repetibilidad ($2.77 \times DS_i$), porque los valores medios paquimétricos centrales fueron al menos 100 μm más finos que los paracentrales. Jonuscheit & Doughty (2007) han estudiado la repetibilidad paracentral y periférica de la técnica SST tras realizar 3 medidas consecutivas. Estos autores han estimado valores de CV_i

cercanos a 1.1% en sujetos sanos en la localización nasal y temporal a 3mm del centro corneal, por lo tanto la variabilidad esperable tras cirugía láser excimer en la medio-periferia corneal (3 mm) pueda ser entorno al doble que en córneas normales, como ya hemos visto que ha sucedido para la paquimetría central. Por último, también se debe tener en cuenta no solo este descenso en la fiabilidad de medida, sino que en localizaciones medio-periféricas el factor de corrección (o acústico) utilizado habitualmente en el zona central no es válido para las áreas paracentrales (González-Méijome y cols., 2003; Jonuscheit S y cols., 2007).

8. CONCLUSIONES

8.1 GENERAL

La repetibilidad de la medida paquimétrica de los sistemas de medida topografía de barrido de hendidura y microscopía especular es buena en pacientes operados de cirugía refractiva corneal mediante laser excimer, tanto mediante LASIK como mediante técnica de superficie en ausencia de opacidad clínicamente significativa. La reproducibilidad de dichos sistemas de medida es moderada pero clínicamente aceptable en el mismo tipo de pacientes; siendo la fiabilidad de medida superior para el sistema de microscopía especular. En esta investigación se proporcionan por primera vez los umbrales de cambio paquimétrico mínimos para diferenciar una posible modificación real en el grosor de la córnea de la variabilidad intrínseca a los sistemas estudiados.

8.2 ESPECÍFICAS

.- La repetibilidad y reproducibilidad de la medida de la paquimetría central con la sistema de topografía de barrido de hendidura y microscopía especular después de cirugía LASIK son clínicamente buenas. Sin embargo, ambos sistemas no son directamente intercambiables debido a la tendencia del sistema de topografía de

barrido de hendidura a infraestimar paquimetrías finas y a sobreestimar paquimetrías gruesas.

.- La repetibilidad y reproducibilidad de la medida de la paquimetría central con el sistema de topografía de barrido de hendidura y microscopía especular después de cirugía ASA son clínicamente moderadas y similares a las halladas tras LASIK. Sin embargo, ambos sistemas no son directamente intercambiables debido a que la variabilidad de las diferencias dependen de la magnitud paquimétrica a considerar.

.- La variabilidad inter-observador de la medida paquimétrica obtenida con el sistema de microscopía especular es clínicamente buena y similar a la intra-observador en pacientes operados de cirugía refractiva corneal con láser excimer. Sin embargo, en el caso del sistema de topografía de barrido de hendidura, la variabilidad inter-observador puede depender significativamente de la magnitud paquimétrica en dichos pacientes.

.- La repetibilidad de la paquimetría mínima y paracentral utilizando el sistema de topografía de barrido de hendidura es significativamente menor que la central después de cirugía refractiva corneal tras láser excimer.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Alió JL, Claramonte P, Cáliz A, Ramzy MI, 2005. Corneal modeling of keratoconus by conductive keratoplasty. *J Cataract Refract Surg.* 31,190-197.
- Aldave AJ, Mabon M, Hollander DA, McLeod SD, Spencer WH, Abbott RL, 2003. Spontaneous corneal hydrops and perforation in keratoconus and pellucid marginal degeneration. *Cornea.* 22, 169-74.
- Altan-Yaycioglu R, Pelit A, Akova YA, 2007. Comparison of ultrasonic pachymetry with Orbscan in corneal haze. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 245,1759-63.
- Altman DG, Bland JM, 1996. Comparing several groups using analysis of variance. *BMJ.* 8;312,1472-3.
- Almubrad TM, Osuagwu UL, Alabbadi I, Ogbuehi KC,2011. Comparison of the precision of the Topcon SP-3000P specular microscope and an ultrasound pachymeter. *Clin Ophthalmol.* 5, 871-6.
- Alpíns N, Stamatelatos G, 2007. Customized photoastigmatic refractive keratectomy using combined topographic and refractive data for myopia and astigmatism in eyes with forme fruste and mild keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 33, 591-602.
- Ambrosio R, Wilson S, 2003. LASIK vs LASEK vs PRK: advantages and indications. *Semin Ophthalmol.* 18, 2–10.
- Arffa R C. Grayson, 1999. *Enfermedades de la Córnea. Tomo 1. Anatomía.* Cuarta edición. Harcourt Brace.
- Argento CJ, Cosentino MJ, Bionini A, 1997. Treatment of hyperopic astigmatism. *J Cataract Refract Surg.* 23, 1480–90.
- Atchison DA, 1989. Optical design of intraocular lenses I. On-axis performance. *Optom Vis Sci.* 8, 492-506.

- Azar DT, Ang RT, Lee JB y cols., 2001. Laser subepithelial keratomileusis: electron microscopy and visual outcomes of flap photorefractive keratectomy. *Curr Opin Ophthalmol.* 12, 323–8.
- Bailey MD, Mitchell GL, Dhaliwal, Boxer Wachler BS, Zadnik K, 2003. Patient satisfaction and visual symptoms after laser in situ keratomileusis. *Ophthalmology.* 110, 1371–8.
- Barraquer J, 1949. Queratoplastia refractiva. *Estudios Inform Oftal Inst Barraquer.* 10, 2-21.
- Barraquer J, 1958. Method for cutting lamellar grafts in frozen corneas: New orientations for refractive surgery. *Arch Soc Am Ophthalmol.* 1,237.
- Barraquer C, Gutierrez AM, 1999. Results of laser in situ keratomileusis in hyperopic compound astigmatism. *J Cataract Refract Surg.* 25, 1198-204.
- Barraquer RI. De Toledo MC. Torres E. Distrofias y degeneraciones corneales. Atlas y texto. Sección 2: La córnea normal. Barcelona ESPAXS, S.A. 2004.
- Belmonte C, Acosta MC, Gallar J, 2004. Neural basis of sensation in intact and injured corneas. *Exp Eye Res.* 78,513-25.
- Bennett AG, Rabbetts RB, 1998. The schematic eye. En: *Clinical visual optics.* Butterworth-Heinemann. 207-228.
- Bergmanson J, 2001. Light and electron microscopy. En: Efron N. *The Cornea. Its examination in contact lens practice.* Butterworth-Heinemann. 136-177.
- Beuerman RW, Mircheff A, Pflugfelder SC, Stern ME, 2004. The lacrimal functional unit. En: Pflugfelder SC, Beuerman RW, Stern ME (eds). *Dry eye and ocular surface disorders.* New York, Marcel Dekker.
- Binder PS, Trattler WB, 2010. Evaluation of a risk factor scoring system for corneal ectasia after LASIK in eyes with normal topography. *J Refract Surg.* 26, 241-50.
- Bland JM, Altman DG, 1986. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1, 307-310.
- Bland JM, Altman DG, 1996(a). Measurement error. *BMJ.* 313, 744.

- Bland JM, Altman DG, 1996(b). Measurement error and correlation coefficients. *BMJ*. 313, 41-42.
- Bland JM, Altman DG, 1996(c). Measurement error proportional to the mean. *BMJ*. 13, 313(7049):106.
- Bland JM, Altman DG, 1999. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res*. 8, 135-60.
- Bland M, 2000. *An Introduction to Medical Statistics*, 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press. 268-275.
- Bores LD, 1994. Refractive surgery. *J Fla Med Assoc*. 81, 272-7.
- Boscia F, La Tegola MG, Alessio G, Sborgia C, 2002. Accuracy of Orbscan optical pachymetry in corneas with haze. *J Cataract Refract Surg*. 28, 253–258.
- Cairns G, McGhee CN, 2005. Orbscan computerized topography: attributes, applications, and limitations. *J Cataract Refract Surg*. 31, 205–220.
- Camellin M, 2003. Laser epithelial keratomileusis for myopia. *J Refract Surg*. 19, 666–70.
- Carones F, Fiore T, y cols., 1999. Mechanical vs. alcohol epithelial removal during photorefractive keratectomy. *J Refract Surg*. 15, 556-62.
- Chakrabarti HS, Craig JP, Brahma A, Malik TY, McGhee CN, 2001. Comparison of corneal thickness measurements using ultrasound and Orbscan slit-scanning topography in normal and post-LASIK eyes. *J Cataract Refract Surg*. 27,1823-8.
- Chang DT, Pantcheva MB, Noecker RJ, 2010. Corneal thickness and intraocular pressure in edematous corneas before and after Descemet stripping with automated endothelial keratoplasty. *Cornea*. 29, 1125-1130.
- Cheng AC, Rao SK, Tang E, Lam DS, 2006. Pachymetry assessment with Orbscan II in postoperative patients with myopic LASIK. *J Refract Surg*. 22, 363-6.
- Choi RY, Wilson SE, 2001. Hyperopic laser in situ keratomileusis: primary and secondary treatments are safe and effective. *Cornea*. 20, 388–93.

- Christensen A, Narváez J, Zimmerman G, 2008. Comparison of central corneal thickness measurements by ultrasound pachymetry, noncontact optical pachymetry, and Orbscan pachymetry. *Cornea*. 27, 862-65.
- Correa-Pérez ME, López-Miguel A, Miranda-Anta S, Iglesias-Cortiñas D, Alió JL, Maldonado MJ, 2012. Precision of high definition spectral-domain optical coherence tomography for measuring central corneal thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 53, 1752-7.
- Cotsarelis G, Cheng SZ, Dong G, Sun T, Lavker R, 1989. Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate implications on epithelial stem cells. *Cell*. 57, 201-209.
- Dawson DG, Grossniklaus HE, McCarey BE, Edelhauser HF, 2008. Biomechanical and wound healing characteristics of corneas after excimer laser keratorefractive surgery: is there a difference between advanced surface ablation and sub-Bowman's keratomileusis? *J Refract Surg*. 24,90-6.
- De Benito-Llopis L, Teus MA, Sánchez-Pina JM, Hernández-Verdejo JL, 2007. Comparison between LASEK and LASIK for the correction of low myopia. *J Refract Surg*. 23, 139-45.
- De Datt Da, Sullivan DA, 2000. Wetting of the ocular surface. In Albert D, Jakobiec F (eds): *Principles and practice of ophthalmology*, 2^o ed, Philadelphia. WD Saunders.
- De Rojas Silva MV, Díez-Feijóo E, Javaloy, Sánchez-Salorio M, 2006. Prophylactic perioperative antiviral therapy for LASIK in patients with inactive herpetic disease. *J Refract Surg*. 22, 404–6.
- De Rojas Silva MV, Rodríguez-Conde R, Cobo- Soriano R, Beltrán J, Llovet F, Baviera J, 2007. Laser in situ keratomileusis in patients with a history of ocular herpes. *J Cataract Refract Surg*. 33, 1855–9.
- Doughty MJ & Zaman ML, 2000. Human corneal thickness and its impact on intraocular pressure measures: A review and meta-analysis approach. *Surv Ophthalmol*. 44, 367-408.

- Doughty MJ, Aakre BM, 2008. Further analysis of assessments of the coefficient of variation of corneal endothelial cell areas from specular microscopic images. *Clin Exp Optom.* 91, 438-46.
- Dua HS y Azuara-Blanco A, 2000. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol*, 44, 415-425.
- Duffey RJ and Leaming DV, 2011. U.S. Trends in refractive surgery: 2011 ISRS survey. Presented at: AAO Annual Meeting, October, 2011; Orlando.
- Duke-Elder S y Wybar KC, 1961. Cornea. En: *The anatomy of the visual system. System of Ophthalmology, Vol II.* S. Duke-Elder ed., Henry Kimpton. 95-131.
- El-Agha MS, Bowman RW, Cavanagh D, McCulley JP, 2003. Comparison of photorefractive keratectomy and laser in situ keratomileusis for the treatment of compound hyperopic astigmatism. *J Cataract Refract Surg.* 29, 900-7.
- Fakhry MA, Artola A, Belda JI, Ayala MJ, Alio JL, 2002. Comparison of corneal pachymetry using ultrasound and Orbscan II. *J Cataract Refract Surg.* 28, 248-252.
- Fam HB, Lim KL, Reinstein DZ, 2005. Orbscan global pachymetry: analysis of repeated measures. *Optom Vis Sci.* 82, 1047-53.
- Farah SG, Azar DT, Gurdal C, Wong J, 1998. Laser in situ keratomileusis: literature review of a developing technique. *J Cataract Refract Surg*, 24, 989–1006.
- Fernandez-Suntay JP, Pineda R, Azar DT, 2004. Conductive keratoplasty. *Int. Ophthalmol. Clin.* 44, 161-8.
- Forrester JV, Dick AD, McMenemy PG, Lee WR, 1966. *The Eye: Basic Sciences in Practice.* WB Saunders: London. pp:14-18.
- Fu J, Wang X, Li S, Wu G, Wang N, 2010. Comparative study of anterior segment measurement with Pentacam and anterior segment optical coherence tomography. *Can J Ophthalmol.* 45, 627-31.
- Fujimoto JG, Brezinski ME, Tearney GJ, Boppart SA, Bouma B, Hee MR, Southern JF, Swanson EA, 1995. Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography. *Nat Med.* 1, 970-2.

- Geggel HS, 2009. Pachymetric ratio no-history method for intraocular lens power adjustment after excimer laser refractive surgery. *Ophthalmology*. 116, 1057-1066.
- Gipson IK, 1994. Anatomy of the conjunctiva, cornea and limbus. En: *The Cornea*. Ed G Smolin, RA Thoft 3rd ed. Little Brown, Boston. pp 3-24.
- González-Pérez J, González-Méijome JM, Rodríguez Ares MT, Parafita MA, 2011. Central corneal thickness measured with three optical devices and ultrasound pachometry. *Eye Contact Lens*. 37, 66-70.
- González-Méijome JM, Cerviño A, Yebra-Pimentel E, Parafita MA, 2003. Central and peripheral corneal thickness measurement with Orbscan II and topographical ultrasound pachometry. *J Cataract Refract Surg*. 29, 125-32.
- González-Méijome JM, Jorge J, Queirós A, Peixoto-de-Matos SC, Parafita MA, 2010. Two single descriptors of endothelial polymorphism and pleomorphism. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 248, 1159-66.
- Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, y cols., 2002. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 120, 714-720.
- Guvant P, Broadway DC, Watkins RJ, 2003. Repeatability and reproducibility of the BVI ultrasonic Pachymeter. *Eye (Lond)*. 17, 825-8.
- Ha BJ, Kim SW, Kim SW, Kim EK, Kim TI, 2009. Pentacam and Orbscan II measurements of posterior corneal elevation before and after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg*. 25, 290-5.
- Hamed AM, Wang L, Misra M, Koch DD, 2002. A comparative analysis of five methods of determining corneal refractive power in eyes that have undergone myopic laser in situ keratomileusis. *Ophthalmology*. 109, 651-58.
- Hashemi H, Taheri SM, Fotouhi A, Kheiltash A, 2004. Evaluation of the prophylactic use of mitomycin-C to inhibit haze formation after photorefractive keratectomy in high myopia: a prospective clinical study. *BMC Ophthalmol*. 14, 4-12.

- Hashemi H, Mehravaran S, 2007. Central corneal thickness measurement with Pentacam, Orbscan II, and ultrasound devices before and after laser refractive surgery for myopia. *J Cataract Refract Surg.* 33, 1701-17.
- Hay ED, 1980. Development of the vertebrate cornea. *Int Rev Cyt.* 63, 263-322.
- Hondur A, Bilgihan K, Hasanreisoglu B, 2008. A prospective bilateral comparison of epi-LASIK and LASEK for myopia. *J Refract Surg.* 24, 928-34.
- Huang J, Pesudovs K, Yu A, Wright T, Wen D, Li M, Yu Y, Wang Q, 2011. A comprehensive comparison of central corneal thickness measurement. *Optom Vis Sci.* 88, 940-9.
- Ishibazawa A, Igarashi S, Hanada K, y cols., 2011. Central corneal thickness measurements with Fourier-domain optical coherence tomography versus ultrasonic pachymetry and rotating Scheimpflug camera. *Cornea.* 30, 615-619.
- Ismail, Mm, 2002. Correction of hyperopia with intracorneal implants. *J Cataract Refract Surg.* 28, 527-30.
- Javaloy J, Vidal MT, Villada JR, Artola A, Alió JL, 2004. Comparison of four corneal pachymetry technique;s in corneal refractive surgery. *J Refract Surg.* 20, 29-34.
- Johnson D, Bourne W, Campbell R, 1982. The ultrastructure of Descemet's membrane. I. Changes with age in normal corneas. *Arch Ophthalmol.* 100, 1942-47.
- Jonuscheit S, Doughty MJ, 2007. Regional repeatability measures of corneal thickness: Orbscan II and ultrasound. *Optom Vis Sci.* 84, 52-8.
- Jonuscheit S, Doughty MJ, 2009. Discrepancy between central and midperipheral corneal thickness measurements obtained with slit-scanning pachymetry and noncontact specular microscopy. *J Cataract Refract Surg.* 35, 2127-35.
- Jonuscheit S, Doughty MJ, Button NF, 2007. On the use of Orbscan II to assess the peripheral corneal thickness in humans: a comparison with ultrasound pachometry measures. *Ophthalmic Physiol Opt.* 27, 179-89.

- Kalyvianaki MI, Kymionis GD, Kounis GA, Panagopoulou SI, Grentzelos MA, Pallikaris IG, 2008. Comparison of Epi-LASIK and off-flap Epi-LASIK for the treatment of low and moderate myopia. *Ophthalmology*. 115, 2174-80.
- Kawana K, Miyata K, Tokunaga T, Kiuchi T, Hiraoka T, Oshika T, 2005. Central corneal thickness measurements using Orbscan II scanning slit topography, noncontact specular microscopy, and ultrasonic pachymetry in eyes with keratoconus. *Cornea*. 24, 967-71.
- Kawana K, Tokunaga T, Miyata K, Okamoto F, Kiuchi T, Oshika T, 2004. Comparison of corneal thickness measurements using Orbscan II, non-contact specular microscopy, and ultrasonic pachymetry in eyes after laser in situ keratomileusis. *Br J Ophthalmol*. 88, 466-68.
- Kaya V, Utine CA, Altunsoy M, Oral D, Yilmaz OF, 2008. Evaluation of corneal topography with Orbscan II in first-degree relatives of patients with keratoconus. *Cornea*. 27, 531-4.
- Kim JK, Kim SS, Lee HK, Lee IS, Seong GJ, Kim EK, Han SH, 2004. Laser in situ keratomileusis versus laser-assisted subepithelial keratectomy for the correction of high myopia. *J Cataract Refract Surg*. 30, 1405-11.
- Kim TI, Yang SJ, Tchah H, 2004. Bilateral comparison of wavefront-guided versus conventional laser in situ keratomileusis with Bausch and Lomb Zyoptix. *J Refract Surg*. 20, 432-8.
- Komai Y, Ushiki T, 1991. The three dimensional organization of collagen fibrils in the human cornea and sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 32, 2244-58.
- Kothari S, Kothari K, Parikh RS, 2011. Role of anterior segment optical coherence tomogram in Descemet's membrane detachment. *Indian J Ophthalmol*. 59, 303-5.
- Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, 1997. *Cornea*. Volume 1. Fundamentals of cornea and external diseases. Mosby. pp: 509-17.
- Kruse FE, 1994. Stem cells and corneal epithelial regeneration. *Eye*. 8170-187.

- Lackner B, Schmidinger G, Pieh S, Funovics MA, Skorpik C, 2005. Repeatability and reproducibility of central corneal thickness measurement with Pentacam, Orbscan, and ultrasound. *Optom Vis Sci.* 82, 892-9.
- Lambers D, 1994. Physiology of the tear film, In Smolin G, Thoft R (eds): *The cornea*, ed 3, Boston. Little, Brown.
- Latour J, Abraira V, Cabello JB, López Sánchez J, 1997. Métodos de investigación en cardiología clínica (IV). Las mediciones en clínicas en cardiología: validez y errores de medición. *Rev Esp Cardiol.* 50, 117-128.
- Lattimore MR Jr, Kaupp S, Schallhorn S, Lewis R, 1999. Orbscan pachymetry: implications of a repeated measures and diurnal variation analysis. *Ophthalmology.* 106, 977-81.
- Lee JB, Seong GJ, Lee JH, Seo KY, Lee YG, Kim EK, 2001. Comparison of laser epithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy for low to moderate myopia. *J Cataract Refract Surg.* 27, 565–70.
- Lindbohm N, Tuisku IS, Tervo TM, 2009. LASIK for myopia of -9.00 to -17.00 D with the VISX STAR S2: 2- to 5-year follow-up. *J Refract Surg.* 25, 195-200.
- López-Miguel A, Correa-Pérez ME, Miranda-Anta S, Iglesias-Cortiñas D, Coco-Martín MB, Maldonado MJ, 2012. Comparison of central corneal thickness using optical low-coherence reflectometry and spectral-domain optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg.* 38, 758-64.
- Macsai MS, Fontes BM, 2008. Refractive enhancement following presbyopia-correcting intraocular lens implantation. *Curr Opin Ophthalmol.* 19, 18–21.
- Maldonado MJ, Ruiz-Oblitas L, Munuera JM, Aliseda D, García-Layana A, Moreno-Montañés J, 2000. Optical coherence tomography evaluation of the corneal cap and stromal bed features after laser in situ keratomileusis for high myopia and astigmatism. *Ophthalmology.* 107, 81-7.
- Maldonado MJ, 2002. Undersurface ablation of the flap for laser in situ keratomileusis retreatment. *Ophthalmology.* 109, 1453–1464.

- Marsich MW, Bullimore MA, 2000. The repeatability of corneal thickness measures. *Cornea*. 19(6), 792-5.
- Martín R, de Juan V, Rodríguez G, Cuadrado R, Fernandez I, 2007. Measurement of corneal swelling variations without removal of the contact lens during extended wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 48, 3043-50.
- Martínez de la Casa JM, Vico Ruiz E, Iradier Urrutia MT, 2004. Estudio del endotelio corneal en pacientes sin patología ocular. *Microcirugía ocular*. 4.
- Mathew PT, David S, Thomas N, 2011. Endothelial cell loss and central corneal thickness in patients with and without diabetes after manual small incision cataract surgery. *Cornea*. 30, 424-8.
- Maurice DM, 1957. The structure and transparency of the cornea. *J Physiol*. 136, 263-86.
- McGhee, C., Anastas CN, Jenkins L, 1997. The surgical and laser correction of hypermetropia. En: McGhee CNJ, Taylor HR, Trokel S, Gartry D, eds. *Excimer lasers in ophthalmology: principles and practice*. London: Martin Dunitz. pp: 273-94.
- McMenamin PG, Steele C, McGhee CNJ, 1997. Cornea anatomy, physiology and healing. En: McGhee CNJ, Taylor HR, Trokel S, Gartry D, eds. *Excimer lasers in ophthalmology: principles and practice*. London: Martin Dunitz. pp: 41-63.
- Millodot M y O'Leary DJ, 1981. Corneal fragility and its relationship to senistivity. *Acta Ophthalmol*. 59, 820-826.
- Miyai T, Miyata K, Nejima R, Honbo M, Minami K, Amano S, 2008. Comparison of laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy results: long-term follow-up. *J Cataract Refract Surg*. 34, 1527– 31.
- Módis L Jr, Langenbucher A, Seitz B, 2001(a) Corneal thickness measurements with contact and noncontact specular microscopic and ultrasonic pachymetry. *Am J Ophthalmol*. 132, 517-21.

- Módis L Jr, Langenbucher A, Seitz B, 2001(b) Scanning-slit and specular microscopic pachymetry in comparison with ultrasonic determination of corneal thickness. *Cornea*. 20, 711-4.
- Moller-Pederson T, Ledet T y Ehlers N, 1994. The keratoc- ite density of human donor corneas. *Curr Eye Res*. 13, 163-169.
- Müller JL, Pels L y Vrensen GF, 1995. Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal Keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 36, 2557-2567.
- Müller LJ, Vrensen GF, Pels L, Cardozo BN, Willekens B, 1997. Architecture of the human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 38, 985-994.
- Munnerlyn, C. R., S. J. Koons, y cols., 1988. Photorefractive keratectomy: a technique for laser refractive surgery. *J Cataract Refract Surg*. 14, 46-52.
- Myles PS, Cui J, 2007. Using the Bland-Altman method to measure agreement with repeated measures. *Br J Anaesth*. 99, 309-11.
- Nagy ZZ, Resch M, Süveges I, 2004. Ultrasound evaluation of flap thickness, ablation depth, and corneal edema after laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg*. 20, 279-81.
- Nakamura K, Kurosaka D, Bissen-Miyajima H, Tsubota K, 2001. Intact corneal epithelium is essential for the prevention of stromal haze after laser assisted in situ keratomileusis. *Br J Ophthalmol*. 85, 209-13.
- Nicolaidis N, 1986. Recent findings on the chemical composition of the lipids of steer and humar meibomian glands. In Holly F (eds): *The precocular tear film in health, disease and contact lenses wear*, Lubbock, Tx. Dry Eye Institute. pp: 570-596
- Nordan LT, Slade SG, Baker RN, Suarez C, Juhasz T, Kurtz R, 2003. Femtosecond laser flap creation for laser in situ keratomileusis: six month follow-up of initial US clinical series. *J RefractSurg*. 19, 8–14.
- O'Doherty M, Kirwan C, O'Keeffe M, O'Doherty J, 2007. Postoperative pain following epi-LASIK, LASEK, and PRK for myopia. *J Refract Surg*. 23, 133-8.

- O'Keefe M, Kirwan C, 2010. Laser epithelial keratomileusis in 2010 – a review. *Clin Experiment Ophthalmol.* 38, 183–191.
- Ogbuehi KC, Almubrad TM, 2005. Repeatability of central corneal thickness measurements measured with the Topcon SP2000P specular microscope. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 243, 798-802.
- Pallikaris IG, Katsanevaki VJ, Kalyvianaki MI, Naoumidi II, 2003. Advances in subepithelial excimer refractive surgery techniques: Epi-LASIK. *Curr Opin Ophthalmol.* 14, 207-12.
- Pallikaris IG, Karoutis AD, Lydataki SE, Siganos DS, 2004. Rotating brush for fast removal of corneal epithelium. *J Refract Corneal Surg.* 10, 439-42.
- Patel SV, Maguire LJ, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM, 2007. Femtosecond laser versus mechanical microkeratome for LASIK: a randomised controlled study. *Ophthalmology.* 114, 1482–90.
- Pietilä J, Mäkinen P, Pajari T, Suominen S, Keski-Nisula J, Sipilä K, Huhtala A, Uusitalo H, 2004. Eight-year follow-up of photorefractive keratectomy for myopia. *J Refract Surg.* 20, 110–15.
- Piñero DP, Plaza AB, Alió JL, 2008. Anterior segment biometry with 2 imaging technologies: very-high-frequency ultrasound scanning versus optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg.* 34, 95-102.
- Pisella PJ, Auzerie O, Bokobza Y, Debbasch C, Baudouin C, 2001. Evaluation of corneal stromal changes in vivo after laser in situ keratomileusis with confocal microscopy. *Ophthalmology.* 108, 1744-50.
- Prakash G, Agarwal A, Kumar DA, Jacob S, Agarwal A, Maity A, 2011. Surface ablation with iris recognition and dynamic rotational eye tracking-based tissue saving treatment with the Technolas 217z excimer laser. *J Refract Surg.* 27, 223-31.
- Qazi MA, Sanderson JP, Mahmoud AM, Yoon EY, Roberts CJ, Pepose JS, 2009. Postoperative changes in intraocular pressure and corneal biomechanical metrics. Laser in situ keratomileusis versus laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 35, 1774-88.

- Rah MJ, Deng L, Jackson JM, 2006. Reproducibility of ultrasound pachymetry using the Sonogage Corneo-Gage Plus 2. *Optometry*. 77, 392-6.
- Randleman JB, 2006. Post-laser in situ keratomileusis ectasia: current understanding and future directions. *Curr Opin Ophthalmol*. 17:406-12.
- Randleman JB, Trattler WB, Stulting RD, 2008. Validation of the Ectasia Risk Score System for preoperative laser in situ keratomileusis screening. *Am J Ophthalmol*. 145, 813-8.
- Randleman JB, Woodward M, Lynn MJ, Stulting RD, 2008. Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery. *Ophthalmology*. 115, 37-50.
- Randleman JB, White AJ Jr, Lynn MJ, Hu MH, Stulting RD, 2009. Incidence, outcomes, and risk factors for retreatment after wavefront-optimized ablations with PRK and LASIK. *Refract Surg*. 25, 273-276.
- Rapuano CJ, 2006. An introduction: refractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol*. 17, 367.
- Rashad KM, 1999. Laser in situ keratomileusis for myopic astigmatism. *J Refract Surg*. 15, 653–60.
- Reinstein DZ, Archer TJ, Gobbe M, Silverman RH, Coleman DJ, 2010. Repeatability of layered corneal pachymetry with the artemis very high-frequency digital ultrasound arc-scanner. *J Refract Surg*. 26, 646-59.
- Reznik J, Salz JJ, Klimava A, 2008. Development of unilateral corneal ectasia after PRK with ipsilateral preoperative forme fruste keratoconus. *J Refract Surg*. 24, 843-7.
- Rodriguez MM, Waring GO, Hackett J, Donohoo P, 1982. Cornea. In: Jackobiec FA, ed, *Ocular Anatomy, Embryology and Teratology*. Harper and Row: Philadelphia.pp: 1153-65.
- Rosa N, Cennamo G, 2002. Phototherapeutic keratectomy for relief of pain in patients with pseudophakic corneal edema. *J Refract Surg*. 18, 276-9.
- Rózsa AJ, Beuerman RW, 1982. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain*. 14105-120.

- Rubinfeld, R. S., D. R. Hardten, y cols, 2003. To lift or recut: changing trends in LASIK enhancement. *J Cataract Refract Surg.* 29, 2306-17.
- Salz JJ, 2003. Wavefront-guided treatment for previous laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy: case reports. *J Refract Surg.* 19, S697-702.
- Schweitzer C, Roberts CJ, Mahmoud AM, Colin J, Maurice-Tison S, Kerautret J, 2010. Screening of forme fruste keratoconus with the ocular response analyzer. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 51, 2403-10.
- Scott JE, 1991. Proteoglycan collagen interaction and corneal ultrastructure. *Biochem Soc Trans.* 19887-881.
- Sharma N, Singhvi A, Sinha R, Vajpayee RB, 2005. Reasons for not performing LASIK in refractive surgery candidates. *J Refract Surg.* 21, 496–498.
- Sharma N, Prakash G, Sinha R, Tandon R, Titiyal JS, Vajpayee RB, 2008. Indications and outcomes of phototherapeutic keratectomy in the developing world. *Cornea.* 27, 44-9.
- Slade SG, 2007. The use of the femtosecond laser in the customisation of corneal flaps in laser in situ keratomileusis. *Curr Opin Ophthalmol.* 18, 314-7.
- Spadea L, Fasciani R, Necozone S, Balestrazzi E, 2000. Role of the corneal epithelium in refractive changes following laser in situ keratomileusis for high myopia. *J Refract Surg.* 16, 133-9.
- Steinert RF, Bafna S, 1998. PRK and LASIK are the treatment of choice. *Surv Ophthalmol.* 43, 157–79.
- Stonecipher K, Ignacio TS, Stonecipher M, 2006. Advances in refractive surgery: microkeratome and femtosecond laser flap creation in relation to safety, efficacy, predictability, and biomechanical stability. *Curr Opin Ophthalmol.* 17, 368–72.
- Sugar A, Rapuano CJ, Culbertson WW, Huang D, Varley GA, Agapitos PJ, de Luise VP, Koch DD, 2002. Laser in situ keratomileusis for myopia and astigmatism: safety and efficacy: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 109, 175–87.

- Sutton GL, Kim P, 2010. Laser in situ keratomileusis in 2010 - a review. *Clin Experiment Ophthalmol.* 38, 192-210.
- Suzuki S, Oshika T, Oki K, Sakabe I, Iwase A, Amano S, Araie M, 2003. Corneal thickness measurements: scanning-slit corneal topography and noncontact specular microscopy versus ultrasonic pachymetry. *J Cataract Refract Surg.* 29, 1313-8.
- Tam ES, Rootman DS, 2003. Comparison of central corneal thickness measurements by specular microscopy, ultrasound pachymetry, and ultrasound biomicroscopy. *J Cataract Refract Surg.* 29, 1179-84.
- Taneri S, Zieske JD, Azar DT, 2004. Evolution, techniques, clinical outcomes, and pathophysiology of LASEK: review of the literature. *Surv Ophthalmol.* 49, 576-602.
- Taneri S, Weisberg M, Azar DT, 2011(a). Surface ablation techniques. *J Cataract Refract Surg.* 37, 392-408.
- Taneri S, Oehler S, Koch J, Azar D, 2011 (b). Effect of repositioning or discarding the epithelial flap in laser-assisted subepithelial keratectomy and epithelial laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 37, 1832-46.
- Teus MA, de Benito-Llopis L, García-González M, 2008. Comparison of visual results between laser-assisted subepithelial keratectomy and epithelial laser in situ keratomileusis to correct myopia and myopic astigmatism. *Am J Ophthalmol.* 146, 357-362.
- Thoft Ra, Friend J, 1983. The X,Y,Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Visi Sci.* 24, 1442-3.
- Varley GA, Huang D, Rapuano CJ, Schallhorn S, Boxer Wachler BS, Sugar A, 2004. LASIK for hyperopia, hyperopic astigmatism, and mixed astigmatism: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 111, 1604–17.
- Ventura AC, Wälti R, Böhnke M, 2001. Corneal thickness and endothelial density before and after cataract surgery. *Br J Ophthalmol.* 85, 18-20.
- Vinciguerra, P, Munoz MI, Camesasca FI, 2002. Reduction of spherical aberration: experimental model of photoablation. *J Refract Surg.* 18, 366-70.

- Vinciguerra P, Munoz MI, Camesasca FI, Grizzi F, Roberts C, 2005. Long-term follow-up of ultrathin corneas after surface retreatment with phototherapeutic keratectomy. *J Cataract Refract Surg.* 31, 82-7.
- Villa C y Santodomingo J, 2010. La córnea. Parte I. Estructura, función y anatomía microscópica. *Gaceta óptica.* 454.
- Waring GO, Bourne BM, Edelhauser HF, Kenyon KR, 1982. The corneal endothelium normal and pathologic structure and function. *Ophthalmology.* 89, 531-90.
- Weisenthal RW, Salz J, Sugar A, Mandelberg A, Furlong M, Bagan S, Kandleman S, 2003. Photorefractive keratectomy for treatment of flap complications in laser in situ keratomileusis. *Cornea.* 22, 399-404.
- Wu HK, 2002. Astigmatism and LASIK. *Curr Opin Ophthalmol.* 13, 250–5.
- Wu HK, Demers PE, 1996. Photorefractive keratectomy for myopia. *Ophthalmic Surgery and Lasers.* 27, 29-44.
- Zhao MH, Zou J, Wang WQ, Li J, 2007. Comparison of central corneal thickness as measured by non-contact specular microscopy and ultrasound pachymetry before and post LASIK. *Clin Experiment Ophthalmol.* 35, 818-23.

10. ANEXOS

10.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio: Fiabilidad de medición e intercambiabilidad de la paquimetría central de no contacto tras cirugía refractiva corneal.

INTRODUCCIÓN

La tecnología oftálmica ofrece soporte a los profesionales sanitarios para la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas. En los últimos años se ha acelerado el desarrollo de instrumentos cada vez más sofisticados, fáciles de manejar, que proporcionan más información, de mayor calidad y en menos tiempo.

La medición de la paquimetría central de no contacto en pacientes postoperados de cirugía refractiva corneal es fundamental para la determinación de normalidad ocular en las futuras visitas de evolución del paciente. Dicha tecnología sanitaria es muy útil, sin embargo ignorar la fiabilidad y validez de los datos proporcionados por dicha instrumentación clínica podría conllevar a la toma de decisiones de forma errónea. Por lo tanto, es necesario evaluar la fiabilidad de la tecnología calculando la repetibilidad y reproducibilidad de las medidas oculares que ofrece, para determinar la precisión y validez de las mismas.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

El objetivo de este estudio clínico es determinar la repetibilidad y reproducibilidad de los paquímetros de no contacto basados en tecnología de microscopía especular y topografía de barrido de hendidura a la vez que la intercambiabilidad de las medidas. El fin del estudio es determinar de una forma objetiva la fiabilidad de medida de la paquimetría central que nos ofrecen dichos instrumentos.

Para ser incluido en el presente estudio será necesario participar en dos ocasiones, en ambas se realizará el mismo procedimiento de medida, el cual no durará más de 10 minutos. Durante el mismo usted lo único que deberá hacer será fijar su mirada en una imagen concreta o un punto de luz.

Se le está pidiendo que participe en un estudio clínico que está diseñado como prospectivo, protocolizado, unicéntrico y aleatorizado.

En el presente estudio no se prueba la eficacia de ningún medicamento o se experimenta con ninguna nueva técnica quirúrgica.

DURACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DEL SUJETO

El estudio finalizará cuando al último paciente incluido se le realicen las medidas biométricas oculares con ambos instrumentos. Los datos obtenidos serán recogidos para realizar el estudio estadístico y la posterior divulgación científica. No se realizará seguimiento de los pacientes en el tiempo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Criterios de inclusión

- Pacientes que se hayan sometido previamente a cirugía refractiva corneal mediante ablación con laser excimer.
- Edad comprendida entre 18 y 50 años.
- Comprender y firmar el consentimiento informado previamente a la realización de las pruebas.

Criterios de exclusión

- Padecer algún tipo de patología, opacidad corneal o alteración iatrogénica postoperatoria.
- Mujeres en estado de gestación.
- No cumplir con los criterios de inclusión.

Usted podrá retirarse del estudio siempre que lo desee.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

La adquisición de información ocular utilizando los paquímetros de no contacto se trata de un método no invasivo, indoloro e inocuo que se realiza habitualmente en la visita oftalmológica del paciente operado de cirugía refractiva corneal.

El procedimiento se llevará a cabo en una habitación con iluminación mesópica. Se seleccionará aleatoriamente un ojo de cada paciente con una tabla de aleatorización.

Diseño del estudio

Las definiciones de repetibilidad y reproducibilidad se basan en los principios adoptados por la *Organización Internacional de Normas (International Standards Organization)*.

Repetibilidad Intrasesión.

Entendida como los resultados independientes obtenidos usando el mismo método, en el mismo sujeto, por el mismo operador, con el mismo dispositivo y en el menor tiempo posible entre las sucesivas medidas.

Reproducibilidad Intersesión.

Entendida como el conjunto de medidas obtenidas siguiendo el mismo método, pero con una única variación en el procedimiento experimental: la introducción de un intervalo temporal entre las medidas.

RIESGOS Y MOLESTIAS RAZONABLEMENTE PREVISIBLES PARA EL PARTICIPANTE

Los pacientes del presente estudio no sufrirán ningún tipo de riesgo o molestia durante la adquisición de la información ocular con los paquímetros de no contacto. Dicho instrumento cumple todos los requisitos necesarios para su utilización poseyendo certificación CE.

Si usted tiene alguna pregunta o preocupación sobre cualquiera de estos riesgos, por favor consulte a su médico oftalmólogo.

COMPENSACIÓN

Usted no recibirá ninguna compensación económica por participar en este estudio.

PERSONA DE CONTACTO

Se le anima a que consulte con su médico del estudio cualquier duda sobre este estudio o este formulario de consentimiento, y debe recibir respuestas satisfactorias a todas sus preguntas. Si durante el estudio experimenta alguna lesión relacionada con la investigación o si tiene alguna pregunta adicional, deberá ponerse en contacto con:

Equipo Investigador:

Dr. Miguel J Maldonado López

Alberto López Miguel

PARTICIPACIÓN

Usted dispondrá del tiempo suficiente para decidir sobre su participación en el estudio.

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Usted puede rechazar participar o puede abandonar el estudio en cualquier momento, por cualquier motivo, sin que pierda ninguno de los derechos o beneficios a los que por otro lado tiene derecho. Si usted decide no participar en el estudio, o si decide abandonar el estudio antes de su finalización, su atención médica habitual en este centro no se verá perjudicada en modo alguno. El médico del estudio puede retirarle del estudio en cualquier momento. La institución puede suspender este estudio en cualquier momento si tiene razones para determinar que es lo adecuado.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO

Título del Estudio: “Fiabilidad de medición e intercambiabilidad de la paquimetría central de no contacto tras cirugía refractiva corneal”

Al firmar abajo, yo declaro que:

- 1) He leído, o me han leído, y entiendo completamente el contenido del formulario de información adjunto.
- 2) He tenido la oportunidad de preguntar y obtener respuestas satisfactorias a cada una de mis preguntas
- 3) Acepto de forma voluntaria participar en este estudio de investigación y sé que puedo retirarme en cualquier momento.
- 4) Se me entregará una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento para mis propios archivos.

Nombre del Paciente

Firma _____

Fecha _____

(Debe ser firmado y fechado por el paciente)

Nombre del investigador que participó en la discusión del consentimiento informado

Firma _____ Fecha _____

(Debe ser firmado y fechado por la persona que explicó el consentimiento informado)

**10.2 ARTÍCULOS PUBLICADOS Y MANUSCRITOS ENVIADOS
PARA REVISIÓN.**

Reliability of Noncontact Pachymetry after Laser In Situ Keratomileusis

Miguel J. Maldonado,^{1,2} Alberto López-Miguel,¹ Juan C. Nieto,¹ Juan Cano-Parra,³ Begoña Calvo,^{4,5} and Jorge L. Alió⁶

PURPOSE. To assess the repeatability and reproducibility of central corneal thickness (CCT) measurements obtained by combined scanning-slit/Placido-disc topography (Orbscan II; Bausch & Lomb, Rochester, NY) after laser in situ keratomileusis (LASIK) and to compare the results with another noncontact method, specular microscopy (SP-2000P; Topcon, Tokyo, Japan).

METHODS. To analyze intrasession repeatability, one examiner measured 22 postmyopic LASIK eyes 10 times successively in the shortest time possible, using both devices randomly. To study intersession reproducibility, the same operator obtained measurements from another 50 eyes with stable refraction in two consecutive visits at the same time of the day between 6 and 9 months after myopic LASIK. Any association between residual stromal bed thickness and measurement variability was recorded and evaluated.

RESULTS. For intrasession repeatability, Orbscan II and Topcon SP-2000P CCT measurements showed a repeatability of 20.2 (4.3%) and 12.8 (2.6%) μm , respectively. Both devices yielded excellent intraclass correlation coefficients (ICC; 0.98 and 0.99, respectively). For intersession reproducibility, no difference in CCT measurements was found. The coefficient of intersession reproducibility were 6.7% (29.5 μm) for Orbscan II and 4.3% (19.5 μm) for Topcon SP-2000P CCT measurements. The ICCs (0.95 and 0.96, respectively) indicated good intersession reliability. Repeatability and reproducibility with both devices were unrelated to stromal bed thickness.

CONCLUSIONS. Both noncontact pachymeters provide repeatable CCT measurements in transparent postmyopic LASIK corneas after the early postoperative period. Intersession variations in CCT of more than 29 μm with the Orbscan II and 19 μm

with the Topcon SP-2000P may reflect true corneal change. These estimates should help investigators and clinicians differentiate actual CCT modification from measurement variability. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:4135–4141) DOI: 10.1167/iovs.09-3408

Scanning-slit topography (SST) analysis of corneal thickness is a popular imaging tool for assessing corneal disease, for refractive and nonrefractive surgical procedures, and for following up patients who have undergone laser in situ keratomileusis (LASIK).^{1–6} Nevertheless, there are two possible sources of error with any measurement instrument: systematic (accuracy, bias, or calibration errors) and random (precision).⁷ Both errors can have important clinical implications. In SST, systematic errors tend to bias estimates of central corneal thickness (CCT), which could affect the preoperative assessment of candidates for LASIK enhancement procedures,^{5,6,8,9} the calculation of the intraocular lens power after LASIK,^{10–12} and the contribution of CCT to the intraocular pressure measurement after surgery.^{13,14} Random errors also may artificially alter the CCT measurement, leading the clinician to err in retreatment decisions or misdiagnose early iatrogenic keratectasia, for example, when observing patients after LASIK.^{15–21} Refractive regression associated with increased CCT suggests corneal epithelial hyperplasia,²² whereas a postoperative myopic error with a constant CCT can indicate progressive myopia and/or with decreasing CCT, a clinical or subclinical ectatic process.^{23,24} SST pachymetry has the advantage over ultrasound pachymetry of not requiring corneal anesthesia and of using a contact probe that in turn reduces iatrogenic epithelial alterations, the risk of microbial contamination,²⁵ and flap dislocation that can occur, even after minor trauma.²⁶ However, some factors may cause errors in SST measurements, making the reliability of this system questionable.^{1,20,27} It is therefore crucial to assess the random errors in SST—namely, repeatability and reproducibility—to determine its precision and validity in patients who have undergone LASIK.^{7,28}

In several studies, investigators have evaluated the CCT reliability of the SST alone²⁹ and combined with Placido-disc videokeratography^{30–32} (Orbscan I and II, respectively; Bausch & Lomb, Rochester, NY) in normal corneas. In addition, the accuracy but not the precision of Orbscan II pachymetry in contrast to ultrasound has been studied in post-LASIK corneas.^{5,6,33} Therefore, there is an absence of information regarding the precision of Orbscan II pachymetry in post-LASIK eyes.

Noncontact specular microscopy (NCSM) is also widely used in clinical practice to measure corneal endothelial cell density and CCT.³⁴ In normal corneas, the intraobserver reproducibility of NCSM has been reported,³⁵ and its accuracy with respect to ultrasound pachymetry has been established.³⁶ However, there are no consistent definitions of reproducibility and repeatability, and to the best of our knowledge, no study has been undertaken to evaluate them specifically in post-LASIK corneas.

From the ¹Department of Ophthalmology, University Clinic, University of Navarra, Pamplona, Spain; ²IOBA (Institute of Applied Ophthalmobiology), University of Valladolid, Valladolid, Spain; the ³Municipal Hospital Badalona, Barcelona, Spain; the ⁴Group of Structural Mechanics and Materials Modeling (GEMM), Aragon Institute of Engineering Research (I3A), University of Zaragoza, Zaragoza, Spain; the ⁵Networking Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Aragon Institute of Health (ICS), Zaragoza, Spain; and the ⁶Vissum-Instituto Oftalmológico de Alicante, Universidad Miguel Hernández, Alicante, Spain.

Supported in part by RETICS RD07/0062 (Oftalmología), by Plan Nacional I+D+I, Proyecto Coordinado FIS2005-05020-C03-03, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Submitted for publication January 14, 2009; revised February 27 and March 18, 2009; accepted July 13, 2009.

Disclosure: **M.J. Maldonado**, None; **A. López-Miguel**, None; **J.C. Nieto**, None; **J. Cano-Parra**, None; **B. Calvo**, None; **J.L. Alió**, None

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. This article must therefore be marked “advertisement” in accordance with 18 U.S.C. §1734 solely to indicate this fact.

Corresponding author: Miguel J. Maldonado, Department of Ophthalmology, Clínica Universitaria, Av. Pío XII, 36, 31080 Pamplona, Spain; mjmalnodad@unav.es.

One purpose of this study was to quantify for the first time both the reproducibility and repeatability of the Orbscan II topographer and Topcon NCSM (SP-2000P specular pachometer; Topcon Corp., Tokyo, Japan) in eyes treated with LASIK using definitions of reproducibility and repeatability based on those of the International Standards Organization,^{37,38} as recommended by Bland and Altman.³⁷ It is also worth assessing the performance of the equipment when the residual posterior stroma is of borderline thickness, because this subset of eyes may be more prone to structural instability.^{1,39} Thus, another study objective was analysis of the precision of these two systems in post-LASIK corneas regarding the stromal bed thickness.

MATERIALS AND METHODS

All procedures were performed in accordance with the Declaration of Helsinki. All candidates received detailed information about the nature of the investigation, and all provided informed consent. The study was approved by The University of Navarra Clinic Review Committee. We selected consecutive patients who had refractive stability on two successive visits at least 2 months apart.

The patients were recruited over a 2-year period. Exclusion criteria consisted of suspected keratoectasia, progressive myopia, or astigmatism (patients with a change of 0.25 D and/or $\geq 15^\circ$ in cycloplegic refractive cylinder orientation were excluded), preoperative or post-LASIK hyperopia, mixed astigmatism, active ocular disease, connective tissue disorders, and pregnancy. All eyes underwent a complete ophthalmic examination before and after LASIK, including manifest and cycloplegic refractions, Orbscan II pachymetry, tangential videokeratography, noncontact specular pachymetry, slit lamp microscopy, applanation tonometry, and indirect ophthalmoscopy.

One experienced technician was assigned to each instrument to minimize variations in the results. The examiners were masked to the refraction and the postoperative time interval at each examination. Central pachymetry also was performed by Topcon NCSM. Noncontact specular pachymetry was performed immediately before or after Orbscan II pachymetry; the order of the modalities was random.

During LASIK follow-up, objective measurement of corneal transparency was performed with digital imaging analysis of anterior slit lamp photographs, as previously reported.^{40,41} We also assessed the central stromal bed thickness using optical coherence tomography.⁴² The measurements were confirmed to be within 10 μm during LASIK enhancement with a portable ultrasound pachometer (Corneo-Gage Plus II; Sonogage Inc, Cleveland, OH).⁴³ One eye of each patient was selected randomly for this study. No patient was lost to follow-up.

Study Design

Our definitions of reproducibility and repeatability were based on those adopted by the British Standards Institution and the International Standards Organization.^{37,38}

Intrasession Repeatability. Under repeatability conditions, independent test results were obtained using the same method, on the same subject, with the same operator, and on the same equipment with the shortest time possible between successive sets of readings. We investigated the repeatability by performing 10 examinations of 22 eyes after ensuring proper focusing of the entire cornea.

Intersession Reproducibility. Under reproducibility conditions, sets of readings were obtained by using the same method, but with one variation in the experimental set up. In this part of the study, we investigated intersession reproducibility in 50 eyes by performing examinations 6 and 9 months after surgery by the same experienced operator. Examinations were performed during a specific period (11 AM to 1 PM) to minimize the effect of diurnal variations in corneal thickness.^{44,45}

Surgical Procedures

All procedures were performed by the same surgeon (MJM). The details of the primary LASIK procedures have been reported.^{17,21,42} The preopera-

tive CCT had to be adequate to ensure a residual stromal bed of at least 250 μm over 55% of the total preoperative CCT after creating a superiorly hinged corneal flap (160- μm head; Hansatome microkeratome; Chiron Vision, Claremont, CA). Ablation of the appropriate cut depth was performed with an excimer laser (Technolas Keracor 217z; Bausch & Lomb-Chiron Technolas GmbH, Munich, Germany).

CCT Evaluation

The same examiner calibrated the Orbscan II unit before each session. The patient was instructed to fixate on a flickering red light. Before proceeding, the patient was instructed to blink to obtain a homogeneous tear film layer. The instrument then was aligned and the cornea was scanned by a slit beam. The Orbscan II statistical analysis device (software ver. 3.12) calculated the elevation of the anterior and posterior corneal surfaces; thus, the pachymetry is the result of subtracting the elevation map of both corneal surfaces.¹ Although Orbscan II displays pachymetry values at several locations, only the central pachymetry measurement was analyzed because it enabled comparison with Topcon NCSM, which provides CCT values. The default acoustic equivalent setting recommended by the manufacturer was used throughout the study.

For Topcon NCSM pachymetry, the patient was positioned with the chin in a cup and forehead against a headband. The CCT was measured while the subject focused on a fixation light in the instrument. After proper positioning of the alignment dot, circle, and bar on the screen, pachymetry was performed. The automated image capture, low-intensity mode of the specular microscope was used as described previously.³⁴

Statistical Analyses

Data from the prospectively completed forms were entered into a database, and statistical calculations were performed (SPSS, ver. 11.0 for Windows; SPSS, Chicago, IL). The mean and SD were calculated for normally distributed data. When data did not correspond to a normal distribution, the median (50th percentile) and interquartile range (IR, values between the 25th and 75th percentiles of the distribution) were used. For all statistical tests, a two-tailed $P < 0.05$ was considered significant.

Intrasession Repeatability. We calculated the within-subject SD (s_w)⁷ of the 10 consecutive measurements performed on each eye by obtaining the square root of the value called the residual mean square in the one-way analysis of variance.^{7,46} Repeatability was defined as $(2.77 \times s_w)$.^{7,46} In addition, we expressed the repeatability as a percentage of the mean measurement for each category of measurement (coefficient of repeatability = $2.77 \times s_w/\text{mean measurement}$). We also calculated the within-subject coefficient of variation (CV_w)⁷ and the intrasession reliability of the measurement method (intraclass correlation coefficient; ICC).^{7,47}

Intersession Reproducibility. Graphs of the differences against the means were plotted to ascertain that there was no relation between the differences and the range of measurement and that the differences between measurements were approximately normally distributed.^{7,37} The 95% limits of agreement (LoA) then were defined as the mean difference in measurements made during the two different sessions ± 1.96 SD, with lower values indicating higher reproducibility.^{7,37} We also calculated the intersession s_w with the analysis of variance method.⁷ As it happens, 2.77 times this s_w is equal to the reproducibility of the measurement in the different sessions. In addition, we expressed the reproducibility as a percentage of the mean measurement for each category of measurement (coefficient of reproducibility = $2.77 \times s_w/\text{mean measurement}$). We also calculated the intersession CV_w .⁷ The paired t -test was used to establish whether there was a significant systematic bias between measurements. The intersession reliability of the measurement method was calculated with the ICC.⁴⁷ We obtained correlation coefficients to explore any association between variables.⁴⁸

TABLE 1. Intrasection Repeatability

Pachymetry Method	Overall Mean (Range)	s_w (95% CI)	Repeatability (Coefficient of R)	CV_w (%) (95% CI)
Orbscan II SST pachymetry (μm)	474.9 (380/548)	7.31 (6.59/8.03)	20.2 (4.3%)	1.5 (1.3/1.8)
Topcon NCSM pachymetry (μm)	482.8 (409/539)	4.61 (4.15/5.06)	12.8 (2.6%)	1.0 (0.6/1.2)

RESULTS

Intrasection Repeatability

Repeatability was studied in 22 eyes of 22 patients (7 men, 15 women) with an average age of 32.9 ± 7.6 years (range, 24–49). The mean preoperative myopia was -5.1 ± 2.7 D (range, -0.5 to -9.75) and median astigmatism was -0.5 D (IR, 0 to -1.25). The median residual myopia was -0.5 D (IR, -0.25 to -1.0) and astigmatism -0.5 D (IR, -0.5 to -0.75). The mean stromal bed thickness was 351.5 ± 37.3 μm (range, 278–408). Table 1 shows the overall average CCTs corresponding to the repeated measures, the intrasection s_w and CV_w , and the repeatability. We found no association between the standard deviation and the mean of the repeated measurements ($P = 0.5$ and $P = 0.7$ for Orbscan II and Topcon NCSM, respectively), and no significant association between the stromal bed thickness and the SD ($P = 0.3$ and $P = 0.7$ for Orbscan II and Topcon NCSM, respectively).

Excellent intrasection reliability scores were obtained for Orbscan II CCT and Topcon NCSM, the ICC and their 95% confidence intervals (CIs) for intrasection repeatability were 0.98 (0.96–0.99) for Orbscan II and 0.99 (0.97–0.99) for Topcon NCSM.

Intersession Reproducibility

Intersession reproducibility was studied in 50 eyes of 50 patients (23 men, 27 women) with average age of 34.6 ± 8.1 years (range, 26–48). The median preoperative myopia was -4.5 D (IR, -3.0 to -6.0) and the median astigmatism was -1.0 D (IR, 0 to -1.5). The median residual myopia was -0.5 D (IR, 0 to -0.75) and astigmatism was -0.5 D (IR, -0.5 to -1.0). The mean stromal bed thickness was 326.4 ± 33.2 μm (range, 264–408 μm). Corneal opacification was almost nonexistent and did not differ between the two examinations (median and IR, 0 gray levels [range, 0–3] versus 0 gray levels [range, 0–4], $P = 0.9$). Table 2 shows the overall average CCT values corresponding to the two examinations, the intersession s_w , CV_w , and the reproducibility.

Figure 1 shows the Bland-Altman plots of difference versus mean for the studied Orbscan II and Topcon NCSM pachymetry values that confirmed that the variations were independent of the mean measurement value. Figure 2 shows that the assumption that the distribution of differences is approximately normal is correct. We did not find a significant association between the stromal bed thickness and absolute intersession differences ($P = 0.06$; $r_s = -0.3$ and $P = 0.9$; $r_s = -0.01$ for Orbscan II and Topcon NCSM, respectively). Table 3 shows the 95% LoA corresponding to the intersession variability.

No systematic bias was found between measurements in the two consecutive visits with either device (Table 4). In the study of 50 participants, the probability was 80% that the study would detect a difference in the measurements from two consecutive visits if the true difference is that shown in Table 4.

Excellent intersession reliability scores were obtained for CCTs; the ICC and their 95% CIs for intersession reproducibility were 0.95 (0.91–0.97) and 0.96 (0.92–0.98) for Orbscan II and Topcon NCSM, respectively.

DISCUSSION

Both routine clinical practice and investigator calculations rely on knowledge of the measurement variability of CCT after LASIK. However, to our knowledge, no investigators have adequately addressed this problem with the devices we tested, which are commonly used in the clinical and research settings.^{4,11,32,35} Access to accurate noninvasive pachymetry is essential for reducing the risk of corneal epithelial damage or flap displacement due to probe contact and for avoiding microbial contamination.^{5,9} Despite the importance of knowing the precision (random error) of noncontact CCT after LASIK, the present study is the first appropriate statistical investigation^{37,38} of the reliability of Orbscan II CCT measurements after LASIK. In addition, it was compared with another widely used noncontact pachymetry instrument, the Topcon SP-2000P specular microscope.

Although the Orbscan II is equipped with both Placido-based topography and SST, some limitations of scanning-slit corneal topography have been reported in eyes treated with excimer laser keratorefractive surgery, notably that the accuracy of pachymetry after refractive surgery may be affected when there is loss of corneal transparency.^{8,9,49} SST measures the corneal thickness by subtracting points on the posterior surface from those on the anterior surface.^{1,50} Because there is substantial underestimation of the corneal thickness by Orbscan pachymetry in the early post-LASIK period, the posterior corneal elevation may not be measured accurately in these eyes.¹⁵ Boscia et al.⁴⁹ reported a large disparity between the true curvature of the posterior surface, verified with a radiuscope and the measured curvature of the lens based on measurement of the spherical anterior and posterior surfaces. Furthermore, data from corneas in vivo may be even less accurate due to ocular movement during acquisition.⁸ Another shortcoming is that the variability increases from the apex to the periphery in both calibrated test surfaces and human corneas; therefore, the pachymetry may be altered.⁴⁴ However, although Orbscan II central pachymetry may not be as accurate as ultrasound,⁶ the differences can be reduced greatly by applying

TABLE 2. Intersession Reproducibility

Pachymetry Method	Overall Mean (Range)	s_w	Reproducibility (Coefficient of R)	CV_w (%)
Orbscan II SST pachymetry (μm)	441.3 (353/533)	10.64	29.5 (6.7%)	2.41
Topcon NCSM pachymetry (μm)	456.7 (397/540)	7.05	19.5 (4.3%)	1.54

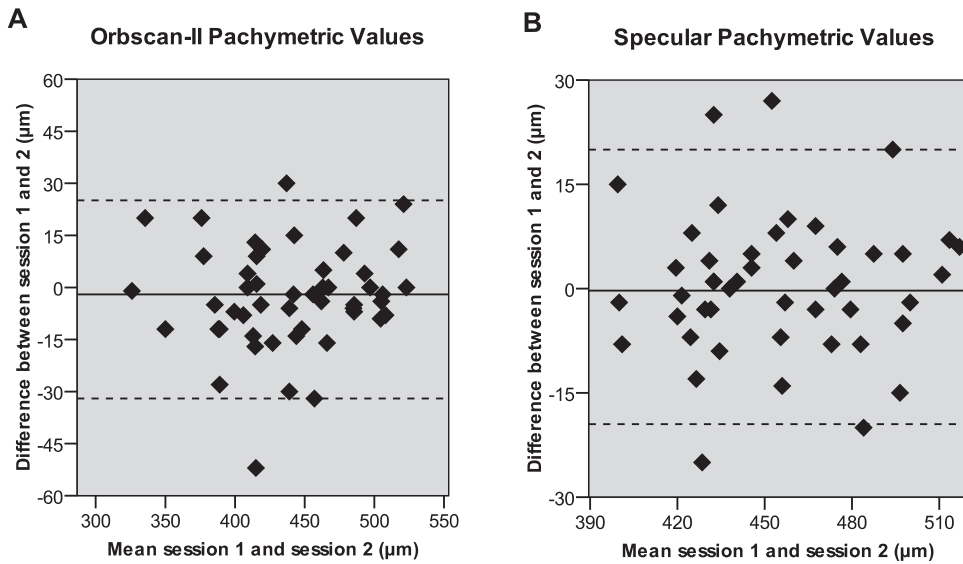


FIGURE 1. Data from the inter-session reproducibility study. The differences between visits in each eye are plotted against the mean. *Solid lines*: the average difference between sessions; *dashed lines*: the width of the 95% limits of agreement. (A) Orbscan II pachymetry and (B) Topcon NCSM measurements.

a proper acoustic factor³³ or by the subtraction method.⁵¹ On the contrary, repeatability depends solely on the quality of the device itself; consequently, it cannot be modified.

All patients underwent a complete topographic analysis of the cornea, but only CCT measurements were selected for the present study instead of the thinnest point, because the lowest pachymetry variability is in the central cornea⁴⁵ and because the central pachymetry also was measured with Topcon NCSM, allowing Orbscan II CCTs but not the thinnest points to be compared. The difference between two measurements in the same subject is expected to be less than $2.77 s_w$ for 95% of pairs of observations.^{7,46} This estimation, termed the repeatability^{7,46} of the different variables studied, is presented in Table 1 and corroborates the ICC findings; coefficients of repeatability of 4.3% and 2.6% indicate very good precision. We did not find a relationship between stromal bed thickness and repeatability scores, implying that whatever the source of the random error, it seems to be unrelated to the residual stroma, and that the precision of both devices' CCT estimates is independent of stromal bed thickness. The repeatability of the Topcon NCSM appeared to be slightly better than that of the Orbscan II in post-LASIK eyes. The present study yielded excellent intrasession reliability scores (>0.9) for Orbscan II

that were comparable to the ICC achieved by the Topcon NCSM. In addition, the Orbscan II CV (Table 1) did not differ markedly from the noncontact specular value, and both indicated that there was outstanding repeatability of the Orbscan II and Topcon NCSM CCT in post-LASIK corneas. Regarding Orbscan II, our reliability outcomes were similar to those of Fam et al.³⁰ and Rainer et al.,²⁹ who have reported ICCs of 0.98 and 0.99, respectively, in normal corneas. Thus, our results appeared to be as good as those obtained in subjects who did not undergo a surgical procedure, although our CV (1.5%) was slightly less favorable than that (0.67%) reported by Fam et al.³⁰ Regarding Topcon NCSM, our CVs were more favorable than those described for CCT Topcon NCSM in nonsurgical corneas by Cho and Cheung (7.1%)³⁴ and Ogbuehi and Almubrad (6.8%),³⁵ and slightly worse than reported by Uçakhan et al. (0.2%).⁵² Likewise, our ICCs were similar to those previously described for normal corneas—that is, 0.99³⁴ and 0.97.⁵²

To assess inter-session reproducibility, we obtained Orbscan II measurements 6 and 9 months after surgery in eyes with no refractive change. We selected these time points because it is typically during the medium-term follow-up that surgeons consider the stability of the refraction, topography, and pachymetry to decide whether to re-treat^{16,17} and in the long-term to

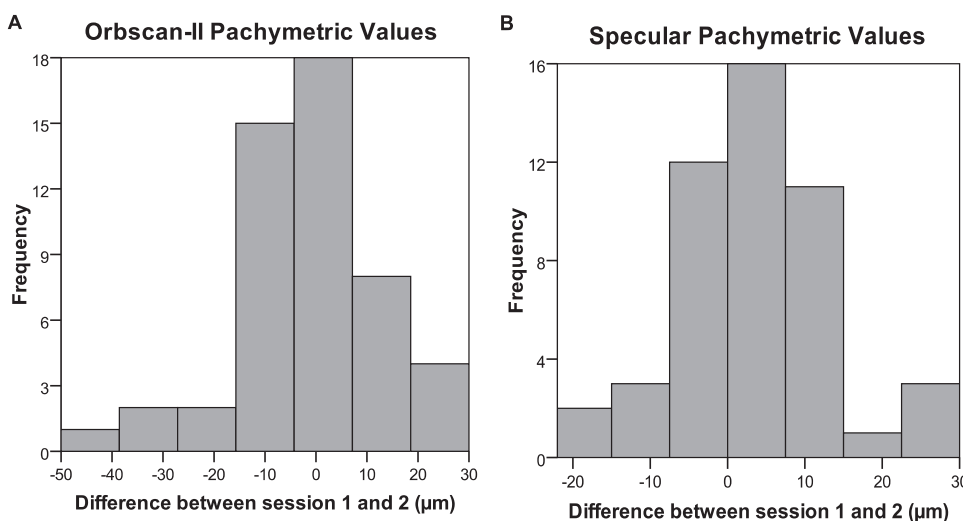


FIGURE 2. The distribution of differences in the Orbscan II and Topcon NCSM measurements between sessions. (A) Orbscan II pachymetry and (B) Topcon NCSM measurements.

TABLE 3. 95% LoA

Pachymetry Method	Lower LoA (95% CI)	Upper LoA (95% CI)	Width of (95%) LoA
Orbscan II SST pachymetry (μm)	-32.1 (-35.1; 29.1)	26.4 (23.4; 29.4)	58.5
Topcon NCSM pachymetry (μm)	-19.1 (-21.6; -16.7)	20.3 (17.9; 22.8)	39.4

Corresponding to the two examination sessions.

collect data for intraocular lens power calculations.¹⁰⁻¹² In addition, Orbscan II examinations taken early after LASIK tend to be artificially low for scanning slit pachymetry measurements and high for posterior corneal curvature (PCC) values.^{1,18,19} These artifacts may be explained by the acquisition process of the Orbscan.⁴⁹ The instrument optically measures the anterior and posterior surfaces by triangulating 40 calibrated slit beam surfaces and diffusely reflected camera rays.^{1,49} Ray triangulations are calculated using the actual physiologic refraction indices of the eye. The alteration in optical transparency of the anterior cornea corresponding to the edematous flap in the early postoperative period may result in light scatter with a resultant increase in the corneal refractive index.⁴⁹ As an alternative, Chakrabarti et al.⁵ suggested that reconstruction algorithms may not apply to post-LASIK corneas with an oblate rather than a prolate shape; another study suggested that alterations in the magnification of the posterior surface due to surgical modification of the anterior curvature and thickness may produce artificial changes in the posterior corneal elevation data.⁵³

When noncontact CCT measurements were compared at 6 and 9 months postoperatively, the mean differences (positive or negative) were not significantly different from 0 (Table 4). It is not surprising that, on average, no difference in CCT measures was found, indicating that whatever the source of the variability, the intersession variability is random. Of interest, Orbscan II but not Topcon NCSM showed a weak inverse association between CCT variability and stromal bed thickness that approached but did not reach statistical significance. The Orbscan II and Topcon NCSM coefficient of reproducibility (6.7% and 4.3%, respectively; Table 2) would provide useful guidelines for the variability expected if these noncontact pachymeters are used on two consecutive visits. Therefore, these data indicate that CCT reliability is adequate when measured by Orbscan II and Topcon NCSM in different sessions after LASIK. However, the Orbscan II reproducibility (Table 2) and the 95% LoA (Table 3) were not as satisfactory as Topcon NCSM pachymetry values in the present study and in that of Ogbuehi and Almubrad³⁵ on normal corneas (-15 to 17 μm). Nevertheless, the 95% LoA obtained by Rah et al.⁵⁴ (-48.6 to 54.8 μm) with ultrasound pachymetry after LASIK are wider than our LoAs. Although Marsich and Bullimore⁵⁵ found a narrower 95% LoA (-10.0 to +16.6 μm) when assessing Orbscan CCT, they analyzed eyes that had not undergone LASIK. Our reproducibility ICCs (0.95 and 0.96) were also slightly lower but in the range of normal corneas (0.98) tested with Topcon NCSM.³⁴

The present study had several limitations. Because Topcon NCSM does not provide the thinnest pachymetry measurement, which in most cases lies in the inferotemporal quadrant,⁵⁰ we analyzed the reproducibility of CCT. One should expect it would be lower considering the added difficulty in identifying the thinnest point from measurement to measurement. The present study did not address post-LASIK ectasia. However, eyes with ectatic disorders should yield less reproducible CCT measurements as previously shown in keratoconic eyes.⁵² The present study focused on a typical setting with an experienced operator taking successive examinations. However, we did not study interobserver reproducibility, and the results obtained by novice examiners should be worse than ours. Finally, we evaluated the random error, rather than agreement, when measuring CCT after LASIK for myopia with two noncontact methods under repeatability and reproducibility conditions. It has been reported that Orbscan II CCT measurements clearly underestimate those obtained by ultrasound pachymetry in patients who have undergone LASIK,⁹ and we found a similar bias with respect to Topcon NCSM. However, such a systematic error could be corrected by adequate instrument calibration by changing the acoustic factor³³ or using the subtraction method⁵¹ as opposed to random errors, which cannot be corrected and reflect the inherent construction quality of the instrument for the given application.

In conclusion, given that noncontact pachymetry is now used by many ophthalmologists and investigators for the assessment of the LASIK patient in the medium and long-term follow-up, it is important to obtain an estimate of the reproducibility of CCT measurements in these patients to differentiate clinical change from measurement variability. The present study showed that Orbscan II and Topcon NCSM data can be used in patients who undergo LASIK for myopia to obtain a reproducible measure of CCT, and we provide the criteria for a significant change, which would be one exceeding the repeatability/reproducibility ($2.77s_w$)⁷ of the estimate. Orbscan II and Topcon NCSM reliably measure CCT, since the random errors were clinically acceptable, although Topcon NCSM provided generally better repeatability and reproducibility scores. The precision of these measures of CCT in the medium-term follow-up of eyes that undergo LASIK for myopia was adequate and independent of the residual bed thickness and, therefore, they are clinically useful in the assessment and longitudinal long-term follow-up of post-LASIK eyes with transparent corneas.

TABLE 4. Mean Difference between Intersession Measurements

Pachymetry Method	Mean Difference (95% CI)	P*	Minimal Detectable Difference
Orbscan II SST pachymetry (μm)	-2.84 (-7.08 to -1.40)	0.185	5.91
Topcon NCSM pachymetry (μm)	0.60 (2.32 to -3.52)	0.679	3.99

Power set at 80%; two-sided 5% significance level.

* Paired *t*-test.

References

- Cairns G, McGhee CN. Orbscan computerized topography: attributes, applications, and limitations. *J Cataract Refract Surg.* 2005;31:205-220.
- Sultan G, Baudouin C, Auzeur O, et al. Cornea in Marfan disease: Orbscan and in vivo confocal microscopy analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:1757-1764.
- Gherghel D, Hosking SL, Mantry S, Banerjee S, Naroo SA, Shah S. Corneal pachymetry in normal and keratoconic eyes: Orbscan II versus ultrasound. *J Cataract Refract Surg.* 2004;30:1272-1277.
- Hashemi H, Mehravaran S. Corneal changes after laser refractive surgery for myopia: comparison of Orbscan II and Pentacam findings. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33:841-847.
- Chakrabarti HS, Craig JP, Brahma A, Malik TY, McGhee CN. Comparison of corneal thickness measurements using ultrasound and Orbscan slit-scanning topography in normal and post-LASIK eyes. *J Cataract Refract Surg.* 2001;27:1823-1828.
- Javaloy J, Vidal MT, Villada JR, Artola A, Alio JL. Comparison of four corneal pachymetry techniques in corneal refractive surgery. *J Refract Surg.* 2004;20:29-34.
- Bland M. *An Introduction to Medical Statistics.* 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press; 2000;268-275.
- Kawana K, Tokunaga T, Miyata K, Okamoto F, Kiuchi T, Oshika T. Comparison of corneal thickness measurements using Orbscan II, non-contact specular microscopy, and ultrasonic pachymetry in eyes after laser in situ keratomileusis. *Br J Ophthalmol.* 2004;88:466-468.
- Prisant O, Calderon N, Chastang P, Gatinel D, Hoang-Xuan T. Reliability of pachymetric measurements using Orbscan after excimer refractive surgery. *Ophthalmology.* 2003;110:511-515.
- Borasio E, Stevens J, Smith GT. Estimation of true corneal power after keratorefractive surgery in eyes requiring cataract surgery: BESSt formula. *J Cataract Refract Surg.* 2006;32:2004-2014.
- Qazi MA, Cua Y, Roberts CJ, Pepose JS. Determining corneal power using Orbscan II videokeratography for intraocular lens calculation after excimer laser surgery for myopia. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33:21-30.
- Hamed AM, Wang L, Misra M, Koch DD. A comparative analysis of five methods of determining corneal refractive power in eyes that have undergone myopic laser in situ keratomileusis. *Ophthalmology.* 2002;109:651-858.
- Lee DH, Seo S, Shin SC, Chung EH, Turner TT. Accuracy and predictability of the compensatory function of Orbscan II in intraocular pressure measurements after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2002;28:259-264.
- Emara B, Probst LE, Tingey DP, Kennedy DW, Willms IJ, Machat J. Correlation of intraocular pressure and central corneal thickness in normal myopic eyes and after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 1998;24:1320-1325.
- Miyata K, Tokunaga T, Nakahara M, et al. Residual bed thickness and corneal forward shift after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2004;30:1067-1072.
- Holland SP, Srivannaboon S, Reinstejn DZ. Avoiding serious corneal complications of laser assisted in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy. *Ophthalmology.* 2000;107:640-652.
- Maldonado MJ. Undersurface ablation of the flap for laser in situ keratomileusis retreatment. *Ophthalmology.* 2002;109:1453-1464.
- Lee DH, Seo S, Jeong KW, Shin SC, Vukich JA. Early spatial changes in the posterior corneal surface after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29:778-784.
- Kamiya K, Miyata K, Tokunaga T, Kiuchi T, Hiraoka T, Oshika T. Structural analysis of the cornea using scanning-slit corneal topography in eyes undergoing excimer laser refractive surgery. *Cornea.* 2004;23(8 suppl):S59-S64.
- Maloney RK. In discussion of: Wang Z, Chen J, Yang B. Posterior corneal surface topographic changes after laser in situ keratomileusis are related to residual corneal bed thickness. *Ophthalmology.* 1999;106:409-410.
- Maldonado MJ, Nieto JC, Diez-cuenca M, Piñero DP. Posterior corneal curvature changes after undersurface ablation of the flap and in-the-bed LASIK retreatment. *Ophthalmology.* 2006;113:1125-1133.
- Spadea L, Fasciani R, Necozone S, Balestrazzi E. Role of the corneal epithelium in refractive changes following laser in situ keratomileusis for high myopia. *J Refract Surg.* 2000;16:133-139.
- Pan Q, Gu YS, Wang J, et al. Differences between regressive eyes and non-regressive eyes after LASIK for myopia in the time course of corneal changes assessed with the Orbscan. *Ophthalmologica.* 2004;218:96-101.
- Pallikaris IG, Kymionis GD, Astyrakakis NI. Corneal ectasia induced by laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2001;27:1796-1802.
- Maldonado MJ. Corneal epithelial alterations resulting from use of chlorine-disinfected contact tonometer after myopic photorefractive keratectomy. *Ophthalmology.* 1998;105:1546-1549.
- Maldonado MJ, Juberias JR. Subtarsal flap dislocation after superior hinge laser in situ keratomileusis in a patient with borderline mental illness. *J Refract Surg.* 2003;19:169-171.
- González Pérez J, Cervino A, Giraldez MJ, Parafita M, Yebra-Pimentel E. Accuracy and precision of EyeSys and Orbscan systems on calibrated spherical test surfaces. *Eye Contact Lens.* 2004;30:74-78.
- Huang D. A reliable corneal tomography system is still needed. *Ophthalmology.* 2003;110:455-456.
- Rainer G, Findl O, Petternel V, et al. Central corneal thickness measurements with partial coherence interferometry, ultrasound, and the Orbscan system. *Ophthalmology.* 2004;111:875-879.
- Fam HB, Lim KL, Reinstejn DZ. Orbscan global pachymetry: analysis of repeated measures. *Optom Vis Sci.* 2005;82:1047-1053.
- Suzuki S, Oshika T, Oki K, et al. Corneal thickness measurements: scanning-slit corneal topography and noncontact specular microscopy versus ultrasonic pachymetry. *J Cataract Refract Surg.* 2003;29:1313-1318.
- Amano S, Honda N, Amano Y, et al. Comparison of central corneal thickness measurements by rotating Scheimpflug camera, ultrasonic pachymetry, and scanning-slit corneal topography. *Ophthalmology.* 2006;113:937-941.
- Ho T, Cheng AC, Rao SK, Lau S, Leung CK, Lam DS. Central corneal thickness measurements using Orbscan II, Visante, ultrasound, and Pentacam pachymetry after laser in situ keratomileusis for myopia. *J Cataract Refract Surg.* 2007;33:1177-1182.
- Cho P, Cheung SW. Central and peripheral corneal thickness measured with the Topcon specular microscope SP-2000P. *Curr Eye Res.* 2000;21:799-807.
- Ogbuehi KC, Almubrad TM. Repeatability of central corneal thickness measurements measured with the Topcon SP2000P specular microscope. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243:798-802.
- Fujioka M, Nakamura M, Tatsumi Y, Kusuhara A, Maeda H, Negi A. Comparison of Pentacam Scheimpflug camera with ultrasound pachymetry and noncontact specular microscopy in measuring central corneal thickness. *Curr Eye Res.* 2007;32:89-94.
- Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1986;1:307-310.
- Muscat S, McKay N, Parks S, Kemp E, Keating D. Repeatability and reproducibility of corneal thickness measurements by optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:1791-1795.
- Seitz B, Torres F, Langenbacher A, Behrens A, Suarez E. Posterior corneal curvature changes after myopic laser in situ keratomileusis. *Ophthalmology.* 2001;108:666-672, discussion 673.
- Maldonado MJ, Arnau V, Navea A, et al. Direct objective quantification of corneal haze after excimer laser photorefractive keratectomy for high myopia. *Ophthalmology.* 1996;103:1970-1978.
- Maldonado MJ, Arnau V, Martinez-Costa R, et al. Reproducibility of digital image analysis for measuring corneal haze after myopic photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol.* 1997;123:31-41.
- Maldonado MJ, Ruiz-Oblitas L, Munuera JM. Optical coherence tomography evaluation of the corneal cap and stromal bed features after laser in situ keratomileusis for high myopia and astigmatism. *Ophthalmology.* 2000;107:81-87, discussion 88.

43. Maldonado MJ, Juverias JR, Rodriguez-Conde R. Corneal flap thickness and tissue laser ablation in myopic LASIK. *Ophthalmology*. 2002;109:1042-1043.
44. Lattimore MR Jr, Kaupp S, Schallhorn S, Lewis R 4th. Orbscan pachymetry: implications of a repeated measures and diurnal variation analysis. *Ophthalmology*. 1999;106:977-981.
45. Gonzalez-Mejome JM, Cervino A, Yebra-Pimentel E, Parafita MA. Central and peripheral corneal thickness measurement with Orbscan II and topographical ultrasound pachymetry. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29:125-132.
46. Bland JM, Altman DG. Measurement error. *BMJ*. 1996;313:744.
47. Bland JM, Altman DG. Measurement error and correlation coefficients. *BMJ*. 1996;313:41-42.
48. Bland JM, Altman DG. Measurement error proportional to the mean. *BMJ*. 1996;313:106.
49. Boscia F, La Tegola MG, Alessio G, Sborgia C. Accuracy of Orbscan optical pachymetry in corneas with haze. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28:253-258.
50. Modis L Jr, Langenbacher A, Seitz B. Evaluation of normal corneas using the scanning-slit topography/pachymetry system. *Cornea*. 2004;23:689-694.
51. Cheng AC, Tang E, Mohamed S, Lam DS. Correction factor in Orbscan II in the assessment of corneal pachymetry. *Cornea*. 2006;25:1158-1161.
52. Uçakhan OO, Ozkan M, Kanpolat A. Corneal thickness measurements in normal and keratoconic eyes: Pentacam comprehensive eye scanner versus noncontact specular microscopy and ultrasound pachymetry. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32:970-977.
53. Nawa Y, Masuda K, Ueda T, Hara Y, Uozato H. Evaluation of apparent ectasia of the posterior surface of the cornea after keratorefractive surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31:571-573.
54. Rah MJ, Deng L, Jackson JM. Reproducibility of ultrasound pachymetry using the Sonogage Corneo-Gage Plus 2. *Optometry*. 2006;77:392-396.
55. Marsich MW, Bullimore MA. The repeatability of corneal thickness measures. *Cornea*. 2000;19:792-795.

Agreement of non-contact pachymetry after LASIK: comparison of combined scanning-slit/Placido disc topography and specular microscopy

A López-Miguel¹, JC Nieto¹, M Díez-Cuenca¹, DP Piñero² and MJ Maldonado^{1,3}

Abstract

Purpose To assess the interchangeability of central corneal thickness (CCT) measurements between combined scanning-slit/Placido disc topography (Orbscan-II) and specular microscopy (Topcon SP-2000P) in patients who underwent laser *in situ* keratomileusis (LASIK) for myopia.

Patients and methods We recruited 118 consecutive patients who underwent LASIK for myopia. The CCT was measured using Orbscan-II and Topcon SP-2000P randomly. Orbscan-II and Topcon SP-2000P CCT data were analysed using the paired-sample *t*-test and the limits of agreement (LoA) were calculated with the method described by Bland–Altman.

Results The average CCT measurements by Orbscan-II and Topcon SP-2000P were $447.55 \pm 49.78 \mu\text{m}$ and $461.38 \pm 35.35 \mu\text{m}$, respectively ($P < 0.0001$; mean difference, $13.83 \pm 22.31 \mu\text{m}$; 95% confidence interval, $9.77\text{--}17.09 \mu\text{m}$). The Bland–Altman plot showed an inverse association between the average and the difference between the devices: $\text{Topcon–Orbscan-II} = 174.23 - 0.353 \times \text{Average}$ ($P < 0.01$). The widths of the crude and regression-based 95% limits of agreement were 87.45 and $63.72 \mu\text{m}$, respectively.

Conclusions Orbscan-II measurements of CCT after myopic LASIK were significantly lower than those obtained using Topcon SP-2000P. The limits of agreement between the two devices were too broad and, therefore, both pachymetric values cannot be used interchangeably. Further, the tendency

towards comparably Orbscan-II readings in thinner corneas precludes that one technique can directly replace the other. This is important for the adequate medium- and long-term follow-up of the growing LASIK patient population.

Eye (2010) 24, 1064–1070; doi:10.1038/eye.2009.233; published online 25 September 2009

Keywords: central corneal thickness; specular microscopic pachymetry; Orbscan-II pachymetry; LASIK

The measurement of central corneal thickness (CCT) is clinically relevant, especially considering the increasing popularity of refractive surgery. Accurate analysis of the corneal thickness is of paramount importance for assessing corneal disease and non-refractive and refractive surgical procedures.^{1,2} Measurement errors could affect the preoperative assessment of candidates for primary and retreatment laser *in situ* keratomileusis (LASIK),^{3–6} the intraocular lens (IOL) power calculations after LASIK,⁷ and the contribution of the CCT to measurement of the intraocular pressure (IOP).⁸

CCT can be measured using various techniques. Ultrasonic pachymetry is the current gold standard for pachymetry measurement,^{9,10} but ultrasonography requires a probe contact. Thus, direct corneal trauma might occur resulting in flap dislocation,¹¹ which also might occur with a history of minor trauma;¹² the risk of microbial contamination is associated with use of a probe,¹³ and topical

¹Departamento de Oftalmología, Clínica Universitaria, Universidad de Navarra, Pamplona, Spain

²Vissum-Instituto Oftalmológico de Alicante, Universidad Miguel Hernández, Alicante, Spain

³IOBA, University of Valladolid, Valladolid, Spain

Correspondence: A López-Miguel, Departamento de Oftalmología, Clínica Universitaria, Av. Pío XII, 36, Pamplona 31008, Spain
 Tel: +34 948 296331; Fax: +34 948 296500.
 E-mail: alberoptico@yahoo.es

Received: 8 May 2009
 Accepted in revised form: 19 August 2009
 Published online: 25 September 2009

anaesthesia must be instilled. All of these factors might be associated with patient discomfort. Moreover, pachymetry measurements might be erroneous because of epithelial indentation; the accuracy will depend on the exact axial placement of the probe relative to the centre of the cornea.¹⁴ Therefore, non-contact methods are preferred for ocular biometry, and alternative techniques such as interferometry,¹⁵ corneal confocal microscopy,¹⁶ optical coherence tomography,⁹ non-contact specular microscopy,¹⁷ and scanning-slit technology⁵ are gaining popularity for assessing patients who have undergone LASIK.

In particular, the Orbscan-II (Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA) topography system provides wide-field pachymetry analysis of the anterior and posterior corneal elevations. The corneal thickness can be calculated by measuring the distance between the anterior and posterior corneal surfaces.¹⁸

The Topcon non-contact specular microscope (NCSM) (SP-2000P; Topcon Corp., Tokyo, Japan) provides pachymetry measurements and specular microscopy simultaneously.¹⁴ Focusing on the endothelium, this apparatus supplies specular images and measures the focal distance, which can be calculated as the corneal thickness.¹⁹

Many ophthalmologists rely on the results yielded by both non-contact devices. Despite both non-contact methods are convenient, no study has analysed their interchangeability after myopic LASIK properly. The only study that compared both used correlation coefficients to assess their relationship,³ an analysing method that is flawed based on the investigations of Bland and Altman,^{20,21} as well as the model of regression that relates the measurements obtained by both devices. Therefore, we evaluated whether the devices are interchangeable for patients who had undergone LASIK using the appropriate methods described by Bland and Altman.^{20,21}

Materials and methods

This study adhered to the principles outlined in the Declaration of Helsinki Principles. All candidates received detailed information about the nature of the investigation, and all provided informed consent. We selected 118 consecutive patients who had complete refractive stability on two successive visits at least 2 months apart. One eye of each patient was selected randomly for this investigation and the measurements were taken 9 months after LASIK. Patients were recruited over a 2-year period. Exclusion criteria consisted of suspected keratectasia, progressive myopia, or astigmatism (patients with a 0.25-diopter [D] change and/or ≥ 15 degrees in cycloplegic refractive cylinder

orientation were excluded); preoperative or post-LASIK hyperopia; mixed astigmatism; active ocular disease; connective tissue disorders; and pregnancy. All eyes underwent a complete ophthalmic examination before and after LASIK, including manifest and cycloplegic refractions, Orbscan-II topography, Topcon NCSM pachymetry, slit-lamp microscopy, applanation tonometry, and indirect ophthalmoscopy. Objective measurement of the corneal transparency was performed as previously reported.²²

One experienced technician was assigned to each instrument to minimize variations in the results. The examiner was masked to the refraction and the postoperative time interval at each examination. Central pachymetry also was measured using the Topcon NCSM and compared with the Orbscan-II pachymetry values. The testing sequence of the measurements with both devices was randomized to avoid methodological and statistical bias.²³ Examinations were carried out from 11:00 am to 1:00 pm to minimize the effect of diurnal variations on corneal thickness.²⁴ Non-contact pachymetry measurements were always taken prior to any other ophthalmic procedure that could alter the cornea, including applanation tonometry.

Surgical procedures

All procedures were performed by the same surgeon (MJ Maldonado). The details of the primary LASIK procedures have been reported previously.⁶ The preoperative CCT had to be adequate to ensure a residual stromal bed of at least 250 μm and above 55% of the total preoperative CCT after creation of a corneal flap with a superior hinge (160- μm head, Hansatome microkeratome; Chiron Vision, Claremont, CA, USA). Ablation of the appropriate cut depth was carried out using the Technolas Keracor 217z excimer laser (Bausch & Lomb Chiron Technolas GmbH, Munich, Germany).

Topographic evaluation of CCT

Orbscan-II was calibrated before each session test following the instructions of the operator's manual provided by the manufacturer.²⁵ The patient was instructed to fixate on a flickering red light and to blink to obtain a homogeneous tear film layer that ensures more reliable results. The instrument was then aligned and the cornea was scanned using a slit beam. The Orbscan-II statistical analysis device (software version 3.12) calculated the elevation of the anterior and posterior corneal surfaces; thus, the pachymetry measurement is the result of subtraction of the elevation maps of both corneal surfaces. Although Orbscan-II displays pachymetry values at several locations, only the

central pachymetry value, but not the thinnest corneal point, was taken into account for statistical analysis because of two reasons: first, the reproducibility of the thinnest corneal point is expected to be lower²⁶ and second, Topcon NCSM does not provide the thinnest corneal value, thus precluding comparison between measurement methods. The default acoustic equivalent setting of 0.95 for software version 3.12²⁷ was used throughout this study.

Non-contact specular microscopy evaluation of the CCT

Topcon NCSM was calibrated as previously described.²⁸ The CCT was measured while the subject fixated on a fixation light in the specular microscope. The pachymetry of the central cornea was obtained after proper positioning of the alignment dot, square, and bar on the screen using the automatic mode. The automated image capture, low-intensity mode of the specular microscope was used as described previously.¹⁷ The CCT was determined by patient fixation as well as Orbscan-II examination.

Statistical analyses

Data from the prospectively completed forms were entered into a database and statistical calculations were performed using SPSS (version 15.0 for Windows). The mean and standard deviation (SD) were calculated for normally distributed data.

Where data did not correspond to a normal distribution, the median (50th percentile) and interquartile range (IR: values between the 25th and 75th percentiles of the distribution) were used instead. For all statistical tests, a two-tailed $P < 0.05$ was considered significant. The paired t -test was used to establish whether or not there was a significant systematic bias between measurements.

Bland–Altman graphs of the differences against the means were plotted to check the relation between the differences and the range of measurement, and to check whether the differences between the measurements were approximately normally distributed.^{20,21} We assessed the interchangeability of both measurement methods by calculating the 95% limits of agreement (LoA), defined as the mean difference in measurements ± 1.96 SD as suggested by Bland and Altman.^{20,21}

When the differences between methods of measurement tend to be in one direction for low values of the quantity being measured and in the other direction for high values, a better fit than the above-mentioned crude LoA can be found by using a regression model described by Bland and Altman.²⁹ A regression of the difference between measurement methods on their

average can be used to model the relationship between mean difference and the magnitude being measured. In a second stage of the analysis, modelling the variability in the SD of the differences, directly as a function of the level of the measurement, can be achieved using a method based on absolute residuals from a fitted regression line. Modelling is considerably simplified by the assumption that these residuals have a normal distribution. Once one can predict the mean difference and the SD from these calculations, mean ± 1.96 SD can be estimated for any magnitude, and can be obtained by combining the two regression equations.

We certify that all applicable institutional and governmental regulations concerning the ethical use of human volunteers were followed during this research. This study was approved by the University of Navarra Clinic Review Committee.

Results

The average CCT measurements by Orbscan-II and Topcon NCSM were $447.55 \pm 49.78 \mu\text{m}$ (range, 343–548 μm) and $461.38 \pm 35.35 \mu\text{m}$ (range, 392–540 μm), respectively, a difference that reached statistical significance ($P < 0.0001$). The Orbscan-II readings were lower than those of the Topcon NCSM by an average of $13.83 \pm 22.31 \mu\text{m}$ (95% confidence interval, 9.77–17.09 μm). Corneal opacification was almost non-existent (median and IR, 0 gray levels (range, 0–3)).

A Bland–Altman plot, which was created to assess the difference in individual measurement as a function of the mean of two measurements (Figure 1a), revealed poor agreement due to a systematic bias, and the crude LoA were also too wide (87.45 μm ; range: $-29.89 \mu\text{m}$ to 57.53 μm). Nevertheless, the distribution of the difference between methods was approximately normal (Figure 1b).

We also found an inverse association between the average of both measurements and the difference between Topcon NCSM and Orbscan-II for CCT measurements (Figure 2a); the regression of difference on average gave a significant relationship ($P < 0.01$):

$$\text{Difference (Topcon NCSM – Orbscan II)} = 174.23 - 0.353 \times \text{Average}$$

Therefore, there was a trend in the bias, a tendency for the mean difference to decrease with increasing magnitude. The regression-based 95% LoA:

$$\begin{aligned} \text{Upper limit} &= 206.11 - 0.351 \times \text{Average}, \\ \text{Lower limit} &= 142.39 - 0.355 \times \text{Average} \end{aligned}$$

are shown in Figure 2a and exhibit almost coincident significant slopes (0.351 and 0.355, both $P < 0.01$). The residuals from the regression of difference on average had a normal distribution (Figure 2b), which indicates

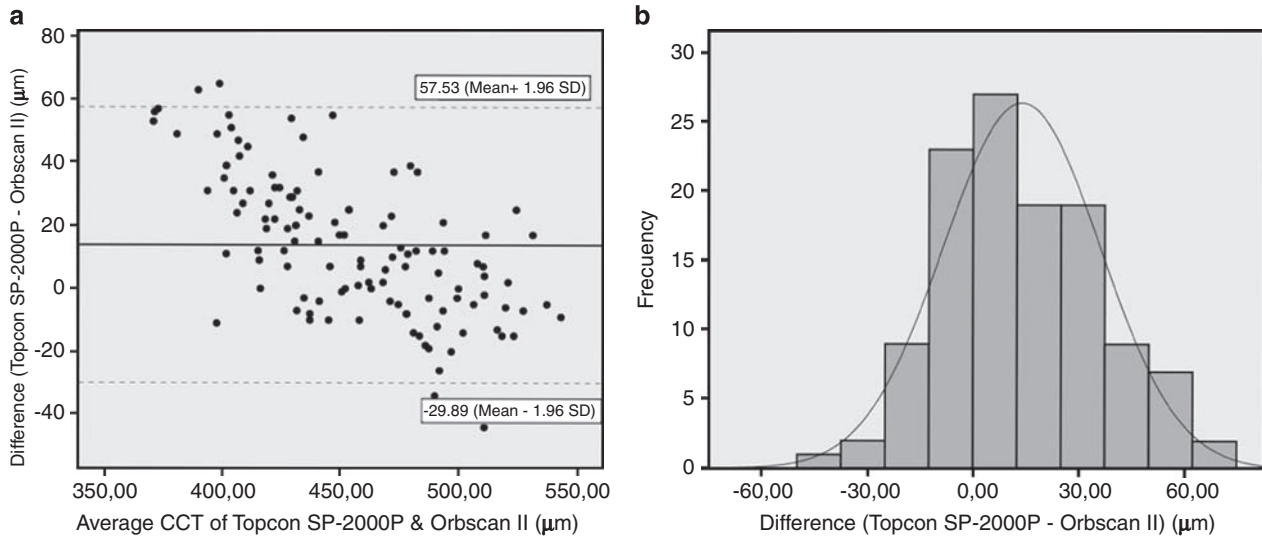


Figure 1 (a) Bland–Altman plot comparing the two modalities. The solid line represents the mean difference in CCT values and the dashed lines represent the crude 95% confidence limits. (b) Histogram shows the distribution of differences between Topcon NCSM and Orbscan-II CCT measurements.

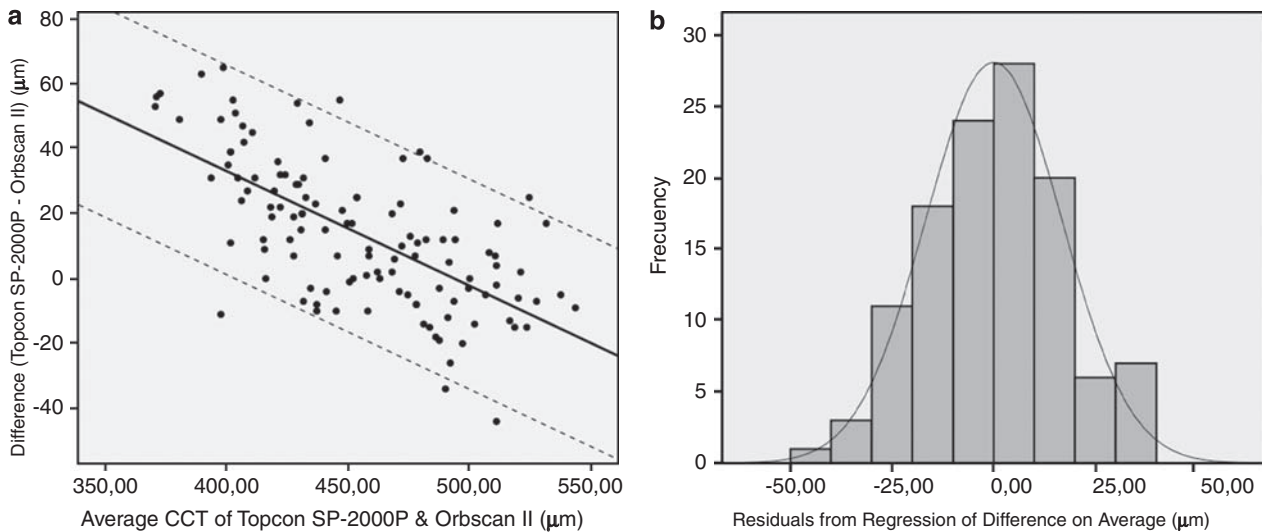


Figure 2 (a) Regression-based LoA for difference in central pachymetry determined by both measurement methods. The solid line represents the regression-based mean difference in CCT values and the dashed line represents the regression-based 95% confidence limits. (b) Histogram shows the distribution of the residuals from the regression of the differences between Topcon NCSM and Orbscan-II CCT measurements on their average.

the suitability of this method for this data set. The regression-based 95% LoA were also rather wide ($63.72 \mu\text{m}$; range: $\pm 31.86 \mu\text{m}$).

Discussion

An accurate assessment of the CCT is essential in several clinical situations, especially for refractive surgery. LASIK currently is the most popular technique; thus,

precise corneal thickness measurements are mandatory to reduce the risk of complications related to refractive surgery. Erroneous pachymetry measurements might mislead the clinical decision making regarding LASIK enhancement, because retreatment can be performed only when biomechanical corneal stability has been confirmed and corneal thickness allows for further ablation to avoid keratectasia.⁶ Measurement errors also can result in miscalculation of the IOL power in patients

who have undergone LASIK⁷ and might affect the screening of patients with glaucoma due to a reduced IOP measurement.⁸

Although ultrasound pachymetry is the most commonly used method in clinical practice, access to accurate non-invasive pachymetry is important to reduce the risk of corneal epithelial damage or flap displacement resulting from probe contact, and to avoid the risk of microbial contamination during follow-up of patients after LASIK.^{2,4,13} Therefore, non-contact methods have been developed to avoid these complications.

In the current study, the results of non-contact pachymetry showed that on average Orbscan-II provides lower CCT values than Topcon NCSM in patients who have undergone myopic LASIK. Our results agree with those obtained by Kawana *et al*,³ which also showed Orbscan-II pachymetric underestimation by 22.3 μm as compared with Topcon NCSM after LASIK. In the current study, Bland–Altman plots showed that Orbscan-II tends to underestimate CCT as compared with Topcon NCSM, which is defined as a systematic bias. This bias in measuring CCT using different acquisition methods in healthy unoperated corneas was reported previously; Tam and Rootman³⁰ compared CCT measurements using specular microscopy and ultrasound and reported a systematic bias towards higher CCT values using specular microscopy. Similar underestimation was also described when pathologically thinned corneas in keratoconus patients were measured using different acquisition techniques, scanning-slit/Placido disc topography and Topcon NCSM.¹⁴

In our study, the Bland–Altman plot also showed a downward trend of the scatter plot; therefore, there is a tendency for the mean difference to fall with higher magnitudes when the Topcon NCSM and Orbscan-II CCT measurements are compared. Although the regression-based LoA improved the data fit in comparison with the crude LoA, which ignored this relationship, both 95% LoA were too wide (63.72 and 87.45 μm) for the two pachymetric methods to be considered interchangeable. Chakrabarti *et al*² and Cheng *et al*³¹ also reported such a tendency when scanning-slit and ultrasound techniques were compared after LASIK. This type of bias was also seen in normal corneas when Amano *et al*³² studied the interchangeability of scanning-slit and ultrasound pachymetric methods. They found that Orbscan-II tended to underestimate lower CCT values and overestimate higher CCT values, although the difference was not significant.

The discrepancy in measurements with Orbscan-II and Topcon NCSM after LASIK might be attributed to their distinct methods of acquiring data. This hypothesis about the discrepancy in measurements might be similar to those in other studies that compared Orbscan-II

pachymetry with ultrasound pachymetry, which also showed Orbscan-II underestimation in patients who underwent LASIK.^{4,5} The underestimation of Orbscan-II pachymetry measurements might be associated with alterations in the postoperative optical quality of the cornea.^{4,33,34} A significant correlation has been established between the grade of corneal transparency loss and the decrease in Orbscan-II pachymetry readings.³³ However, in our series of patients assessed 9 months after surgery, the corneal transparency was comparable to that of a normal cornea. Although no patients had noticeable post-LASIK haze during the slit-lamp examination, confocal microscopy analysis shows increased cell density in LASIK patients,⁵ which produces loss of transparency. This loss increases the reflectivity in the interface with a consequent systematic measurement error.⁵ Another theory suggests that media opacities might bend the light rays passing through the cornea and cause displacement of the slit emitted by Orbscan-II, producing an inaccurate posterior corneal profile.⁴ Another hypothesis suggested that in ablated corneas the newly formed type-III collagen and proteoglycan debris-filled vacuoles resulted in a high level of light scatter, with an ensuing increase in the corneal refraction index.³⁴ All authors agreed that loss of corneal transparency progressively decreases with time, thus improving the accuracy of Orbscan-II.^{4,5}

Another source of Orbscan-II pachymetry underestimation might be the change in corneal shape after LASIK. The normal healthy cornea is usually prolate, but after myopic LASIK the corneal curvature is altered and tends to become oblate.² The reconstruction algorithms, using lower order polynomials, which create elevation data in the Orbscan-II may be properly designed in a normal corneal surface, but they might be ineffective in a post-LASIK corneal surface.²

The main limitation of the current study is that the reason for the variability between measurements showed a wide distribution between methods was not completely addressed, although it can be explained by the measurement repeatability of Orbscan-II being generally lower than that of Topcon NCSM in postmyopic LASIK patients.³⁵ In addition, this study included only patients who had undergone LASIK to treat myopia, and, therefore, the conclusions cannot be applied to patients with hyperopia, in whom the postoperative corneal shape is more prolate. Finally, ultrasonic pachymetry was not performed in the study eyes, thus precluding direct comparison of both non-contact methods with the gold standard in order to find out which of the two is closer to the 'true' value. However, such a comparison has already been extensively reported,^{2,3,5,10,27,31,36,37} and has been included in the discussion of our results with those of previously published studies.

In conclusion, these non-contact methods are not interchangeable in patients who underwent LASIK for myopia, because there is a systematic bias between acquisition methods and there is also a tendency for the mean difference to decrease with increasing magnitude. Thus, although the devices were calibrated appropriately, an acoustic factor was changed¹⁰ or a subtraction method applied,³⁶ one cannot reliably replace the other. A tendency and a systematic bias also were described when each scanning-slit and specular pachymetry, respectively, were previously compared with ultrasonic pachymetry in patients who underwent LASIK.^{31,37} Therefore, ophthalmologists should be aware that not only contact and non-contact pachymetry are not interchangeable after LASIK, but also that these non-contact pachymetry methods cannot be used interchangeably in these patients. This is important for the adequate medium- and long-term follow-up of the growing LASIK patient population.

Summary

What was known before

- Central corneal thickness measurements of Orbscan-II were significantly smaller than those of non-contact specular microscopy (Topcon SP-2000P) after myopic LASIK, although these instruments were analysed using linear correlation to assess interchangeability, a method that is flawed based on the investigations of Bland and Altman.

What this study adds

- The limits of agreement of central corneal thickness between combined scanning-slit/Placido disc topography and non-contact specular microscopy were too wide and we detected an association between the magnitude and the difference. Thus both techniques cannot be used interchangeably after myopic LASIK.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

This work was supported in part by RETICS RD07/0062 (Oftalmología) and the Spanish Ministry of Education and Science through research project FIS2005-05020-C03-03.

References

- 1 Ghergel D, Hosking SL, Mantry S, Banerjee S, Naro SA, Shah S. Corneal pachymetry in normal and keratoconic eyes: Orbscan II versus ultrasound. *J Cataract Refract Surg* 2004; **30**: 1272–1277.
- 2 Chakrabarti HS, Craig JP, Brahma A, Malik TY, McGhee CN. Comparison of corneal thickness measurements using ultrasound and Orbscan slit-scanning topography in normal and post-LASIK eyes. *J Cataract Refract Surg* 2001; **27**: 1823–1828.
- 3 Kawana K, Tokunaga T, Miyata K, Okamoto F, Kiuchi T, Oshika T. Comparison of corneal thickness measurements using Orbscan II, non-contact specular microscopy, and ultrasonic pachymetry in eyes after laser *in situ* keratomileusis. *Br J Ophthalmol* 2004; **88**: 466–468.
- 4 Prisant O, Calderon N, Chastang P, Gatinel D, Hoang-Xuan T. Reliability of pachymetric measurements using Orbscan after excimer refractive surgery. *Ophthalmology* 2003; **110**: 511–515.
- 5 Cheng AC, Rao SK, Tang E, Lam DS. Pachymetry assessment with Orbscan II in postoperative patients with myopic LASIK. *J Refract Surg* 2006; **22**: 363–366.
- 6 Maldonado MJ. Undersurface ablation of the flap for laser *in situ* keratomileusis retreatment. *Ophthalmology* 2002; **109**: 1453–1464.
- 7 Hamed AM, Wang L, Misra M, Koch DD. A comparative analysis of five methods of determining corneal refractive power in eyes that have undergone myopic laser *in situ* keratomileusis. *Ophthalmology* 2002; **109**: 651–658.
- 8 Emara B, Probst LE, Tingey DP, Kennedy DW, Willms LJ, Machat J. Correlation of intraocular pressure and central corneal thickness in normal myopic eyes and after laser *in situ* keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 1998; **24**: 1320–1325.
- 9 Maldonado MJ, Ruiz-Oblitas L, Munuera JM, Aliseda D, Garcia-Layana A, Moreno-Montañés J. Optical coherence tomography evaluation of the corneal cap and stromal bed features after laser *in situ* keratomileusis for high myopia and astigmatism. *Ophthalmology* 2000; **107**: 81–87.
- 10 Ho T, Cheng AC, Rao SK, Lau S, Leung CK, Lam DS. Central corneal thickness measurements using Orbscan II, Visante, ultrasound, and Pentacam pachymetry after laser *in situ* keratomileusis for myopia. *J Cataract Refract Surg* 2007; **33**: 1177–1182.
- 11 Maldonado MJ, Juberias JR. Subtarsal flap dislocation after superior hinge laser *in situ* keratomileusis in a patient with borderline mental illness. *J Refract Surg* 2003; **19**: 169–171.
- 12 Lombardo AJ, Katz HR. Late partial dislocation of a laser *in situ* keratomileusis flap. *J Cataract Refract Surg* 2001; **27**: 1108–1110.
- 13 Maldonado MJ. Corneal epithelial alterations resulting from use of chlorine-disinfected contact tonometer after myopic photorefractive keratectomy. *Ophthalmology* 1998; **105**: 1546–1549.
- 14 Kawana K, Miyata K, Tokunaga T, Kiuchi T, Hiraoka T, Oshika T. Central corneal thickness measurements using Orbscan II scanning slit topography, noncontact specular microscopy, and ultrasonic pachymetry in eyes with keratoconus. *Cornea* 2005; **24**: 967–971.
- 15 Hitzenberger CK, Baumgartner A, Drexler W, Fercher AF. Interferometric measurement of corneal thickness with micrometer precision. *Am J Ophthalmol* 1994; **118**: 468–476.
- 16 Brugin E, Ghirlando A, Gambato C, Midena E. Central corneal thickness: z-ring corneal confocal microscopy versus ultrasound pachymetry. *Cornea* 2007; **26**: 303–307.
- 17 Ogbuehi KC, Almubrad TM. Repeatability of central corneal thickness measurements measured with the Topcon SP2000P specular microscope. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005; **243**: 798–802.

- 18 Cairns G, McGhee CN. Orbscan computerized topography: attributes, applications, and limitations. *J Cataract Refract Surg* 2005; **31**: 205–220.
- 19 Módis Jr L, Langenbucher A, Seitz B. Scanning-slit and specular microscopic pachymetry in comparison with ultrasonic determination of corneal thickness. *Cornea* 2001; **20**: 711–714.
- 20 Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; **1**: 307–310.
- 21 Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. *The Statistician* 1983; **32**: 307–317.
- 22 Maldonado MJ, Arnau V, Martínez-Costa R, Navea A, Mico FM, Cisneros AL *et al*. Reproducibility of digital image analysis for measuring corneal haze after myopic photorefractive keratectomy. *Am J Ophthalmol* 1997; **123**: 31–41.
- 23 Fisher LD, Van Belle G. *Biostatistics: a Methodology for the Health Sciences*. Wiley Intersciences: New York, 1993.
- 24 Lattimore Jr MR, Kaupp S, Schallhorn S, Lewis IV R. Orbscan pachymetry: implications of a repeated measures and diurnal variation analysis. *Ophthalmology* 1999; **106**: 977–981.
- 25 Bausch and Lomb. *Orbscan II, Orbscan IIZ, Operator's Manual*, Version 3.12. Bausch & Lomb: Salt Lake City, Utah, 2002.
- 26 Fam HB, Lim KL, Reinstein DZ. Orbscan global pachymetry: analysis of repeated measures. *Optom Vis Sci* 2005; **82**: 1047–1053.
- 27 Myrowitz EH, Ren S, Chuck RS. Comparison of central corneal thickness measured by four different pachymeters. *Eye Contact Lens* 2007; **33**: 156–160.
- 28 Van Shaick W, van Dooren BT, Malder PG, Völker-Dieben HJ. Validity of endothelial cell analysis methods and recommendations for calibration in Topcon SP-2000P specular microscopy. *Cornea* 2005; **24**: 538–544.
- 29 Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999; **8**: 135–160.
- 30 Tam ES, Rootman DS. Comparison of central corneal thickness measurements by specular microscopy, ultrasound pachymetry, and ultrasound biomicroscopy. *J Cataract Refract Surg* 2003; **29**: 1179–1184.
- 31 Cheng AC, Rao SK, Lau S, Leung CK, Lam DS. Central corneal thickness measurements by ultrasound, Orbscan II, and Visante OCT after LASIK for myopia. *J Refract Surg* 2008; **24**: 361–365.
- 32 Amano S, Honda N, Amano Y, Yamagami S, Miyai T, Samejima T *et al*. Comparison of central corneal thickness measurements by rotating Scheimpflug camera, ultrasonic pachymetry, and scanning-slit corneal topography. *Ophthalmology* 2006; **113**: 937–941.
- 33 Fakhry MA, Artola A, Belda JI. Comparison of corneal pachymetry using ultrasound and Orbscan II. *J Cataract Refract Surg* 2002; **28**: 248–252.
- 34 Boscia F, La Tegola MG, Alessio G, Sborgia C. Accuracy of Orbscan optical pachymetry in corneas with haze. *J Cataract Refract Surg* 2002; **28**: 253–258.
- 35 Maldonado MJ, Lopez-Miguel A, Nieto JC, Cano-Parra J, Calvo B, Alio JL. Reliability of noncontact pachymetry after laser *in situ* keratomileusis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; **50**: 4135–4141.
- 36 Cheng AC, Tang E, Mohamed S, Lam DS. Correction factor in Orbscan II in the assessment of corneal pachymetry. *Cornea* 2006; **25**: 1158–1161.
- 37 Zhao MH, Zou J, Wang WQ, Li J. Comparison of central corneal thickness as measured by non-contact specular microscopy and ultrasound pachymetry before and post LASIK. *Clin Exp Ophthalmol* 2007; **35**: 818–823.

Manuscript Number:

Title: Dependability of Pachymetry Measurements after Myopic Advanced Surface Ablation Using Scanning-slit Topography and Specular Microscopy.

Article Type: Full Length Article

Section/Category: Refractive

Keywords: Scanning-slit topography; specular microscopy; repeatability; reproducibility; central corneal thickness.

Corresponding Author: Dr Miguel J Maldonado, PhD

Corresponding Author's Institution: IOBA-Eye Institute, University of Valladolid

First Author: Alberto López-Miguel, MSc

Order of Authors: Alberto López-Miguel, MSc; Loreto Martínez-Alméida, MSc; Maria E Mateo, BSc; María B Coco-Martín, PhD; Jorge L Alió, PhD; Miguel J Maldonado, PhD

Abstract: Purpose: To assess the repeatability, intersession and interobserver reproducibility and agreement of central corneal thickness (CCT) measurements obtained by scanning-slit topography (SST) and non-contact specular microscopy (NCSM) after advanced surface ablation.

Setting: IOBA-Eye Institute, University of Valladolid, Spain.

Design: Evaluation of diagnostic technology.

Methods: To analyze repeatability, one examiner measured 63 post-myopic ASA eyes 5 times successively using both techniques randomly. To calculate interobserver reproducibility a second examiner obtained another CCT measurement in a random fashion. To study intersession reproducibility, the first operator obtained CCT measurements from another 24 eyes during two sessions one week apart.

Results: Intrasection repeatability: SST and NCSM within-subject standard deviation (Sw) and intraclass correlation coefficient (ICC) were 7.35 μ m and 3.81 μ m, and 0.97 and 0.99, respectively.

Interobserver reproducibility: SST measurement variability showed correlation with CCT magnitude (τ = -0.38; p =0.002) whereas NCSM did not. NCSM Sw and ICC were 3.83 μ m and 0.99, respectively.

Intersession reproducibility: no difference in CCT measurements was found for any technique; Sw and ICC estimates for SST and NCSM were 12.2 μ m and 8.37 μ m, and 0.94 and 0.95, respectively. We found a tendency for the difference (mean SST-NCSM=13.39 μ m,) to increase in thicker corneas (r s=0.45, p =0.001).

Conclusion: Both noncontact pachymetry techniques provided highly repeatable and quite reproducible CCT measurements in post-ASA patients having no clinically significant corneal haze, except for SST interobserver reproducibility, which decreased in thinner corneas. However, both techniques were not interchangeable. The estimates provided should help clinicians differentiate real CCT change from non-contact pachymetry measurement variability after ASA.

June 15th , 2012

Nick Mamalis, MD
Emanuel S. Rosen, MD
Editors
Journal of Cataract and Refractive Surgery

Dear Drs. Mamalis and Rosen:

I am submitting a manuscript entitled “Dependability of Pachymetry Measurements after Myopic Advanced Surface Ablation Using Scanning-slit Topography and Specular Microscopy” for consideration for publication as an original manuscript in the *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. This manuscript has been written according to the authors guidelines.

Each author has reviewed and agrees with the final version of the manuscript, and none of the authors has a financial, commercial, or proprietary interest in any device mentioned. We hope the manuscript is suitable for publication in the *Journal of Cataract and Refractive Surgery*.

Thank you for your consideration.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'MJM', with a long, sweeping line extending upwards and to the right from the top of the signature.

Corresponding Author:
Miguel J. Maldonado, MD, PhD
IOBA, University of Valladolid
Paseo de Belén, 17, 47011, Valladolid, Spain
Tel. +34-938183534. Fax: +34 983184762. E-mail: maldonado@ioba.med.uva.es

SYNOPSIS

Reliability of scanning-slit topography and specular microscopy for measuring central corneal thickness after myopic ASA is adequate in the absence of clinically significant haze despite of not being interchangeable techniques.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Dependability of Pachymetry Measurements after Myopic Advanced Surface Ablation Using Scanning-slit Topography and Specular Microscopy

*Alberto López-Miguel, MSc;^{1,2} Loreto Martínez-Almeida, MSc;¹ María Eugenia Mateo, BSc;¹
María Begoña Coco-Martín, PhD;¹ Jorge L. Alió MD, PhD,³ Miguel J. Maldonado MD, PhD.¹*

¹ IOBA- Eye Institute, University of Valladolid, Valladolid, Spain.

² Vision I+D, SL. Valladolid, Spain

³From Vissum-Instituto Oftalmológico de Alicante, Universidad Miguel Hernández, Alicante, Spain

Supported in part by RETICS RD07/0062 (Oftalmología), and the Spanish Ministry of
Science and Innovation through research projects FIS PI10/01842 and SAF2009-14724-C02.

The authors have no financial interest in any product, method or material named or used
throughout the whole manuscript.

Short running head: Non-contact Pachymetry after ASA

Corresponding author: Miguel J Maldonado, MD, PhD. IOBA, Campus Miguel Delibes,
Paseo Belén, 17, 47011, Valladolid, Spain. Tel. +34-938184750. Fax: +34 983184762. E-
mail: maldonado@ioba.med.uva.es

ABSTRACT

Purpose: To assess the repeatability, intersession and interobserver reproducibility and agreement of central corneal thickness (CCT) measurements obtained by scanning-slit topography (SST) and non-contact specular microscopy (NCSM) after advanced surface ablation.

Setting: IOBA-Eye Institute, University of Valladolid, Spain.

Design: Evaluation of diagnostic technology.

Methods: To analyze repeatability, one examiner measured 63 post-myopic ASA eyes 5 times successively using both techniques randomly. To calculate interobserver reproducibility a second examiner obtained another CCT measurement in a random fashion. To study intersession reproducibility, the first operator obtained CCT measurements from another 24 eyes during two sessions one week apart.

Results: Intrasession repeatability: SST and NCSM within-subject standard deviation (S_w) and intraclass correlation coefficient (ICC) were $7.35\mu\text{m}$ and $3.81\mu\text{m}$, and 0.97 and 0.99, respectively.

Interobserver reproducibility: SST measurement variability showed correlation with CCT magnitude ($\tau = -0.38$; $p = 0.002$) whereas NCSM did not. NCSM S_w and ICC were $3.83\mu\text{m}$ and 0.99, respectively.

Intersession reproducibility: no difference in CCT measurements was found for any technique; S_w and ICC estimates for SST and NCSM were $12.2\mu\text{m}$ and $8.37\mu\text{m}$, and 0.94 and 0.95, respectively. We found a tendency for the difference (mean SST-NCSM= $13.39\mu\text{m}$,) to increase in thicker corneas ($r_s = 0.45$, $p = 0.001$).

Conclusion: Both noncontact pachymetry techniques provided highly repeatable and quite reproducible CCT measurements in post-ASA patients having no clinically significant corneal haze, except for SST interobserver reproducibility, which decreased in thinner corneas. However, both techniques were not interchangeable. The estimates provided should help clinicians differentiate real CCT change from non-contact pachymetry measurement variability after ASA.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Excimer laser keratorefractive surgery is the most popular procedure worldwide for correcting refractive errors. Advance surface ablation (ASA) procedures have gained popularity because preoperative central corneal thickness (CCT), and especially residual stromal bed thickness, have been stated as mayor risk factors to develop ectasia after laser vision correction.^{1,2} Therefore, taking into account the increasing number of patients undergoing ASA, reliable CCT measurements are mandatory when counseling patients for post-ASA enhancements,³ determining intraocular pressure (IOP) for ocular hypertension (OHT) and glaucoma diagnosis⁴ and also calculating the power of pseudophakic intraocular lens (IOL) after corneal laser photoablation.⁵

Ultrasonic (US) pachymetry has been the most commonly used method for measuring CCT and is still considered the gold standard.⁶ However, the US technique has got some shortcomings related to probe contact with the cornea, like the need for using topical anesthesia and the risk of corneal epithelial damage or infection.⁷ In addition, US accuracy is highly examiner-dependent because of probe misplacement and corneal compression⁸ reducing its appropriateness in post-ASA patients. Therefore, clinicians are increasingly demanding non-contact pachymetry techniques able to provide reliable data.

Combined scanning-slit and placid-disk topography (Orbican-II, Bausch & Lomb, Rochester, NY) is a non-contact technique that provides full pachymetry mapping of the cornea. An average of 40 slits of light are projected successively onto the cornea, thus, the anterior and posterior edges of the slits are captured for being computed to create a 3-dimensional corneal image.⁸ The scanning-slit topography (SST) technique shows lower measurement consistency in corneas having haze,⁹ because the light slits travelling through the cornea may change direction resulting in variations in posterior surface data; hence, pachymetry analysis might be affected when there is loss of corneal transparency,^{9,10} which is more likely to happen in post-ASA corneas than in post-LASIK ones.¹¹ Besides, SST is

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

currently the second topography system most used among refractive surgeons (Duffey RJ and Leaming DV. U.S. Trends in refractive surgery: 2011 ISRS survey. Presented at: AAO Annual Meeting, October, 2011; Orlando), thus, knowing its CCT dependability after ASA is mandatory nowadays.

Non-contact specular microscopy (NCSM) (Topcon SP-3000P; Topcon Corp., Tokyo, Japan) is an optical technique widely used in the daily clinic to assess corneal endothelial cell density for diagnosing corneal anomalies.¹² In addition, it also provides CCT¹³ whose reported measurement reliability is higher than US in healthy corneas;¹⁴ hence, it could be also an valuable pachymetry device during post-ASA follow-up, taking into account that it might not be affected by minor media opacities.

The CCT measurement accuracy (systematic error related to the gold-standard) of SST compared to US during the early and late post-myopic ASA period has been already established.^{15,16} However, to our knowledge, its measurement reliability (random error) has been reported only after myopic LASIK;¹⁷ thus, there is an absence of information regarding the precision of this technique in post-myopic ASA patients. Consequently, the main aim of the present study was to estimate the CCT measurement reliability (intrasession repeatability and intersession and interobserver reproducibility) of SST in the absence of clinically significant haze after myopic ASA, and evaluate its interchangeability with NCSM following Bland & Altman recommendations.¹⁸⁻²²

MATERIALS AND METHODS

The present study was approved by University of Valladolid Medical School Ethics Committee and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki. All enrolled subjects were informed of the nature of the study and consent forms were signed.

1 Patients were recruited over an 8-month period. Exclusion criteria consisted of
2 suspected keratectasia, clinically significant lens opacity, active ocular disease, connective
3 tissue disorders, and pregnancy or breastfeeding; in addition, patients included should have
4 post-ASA maximum corrected visual acuity $\geq 20/20$ and clinically insignificant corneal haze.
5
6 All eyes underwent a complete ophthalmic examination before ASA, including manifest and
7 cycloplegic refractions, Orbscan-II topography, noncontact specular pachymetry, slit-lamp
8 microscopy, applanation tonometry, and indirect ophthalmoscopy.
9

10 **Surgical Procedures**

11 All procedures were performed by the same surgeon (MJM). The details of the primary ASA
12 procedures were the following: visual axis was first marked, epithelial delamination was
13 obtained using diluted 20% ethanol, which was applied to the surface of the cornea with a 9-
14 mm Camellin-style LASEK trephine and alcohol well (Katena Products, Inc). After 30
15 seconds, ethanol was washed off using a surgical sponge (Medtronic Ophthalmics,
16 Jacksonville, Fla) and chilled balanced salt solution. Epithelial flaps were always discarded.
17
18 Laser ablation was performed using the Allegretto 400 Wave Eye-Q laser platform (Alcon
19 Laboratories, Inc.) and the cornea was chilled with cold balanced salt solution at the end of
20 the procedure. Postoperatively, a therapeutic bandage contact lens were always worn (Acuvue
21 Advance, Johnson & Johnson) until epithelium was healed, which usually occurred around 6
22 days after the surgical procedure. All ASA procedures were uneventful. Patients were
23 examined postoperatively at 1, 6 days, and 1, 3, and 6 months.
24
25

26 **Pachymetry Evaluation**

27 Both SST and NCSM were always kept calibrated throughout the duration of the study.
28 Pachymetry measurements were obtained 6 months after myopic ASA surgery. For acquiring
29 SST data, the patient was instructed to fixate on a flickering red light. Before proceeding, the
30 patient always blinked to obtain a homogeneous tear film layer. The instrument then was
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 aligned and the cornea was scanned by a slit-beam. The built-in statistical analysis software of
2 the SST device calculated the elevation data of the anterior and posterior corneal surfaces;
3
4 thus, pachymetry is the result of subtracting the elevation map of both corneal surfaces.^{23,24}
5
6 The SST instrument displays pachymetry values at any corneal location scanned; however,
7
8 only the central thickness was analyzed. The default acoustic equivalent setting used was
9
10 0.92.²⁵ Examinations were performed during a specific period (11.00 to 13.00h) to minimize
11
12 the possible effect of diurnal variations in corneal thickness.²⁶
13
14
15

16 For NSCM CCT gauging, the patients were positioned with their chins in a cup and
17
18 foreheads against a headband. The CCT was measured while the subject focused on a fixation
19
20 light in the instrument. After proper positioning of the alignment dot, square and bar on the
21
22 screen, the pachymetry was automatically obtained. NSCM was performed immediately
23
24 before or after SST depending on the order determined by a computer-generated random
25
26 table. The order of the pachymetry measurements performed using both techniques (SST and
27
28 NSCM) was always randomized to prevent bias. In addition, the order of the measurements
29
30 performed by each examiner was also randomized. All measurements were performed within
31
32 the shortest time to prevent any effect of fatigue bias.
33
34
35
36
37

38 **Statistical Analyses**

39 Intraobserver repeatability

40
41 To investigate the intraobserver repeatability of SST and NSCM for CCT, the first examiner
42
43 obtained independent test results using the same method on the same subject and the same
44
45 equipment with the shortest time possible between successive sets of readings. This first
46
47 examiner performed five consecutive examinations in 63 eyes after ensuring proper focusing
48
49 and alignment. To calculate the intrasession repeatability, the within-subject standard
50
51 deviation (S_w)¹⁸ of the five consecutive measurements was calculated by obtaining the square
52
53 root of the value, referred to as the residual mean square, in one-way analysis of variance.^{18,19}
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 The precision, from a statistical standpoint, is the difference between a subject's measurement
2 and the true value (average value that would be obtained over many measurements) for 95%
3 of observations and was defined as $\pm 1.96 \times S_w$.¹⁸ Repeatability, or the value below which the
4 difference between two measurements will lie with a probability of 0.95, also was analyzed
5 and defined as $2.77 \times S_w$.^{18,19} We also calculated the intrasession coefficient of variation
6 (CV_w).¹⁸ The intrasession reliability of the measurement method also was calculated with the
7 intraclass correlation coefficient (ICC).²⁰

16 Interobserver reproducibility

18 To calculate interobserver reproducibility, a second examiner obtained only one SST and
19 NCSM CCT measurement. The first of the five CCT measurements performed by the first
20 examiner with each technique was computed to establish agreement between observers.
21 Graphs of the differences from the means were plotted to ascertain that there was no relation
22 between the differences and the range of measurement and that the differences between
23 measurements were approximately normally distributed.^{18,21} The 95% limits of agreement
24 (LoA) were defined as the mean difference in measurements performed by two different
25 examiners $\pm 1.96 \times$ standard deviation (SD), with lower values indicating higher interobserver
26 reproducibility.^{18,21,22} Agreement between two observers was also analyzed by calculating the
27 interobserver standard deviation (S_w) with analysis of variance,¹⁸ the precision (1.96 times the
28 interobserver S_w),²¹ the reproducibility (2.77 times the interobserver S_w), and the interobserver
29 CV_w, which was defined as the S_w divided by the average measurement value and expressed
30 as a percentage.¹⁸ The interobserver reliability of the measurement method was also
31 calculated with the intraclass correlation coefficient (ICC).²⁰ The paired *t*-test was used to
32 establish whether there was a significant systematic bias between observers.

56 Agreement between techniques

1 The paired t -test was used to establish whether there was a significant systematic bias
2 between SST and NCSM techniques. Graphs of the differences from the means were plotted
3
4 to ascertain that there was no relation between the differences and the range of measurement
5
6 and that the differences between measurements were approximately normally
7
8 distributed.^{18,21,22} The first CCT measurement obtained using SST and NCSM to analyze the
9
10 intraobserver repeatability were computed to analyze systematic bias and agreement between
11
12 both techniques.
13
14

15 Intersession reproducibility

16
17 To evaluate intersession reproducibility, a second session was scheduled one week after the
18
19 first one. The first of the five CCT measurements performed during the first session was
20
21 computed to establish agreement between sessions. Graphs of the differences from the means
22
23 were plotted to ascertain that there was no relation between the differences and the range of
24
25 measurement and that the differences between measurements were approximately normally
26
27 distributed.^{18,21,22} The 95% limits of agreement (LoA), the intersession within-subject
28
29 standard deviation (S_w), precision, reproducibility, CV_w and ICC were calculated.^{18,20,21} The
30
31 paired t -test was used to establish whether there was a significant systematic bias between
32
33 sessions.
34
35
36
37
38
39
40

41 Data from the prospectively completed forms were entered into a database, and
42
43 statistical calculations were performed using SPSS version 18.0 for Windows (SPSS, Cary,
44
45 NC). The mean and SD were calculated for normally distributed data. When the data did not
46
47 correspond to a normal distribution, the median (50th percentile) and interquartile range (IQR)
48
49 (defined as values between the 25th and 75th percentiles of the distribution) were used instead.
50
51 Spearman's rank correlation coefficient (r_s) was used to measure the association between the
52
53 mean of pachymetry readings and the absolute value of the difference between 2 readings, or
54
55 the SD of 5 readings, prior to proceed with repeatability, reproducibility or agreement
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

analyses.^{18,22} When a significant relationship was found, the within-subject standard deviation or the limits of agreement of the crude data were not provided because they are not appropriate methods to represent measurement error under those circumstances.^{18,22} Then again, when conventional Bland & Altman graphs showed an association between the signed difference and average CCT values (tendency), a better fit than the above-mentioned crude LoA was obtained by using a regression model described by Bland and Altman.²² For all statistical tests, a two-tailed $P < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

The intrasession repeatability, the interobserver reproducibility and the agreement between techniques were studied in 63 eyes of 63 patients (26 men, 37 women). The average patient age was 32.2 ± 6.1 years (range, 21–45 years). The mean postoperative sphere was -0.12 ± 0.29 diopters (D) (range, +0.50 to -0.50 D) and the median astigmatism was -0.25 D (IQR: 0 to -0.50 D).

Intrasession Repeatability

Table 1 shows the overall average CCT values corresponding to the repeated measures, the intrasession S_w , the precision ($1.96 \times S_w$), the repeatability ($2.77 \times S_w$), the CV_w , and the ICC. Intrasession reliability of both techniques was good.

Interobserver Reproducibility

Table 2 shows the overall average CCT values, the interobserver S_w , the precision, the reproducibility ($2.77 \times S_w$), the CV_w , and the ICC corresponding to the interobserver analysis. The mean differences between observers were -0.46 (95% CI, $-2.93/2.01$) $\pm 9.82 \mu\text{m}$ for SST and 1.01 (95% CI, $-0.33/2.36$) $\pm 5.36 \mu\text{m}$ for NCSM. There was no statistically significant

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

difference between the set of measurements obtained by each examiner neither for SST ($p = 0.71$) nor for NCSM ($p = 0.14$).

For SST, we found an association between the absolute value of the difference and the mean of both measurements ($\tau = -0.38$; $p = 0.002$); a trend for the variability to increase with decreasing CCT magnitude (Figure 1a).

Regarding interobserver reproducibility outcomes for NCSM, both agreement and width of the LoA were good. The upper limit of the LoA was 11.53 (95% CI, 9.19/13.87), the lower limit was -9.50 (95% CI, -11.84/-7.16); thus, the width of the LoA was 21.03 μm (Figure 1b).

Agreement between techniques

SST provided higher readings than NCSM; mean difference between systems was 13.39 (95% CI: 8.49 / 18.29) \pm 19.46 μm ($p < 0.0001$). A Bland-Altman plot created to assess the difference in individual measurement as a function of the mean of two measurements (Figure 2) revealed poor agreement because the crude LoA were wide (76.28 μm ; range: -24.75 to 51.53 μm) and there was an association between the average of both measurements and the difference between SST and NCSM CCT readings (Figure 2). Therefore, there was a trend in the bias, a tendency for the difference to increase with increasing CCT magnitude ($r_s = 0.45$, $p = 0.001$). Thus, the regression-based 95% LoA model was calculated. Mean difference (SST – NCSM) could be calculated with the following formula: $-66.49 + 0.17 \times \text{Average CCT}$. The regression-based 95% LoA were the following: upper limit = $-80.31 + 0.26 \times \text{Average CCT}$; lower limit = $-52.60 + 0.08 \times \text{Average CCT}$, which are also shown in Figure 2.

Intersession Reproducibility

Intersession reproducibility was studied in 24 eyes of 24 patients (6 men, 18 women). The average patient age was 33.08 ± 5.1 years (range, 28–42 years). The mean postoperative sphere was -0.09 ± 0.31 diopters (D) (range, +0.50 to -0.50 D) and the median astigmatism was -0.25 D (IQR: 0 to -0.50 D). Table 3 shows the overall average CCT values

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

corresponding to the two examinations, the intrasession S_w , the precision ($1.96 \times S_w$), the reproducibility ($2.77 \times S_w$), the CV_w , and the ICC corresponding to the intersession analysis.

The mean differences between sessions were -0.91 (95% CI, $-8.36/6.53$) ± 17.63 μm for SST and -2.00 (95% CI, $-7.03/3.03$) ± 11.92 μm for NCSM. There was no statistical difference between the set of measurements obtained by each examiner neither for SST ($p = 0.41$) nor for NCSM ($p = 0.80$). Figure 3 shows the Bland–Altman plots of difference versus mean for SST and NCSM. There was not a tendency for the mean difference to increase or decrease varying the CCT magnitude, which confirmed that the variations were independent of the mean CCT value. Table 4 shows the 95% LoA corresponding to the intersession variability for both techniques; the NCSM LoA width was narrower than the SST one.

DISCUSSION

Refractive corneal surgery following ASA techniques has gained increasing popularity due to its reduced impact on corneal biomechanics compared to LASIK.²⁷ The reliability (random error) of pachymetry measurements obtained by any ophthalmic instrument should be always clinically determined to avoid misdiagnosis based on the readings when providing counseling for corneal laser enhancements,³ glaucoma diagnosis and treatment⁴ and pseudophakic IOL power calculations.⁵ Therefore, it is mandatory to determine the reliability of non-contact pachymetry methods after myopic ASA that are widely used in the clinical setting (like SST and NCSM), to conclude if they are repeatable and reproducible beyond eliminating the risk of corneal epithelial damage and microbial contamination associated to ultrasound probe contact.²⁸

Intrasession repeatability values using both SST and NCSM pachymetry techniques for gauging CCT were clinically good (Table 1). However, NCSM obtained an intrasession

1 repeatability value that was nearly twice better than the SST one (Table 1). Our research
2 group has previously reported SST and NCSM intrasession repeatability outcomes after
3 LASIK and we found similar variability intrasession repeatability values (20.2 and 12.8 μ m
4 for SST and NCSM, respectively);¹⁷ thus, we can conclude that there is no clinical difference
5 in SST and NCSM random error when gauging CCT between myopic LASIK and ASA
6 patients having no clinically significant corneal haze. This absence of clinical difference
7 regarding CCT measurement repeatability was also reported by Savini et al.²⁹ using a dual
8 Scheimpflug analyzer (Galilei, Zeimer Group, Port, Switzerland). They obtained better
9 variability outcomes (Intrasession Repeatability ($2.77 \times S_w$) = 5.97 μ m); however, they
10 analyzed CCT outcomes for the average central 4.0mm zone instead of a single-point
11 thickness as we did. Schneider et al.³⁰ also assessed the intrasession repeatability after ASA,
12 nevertheless, they used a time domain ocular coherence tomographer (StratusOCT 3000; Carl
13 Zeiss Meditec, Dublin, CA) and found a similar repeatability S_w value (3.8 μ m) to the one
14 obtained by NCSM in our study.
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

33
34 We found an inverse relationship between the variability (absolute value of the
35 difference) and the CCT magnitude for SST interobserver reproducibility data; thus, our SST
36 interobserver variability outcomes (Table 2) should be interpreted according to the CCT
37 magnitude: more unreliable estimates between observers should be expected in thinner
38 corneas. Although systematic differences between observers were negligible (0.46 μ m), the
39 Bland & Altman graph also showed a tendency for the SST CCT mean difference to decrease
40 with increasing CCT magnitude (Figure 1a). On the contrary, NCSM Bland & Altman
41 analysis (Figure 1b) showed good agreement between observers regardless of the CCT
42 magnitude, narrower crude LoA and insignificant systematic error (1.01 μ m) between
43 observers, which suggests its clinical appropriateness for assessing central pachymetry after
44 the intermediate postoperative period. Spadea et al.³¹ also performed Bland & Altman
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 interobserver analysis in one month post-ASA patients using optical low coherence
2 reflectometry (OLCR) and ultrasound techniques; they reported narrower interobserver LoA
3
4 width values (13.9 and 9.3 μm , respectively) compared to ours (SST = 38.49 μm , NCSM =
5
6 21.01 μm). Nonetheless, it must be taken into account that OLCR device provides one single
7
8 CCT value after averaging sixteen measurements, and for the ultrasound technique, they
9
10 computed the average of three consecutive CCT measurements; while we only obtained one
11
12 CCT reading for each non-contact technique.
13
14
15

16
17 Regarding the agreement between SST and NCSM after myopic ASA, we found a SST
18
19 systematic overestimation of 13.39 μm and a significant association between the average of
20
21 CCT measurements and the difference between devices as well as wide crude LoA after
22
23 applying Bland & Altman analysis (Figure 2). Therefore, we can state that both devices are
24
25 not directly interchangeable after myopic ASA, nor after myopic LASIK as it was previously
26
27 reported.¹⁷ However, we provided adequate regression-based formulas for those clinicians that
28
29 desire to know the actual relationship between both techniques when gauging CCT after
30
31 myopic ASA. Jonuscheit and Doughty²⁵ reported similar systematic differences (14 μm)
32
33 between these techniques in healthy corneas; besides, they also found similar upward trend
34
35 with increasing CCT magnitude (Figure 2) when they evaluated the agreement between SST
36
37 and NCSM.
38
39
40
41
42

43
44 The upward or downward trend in the bias typically found when assessing CCT
45
46 measurement agreement following Bland & Altman analysis between SST and other
47
48 techniques (US, Scheimpflug and NCSM) is obtained as a result of the peculiar SST
49
50 measurement procedure, and this fact has been reported regardless of assessing either normal
51
52 or post-laser corneas (ASA and LASIK).^{15,17,32,33} In general terms, SST tends to underestimate
53
54 thinner and slightly overestimate thicker corneas when compared with the gold standard US
55
56 technique,^{15,32,33} although US might overestimate actual CCT because of the corneal swelling
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 due to the effect of corneal anesthetics.³⁴ The SST reconstruction algorithm is proprietary,
2 thus an accurate explanation for the differences found in our study in the agreement between
3 techniques (Figure 2) and the variability (Table 2) of CCT measurement depending on
4 pachymetry magnitude, cannot be precisely ascertained. Nonetheless, previous authors have
5 stated that SST measures thinner when there is loss of corneal transparency,^{9,16,35} and that
6 underestimation is directly correlated with the grade of haze.¹⁰ Therefore, this hypothesis
7 could be applied to previous outcomes reported after corneal laser surgery in both LASIK and
8 ASA patients,^{15,32,33} because non-clinically significant haze could be overlooked during
9 follow-up biomicroscopy examination. However, the SST under and overestimation compared
10 to US depending on CCT magnitude illustrated by previous authors^{15,33,35,36} in non-surgery
11 healthy corneas is not explained by this hypothesis. Therefore, SST has got an additional
12 inherent CCT measurement limitation that might be associated to its corneal analysis
13 procedure, which is not fully compensated applying an adequate instrument calibration
14 through the setting of an acoustic factor.³⁷ Therefore, we hypothesize as well as Chakrabarti et
15 al.³⁸ did, that the SST system might rely on reconstructing algorithms primary based on
16 prolate-shaped corneas, which might not work properly when assessing spherical-based and
17 oblate-shaped corneas, despite being apparently transparent. Hence, this is also an inherent
18 SST CCT measurement shortcoming that might be further enhanced in the case of post-laser
19 markedly oblate-shaped corneas as showed previously through Bland & Altman
20 analysis.^{15,32,33}

21 We could not find significant differences between set of CCT measurements performed
22 one week apart using both SST and NCSM techniques. Nonetheless, intersession
23 reproducibility outcomes (table 3) were poorer than those obtained for intrasession analysis.
24 The main reason for obtained poorer variability results should be derived from not gauging
25 again the pachymetry corresponding to the same corneal location measured during the first
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 session. Using solely a chin rest and a forehead do not guarantee acquiring the pachymetry at
2 same corneal point as the first session unless an anatomical recognition system is used as
3
4 some wavefront sensors have already incorporated,³⁹ because the way the patient places the
5
6 head is likely to be different; a shortcoming that affects both techniques. The performance of
7
8 NCSM was again better than SST, however, both techniques obtained excellent ICC values
9
10 (>0.97). The intersession CV_w for SST can be still considered clinically acceptable (2.65%)
11
12 and was similar to the one previously reported for SST after LASIK (2.45%),¹⁷ which
13
14 indicates that SST has similar CCT measurement reliability for both myopic LASIK and ASA
15
16 patients when there is no clinically significant corneal haze. Nonetheless, the width of the
17
18 LoA for SST in our study (69.05 μm) was much higher than the previous reported value for
19
20 normal corneas (26 μm).⁴⁰
21
22
23
24
25

26 The current study had several limitations. This study included only myopic post-ASA
27
28 patients, thus, the conclusions cannot be applied to patients who have undergone hyperopic-
29
30 ASA surgery, whose postoperative corneal shape is even more prolate than normal corneas.
31
32 Both examiners who participated in the present study had expertise in the use of both
33
34 pachymetry methods, thus, interobserver variability results should be expected to be poorer
35
36 for non-experienced users, especially for SST. Finally, we evaluated the random error when
37
38 measuring post-myopic ASA CCT with two non-contact methods under repeatability and
39
40 reproducibility conditions rather than their accuracy. Ultrasound CCT gauging was not
41
42 performed in the study eyes, thus, precluding direct comparison of both SST and NCSM with
43
44 the contact gold standard method; however, such a comparison has already been reported
45
46 extensively after corneal laser surgery.^{15,32-34,41}
47
48
49
50
51
52

53 In conclusion, given that CCT measurements obtained by any ophthalmic instrument
54
55 should be always checked for reliability analysis prior to its clinical use to avoid misleading
56
57 diagnosis or treatment based on flawed CCT readings, the present study provided scientific
58
59
60
61
62
63
64
65

1 estimate of the intrasession repeatability and the interobserver and intersession reproducibility
2 of CCT measurements in myopic ASA patients in their intermediate follow-up. This study
3 showed first that SST and NCSM provide dependable CCT measurements during intrasession
4 assessment, especially the latter non-contact pachymetry technique; second that CCT
5 measurement consistency of these techniques is similar from a clinical standpoint to that
6 reported in post-myopic LASIK reliability studies;¹⁷ and third that SST and NCSM CCT are
7 not interchangeable because differences between techniques highly depend on CCT
8 magnitude and that NCSM provides superior interobserver reproducibility than SST across
9 different CCT values. Additionally, we provided the threshold for a significant change in
10 CCT, which would be the repeatability and/or reproducibility $(2.77 \times S_w)^{18}$ value herein
11 determined. The precision of SST and NCSM after myopic ASA is adequate in patients
12 having no clinically significant corneal haze and might be a reliable alternative to contact
13 central pachymetry.
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

WHAT WAS KNOWN

1
2
3
4
5 • Corneal haze appearing the first months after surface ablation procedures is known to
6
7 hamper accurate scanning-slit topography (SST) non-contact pachymetry readings; however,
8
9 it is not known if clinicians can obtain repeatable and reproducible pachymetry measurements
10
11 provided by this widely-used method, and also by non-contact specular microscopy (NCSM),
12
13 in clear corneas during the intermediate ASA follow-up.
14
15
16
17
18

WHAT THIS PAPER ADDS

19
20
21
22
23
24 • This paper addresses for the first time the repeatability and reproducibility of SST and
25
26 NCSM central pachymetry in post-ASA patients having no clinically significant corneal haze
27
28 and finds that they are overall satisfactory; NCSM being slightly superior to SST, and that
29
30 both techniques are not interchangeable. The estimates provided herein should help clinicians
31
32 differentiate actual CCT modification from measurement variability.
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

REFERENCES

- 1
2 1. Randleman JB, Woodward M, Lynn MJ, Stulting RD. Risk assessment for ectasia
3 after corneal refractive surgery. *Ophthalmology* 2008; 115:37-50.
4
- 5
6 2. Randleman JB, Trattler WB, Stulting RD. Validation of the Ectasia Risk Score System
7 for preoperative laser in situ keratomileusis screening. *Am J Ophthalmol* 2008;
8 145:813-818.
9
- 10
11 3. Randleman JB, White AJ Jr, Lynn MJ, Hu MH, Stulting RD. Incidence, outcomes, and
12 risk factors for retreatment after wavefront-optimized ablations with PRK and LASIK.
13 *J Refract Surg* 2009; 25:273-276.
14
- 15
16 4. Munger R, Dohadwala AA, Hodge WG, Jackson WB, Mintsoulis G, Damji KF.
17 Changes in measured intraocular pressure after hyperopic photorefractive
18 keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27:1254-1262.
19
- 20
21 5. Geggel HS. Pachymetric ratio no-history method for intraocular lens power
22 adjustment after excimer laser refractive surgery. *Ophthalmology* 2009; 116:1057-
23 1066.
24
- 25
26 6. Javaloy J, Vidal MT, Villada JR, Artola A, Alió JL. Comparison of four corneal
27 pachymetry techniques in corneal refractive surgery. *J Refract Surg* 2004;20:29-34.
28
- 29
30 7. López-Miguel A, Nieto JC, Díez-Cuenca M, Piñero DP, Maldonado MJ. Agreement of
31 non-contact pachymetry after LASIK: comparison of combined scanning-slit/Placido
32 disc topography and specular microscopy. *Eye* 2010; 24:1064-1070.
33
- 34
35 8. Fam HB, Lim KL, Reinstein DZ. Orbscan global pachymetry: analysis of repeated
36 measures. *Optom Vis Sci* 2005; 82:1047-1053.
37
- 38
39 9. Boscia F, La Tegola MG, Alessio G, Sborgia C. Accuracy of Orbscan optical
40 pachymetry in corneas with haze. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28:253-258.
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
10. Altan-Yaycioglu R, Pelit A, Akova YA. Comparison of ultrasonic pachymetry with Orbscan in corneal haze. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007; 245:1759-1763.
11. Gamaly TO, El Danasoury A, El Maghraby A. A prospective, randomized, contralateral eye comparison of epithelial laser in situ keratomileusis and photorefractive keratectomy in eyes prone to haze. *J Refract Surg* 2007; 23:1015-20.
12. Acar BT, Buttanri IB, Sevim MS, Acar S. Corneal endothelial cell loss in post-penetrating keratoplasty patients after cataract surgery: phacoemulsification versus planned extracapsular cataract extraction. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37:1512-1516.
13. Ventura AC, Wälti R, Böhnke M. Corneal thickness and endothelial density before and after cataract surgery. *Br J Ophthalmol* 2001; 85:18-20.
14. Almubrad TM, Osuagwu UL, Alabbadi I, Ogbuehi KC. Comparison of the precision of the Topcon SP-3000P specular microscope and an ultrasound pachymeter. *Clin Ophthalmol* 2011; 5:871-876.
15. Kim SW, Byun YJ, Kim EK, Kim TI. Central corneal thickness measurements in unoperated eyes and eyes after PRK for myopia using Pentacam, Orbscan II, and ultrasonic pachymetry. *J Refract Surg* 2007; 23:888-894.
16. Prisant O, Calderon N, Chastang P, Gatinel D, Hoang-Xuan T. Reliability of pachymetric measurements using orbscan after excimer refractive surgery. *Ophthalmology* 2003; 110:511-515.
17. Maldonado MJ, López-Miguel A, Nieto JC, Cano-Parra J, Calvo B, Alió JL. Reliability of noncontact pachymetry after laser in situ keratomileusis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50:4135-4141.
18. Bland M. *An Introduction to Medical Statistics*, 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press; 2000:268-275.
19. Bland JM, Altman DG. Measurement error. *BMJ* 1996; 313:744.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
20. Bland JM, Altman DG. Measurement error and correlation coefficients. *BMJ* 1996; 313:41-42.
 21. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986; 1:307-310.
 22. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999; 8:135-160.
 23. Braaf B, Dubbelman M, van der Heijde RG, Sicam VA. Performance in specular reflection and slit-imaging corneal topography. *Optom Vis Sci* 2009; 86:467-475.
 24. Cairns G, McGhee CN. Orbscan computerized topography: attributes, applications, and limitations. *J Cataract Refract Surg* 2005; 31:205–220.
 25. Jonuscheit S, Doughty MJ. Discrepancy between central and midperipheral corneal thickness measurements obtained with slit-scanning pachymetry and noncontact specular microscopy. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35:2127-2135.
 26. Lattimore MR Jr, Kaupp S, Schallhorn S, Lewis R 4th. Orbscan pachymetry: implications of a repeated measures and diurnal variation analysis. *Ophthalmology* 1999; 106:977–981.
 27. Qazi MA, Sanderson JP, Mahmoud AM, Yoon EY, Roberts CJ, Pepose JS. Postoperative changes in intraocular pressure and corneal biomechanical metrics Laser in situ keratomileusis versus laser-assisted subepithelial keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35:1774-1788.
 28. Maldonado MJ. Corneal epithelial alterations resulting from use of chlorine-disinfected contact tonometer after myopic photorefractive keratectomy. *Ophthalmology* 1998; 105:1546-1549.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
29. Savini G, Carbonelli M, Barboni P, Hoffer KJ. Repeatability of automatic measurements performed by a dual Scheimpflug analyzer in unoperated and post-refractive surgery eyes. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37:302-309.
30. Schneider M, Borgulya G, Seres A, Nagy Z, Nemeth J. Central corneal thickness measurements with optical coherence tomography and ultrasound pachymetry in healthy subjects and in patients after photorefractive keratectomy. *Eur J Ophthalmol* 2009; 19:180-187.
31. Spadea L, Giammaria D, Di Genova L, Fiasca A. Comparison of optical low coherence reflectometry and ultrasound pachymetry in the measurement of central corneal thickness before and after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 2007; 23:661-666.
32. Ho T, Cheng AC, Rao SK, Lau S, Leung CK, Lam DS. Central corneal thickness measurements using Orbscan II, Visante, ultrasound, and Pentacam pachymetry after laser in situ keratomileusis for myopia. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33:1177-1182.
33. Hashemi H, Mehravaran S. Central corneal thickness measurement with Pentacam, Orbscan II, and ultrasound devices before and after laser refractive surgery for myopia. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33:1701-1717.
34. Mukhopadhyay DR, North RV, Hamilton-Maxwell KE. Effect of a proparacaine 0.50%-sodium fluorescein 0.25% mix and contact ultrasound pachymetry on central and midperipheral corneal thickness measured by noncontact optical pachymetry. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37:907-913.
35. Fakhry MA, Artola A, Belda JI, Ayala MJ, Alio JL. Comparison of corneal pachymetry using ultrasound and Orbscan II. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28:248-252.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
36. González-Pérez J, González-Méijome JM, Rodríguez Ares MT, Parafita MA. Central corneal thickness measured with three optical devices and ultrasound pachometry. *Eye Contact Lens* 2011; 37:66-70.
 37. Cheng AC, Tang E, Mohamed S, Lam DS. Correction factor in Orbscan II in the assessment of corneal pachymetry. *Cornea* 2006; 25:1158–1161.
 38. Chakrabarti HS, Craig JP, Brahma A, Malik TY, McGhee CN. Comparison of corneal thickness measurements using ultrasound and Orbscan slit-scanning topography in normal and post-LASIK eyes. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27:1823-1828.
 39. Prakash G, Agarwal A, Kumar DA, Jacob S, Agarwal A, Maity A. Surface ablation with iris recognition and dynamic rotational eye tracking-based tissue saving treatment with the Technolas 217z excimer laser. *J Refract Surg* 2011; 27:223-231.
 40. Nichols JJ, Kosunick GM, Bullimore MA. Reliability of corneal thickness and endothelial cell density measures. *J Refract Surg* 2003; 19:344-352.
 41. Zhao MH, Zou J, Wang WQ, Li J. Comparison of central corneal thickness as measured by non-contact specular microscopy and ultrasound pachymetry before and post LASIK. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007; 35:818-823.

FIGURE LEGENDS

1
2
3
4
5 **Figure 1. Bland & Altman graphs showing the interobserver reproducibility of**
6 **scanning-slit topography and non-contact specular microscopy.** The middle solid
7 line represents the mean difference in CCT values and the upper and lower dashed
8 lines represent the crude 95% LoA. (A): Scanning-slit topography method. (B): Non-
9 contact specular microscopy method.
10
11
12
13
14
15
16
17
18

19 **Figure 2. Bland & Altman graphs assessing central pachymetry agreement**
20 **between scanning-slit topography and non-contact specular microscopy.** The
21 middle solid line represents the mean difference in CCT values and the upper and
22 lower solid lines represent the crude 95% LoA. The middle dashed line represents the
23 regression-based mean difference in CCT values and the upper and lower dashed line
24 represents the regression-based 95% LoA.
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

36 **Figure 3. Intersession reproducibility 95% LoA.** The middle solid line represents
37 the mean difference in CCT values and the upper and lower dashed lines represent the
38 crude 95% LoA. (A): Scanning-slit topography method. (B): Non-contact specular
39 microscopy method.
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Figure 1
[Click here to download high resolution image](#)

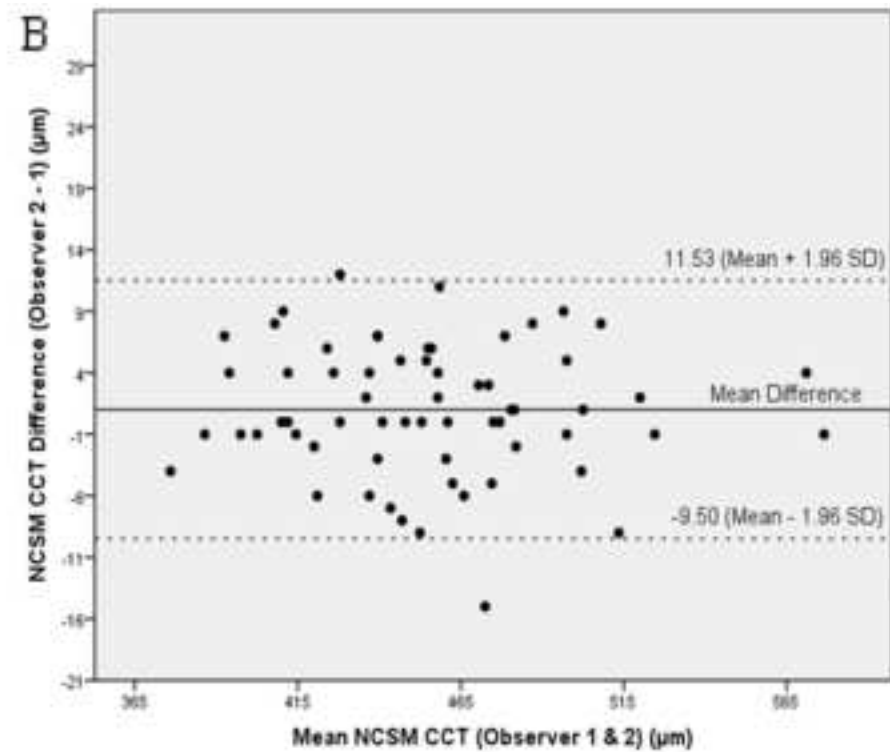
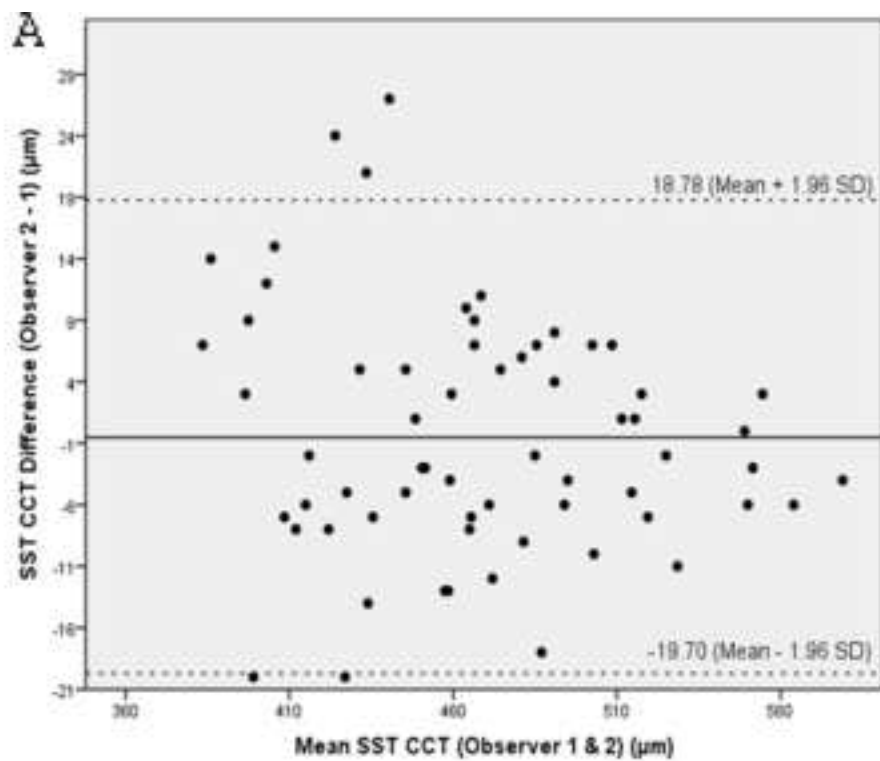


Figure 2
[Click here to download high resolution image](#)

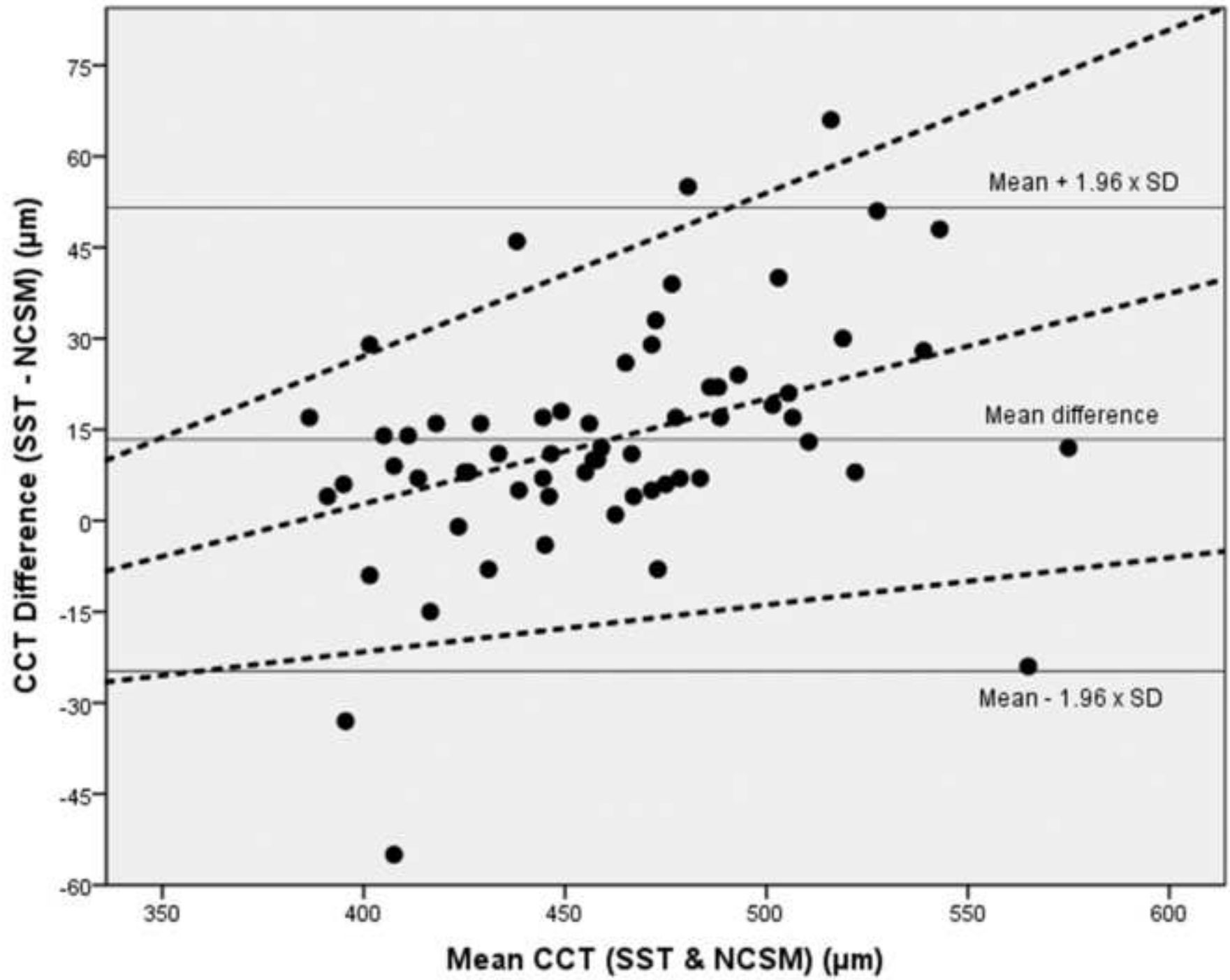


Figure 3
[Click here to download high resolution image](#)

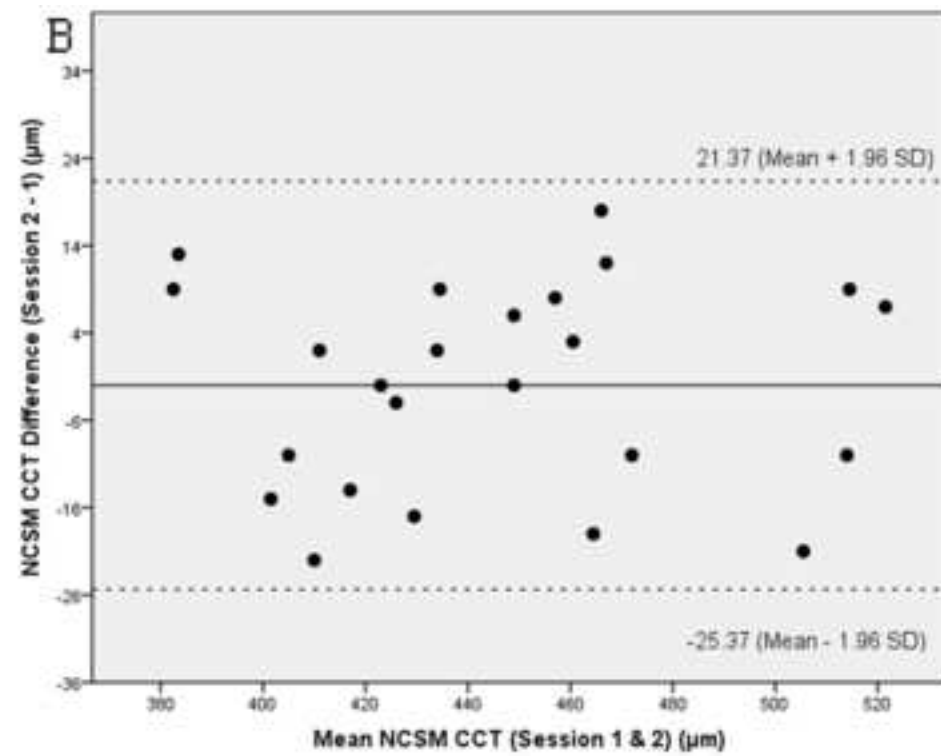
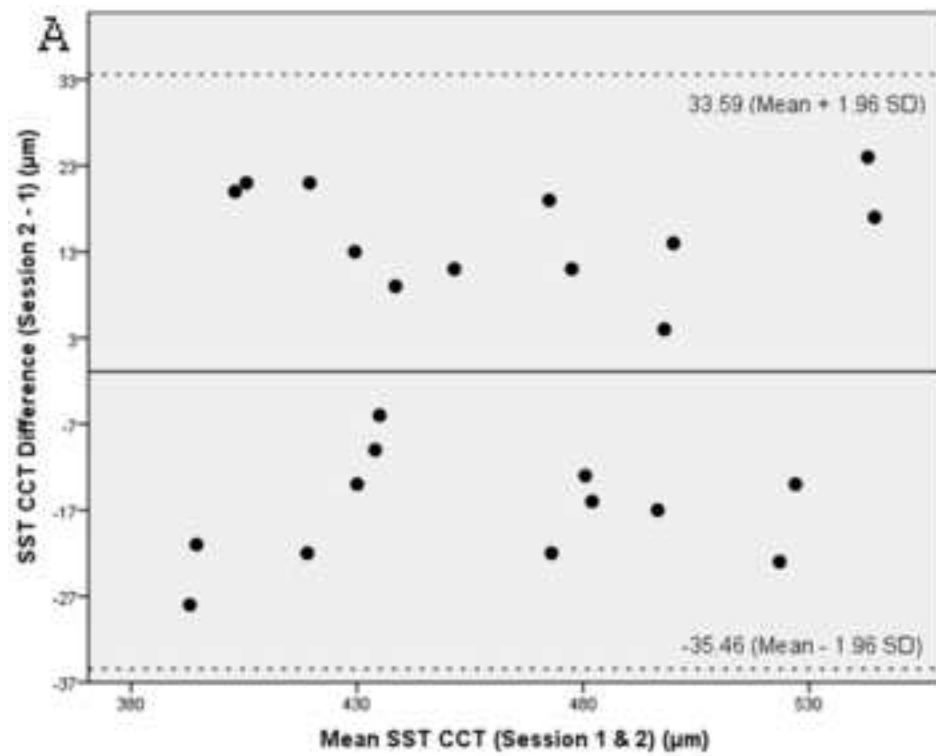


Table 1. Scanning-slit topography and non-contact specular microscopy intrasession repeatability values after myopic advanced surface ablation.

Technique	Overall Mean \pm SD (Range) (μm)	S_w (95% CI)	Precision (1.96 x S_w)	Repeatability (2.77 x S_w)	CV_w (%) (95% CI)	ICC (95% CI)
SST	468.04 \pm 47.82 (386 – 583)	7.35 (6.71/7.99)	14.40 (13.15/15.66)	20.36 (18.58/22.13)	1.57 (1.43/1.70)	0.97 (0.96/0.99)
NCSM	455.14 \pm 41.32 (378-572)	3.81 (3.48 / 4.14)	7.46 (6.82/8.11)	10.55 (9.63/11.46)	0.83 (0.76/0.90)	0.99 (0.98/0.99)

SST= Scanning-slit technology. NCSM: Non-contact specular microscopy. SD = standard deviation. S_w : within-subject standard deviation. CV_w : within-subject coefficient of variation. ICC: intraclass correlation coefficient. CI: Confidence interval.

Table 2. Scanning-slit topography and non-contact specular microscopy interobserver reproducibility values after myopic advanced surface ablation.

Technique	Overall Mean \pm SD (Range) (μm)	S_w (95% CI)	Precision (1.96 x S_w)	Reproducibility (2.77 x S_w)	CV_w (%) (95% CI)	ICC (95% CI)
SST*	467.81 \pm 47.71 (383 – 579)	6.90 (5.69/8.10)	13.52 (11.15/15.87)	19.11 (15.76/22.43)	1.47 (1.21/1.73)	0.97 (0.96/0.99)
NCSM	455.16 \pm 40.93 (376-576)	3.83 (3.16 / 4.50)	7.50 (6.19/8.82)	10.61 (8.75/12.46)	0.84 (0.69/0.98)	0.99 (0.98/0.99)

*Do not comply with the following ANOVA assumption: absence of significant relationship between the magnitude and the standard deviation. Therefore, SST values showed on the table cannot be taken into account because they are not reliable. SST= Scanning-slit topography. NCSM: Non-contact specular microscopy. SD = standard

deviation. S_w : within-subject standard deviation. CV_w : within-subject coefficient of variation. ICC: intraclass correlation coefficient. CI: Confidence interval.

Table 3. Scanning-slit and non-contact specular microscopy intersession reproducibility values after myopic advanced surface ablation.

Technique	Overall Mean \pm SD (Range) (μm)	S_w (95% CI)	Precision ($1.96 \times S_w$)	Reproducibility ($2.77 \times S_w$)	CV_w (%) (95% CI)	ICC (95% CI)
SST	460.29 \pm 47.63 (393 – 544)	12.22 (8.76/15.68)	23.95 (17.16/30.73)	33.84 (24.26/43.43)	2.65 (1.90/3.40)	0.94 (0.85/0.97)
NCSM	445.75 \pm 40.65 (382-521)	8.37 (6.00 /10.74)	16.40 (11.76/21.05)	23.18 (16.62/29.74)	1.87 (1.34/2.41)	0.95 (0.90/0.97)

SST= Scanning-slit technology. NCSM: Non-contact specular microscopy. SD = standard deviation. S_w : within-subject standard deviation. CV_w : within-subject coefficient of variation. ICC: intraclass correlation coefficient. CI: Confidence interval.

Table 4. Intersession reproducibility 95% LoA for scanning-slit topography and non-contact specular microscopy after myopic advanced surface ablation.

	SST	NCSM
Upper LoA (95% CI)	33.59 (20.69 / 46.49) μm	21.37 (12.64 / 30.01) μm
Lower LoA (95% CI)	-35.46 (-48.36 / -22.56) μm	-25.37 (-34.09 / -16.64) μm
LoA width	69.05 μm	46.74 μm

SST= Scanning-slit technology. NCSM: Non-contact specular microscopy. LoA: Limits of agreement. CI: Confidence interval.