

UNA NUOVA SCALA VISIVA STANDARDIZZATA PER VALUTARE LA CLEARANCE LACRIMALE DELLA FLUORESCINA

Angelo MACRÌ

Divisione Oculistica, Ospedale San Martino, Genova

ABSTRACT

Purpose:The aim of this study was to evaluate the correlation and the agreement between a newly developed clinically practical standardized visual scale to study tear fluorescein clearance and a validated fluorometric technique (fluorescein clearance test). Besides the ability of this new method to distinguish normal subjects from patients complaining of ocular irritation associated with meibomian gland disease (MGD) and/or aqueous tear deficiency (ATD) was tested.

Methods:Patients with MGD associated with rosacea (n = 30), patients with non-inflammatory atrophic MGD (n = 24), patients with ATD (n = 39) and normal subjects (n = 32) were evaluated. There was a similar age and gender distribution in each group.

Every patient completed a symptom questionnaire, and had the following tests performed: fluorescein clearance test (FCT), standardized visual scale test (SVST), corneal fluorescein staining, Schirmer 1 test, corneal and conjunctiva sensitivity and eyelid margin and meibomian gland examination.

The FCT was performed with a CytoFluor II fluorophotometer by measuring the fluorescein concentration in minimally stimulated tear samples collected from the inferior tear meniscus 15 minutes after instillation of 5 µl of 2% sodium fluorescein. The SVST score, ranging from 0 to 6, was obtained by comparing the colors of the standardized visual scale with the color of the lateral inferior tear meniscus immediately before tear collection for the FCT.

Severity of ocular irritation was assessed with a symptom questionnaire. Schirmer 1 test (without anesthesia), biomicroscopic meibomian gland evaluation and corneal fluorescein staining were performed. Corneal and conjunctival sensitivity

scores were assessed with the Cochet-Bonnet aesthesiometer.

The correlation and the agreement between FCT, FCT corrected for Schirmer test and corneal fluorescein staining score (corrected FCT), SVST and SVST corrected for Schirmer test (corrected SVST) in separating normal subjects from patients with ATD and/or MGD were studied. Furthermore, the correlations of FCT, corrected FCT, SVST and corrected SVST, corneal fluorescein staining score, corneal and conjunctiva sensitivity, meibomian gland and eyelid evaluation and questionnaire score were studied.

Results:The FCT, the corrected FCT, the SVST and the corrected SVST all showed strong correlation with irritation symptoms, corneal fluorescein staining, Schirmer 1 test score, cornea and conjunctiva sensitivity and meibomian gland and eyelid pathology.

The FCT, the corrected FCT, the SVST and the corrected SVST had a sensitivity in diagnosing MGD, respectively, of 67%, 72%, 69%, 76% and of 95%, 97%, 97%, 97% in diagnosing ATD. The specificity was, respectively, 97%, 96%, 97%, 94%.

Conclusion:The newly developed clinically practical standardized visual scale test was comparable to fluorometric assessment of tear clearance in its correlation with irritation symptoms, ocular surface and eyelid disease and ocular surface sensitivity. Furthermore, its ability to separate healthy subjects from patients with MGD and ATD was improved by applying a correction factor based on Schirmer test score. The new standardized visual scale test is an accurate and practical method for clinical assessment of fluorescein tear clearance.

Ottica Fisiopat 2002;VII: 105-114

INTRODUZIONE

Studi precedenti, che prendevano in considerazione pazienti affetti da irritazione oculare, hanno individuato una correlazione relativamente scarsa con il test di Schirmer (test di Schirmer o della secrezione lacrimale basale) e una correlazione solo moderata con la sofferenza della superficie oculare individuata con l'utilizzo di coloranti¹⁻³. Probabilmente, ciò è dovuto al fatto che i

pazienti sintomatici con disfunzione delle ghiandole di Meibomio presentano spesso una produzione della parte acquosa del film lacrimale normale o solo leggermente ridotta^{1,3}.

Questo suggerisce che fattori diversi dall'insufficienza della parte acquosa del film lacrimale intervengono nella patogenesi dell'occhio secco. Uno di questi fattori potrebbe essere la clearance delle lacrime dalla superficie oculare. In precedenza abbiamo

105

*Ringraziamenti:
Prof. Stephen
C. Pflugfelder per
tutti i preziosi
insegnamenti.*

AUTORE CORRISPONDENTE:

Angelo Macri
U.O. Oculistica
Ospedale
S. Martino - Genova
Via Strasserra, 6/18
16100 Genova

PAROLE CHIAVE:

clearance della fluoresceina lacrimale, scala visiva standardizzata, occhio secco da deficit della componente acquosa, malattia delle ghiandole di Meibomio.
KEY WORDS:
tear fluorescein clearance, standardized visual scale, aqueous tear deficiency (ATD), Meibomian gland disease (MGD).

dimostrato che la stima della clearance lacrimale della fluoresceina con lo spettrofotometro Cytofluor II ha dimostrato una migliore correlazione con i sintomi di irritazione oculare rispetto al test di Schirmer. Tuttavia, questo metodo fluorofotometrico per la stima della clearance lacrimale non è pratico per l'uso clinico di routine¹.

Lo scopo di questo studio è stato quello di paragonare la nostra tecnica fluorometrica già validata con una nuova scala visiva standardizzata, di recente sviluppo, pratica dal punto di vista clinico per la stima della clearance lacrimale della fluoresceina.

METODI

La presente ricerca è stata condotta da personale qualificato dal punto di vista medico, in conformità alle direttive fornite dall'Institutional Review Board della School of Medicine presso l'Università di Miami e ai principi della Dichiarazione di Helsinki.

I pazienti affetti dalla sindrome dell'occhio secco non presentavano alcuna storia di interventi chirurgici all'occhio, di uso di lenti a contatto, di occlusione dei puntini lacrimali o di impiego di colliri (che non fossero lacrime artificiali non conservate). I pazienti adulti affetti da irritazione oculare sono stati esaminati dai ricercatori presso l'Ocular Surface Center (Bascom Palmer Eye Institute - University of Miami School of Medicine). Ad ogni soggetto è stata inizialmente richiesta la compilazione di un questionario sui sintomi, formato da 11 domande mirate alla descrizione della gravità e della natura dei sintomi di irritazione accusati (Tab. 1). I pazienti sono stati sottoposti ad una serie di esami diagnostici eseguiti nel seguente ordine: sensibilità corneale e congiuntivale, test della clearance della

fluoresceina, test della scala visiva standardizzata, valutazione della colorazione della cornea con fluoresceina, test di Schirmer 1 ed esame biomicroscopico con lampada a fessura per la valutazione del margine palpebrale e delle ghiandole di Meibomio. A partire da questi risultati, i pazienti sono stati classificati in tre gruppi, sulla base dei seguenti criteri di inclusione:

Deficienza della parte acquosa del film lacrimale. Questi pazienti presentavano un test di Schirmer $1 \leq 5$ in almeno un occhio e un punteggio del questionario > 5 .
Disfunzione delle ghiandole di Meibomio. Questi pazienti presentavano un test di Schirmer $1 > 5$ in entrambi gli occhi e un punteggio per il questionario > 5 . Presentavano MGD (infiammatoria) associata a rosacea o atrofia non infiammatoria delle ghiandole di Meibomio.

La diagnosi di rosacea è stata basata sui criteri già precedentemente riportati e richiedeva la presenza, sul viso, di almeno due segni di rosacea (tra cui rinofima, teleangiectasia, eritema persistente, papule, pustole e ghiandole sebacee ipertrofiche nelle aree facciali di flushing), l'iperemia dei margini della palpebra e/o l'iperemia congiuntivale^{1,3}.

L'MGD atrofica è stata definita come un'atrofia del 30% almeno degli acini della ghiandola del Meibomio nella palpebra inferiore (determinata dalla transilluminazione della palpebra inferiore come descritto qui di seguito), senza alcun segno di rosacea e con iperemia lieve o inesistente dei margini palpebrali o della congiuntiva^{1,3}.

Normali. È stato preso in considerazione un gruppo di 32 soggetti normali aventi simile distribuzione di età e sesso.

I soggetti venivano considerati normali se

Tabella 1

**Questionario dei sintomi di irritazione oculare
(range del punteggio: 0 .. 48)**

Iniziali cognome e nome: Et :

Ha provato uno dei seguenti sintomi nel corso dell'ultima settimana:

	Mai	Talvolta	Di frequente	Spesso	Sempre
Fastidio alla luce (fotofobia)					
Sensazione di corpo estraneo					
Brucciore					
Fluttuazione della vista dopo l'ammiccamento					
Vista che migliora dopo l'instillazione di lacrime artificiali					
Lacrimazione					
Dolore o bruciore durante la notte o al risveglio					

Nel corso dell'ultima settimana, ha avuto problemi (limitatamente agli occhi) nello svolgere una delle seguenti azioni:

	Mai	Di rado	Talvolta	Di frequente	Spesso	Quasi sempre	Sempre
Leggere o guidare la macchina per un lungo periodo							
Guardare la TV o lavorare al computer per un lungo periodo							

Nel corso dell'ultima settimana, ha provato una sensazione di "discomfort" agli occhi nelle seguenti condizioni:

	Mai	Talvolta	Di frequente	Spesso	Sempre
Giornate ventose					
Luoghi con bassa umidit� come locali o automobili climatizzate					

non presentavano alcuna storia di irritazione oculare (punteggio dei sintomi ≤ 5) o di uso di colliri e se avevano un punteggio per il test di Schirmer > 10 mm.

Test della clearance della fluoresceina lacrimale e test della clearance della fluoresceina lacrimale corretto

Il test della clearance della fluoresceina   stato eseguito come riportato precedentemente¹.

In breve, 5 µl di fluoresceina (IOLAB, Claremont, CA) diluita al 2% sono stati instillati nel cul-de-sac congiuntivale inferiore. Dopo 15 minuti, sono stati prelevati, in modo non traumatico, utilizzando un bastoncino poroso in poliestere, delle lacrime dal menisco lacrimale laterale inferiore, sotto osservazione diretta con lampada a fessura, minimizzando l'irritazione della superficie oculare e del margine della palpebra. Subito dopo il prelievo, le provette sono state disposte dentro tubi in polipropilene sigillati e protetti dalla luce fino all'analisi fluorofotometrica. Il volume delle lacrime prelevate   stato determinato dalla differenza di peso tra il bastoncino contenente il campione ed il bastoncino "vuoto" prima del prelievo, utilizzando una bilancia GA110 Modello OHAUS (OHAUS, Berna, Svizzera).

I bastoncini sono poi stati disposti dentro l'estremit  di una punta di micropipetta collocata dentro un tubo Eppendorf da

0.5 ml e un volume di soluzione salina tamponata con fosfato (100 µl - peso dell'astina in microgrammi)   stato poi aggiunto. Le provette sono state centrifugate a 12.000 giri al minuto per 5 minuti, e il fluido   stato trasferito nei pozzetti di una piastra microtiter in policarbonato con 96 pozzetti (Corning 96, Corning, NY). La fluorescenza   stata misurata entro le 24 ore successive al prelievo del liquido lacrimale utilizzando un lettore multipiastre di fluorescenza (spettrofotometro Cytofluor II - PerSeptive Biosystems, MA) come descritto in precedenza¹.

FCT (corretto) = FCT + punteggio di Schirmer 4.

Test della scala visiva standardizzata

La scala visiva standardizzata ha un punteggio che va da 0 a 6 (Fig. 1 e Tab. 2). Un punteggio pari a 3 corrisponde ad un valore fluorofotometrico di 274 unit  di fluoresceina /µl, ovvero la soglia gi  precedentemente indicata per la distinzione tra normalit  e anormalit ¹. Subito prima del prelievo lacrimale per l'analisi fluorometrica,   stato confrontato visivamente il colore del menisco lacrimale a livello del terzo laterale della palpebra inferiore con uno dei colori della scala visiva standardizzata (Fig. 2, 3, 4).

Se si riscontrava che il colore del menisco lacrimale era a met  tra due dei sei colori della scala, allora il punteggio veniva



fig. 1
Scala visiva standardizzata.

fig. 2
Utilizzando la lampada a fessura, i colori della scala visiva standardizzata vanno confrontati con il colore del menisco lacrimale nel 1/3 temporale.

fig. 3
Esempio di paziente con malattia delle ghiandole di Meibomio ed alterata clearance della fluoresceina lacrimale a cui è stato assegnato un punteggio di 4. (M.L. = menisco lacrimale; S.V. = scala visiva).

fig. 4
Esempio di soggetto con normale clearance della fluoresceina lacrimale a cui è stato assegnato il punteggio di 0. (M.L. = menisco lacrimale; S.V. = scala visiva).

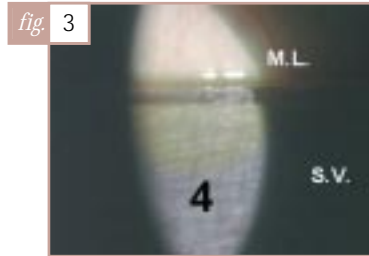
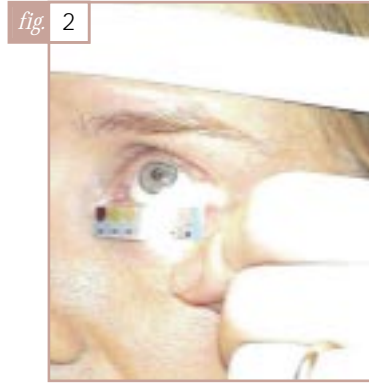
approssimato a partire da questi due colori standard di riferimento. Per esempio, se il colore era più intenso di due ma più tenue di tre, il punteggio era approssimato a 2.5.

Ai fini dell'analisi statistica, il numero 0 è stato assegnato ai soggetti il cui punteggio della scala visiva era inferiore a 3 (normalità), il numero 1 è stato assegnato quando il punteggio era superiore a 3 (malattia) e il punteggio 2 è stato attribuito quando non risultava chiaro se il colore era superiore o inferiore a 3 (equivoco).

Colorazione della cornea con fluoresceina

La superficie oculare è stata esaminata con un biomicroscopio e con obiettivo x10, sotto illuminazione con luce blu, due minuti dopo l'instillazione di fluoresceina nel film lacrimale.

La colorabilità della cornea alla fluoresceina è stata valutata come descritto in precedenza¹ per ognuno dei quattro quadranti della cornea: temporale, nasale, superiore e inferiore, utilizzando una scala a 4 punti standardizzata (0 = nessuna;



1 = tenue; 2 = moderata; 3 = intensa).

La gamma del punteggio della colorazione variava da 0 a 12.

Test di Schirmer

Senza aver precedentemente instillato gocce anestetiche, sono state disposte le strisce di carta per il test di Schirmer (Alcon Laboratories, Fort Worth, Texas) nel punto di incontro tra il terzo laterale ed il terzo centrale della palpebra inferiore per un periodo di 5 min. Sono stati misurati e registrati i millimetri di striscia inumiditi.

Sensibilità della cornea e della congiuntiva

La sensibilità della cornea e della congiuntiva sono state misurate con l'estesimetro di Cochet-Bonnet (Luneau Ophthalmologie, Chartres Cedex, France)^{4,5}. Lo stimolo proveniente dal Cochet-Bonnet consiste di un filamento di nylon la cui lunghezza può variare da 0 a 6 cm.

La procedura di misurazione della sensibilità della superficie oculare è stata la seguente: sotto controllo visivo, il filamento in nylon dello strumento Cochet-Bonnet è stato delicatamente e

Tabella 2

Scala visiva standardizzata. Il valore soglia per dividere i pazienti sintomatici dagli asintomatici è 274 unità/microlitro e corrisponde al punteggio di 3 nella scala visiva. 1 I valori fluorofotometrici corrispondenti al punteggio di 1 e 2 sono stati scelti arbitrariamente. Il valore fluorofotometrico corrispondente al punteggio di 5 è stato scelto tenendo in considerazione il fatto che nel precedente lavoro (1), la maggior parte dei pazienti con un'alterata clearance lacrimale erano compresi tra 274-3248 unità/microlitro (che corrisponde ad un punteggio visivo tra 3 e 5). Abbiamo inserito il punteggio di 4 per separare i pazienti con una lieve alterazione della clearance della fluoresceina lacrimale da quelli con una grave alterazione.

PUNTEGGIO	DILUIZIONE (2% Fluoresceina: PBS)	valore Fluorofotometrico (unità/μl)
0	PBS	1
1	1:8000	50.5
2	1:4000	101.5
3	1:1482	274
4	1:500	812
5	1:125	3248
6	Fluoresceina al 2%	Sovra-satura

PBS = tampone fosfato salino

perpendicolarmente avvicinato al centro della cornea. Il contatto era individuato dalla minima incurvatura del nylon; la sensibilità corrispondeva alla lunghezza del filamento che dava un 50% di risposta positiva a un minimo di quattro applicazioni dello stimolo. L'affidabilità del soggetto è stata verificata avvicinando il filamento alla cornea senza eseguire nessun contatto. La stessa procedura è stata adottata per testare la sensibilità della congiuntiva con lo stimolo applicato al centro della congiuntiva bulbo-temporale esposta.

Esame del margine della palpebra e della ghiandola del Meibomio

Gli orifizi della ghiandola del Meibomio sono stati esaminati con la lampada a fessura per individuare l'eventuale presenza di metaplasia (crescita anormale e cheratinizzazione dell'epitelio del dotto sotto forma di bastoncino bianco che sporge fuori dagli orifizi).

Il tarso inferiore è stato transilluminato con un transilluminatore alogeno Finhoff (Welch Allyn, Schenectady, NY) e la percentuale di atrofia degli acini della ghiandola del Meibomio è stata quantificata come descritto in precedenza^{1,3}.

Sono state esaminate la presenza di irregolarità del margine della palpebra e la migrazione anteriore della linea di Marx con l'ausilio della biomicroscopia tramite lampada a fessura. La migrazione anteriore della linea di Marx è stata

determinata utilizzando i criteri descritti da Norn⁶.

Analisi statistiche

Ai fini delle valutazioni statistiche, è stato considerato solo l'occhio destro di ogni paziente. È stata quindi analizzata la distribuzione dei dati. Se i dati erano distribuiti normalmente, si adottavano i test statistici parametrici; in caso contrario si faceva ricorso a test non parametrici. Le differenze di età fra i tre gruppi (controlli normali, pazienti con disfunzione della ghiandola del Meibomio e pazienti con deficienza di liquido lacrimale) sono state studiate con l'analisi della varianza ad un fattore e con il test di Bartlett per le varianze uguali. La differenza di sesso tra i tre gruppi è stata studiata utilizzando il test di Kruskal Wallis.

Per rendere possibile l'analisi statistica, ogni punteggio dell'SVST pari a 2 è stato cambiato in 1 o 0 in base ad una serie di numeri casuali generati da Excel 5.0 (Microsoft). Inoltre, per studiare le correlazioni tra l'SVST e gli altri parametri, è stato utilizzato il punteggio da 0 a 6 (con incrementi di 0.5 unità).

Fattore di correzione della scala visiva standardizzata

Per migliorare la sensibilità dell'SVST, è stata utilizzata la seguente formula:

$$SVST \text{ (corretto)} = SVST + \frac{\text{Schirmer score}}{y}$$

Il coefficiente y è stato calcolato

Tabella 3

Confronto statistico tra i 3 gruppi (Controlli, Pazienti con malattia delle ghiandole di Meibomio (MGD) e Pazienti con deficit della componente acquosa delle lacrime (ATD)).

Gruppi	Punteggio della colorazione corneale con fluoresceina	Schirmer 1 test	% atrofia delle ghiandole di Meibomio	Metaplasia degli orifizi delle ghiandole di Meibomio	FCT	FCT corretto	SVST	SVST corretto	Sensib. corneale	Sensib. Cong.
Controlli (n = 32)	0.0 ± 0.0	22.6 ± 7.7	4.8 ± 8.2	0.1 ± 0.3	90.7 ± 63.3	182.6 ± 69.4	1.1 ± 0.8	1.7 ± 0.8	5.4 ± 0.8	1.4 ± 0.5
MGD (n = 54)	0.6 ± 0.9	16.6 ± 8.1	57.3 ± 31.1	0.9 ± 0.3	1740 ± 2294	1834 ± 2292	3.2 ± 1.2	3.7 ± 1.1	4.3 ± 1.2	0.8 ± 0.7
Differenze tra controlli e MGD	-	t = 3.515 P = 0.0007	U = 122.5 P < 0.0001	U = 198.0 P < 0.0001	U = 298.5 P < 0.0001	U = 302.5 P < 0.0001	U = 265.5 P < 0.0001	U = 198.0 P < 0.0001	U = 137.0 P < 0.0001	U = 126.0 P < 0.0001
ATD (n = 39)	2.5 ± 3.0	2.7 ± 1.7	24.5 ± 34.7	0.6 ± 0.3	3707 ± 4824	3822 ± 4822	4.0 ± 0.9	4.1 ± 0.9	2.9 ± 1.6	0.6 ± 0.3
Differenze tra MGD e ATD	U = 796.5 P = 0.0450	t = 11.01 P < 0.0001	U = 475.0 P = 0.0012	U = 751.0 P = 0.0186	U = 729.0 P = 0.0118	U = 731.0 P = 0.0123	U = 844.5 P = 0.1067 n.s.	U = 904.5 P = 0.2514 n.s.	U = 495.1 P = 0.0018	U = 939.2 P = 0.3295 n.s.
Differenze tra i 3 gruppi	K = 31.29 P < 0.0001	F = 92.39 P < 0.0001	K = 50.77 P < 0.0001	K = 54.03 P < 0.0001	K = 48.30 P < 0.0001	K = 48.00 P < 0.0001	K = 65.81 P < 0.0001	K = 76.82 P < 0.0001	K = 22.37 P < 0.0001	K = 24.40 P < 0.0001

media ± deviazione standard.
 U = Mann Whitney U test. t = two tailed unpaired t test. K = Kruskal Wallis statistic. F = One-way analysis of variance
 FCT = test della clearance della fluoresceina lacrimale
 FCT corretto = FCT corretto sulla base dello Schirmer test
 SVST = test della scala visiva standardizzata
 SVST Corretto = SVST corretto sulla base dello Schirmer test
 n.s. = non significativo

cercando l'area migliore sottesa dalle curve ROC (Receiver Operating Characteristic) come descritto da Buvat e associati⁷.

Per i pazienti affetti da MGD e da ATD, le correlazioni tra i punteggi relativi alla colorazione della cornea con fluoresceina e l'FCT corretto sono state eseguite utilizzando l'FCT corretto che comprendeva solo l'FCT e i punteggi dei test di Schirmer (FCT corretto = FCT + punteggio di Schirmer · y) così da evitare l'errore sistematico di studiare correlazioni tra variabili dipendenti.

I coefficienti di correlazione sono stati calcolati tra l'FCT, l'FCT corretto, l'SVST, l'SVST corretto e il punteggio del questionario, il test di Schirmer 1, il punteggio relativo alla colorabilità corneale alla fluoresceina, la migrazione anteriore della linea di Marx, la percentuale di atrofia degli acini della ghiandola del Meibomio, la presenza di metaplasia degli orifizi (0= assente, 1= presente) e i punteggi relativi alla sensibilità congiuntivale e corneale. Se la distribuzione dei dati era normale, veniva utilizzato il coefficiente di correlazione di Pearson; in caso contrario veniva calcolato il coefficiente di correlazione dei ranghi di Spearman.

Sono state calcolate la sensibilità, la specificità e l'accuratezza diagnostica dell'FCT, dell'FCT corretto, dell'SVST e dell'SVST corretto nella diagnosi di ATD e di MGD.

La statistica K è stata utilizzata per valutare la concordanza tra SVST, SVST corretto, FCT, FCT corretto. Tutti i calcoli statistici sono stati eseguiti con il software GraphPad Prism 2.0 e Excel 5.0 (Microsoft).

RISULTATI

Non sono state riscontrate differenze significative in termini di età o sesso tra i pazienti di controllo normali (n = 32 età media = 59,79 deviazione standard = 14,60), i pazienti con MGD (n = 54 età media = 60,15 deviazione standard = 13,95) e i pazienti con ATD (n = 39 età media = 60,38 deviazione standard = 14,23); per quanto concerne il fattore età, è stata utilizzata l'analisi della varianza ad un fattore (P = 0,371), test di Bartlett (corretto) (P = 0,483); per quanto riguarda il fattore sesso, è stato utilizzato il test di Kruskal Wallis (P = 0,341). Trenta dei pazienti affetti da MGD presentavano rosacea e ventiquattro presentavano

Tabella 4

Correlazione tra il punteggio del Questionario dei sintomi e il test della clearance della fluoresceina lacrimale, il test della scala visiva standardizzata (SVST), SVST corretto sulla base dello Schirmer test, Schirmer Test ed i punteggi della colorazione corneale con la fluoresceina.

Tutti i pazienti	FCT	FCT corretto	SVST	SVST corretto	Punteggio della colorazione corneale con la fluoresceina	Schirmer test
Punteggio del questionario	$r_s = 0.462$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.457$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.670$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.618$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.504$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.437$ $P < 0.0001$

Tabella 5

Correlazioni tra tutti i parametri valutati nello studio.

Tutti i pazienti	FCT	FCT Corretto	SVST	SVST Corretto	Schirmer Test
SVST	$r_s = 0.862$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.722$ $P < 0.0001$	-	$r_s = 0.966$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.460$ $P < 0.0001$
SVST Corretto	$r_s = 0.845$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.726$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.966$ $P < 0.0001$	-	$r_s = -0.326$ $P = 0.0002$
Schirmer Test	$r_s = -0.325$ $P = 0.0002$	$r_s = -0.270$ $P = 0.0023$	$r_s = -0.460$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.326$ $P = 0.0002$	-
Punteggio della colorazione corneale alla fluoresceina	$r_s = 0.447$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.416$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.603$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.543$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.375$ $P < 0.0001$
Migrazione anteriore della linea di Marx	$r_s = 0.291$ $P = 0.001$	$r_s = 0.337$ $P = 0.0005$	$r_s = 0.377$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.370$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.182$ $P = 0.04$
Percentuale di MGAD	$r_s = 0.343$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.440$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.579$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.556$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.311$ $P < 0.0001$
Punteggio della metaplasia degli orifizi	$r_s = 0.417$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.486$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.574$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.588$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.305$ $P < 0.0001$
Sensibilità corneale	$r_s = -0.495$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.497$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.589$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.504$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.506$ $P < 0.0001$
Sensibilità congiuntivale	$r_s = -0.218$ $P = 0.0377$	$r_s = -0.211$ $P = 0.0356$	$r_s = -0.347$ $P < 0.0001$	$r_s = -0.254$ $P < 0.0001$	$r_s = 0.305$ $P < 0.0001$

Coefficienti di correlazione (r_s = coeff. di Pearson; r_s = coeff. di Spearman)
 FCT = test della clearance della fluoresceina lacrimale
 FCT corretto = FCT corretto sulla base dello Schirmer I test
 SVST = test della scala visiva standardizzata
 SVST corretta = SVST corretta sulla base dello Schirmer I test

atrofia non infiammatoria. I due gruppi di pazienti con MGD sono stati combinati insieme per l'analisi statistica. I valori della deviazione media e standard dei test diagnostici, così come le differenze significative dal punto di vista statistico tra i 3 gruppi in esame sono presentati in tabella 3. Si è calcolato che il miglior valore per il coefficiente y nella formula di correlazione per l'SVST è 35. Pertanto, la migliore formula di correzione è:

$$SVST \text{ corretto} = \text{punteggio SVST} + \frac{\text{Schirmer score}}{35}$$

La sensibilità dell'FCT era del 67% nella

diagnosi dell'MGD e del 95% nella diagnosi dell'ATD. La specificità era del 97%. L'accuratezza diagnostica dell'FCT era del 78% per l'MGD e del 94% per l'ATD. Applicando il fattore di correzione, la sensibilità dell'FCT è stata alzata al 72% per la diagnosi di MGD e al 97% per la diagnosi di ATD. L'accuratezza diagnostica dell'FCT corretto è stata alzata all'80% per l'MGD e al 96% per l'ATD. Si è scoperto che le differenze in termini di FCT corretto tra i tre gruppi erano statisticamente significative (test di Kruskal Wallis = 45,07 $P < 0,0001$), anche le differenze dell'FCT corretto tra

pazienti con MGD e con ATD erano statisticamente significative (Mann Whitney U = 436,0 P = 0,0102) (Tab. 3).

La sensibilità dell'SVST era del 69% nella diagnosi di MGD e del 97% nella diagnosi di ATD. La specificità era del 97%. L'accuratezza diagnostica dell'SVST era del 79% per l'MGD e del 97% per l'ATD. Applicando il fattore di correzione, la sensibilità di SVST è stata alzata al 76% per la diagnosi di MGD mentre è rimasta uguale (97%) per la diagnosi di ATD; tuttavia, la specificità è stata abbassata al 94%. L'accuratezza diagnostica dell'SVST corretto è stata alzata all'83% per l'MGD e abbassata al 96% per l'ATD. Si è scoperto che la differenza in termini di SVST e SVST corretto tra i tre gruppi era statisticamente significativa (rispettivamente test di Kruskal Wallis = 54,18 e 44,64 P < 0,0001), e anche le differenze di SVST tra pazienti con MGD e con ATD erano significative statisticamente (Mann Whitney U = 368,0 P = 0,0009) (Tab. 3).

Le correlazioni tra punteggio del questionario dei sintomi, i punteggi dei test di Schirmer, il punteggio relativo alla colorazione della cornea con fluoresceina, l'FCT e l'FCT corretto sono indicate in tabella 4.

I risultati delle analisi di correlazione tra i punteggi relativi al test di Schirmer, all'FCT, all'FCT corretto, alla patologia palpebrale e delle ghiandole di Meibomio (migrazione anteriore della linea di Marx, metaplasia degli orifizi della ghiandola del Meibomio, percentuale di atrofia degli acini della ghiandola di Meibomio) e la sensibilità corneale e congiuntivale sono indicati in tabella 5.

La statistica k, utilizzata per studiare la concordanza tra FCT, SVST, FCT corretto e SVST corretto, è risultata essere pari a

0,925 (intervallo di confidenza del 95% = 0,895 - 0,955).

DISCUSSIONE

Studi condotti in precedenza dal nostro gruppo avevano rilevato che la clearance ritardata della fluoresceina instillata sulla superficie oculare indicava una maggiore correlazione con i sintomi di irritazione oculare, sensibilità congiuntivale e corneale e con la colorabilità corneale alla fluoresceina rispetto al test di Schirmer 1^{1,10}.

In questi studi la stima della concentrazione di fluoresceina nelle lacrime è stata eseguita con un sofisticato e costoso spettrofotometro in commercio^{1,10}.

Mentre questa tecnica era adatta agli studi di ricerca volti a stabilire il valore di stima della clearance lacrimale della fluoresceina come fattore di rischio per l'irritazione oculare e i disturbi della superficie oculare, non è pratica per l'uso clinico di routine. Il nostro e altri gruppi hanno valutato le tecniche per la stima clinica di routine della clearance lacrimale della fluoresceina, incluso l'uso delle strisce del test di Schirmer per prelevare le lacrime marcate con fluoresceina^{3,8,9}. Abbiamo individuato vari problemi legati alla tecnica delle strisce per il test di Schirmer, questa può infatti indurre imprecisioni nella misurazione della concentrazione di fluoresceina nelle lacrime. In primo luogo, è difficile confrontare il colore sulla striscia con gli standard fotografici di fluoresceina liquida aventi diversa concentrazione. In secondo luogo, l'intensità del colore della fluoresceina sulla striscia è influenzata dalla lunghezza della parte che viene inumidita. Per esempio, una concentrazione di 250 unità appare diversa su di una striscia inumidita per 4 mm rispetto ad una striscia inumidita per

30 mm. Abbiamo scoperto che è più facile e più preciso confrontare direttamente il colore del menisco lacrimale laterale marcato con fluoresceina con uno standard fotografico di fluoresceina liquida. Il presente studio ha convalidato questa scala visiva standard confrontando i risultati con quelli ottenuti tramite la tecnica spettrofotometrica, prima descritta, su soggetti normali e su pazienti affetti da MGD e/o ATD. Si è rilevato che la scala visiva ha sensibilità e specificità equivalenti alla più sofisticata tecnica spettrofotometrica nell'identificazione della clearance lacrimale ritardata. Inoltre, la scala visiva oltre ad aver dimostrato la correlazione con la sofferenza della superficie oculare come la tecnica spettrofotometrica, è stata ulteriormente migliorata applicando un fattore di correzione basato sui punteggi del test di Schirmer. La scala visiva standardizzata, di recente sviluppo, per la stima della clearance lacrimale della fluoresceina è un metodo semplice ed economico per la pratica clinica di routine. Questa tecnica dovrebbe facilitare un uso diffuso della clearance lacrimale della fluoresceina a scopo diagnostico. Inoltre, potrebbe consentire l'individuazione di pazienti a cui potrebbe giovare la terapia farmacologica dell'infiammazione della superficie oculare, che si accompagna ad una clearance lacrimale ritardata.

RIASSUNTO

Scopo dello studio: Valutare la correlazione e la compatibilità tra una convalidata tecnica fluorofotometrica (test della clearance della fluoresceina) e una scala visiva standardizzata, di recente sviluppo, pratica dal punto di vista clinico per la stima della clearance lacrimale della fluoresceina. Inoltre, è stata testata

la capacità di questo nuovo metodo di distinguere soggetti normali da pazienti affetti da irritazione oculare associata a disfunzione delle ghiandole di Meibomio (Meibomian Gland Disease o MGD) e/o da insufficienza della parte acquosa delle lacrime (Aqueous Tear Deficiency o ATD). Progetto: Studio su casi controllati. Partecipanti: Sono stati valutati soggetti normali (n = 32), pazienti con MGD associata a rosacea (n = 30), pazienti con MGD atrofica non infiammatoria (n = 24) e pazienti con ATD (n = 39). La distribuzione di età e sesso era simile per ogni gruppo.

Metodi: Ogni paziente ha completato un questionario sui sintomi ed è stato sottoposto ai seguenti esami: test della clearance della fluoresceina (FCT), test della scala visiva standardizzata (SVST), colorabilità corneale della fluoresceina, test di Schirmer 1, sensibilità corneale e congiuntivale, esame del margine palpebrale e delle ghiandole di Meibomio.

Principali sistemi di valutazione dei risultati: L'FCT è stato calcolato con il fluorofotometro CytoFluor II misurando la concentrazione di fluoresceina in campioni di lacrime prelevati dal menisco lacrimale inferiore, 15 minuti dopo l'instillazione di 5 µl di fluoresceina sodica al 2% nel cul de sac congiuntivale inf.

Il punteggio dell'SVST, variabile da un minimo di 0 ad un massimo di 6, è stato ottenuto confrontando i colori della scala visiva standardizzata con il colore del menisco lacrimale inferiore laterale subito prima del prelievo di lacrime per l'FCT. La gravità dell'irritazione oculare è stata valutata con un questionario dei sintomi. Sono stati eseguiti il test Schirmer 1 (senza anestesia), la valutazione biomicroscopica delle ghiandole di Meibomio e la colorazione della cornea con fluoresceina. I punteggi relativi alla

sensibilità corneale e congiuntivale sono stati attribuiti utilizzando l'estesimetro di Cochet-Bonnet.

Sono state studiate la correlazione e la compatibilità tra FCT, FCT corretto per il test di Schirmer (FCT corretto), SVST e SVST corretto per il test di Schirmer (SVST corretto) nella distinzione fra soggetti normali e pazienti con ATD e/o MGD.

Inoltre, sono state studiate le correlazioni di FCT, FCT corretto, SVST e SVST corretto, punteggio relativo alla colorazione della cornea con fluoresceina, sensibilità corneale e congiuntivale, valutazione delle ghiandole di Meibomio e punteggio del questionario.

Risultati: L'FCT, l'FCT corretto, l'SVST e l'SVST corretto hanno dimostrato tutti una forte correlazione con i sintomi di irritazione oculare, con la colorabilità corneale alla fluoresceina, con il test di Schirmer 1, con la sensibilità corneale e congiuntivale e la malattia delle ghiandole di Meibomio.

L'FCT, l'FCT corretto, l'SVST e l'SVST corretto avevano, rispettivamente, una accuratezza del 67%, 72%, 69%, 76% nella diagnosi di MGD e del 95%, 97%, 97%, 97% nella diagnosi di ATD. La specificità era rispettivamente di 97%, 96%, 97%, 94%.

Conclusioni: Il nuovo test della scala visiva standardizzata è equivalente alla valutazione fluorometrica della clearance della fluoresceina lacrimale. Le due metodiche sono anche paragonabili nella correlazione con i sintomi di irritazione oculare, con i disturbi della superficie oculare e palpebrale e con la sensibilità della superficie oculare. La capacità della scala visiva di distinguere i soggetti sani dai pazienti con MGD e ATD è stata migliorata grazie all'applicazione di un fattore correttivo, basato sul punteggio del test di Schirmer. Il nuovo test della

scala visiva standardizzata è un metodo accurato e pratico per la stima clinica della clearance della fluoresceina lacrimale.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Afonso AA, Monroy D, Stern ME, et al. Correlation of tear fluorescein clearance and Schirmer test scores with ocular irritation symptoms. *Ophthalmology* **4**: 803-810, 1999
- 2) Schein OD, Tielsh JM, Munoz B, et al. Relation between signs and symptoms of dry eye in elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology* **104**: 1395-401, 1997
- 3) Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, et al. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* **17**: 38-56, 1998
- 4) Lawrenson JG, Corbett MC, O'Brart DPS, Marshal J. Effect of beam variables on corneal sensitivity after excimer laser photorefractive keratectomy. *Br J Ophthalmol* **81**: 686-90, 1997
- 5) Xu KP, Yagi Y, Tsubota K. Decrease in corneal sensitivity and change in tear function in dry eye. *Cornea* **15**: 235-9, 1996
- 6) Norn M. Meibomian orifices and Marx's line. Studied by triple vital staining. *Acta Ophthalmol (Copenh)* **63**: 698-700, 1985
- 7) Buvat I, De Sousa MC, Di Paola M, et al. Impact of scatter correction in planar scintimammography: a phantom study. *J Nucl Med* **39**: 1590-6, 1998
- 8) Prabhasawat P, Tseng SC. Frequent association of delayed tear clearance in ocular irritation. *Br J Ophthalmol* **82**: 666-75, 1998
- 9) Xu KP, Tsubota K. Correlation of tear clearance rate and fluorophotometric assessment of tear turnover. *Br J Ophthalmol* **79**: 1042-9, 1995
- 10) Macri A, Pflugfelder SC. Correlation of the Schirmer 1 and fluorescein clearance tests with the severity of corneal epithelial and eyelid disease. *Arch Ophthalmol* **118**(12): 1632-8, 2000 Dec
- 11) Macri A, Rolando M, Pflugfelder SC. A Standardized Visual Scale for Evaluation of Tear Fluorescein Clearance. *Ophthalmology* **107**(7): 1338-43, 2000 Jul