

Mikroskopia konfokalna jako uzupełnienie badania dermoskopowego w codziennej praktyce dermatologicznej

Confocal microscopy as an adjunct to dermoscopy in everyday dermatological practice

Monika Słowińska¹, Grażyna Kamińska-Winciorek², Iwona Czarnecka¹, Elwira Paluchowska¹, Witold Owczarek¹

¹Klinika Dermatologiczna Wojskowego Instytutu Medycznego CSK MON w Warszawie

²Zespół ds. Raka i Czerniaka Skóry, Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii Narodowego Instytutu Onkologii, Państwowy Instytut Badawczy w Gliwicach

STRESZCZENIE

Refleksyjna mikroskopia konfokalna (*reflectance confocal microscopy*, RCM) jest nieinwazyjną metodą diagnostyczną *in vivo* stosowaną komplementarnie do badania dermoskopowego i klinicznego. Znalazła zastosowanie w diagnostyce różnicowej zmian nowotworowych, wybranych chorób zapalnych oraz infekcyjnych i nienowotworowych zaburzeń barwnikowych skóry. Istotnym wsparciem dla klinicysty są liczne algorytmy RCM, charakteryzujące się wysokimi wskaźnikami czułości i swoistości w rozpoznawaniu czerniaka. Liczne badania wykazały, że RCM zwiększa dokładność diagnostyczną, oszczędza wielu niepotrzebnych wycięć chirurgicznych i może być stosowana w celu monitorowania leczenia lub progresji choroby. W oparciu o przegląd piśmiennictwa artykuł podsumowuje aktualne możliwości zastosowania RCM w praktyce klinicznej z uwzględnieniem ograniczeń metody.

Forum Derm. 2022; 8, 1: 11–16

Słowa kluczowe: refleksyjna mikroskopia konfokalna, czerniak, rak skóry, choroby zapalne skóry, ograniczenia metody diagnostycznej

ABSTRACT

Reflectance confocal microscopy (RCM) is a non-invasive *in vivo* diagnostic method performed complementary to dermoscopic and clinical examination. It has found application in differential diagnosis of neoplastic lesions, selected inflammatory, infectious diseases and non-neoplastic pigmentary disorders of the skin. An important support for the clinician are the numerous RCM algorithms, characterized by high sensitivity and specificity rates in the diagnosis of melanoma. Numerous studies have shown that RCM improves diagnostic accuracy, saves many unnecessary surgical excisions, and can be used to monitor treatment or disease progression. Based on a literature review, the article summarizes the current applicability of RCM in clinical practice, taking into account the limitations of the method.

Forum Derm. 2022; 8, 1: 11–16

Key words: reflectance confocal microscopy, melanoma, skin cancer, inflammatory skin diseases, limitations of diagnostic method

WPROWADZENIE

Refleksyjna mikroskopia konfokalna (*reflectance confocal microscopy*, RCM) została wynaleziona i opatentowana przez Marvina Minskiego w 1955 roku [1]. Pierwsze urządzenia trafiły w ręce dermatologów około 20 lat temu. Od tego czasu liczba publikacji wskazujących jej praktyczne zastosowania gwałtownie rośnie — obecnie w bazie PubMed znaleźć można ponad 9900 doniesień naukowych.

OMÓWIENIE

Refleksyjna mikroskopia konfokalna *in vivo* — zasada działania

Refleksyjna mikroskopia konfokalna *in vivo* jest nieinwazyjną techniką obrazowania, która pozwala na uzyskanie w czasie rzeczywistym obrazów mikroskopowych skóry z rozdzielczością na poziomie komórkowym, zbliżoną do konwencjonalnej analizy histopatologicznej [1–3].

Adres do korespondencji:

dr n. med. Monika Słowińska, Klinika Dermatologiczna Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, e-mail: mslowinska@wim.mil.pl

Refleksyjna mikroskopia konfokalna umożliwia wykonywanie „wirtualnych” biopsji skóry, umożliwiając wgląd w przekrojach horyzontalnych w struktury morfologiczne naskórka i górnej warstwy skóry właściwej [1–3]. Źródłem światła stosowanym w RCM jest laser diodowy emitujący monochromatyczne spójne (koherentne) światło o długości fali 830 nm (w bliskiej podczerwieni) i małej mocy (< 35 mW). Początkowa droga światła od lasera do tkanki przebiega przez układ soczewek optycznych i luster. Światło skanuje ognisko w tkance i odbija się od jej poszczególnych struktur. Następnie światło odbite („wstecznie rozproszone”) od tkanki przechodzi przez wąski otwór wlotowy do detektora, który umożliwia przedostawanie się światła padającego prostopadłe z obrazowanego obszaru ogniskowego, a więc „najostrzejszych” obrazów, natomiast światło rozproszone spoza ogniska jest blokowane. Obrazy RCM są wyświetlane w skali szarości i bazują na względnych współczynnikach refrakcji (załamania światła) struktur morfologicznych tkanki. Struktury o najwyższym wskaźniku załamania światła są widoczne jako najjaśniejsze [1–3]. Stąd melanina w melanocytach, keratynocytach, włosach i melanofagach, keratyna, kolagen w zwłóknieniu lub elastozie słonecznej, białka fibrylarne i globularne, a także eryocyty, atypowe duże limfocyty i komórki stanu zapalnego mają wysoki lub średniowysoki współczynnik załamania światła i dlatego wydają się jaśniejsze niż otaczające je elementy tkanki [1–3].

Przegląd piśmiennictwa

Pierwsze próby opisu morfologii czerniaka, raka podstawnkomórkowego i płaskonabłonkowego oraz rogowacenia słonecznego opublikowano odpowiednio w 2001 [4], 2002 [5, 6], 2009 [7] i 2000 [8] roku. W 2007 r. został opublikowany konsensus terminologiczny dotyczący oceny zmian melanocytowych za pomocą RCM, ustalony przez grupę ekspertów i zebrany w słowniczek [2]. Zdefiniowano specyficzną dla RCM nomenklaturę oraz cechy architektoniczne i strukturalne prawidłowej skóry. Poszczególne typy komórek, w tym melanocyty, keratynocyty i melanofagi, zostały opisane pod względem morfologii, a także wzorów rozmieszczenia.

Obecnie dostępnych jest kilka algorytmów diagnostycznych pozwalających na rozpoznawanie czerniaka [3, 9]. Należą do nich: algorytm Modeny — „RCM score” Pellacaniego, algorytm Barcelony — metoda dwustopniowa Segury, metoda Langleya, dwa algorytmy Guitera — skala LM („*lentigo maligna score*”) oraz algorytm dwustopniowy pozwalający na rozpoznanie raka podstawnkomórkowego i czerniaka, „*lip score*” Uribe’a — pozwalający odróżnić czerniaka od łagodnych zmian barwnikowych umiejscowionych na czerwieni wargowej, wielostopniowy algorytm pozwalający na rozpoznanie czerniaka *in situ* (MIS — Borsariiego), a także dwustopniowy algorytm pozwalający zróżnicować

znamiona dysplastyczne od czerniaka [3]. Opisano także wzorce RCM niektórych czerniaków (szerzącego się powierzchownie, guzkowego, bezbarwnikowego, umiejscowionego na błonie śluzowej i desmoplastycznego) [3]. W metaanalizie Cochrane’a, w której połączono czułość i swoistość kilku badań, stwierdzono, że algorytm RCM Pellacaniego ma czułość 80–100% i swoistość 67–95% [9]. Dwustopniowy algorytm Segury ma czułość 86,1% i swoistość 95,3% przy ustawieniu progu rozpoznania czerniaka na wynik ≥ 0 . Zmniejszenie progu do -1 zwiększyło czułość do 100%, ale zmniejszyło swoistość do 57%. Kryteria analizy według Langleya i wsp. [4] wykazały czułość wynoszącą 97%, swoistość 83%. Przy ustaleniu wartości progowej ≥ 2 w skali LM według Guitera uzyskano czułość 85% i swoistość 76%. Praca przeglądowa z 2020 roku Shahriari i wsp. podsumowuje także wyniki wszystkich dotychczasowych badań (prospektywnych, retrospektywnych, metaanaliz) przeprowadzonych w celu oceny trafności diagnostycznej RCM w ocenie *lentigo maligna*, czerniaka, raka podstawnkomórkowego oraz różnych zmian skórnych.

Najczęstsze wskazania kliniczne — diagnostyka nowotworów skóry

Na wstępie należy określić miejsce RCM w praktyce dermatologicznej. Jest to metoda uzupełniająca badanie kliniczne i dermoskopowe, mająca zastosowanie w ocenie płaskich lub nieznacznie wyniosłych zmian skórnych, niespełniających jednoznacznych kryteriów diagnostycznych i stąd sprawiających klinicyście trudność w podjęciu decyzji o przeprowadzeniu biopsji wycinającej [2, 3, 10–12]. Takich sytuacji w codziennej praktyce jest wiele i dotyczą one zarówno pacjentów ze zmianami barwnikowymi na twarzy, lecz także dorosłych pacjentów z licznymi znamionami barwnikowymi wykazującymi cechy atypii lub wzrostu, które wymagałyby wykonania licznych zabiegów chirurgicznych (tab. 1). Refleksyjna mikroskopia konfokalna znajduje również zastosowanie w monitorowaniu efektów leczenia miejscowego lub progresji choroby [1–3]. W rzadziej występujących nowotworach skóry, do których należą ziarniniak grzybiasty (na etapie rumieniowych plam), choroba Pageta (szczególnie postać pozasutkowa) czy mięsak Kaposiego, RCM może stanowić wsparcie w diagnostyce różnicowej i w wyborze reprezentatywnego do badania histopatologicznego miejsca biopsji zmian skórnych [3, 13–25].

Na podstawie retrospektywnej analizy Borsari i wsp. stwierdzili, że jednym z najlepszych wskazań do RCM jest diagnostyka zmian zlokalizowanych na twarzy i szyi [2, 10–12]. Shahriari i wsp. podają dwa wskazania — plamy barwnikowe na skórze z cechami przewlekłego fotouszkodzenia (wymagające różnicowania między rogowaceniem słonecznym barwnikowym, plamami soczewicowatymi z cechami regresji i *lentigo maligna/LMM*) oraz bezbarwnikowe

Tabela 1. Wskazania do badania RCM (VivaScope 1500) w praktyce dermatologicznej [1–51]

	Najczęstsze	Rzadsze
Dermatoonkologia	<ul style="list-style-type: none"> Zwiększenie swoistości i czułości diagnostycznej w rozpoznawaniu nowotworów skóry (czerniaków, nieczerniakowych nowotworów skóry) Diagnostyka różnicowa zmian barwnikowych na skórze z przewlekłym fotouszkodzeniem Monitorowanie wznowy LMM na twarzy Wybór miejsca do biopsji (np. duże zmiany barwnikowe wymagające wykluczenia LM/LMM, ziarniniak grzybiasty, choroba Pageta — szczególnie pozasutkowa) Różnicowanie zmian melanocytowych o dermoskopowych cechach wzrostu u osób dorosłych (różnicowanie zmian spitzoidalnych) Różnicowanie atypowych zmian melanocytowych u pacjentów z licznymi znamionami barwnikowymi 	<ul style="list-style-type: none"> Określenie marginesów czystości onkologicznej przed zabiegiem chirurgicznym szczególnie w rozległych zmianach nowotworowych (możliwe z wykorzystaniem głowicy ręcznej) Monitorowanie skuteczności leczenia zmian skórnych (rogowacenia słonecznego, raków skóry) Różnicowanie zmian mięsaka Kaposiego, choroby Pageta, ziarniniaka grzybiastego
Nienowotworowe zaburzenia barwnikowe		<ul style="list-style-type: none"> Przebiegające z odbarwieniem (bielactwo, łupież biały — w różnicowaniu z ubogobarwnikowym ziarniniakiem grzybiastym) Przebiegające z przebarwieniem (różnicowanie między melanozą błon śluzowych a czerniakiem; chloasmą a znamieniem melanocytowym)
Choroby zapalne skóry	<ul style="list-style-type: none"> Diagnostyka różnicowa w wybranych zapalnych chorobach skóry (wyprysk, łojotokowe zapalenie skóry, łuszczyca, liszaj rumieniowaty krążkowy) 	<ul style="list-style-type: none"> Diagnostyka różnicowa chorób paznokci (łuszczyca, grzybica) Sarkoidoza skóry Ziarniniak obrączkowy Obumieranie tłuszczowate
Choroby infekcyjne skóry	<ul style="list-style-type: none"> Infestacja nużeńcem 	<ul style="list-style-type: none"> Infestacja świerzbowcem, larwą wędrującą Zakażenie HPV, mięczakiem zakaźnym Diagnostyka grzybicy skóry (dermatofitowej, tinea nigra) i w części przypadków grzybicy dermatofitowej paznokci
Choroby włosów i skóry owłosionej		<ul style="list-style-type: none"> Różnicowanie pomiędzy łysieniem bliznowaciejącym i niebliznowaciejącym (liszaj rumieniowaty krążkowy, liszaj mieszkowy versus łysienie androgenowe i łysienie plackowate)

HPV — *human papilloma virus*; LM — *lentigo maligna*; LMM — *lentigo maligna melanoma*;

niewielkie zmiany na twarzy wymagające różnicowania pomiędzy zmianami łagodnymi i rakami skóry (rak podstawnkomórkowy, rak płaskonabłonkowy) [3, 10]. Autorzy zwracają uwagę na fakt, iż obie grupy zmian skórnych charakteryzują się bardzo różnymi cechami morfologicznymi w RCM, a trafne rozpoznanie prowadzi do odmiennego postępowania.

W przeglądzie systematycznym obejmującym dane z pięciu badań dotyczących diagnostyki czerniaka, obejmujących sumarycznie 909 zmian, wykazano czułość 93% [95% przedział ufności (CI), 89–96%] i swoistość 76% (95% CI, 68–83%) [2, 3, 9]. Metaanaliza RCM dotycząca diagnostyki raka podstawnkomórkowego wykazała czułość 97% (95% CI, 90–99%) i swoistość 93% (95% CI, 88–96%) [2, 9]. Łączna analiza 25 badań wykazała, że ogólna czułość i swoistość RCM wynosi odpowiednio 79–100% i 78–100% dla SCC oraz SCC *in situ* i *keratoacanthoma* [26]. W przypadku wszystkich typów raka skóry jedna metaanaliza obejmująca 21 badań (3108 pacjentów, 3602 zmiany) wykazała ogólną czułość na poziomie 94% i swoistość 83% [2, 27, 28].

W badaniu prospektywnym wykazano, że RCM znacząco zwiększył zaufanie klinicystów do diagnozy jednoznacznych

dermoskopowo zmian [2]. Kilka badań podkreśla przydatność włączenia RCM do klinik zajmujących się zmianami barwnikowymi wysokiego ryzyka, gdzie pacjenci mają wiele znamion [28–30]. W jednym z badań liczba koniecznych wycięć (NNE, *number-need-to-excise*) w diagnostyce czerniaka przy użyciu samej dermoskopii wynosiła 14,6, podczas gdy zastosowanie RCM po dermoskopii zmniejszyło NNE do 6,8 (> 50% redukcja niepotrzebnych wycięć) [28–30]. W innym badaniu wykazano, że przy zastosowaniu samej dermoskopii wartość NNE wynosiła 3,7, natomiast połączenie dermoskopii i RCM zmniejszyło wartość NNE do 2,9, co stanowi istotną różnicę [28–30]. W obu badaniach zmiany ocenione w RCM jako nienowotworowe, były następnie monitorowane w dermoskopii cyfrowej w ciągu 3–6 miesięcy oraz po roku w celu wykluczenia przypadków fałszywie negatywnych. W jednym z badań zaproponowano, aby najpierw przez 3 miesiące monitorować zmiany (płaskie) za pomocą dermoskopii cyfrowej, a następnie wykonywać obrazowanie RCM zmian, które wykazują niewielkie lub umiarkowane zmiany dermoskopowe [31]. W rezultacie NNE zmniejszono o 47% poprzez kierowanie do wycięcia tylko tych zmian, które wy-

Tabela 2. Ograniczenia metody i propozycje rozwiązania problemu [1–51]

Ograniczenie metody	Rozwiązanie problemu	
Ekonomiczne	<ul style="list-style-type: none"> • Wysokie koszty urządzenia w porównaniu z dermoskopią i klasyczną histopatologią • Koszty badania porównywalne w wykonaniu biopsji i badania histopatologicznego • Badanie nierefundowane przez NFZ 	
Związane z edukacją	<ul style="list-style-type: none"> • Krzywa uczenia co najmniej 6 miesięcy • Interpretacja obrazów RCM wymaga stosunkowo długiego szkolenia obejmującego specjalistyczną wiedzę z zakresu histopatologii 	
Techniczne	<ul style="list-style-type: none"> • Głębokość penetracji światła lasera sięgająca warstwy brodawkowej skóry właściwej — do około 200 µm • Trudność w zróżnicowaniu poszczególnych rodzajów leukocytów • Trudność w zróżnicowaniu komórek Langerhansa i dendrytycznych melanocytów • W trichologii i chorobach zapalnych skóry brak możliwości obrazowania głębszych warstw skóry właściwej, 2/3 dolnych mieszka włosowego oraz opuszki włosa 	
Zależne od zmiany skórnej	<ul style="list-style-type: none"> • Zmiany owrzodziałe • Zmiany hiperkeratotyczne • Zmiany guzkowe • Zmiany przerzutowe 	<ul style="list-style-type: none"> • Próba oceny wokół owrzodzenia/strupa (obecność nadkażenia/stanu zapalnego może zaburzać ocenę struktur RCM) • Wymagane przygotowanie preparatami keratolitycznymi
Zależne od lokalizacji zmiany	<ul style="list-style-type: none"> • Zmiany na błonach śluzowych • Zmiany skórne położone w trudnodostępnych okolicach anatomicznych • Zmiany położone na dłoniach/podeszwach 	<ul style="list-style-type: none"> • Badanie z wykorzystaniem ręcznej głowicy (VivaScope 3000) z dedykowaną wąską i wydłużoną końcówką optyczną • Badanie z wykorzystaniem głowicy ręcznej (VivaScope 3000) • Ewentualnie delikatne usunięcie łyżeczką powierzchniowej warstwy naskórka bez spowodowania skałeczenia

NFZ — Narodowy Fundusz Zdrowia; RCM (*reflectance confocal microscopy*)—refleksyjna mikroskopia konfokalna

kazują duże różnice w obserwacji dermoskopowej lub które wykazują cechy RCM-dodatnie dla czerniaka. W metaanalizie porównującej dermoskopię i RCM w diagnostyce złośliwych nowotworów skóry, RCM poprawił wskaźnik wykrywalności czerniaka o 4,3% w przeliczeniu na jedną zmianę [2].

Rzadsze wskazania — choroby zapalne i infekcyjne

Od czasu pierwszej publikacji Gonzalesa i wsp. w 1999 roku opisującej obraz RCM alergicznego kontaktowego zapalenia skóry wyindukowanego testem płatkowym, ukazały się liczne publikacje wykazujące potencjalne zastosowanie mikroskopii konfokalnej w diagnostyce i zróżnicowaniu chorób zapalnych, infekcyjnych i nienowotworowych zaburzeń barwnikowych skóry (tab. 1) [33–47]. Znakomita większość doniesień ma charakter opisu pojedynczych przypadków lub serii przypadków, stąd określenie trafności diagnostycznej, usystematyzowanie terminologii opisywanych struktur, a przede wszystkim określenie przydatności RCM w praktyce klinicznej, wymagają potwierdzenia na dużej grupie pacjentów. W kontekście chorób zapalnych kluczowym ograniczeniem metody jest brak możliwości zróżnicowania poszczególnych grup leukocytów oraz wizualizacji nacieków zapalnych położonych w głębszych warstwach skóry właściwej (tab. 2) [35, 36].

W 2016 roku Ardigo i wsp. opublikowali wyniki wieloosrodkowego badania przeprowadzonego pod nadzorem Międzynarodowej Grupy Konfokalnej, którego celem było określenie swoistych cech konfokalnych przydatnych do rozróżnienia trzech głównych grup chorób zapalnych skóry. Badanie przeprowadzono na dużej grupie przypadków dotkniętych różnymi chorobami skóry cechującymi się powierzchniowym umiejscowieniem procesu zapalnego. W oparciu o wielowymiarowy model przewidywania prawdopodobieństwa rozpoznania poszczególnych jednostek chorobowych, autorom udało się zidentyfikować istotne (większe i mniejsze) kryteria konfokalne dla każdej z grup chorób. Wyniki tego badania umożliwiły opracowanie algorytmu diagnostycznego, a następnie drzewa diagnostycznego ułatwiającego analizę badań konfokalnych [35, 36]. W efekcie tych badań, wobec dobrej korelacji z obrazem histologicznym, choroby skóry rozdzielono na przebiegające ze spongiozą (wyprysk kontaktowy alergiczny i niealergiczny, atopowe zapalenie skóry), zapaleniem liszajowatym (*interface dermatitis*; liszaj płaski, liszaj rumieniowaty krążkowy) oraz zapaleniem łuszczycopodobnym z hiperkeratozą (łuszczycy, łojotokowe zapalenie skóry).

Ardigo i wsp. [37] są także autorami retrospektywnej analizy metodą zaślepioną przeprowadzonej na grupie

86 pacjentów dotkniętych łysieniem bliznowaciejącym (28 łysiej płaski i 9 toczeń rumieniowaty) i niebliznowaciejącym (30 łysienie androgenowe i 19 łysienie plackowate). W niniejszym badaniu zidentyfikowano cechy RCM przydatne w diagnostyce różnicowej łysienia bliznowaciejącego i niebliznowaciejącego. W analizie wieloczynnikowej trzy cechy konfokalne zostały uznane za wysoce swoiste dla łysienia bliznowaciejącego: wykrycie komórek zapalnych w naskórku ($p = 0,003$) oraz brak dwóch kryteriów konfokalnych statystycznie istotnych dla łysienia niebliznowaciejącego: miniaturyzacji trzonu włosa i hiperkeratozy mieszkowej. Co ciekawe, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w występowaniu cech konfokalnych łysienia androgenowego i łysienia plackowatego.

PODSUMOWANIE

Refleksyjna mikroskopia konfokalna może być wsparciem w diagnostyce i różnicowaniu wcześniej zaawansowanych nowotworów skóry, a także wybranych chorób zapalnych. Pokonanie obecnych barier ekonomicznych i technologicznych mogłoby się przyczynić do większego rozpowszechnienia tej metody. Obecnie konieczne jest jednak prowadzenie dalszych badań na dużych grupach pacjentów w celu określenia trafności diagnostycznej i usystematyzowania terminologii nowo opisywanych struktur RCM w korelacji z histologią.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów w zakresie przedstawionej pracy.

PIŚMIENICTWO

- González S, Swindells K, Rajadhyaksha M, et al. Changing paradigms in dermatology: confocal microscopy in clinical and surgical dermatology. *Clin Dermatol.* 2003; 21(5): 359–369, doi: [10.1016/j.clindermatol.2003.08.007](https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2003.08.007), indexed in Pubmed: [14678715](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14678715/).
- Shahriari N, Grant-Kels JM, Rabinovitz H, et al. Reflectance confocal microscopy: Principles, basic terminology, clinical indications, limitations, and practical considerations. *J Am Acad Dermatol.* 2021; 84(1): 1–14, doi: [10.1016/j.jaad.2020.05.153](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.05.153), indexed in Pubmed: [32553679](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32553679/).
- Waddell A, Star P, Guitera P. Advances in the use of reflectance confocal microscopy in melanoma. *Melanoma Manag.* 2018; 5(1): MMT04, doi: [10.2217/mmt-2018-0001](https://doi.org/10.2217/mmt-2018-0001), indexed in Pubmed: [30190930](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30190930/).
- Langley RG, Rajadhyaksha M, Dwyer PJ, et al. Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo. *J Am Acad Dermatol.* 2001; 45(3): 365–376, doi: [10.1067/mjd.2001.117395](https://doi.org/10.1067/mjd.2001.117395), indexed in Pubmed: [11511832](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11511832/).
- Marghoob AA, Charles CA, Busam KJ, et al. Melanoma or pigmented basal cell carcinoma: a clinical-pathologic correlation with dermoscopy, in vivo confocal scanning laser microscopy, and routine histology. *Skin Res Technol.* 2002; 8(4): 282–287, doi: [10.1034/j.1600-0846.2002.00353.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2002.00353.x), indexed in Pubmed: [12423549](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12423549/).
- Sauermann K, Gambichler T, Wilmert M, et al. Investigation of basal cell carcinoma [correction of carcinoma] by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol.* 2002; 8(3): 141–147, doi: [10.1034/j.1600-0846.2002.20345.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2002.20345.x), indexed in Pubmed: [12236882](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12236882/).
- Rishpon A, Kim N, Scope A, et al. Reflectance confocal microscopy criteria for squamous cell carcinomas and actinic keratoses. *Arch Dermatol.* 2009; 145(7): 766–772, doi: [10.1001/archdermatol.2009.134](https://doi.org/10.1001/archdermatol.2009.134), indexed in Pubmed: [19620557](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19620557/).
- Aghassi D, Anderson RR, González S. Confocal laser microscopic imaging of actinic keratoses in vivo: a preliminary report. *J Am Acad Dermatol.* 2000; 43(1 Pt 1): 42–48, doi: [10.1067/mjd.2000.105565](https://doi.org/10.1067/mjd.2000.105565), indexed in Pubmed: [10863222](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10863222/).
- Shahriari N, Grant-Kels JM, Rabinovitz H, et al. Reflectance confocal microscopy: Diagnostic criteria of common benign and malignant neoplasms, dermoscopic and histopathologic correlates of key confocal criteria, and diagnostic algorithms. *J Am Acad Dermatol.* 2021; 84(1): 17–31, doi: [10.1016/j.jaad.2020.05.154](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.05.154), indexed in Pubmed: [32565210](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32565210/).
- Franceschini C, Persechino F, Ardigò M. In Vivo Reflectance Confocal Microscopy in General Dermatology: How to Choose the Right Indication. *Dermatol Pract Concept.* 2020; 10(2): e2020032, doi: [10.5826/dpc.1002a32](https://doi.org/10.5826/dpc.1002a32), indexed in Pubmed: [32363095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32363095/).
- Gómez-Martín I, Moreno S, Andrades-López E, et al. Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin. *JAMA Dermatol.* 2017; 153(8): 771–780, doi: [10.1001/jamadermatol.2017.1323](https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2017.1323), indexed in Pubmed: [28564685](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28564685/).
- de Carvalho N, Farnetani F, Ciardo S, et al. Reflectance confocal microscopy correlates of dermoscopic patterns of facial lesions help to discriminate lentigo maligna from pigmented nonmelanocytic macules. *Br J Dermatol.* 2015; 173(1): 128–133, doi: [10.1111/bjd.13546](https://doi.org/10.1111/bjd.13546), indexed in Pubmed: [25413382](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25413382/).
- Grazziotin TC, Cota C, Buffon RB, et al. Preliminary evaluation of in vivo reflectance confocal microscopy features of Kaposi's sarcoma. *Dermatology.* 2010; 220(4): 346–354, doi: [10.1159/000297561](https://doi.org/10.1159/000297561), indexed in Pubmed: [20453469](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20453469/).
- Villani A, Scalvenzi M, Peduto T, et al. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of Kaposi's sarcoma: an overview. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2022; 36(4): e272–e274, doi: [10.1111/jdv.17831](https://doi.org/10.1111/jdv.17831), indexed in Pubmed: [34817913](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34817913/).
- Guitera P, Scolyer RA, Gill M, et al. Reflectance confocal microscopy for diagnosis of mammary and extramammary Paget's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013; 27(1): e24–e29, doi: [10.1111/j.1468-3083.2011.04423.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04423.x), indexed in Pubmed: [22211938](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22211938/).
- Yélamos O, Hibler BP, Cordova M, et al. Handheld Reflectance Confocal Microscopy for the Detection of Recurrent Extramammary Paget Disease. *JAMA Dermatol.* 2017; 153(7): 689–693, doi: [10.1001/jamadermatol.2017.0619](https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2017.0619), indexed in Pubmed: [28492924](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28492924/).
- Ozdemir F, Turk BG, Yaman B, et al. Reflectance confocal microscopy of mammary Paget disease. *Dermatol Pract Concept.* 2017; 7(4): 75–80, doi: [10.5826/dpc.0704a15](https://doi.org/10.5826/dpc.0704a15), indexed in Pubmed: [29214113](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29214113/).
- Wu M, Huang L, Lu X, et al. Utility of photodynamic diagnosis plus reflectance confocal microscopy in detecting the margins of extramammary Paget disease. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2017; 87(2): 207–213, doi: [10.25259/IJDVL_90_20](https://doi.org/10.25259/IJDVL_90_20), indexed in Pubmed: [33769727](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33769727/).
- Navarrete-Dechent C, Aleissa S, Cordova M, et al. Treatment of Extramammary Paget Disease and the Role of Reflectance Confocal Microscopy: A Prospective Study. *Dermatol Surg.* 2021; 47(4): 473–479, doi: [10.1097/DSS.0000000000002934](https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000002934), indexed in Pubmed: [33625139](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33625139/).
- Melhoranse Gouveia B, Wells J, Kim J, et al. Reflectance confocal microscopy as a new diagnostic tool in transformed mycosis fungoides. *Australas J Dermatol.* 2020; 61(3): e358–e363, doi: [10.1111/ajd.13258](https://doi.org/10.1111/ajd.13258), indexed in Pubmed: [32201934](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32201934/).
- Liu H, Wang L, Lin Y, et al. The Differential Diagnosis of Hypopigmented Mycosis Fungoides and Vitiligo With Reflectance Confocal Microscopy: A Preliminary Study. *Front Med (Lausanne).* 2020; 7: 609404, doi: [10.3389/fmed.2020.609404](https://doi.org/10.3389/fmed.2020.609404), indexed in Pubmed: [33505981](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33505981/).
- Melhoranse Gouveia B, Wells J, Kim J, et al. Reflectance confocal microscopy role in mycosis fungoides follow-up. *Skin Res Technol.* 2021; 27(3): 414–421, doi: [10.1111/srt.12967](https://doi.org/10.1111/srt.12967), indexed in Pubmed: [33098224](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33098224/).
- Fabbrocini G, Mazzella C, Cantelli M, et al. Reflectance Confocal Microscopy as New Diagnostic Tool in Folliculotropic Mycosis Fungoides. *Skin Appendage Disord.* 2018; 4(2): 118–121, doi: [10.1159/000479822](https://doi.org/10.1159/000479822), indexed in Pubmed: [29765972](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29765972/).
- Yeager DG, Noor O, Rao BK. Reflectance confocal microscopy as a first-line diagnostic technique for mycosis fungoides. *Cutis.* 2018; 102(1): 56–58, indexed in Pubmed: [30138497](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30138497/).
- Broggi G, Lacarrubba F, Verzi AE, et al. Confocal microscopy features of patch-stage mycosis fungoides and their correlation with horizontal histopathological sections. A case series. *J Cutan Pathol.* 2019; 46(2): 163–165, doi: [10.1111/cup.13384](https://doi.org/10.1111/cup.13384), indexed in Pubmed: [30387175](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30387175/).

26. Mancebo SE, Cordova M, Myskowski PL, et al. Reflectance confocal microscopy features of mycosis fungoides and Sézary syndrome: correlation with histopathologic and T-cell receptor rearrangement studies. *J Cutan Pathol*. 2016; 43(6): 505–515, doi: [10.1111/cup.12708](https://doi.org/10.1111/cup.12708), indexed in Pubmed: [26969149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26969149/).
27. Nguyen KP, Peppelman M, Hoogedoorn L, et al. The current role of in vivo reflectance confocal microscopy within the continuum of actinic keratosis and squamous cell carcinoma: a systematic review. *Eur J Dermatol*. 2016; 26(6): 549–565, doi: [10.1684/ejd.2016.2872](https://doi.org/10.1684/ejd.2016.2872), indexed in Pubmed: [28007674](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28007674/).
28. Xiong YD, Ma S, Li X, et al. A meta-analysis of reflectance confocal microscopy for the diagnosis of malignant skin tumours. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016; 30(8): 1295–1302, doi: [10.1111/jdv.13712](https://doi.org/10.1111/jdv.13712), indexed in Pubmed: [27230832](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27230832/).
29. Yélamos O, Manubens E, Jain M, et al. Improvement of diagnostic confidence and management of equivocal skin lesions by integration of reflectance confocal microscopy in daily practice: Prospective study in 2 referral skin cancer centers. *J Am Acad Dermatol*. 2020; 83(4): 1057–1063, doi: [10.1016/j.jaad.2019.05.101](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.05.101), indexed in Pubmed: [31202873](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31202873/).
30. Pellacani G, Pepe P, Casari A, et al. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol*. 2014; 171(5): 1044–1051, doi: [10.1111/bjd.13148](https://doi.org/10.1111/bjd.13148), indexed in Pubmed: [24891083](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24891083/).
31. Alarcon I, Carrera C, Palou J, et al. Impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the number needed to treat melanoma in doubtful lesions. *Br J Dermatol*. 2014; 170(4): 802–808, doi: [10.1111/bjd.12678](https://doi.org/10.1111/bjd.12678), indexed in Pubmed: [24124911](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24124911/).
32. Stanganelli I, Longo C, Mazzoni L, et al. Integration of reflectance confocal microscopy in sequential dermoscopy follow-up improves melanoma detection accuracy. *Br J Dermatol*. 2015; 172(2): 365–371, doi: [10.1111/bjd.13373](https://doi.org/10.1111/bjd.13373), indexed in Pubmed: [25154446](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25154446/).
33. González S, González E, White WM, et al. Allergic contact dermatitis: correlation of in vivo confocal imaging to routine histology. *J Am Acad Dermatol*. 1999; 40(5 Pt 1): 708–713, doi: [10.1016/s0190-9622\(99\)70151-9](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(99)70151-9), indexed in Pubmed: [10321598](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10321598/).
34. Hoogedoorn L, Peppelman M, van de Kerkhof PCM, et al. The value of in vivo reflectance confocal microscopy in the diagnosis and monitoring of inflammatory and infectious skin diseases: a systematic review. *Br J Dermatol*. 2015; 172(5): 1222–1248, doi: [10.1111/bjd.13499](https://doi.org/10.1111/bjd.13499), indexed in Pubmed: [25355622](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25355622/).
35. Ardigo M, Longo C, Gonzalez S, et al. International Confocal Working Group Inflammatory Skin Diseases Project. Multicentre study on inflammatory skin diseases from The International Confocal Working Group: specific confocal microscopy features and an algorithmic method of diagnosis. *Br J Dermatol*. 2016; 175(2): 364–374, doi: [10.1111/bjd.14516](https://doi.org/10.1111/bjd.14516), indexed in Pubmed: [26948927](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26948927/).
36. Ardigo M, Agozzino M, Franceschini C, et al. Reflectance Confocal Microscopy Algorithms for Inflammatory and Hair Diseases. *Dermatol Clin*. 2016; 34(4): 487–496, doi: [10.1016/j.det.2016.05.011](https://doi.org/10.1016/j.det.2016.05.011), indexed in Pubmed: [27692454](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27692454/).
37. Ardigo M, Agozzino M, Franceschini C, et al. Reflectance confocal microscopy for scarring and non-scarring alopecia real-time assessment. *Arch Dermatol Res*. 2016; 308(5): 309–318, doi: [10.1007/s00403-016-1657-4](https://doi.org/10.1007/s00403-016-1657-4), indexed in Pubmed: [27225248](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27225248/).
38. Ilie MA, Caruntu C, Lixandru D, et al. confocal laser scanning microscopy imaging of skin inflammation: Clinical applications and research directions. *Exp Ther Med*. 2019; 17(2): 1004–1011, doi: [10.3892/etm.2018.6981](https://doi.org/10.3892/etm.2018.6981), indexed in Pubmed: [30679966](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30679966/).
39. Lu Q, Jiang G. Progress in the application of reflectance confocal microscopy in dermatology. *Postepy Dermatol Alergol*. 2021; 38(5): 709–715, doi: [10.5114/ada.2021.110077](https://doi.org/10.5114/ada.2021.110077), indexed in Pubmed: [34849113](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34849113/).
40. Broggi G, Verzi A, Lacarrubba F, et al. Horizontal Histopathology Correlation with In Vivo Reflectance Confocal Microscopy in Inflammatory Skin Diseases: A Review. *Appl. Sci*. 2022; 12(4): 1930, doi: [10.3390/app12041930](https://doi.org/10.3390/app12041930).
41. Cinotti E, Fouilloux B, Perrot JL, et al. Confocal microscopy for healthy and pathological nail. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014; 28(7): 853–858, doi: [10.1111/jdv.12330](https://doi.org/10.1111/jdv.12330), indexed in Pubmed: [24320009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24320009/).
42. Pogorzelska-Antkowiak A, Corneli P, Zalaudek I, et al. Characteristics of granuloma annulare in reflectance confocal microscopy. *Dermatol Ther*. 2021; 34(4): e15021, doi: [10.1111/dth.15021](https://doi.org/10.1111/dth.15021), indexed in Pubmed: [34081377](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34081377/).
43. Pogorzelska-Antkowiak A, Corneli P, Agozzino M. Features of necrobiosis lipoidica in reflectance confocal microscopy. *Australas J Dermatol*. 2021; 62(2): e359–e361, doi: [10.1111/ajd.13557](https://doi.org/10.1111/ajd.13557), indexed in Pubmed: [33729541](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33729541/).
44. Pasquali P, Gonzalez S, Fortuño A, et al. In-vivo assessment of a case of cutaneous sarcoidosis using reflectance confocal microscopy. *An Bras Dermatol*. 2019; 94(1): 93–95, doi: [10.1590/abd1806-4841.20197315](https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20197315), indexed in Pubmed: [30726472](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30726472/).
45. Segurado-Miravalles G, Fernández-Nieto D, Suárez-Valle A, et al. Reflectance confocal microscopy of cutaneous sarcoidosis. *Skin Res Technol*. 2021; 27(5): 980–981, doi: [10.1111/srt.13015](https://doi.org/10.1111/srt.13015), indexed in Pubmed: [34532889](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34532889/).
46. Lim SS, Ohn J, Mun JH. Diagnosis of Onychomycosis: From Conventional Techniques and Dermoscopy to Artificial Intelligence. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 8: 637216, doi: [10.3389/fmed.2021.637216](https://doi.org/10.3389/fmed.2021.637216), indexed in Pubmed: [33937282](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33937282/).
47. Uva L, Leal-Filipe P, Soares-de-Almeida L, et al. Reflectance confocal microscopy for the diagnosis of tinea nigra. *Clin Exp Dermatol*. 2018; 43(3): 332–334, doi: [10.1111/ced.13350](https://doi.org/10.1111/ced.13350), indexed in Pubmed: [29283186](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29283186/).
48. Nori S, Rius-Díaz F, Cuevas J, et al. Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J Am Acad Dermatol*. 2004; 51(6): 923–930, doi: [10.1016/j.jaad.2004.06.028](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.06.028), indexed in Pubmed: [15583584](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15583584/).
49. Woliner-van der Weg W, Peppelman M, Elshot YS, et al. Biopsy outperforms reflectance confocal microscopy in diagnosing and subtyping basal cell carcinoma: results and experiences from a randomized controlled multicentre trial. *Br J Dermatol*. 2021; 184(4): 663–671, doi: [10.1111/bjd.19381](https://doi.org/10.1111/bjd.19381), indexed in Pubmed: [32628771](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32628771/).
50. Longo C, Moscarella E, Argenziano G, et al. Reflectance confocal microscopy in the diagnosis of solitary pink skin tumours: review of diagnostic clues. *Br J Dermatol*. 2015; 173(1): 31–41, doi: [10.1111/bjd.13689](https://doi.org/10.1111/bjd.13689), indexed in Pubmed: [25640416](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25640416/).
51. Peppelman M, Nguyen KP, Hoogedoorn L, et al. Reflectance confocal microscopy: non-invasive distinction between actinic keratosis and squamous cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015; 29(7): 1302–1309, doi: [10.1111/jdv.12806](https://doi.org/10.1111/jdv.12806), indexed in Pubmed: [25357235](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25357235/).