



Endomicroscopie confocale

Tamara Matysiak-Budnik

**Hépato-Gastroentérologie & IMAD
Hôtel Dieu, CHU de Nantes**

Plan

- **Introduction**
- **Techniques d'endomicroscopie confocale:**
 - aspects techniques
 - performances diagnostiques
- **Avenir de l'endomicroscopie**

Introduction

Définition:

Endomicroscopie =

**Technique d'endoscopie permettant
l'observation de la muqueuse digestive
à l'échelle microscopique (x 500 – x 1000)**

But:

**Voir « l'invisible »: Visualiser les glandes et les
cellules épithéliales, identifier la nature
des lésions (dysplasie)**

Endomicroscopie Confocale (EMC)

- Source de lumière: Laser
- Colorant: fluorescéïne (iv), acriflavine (local)

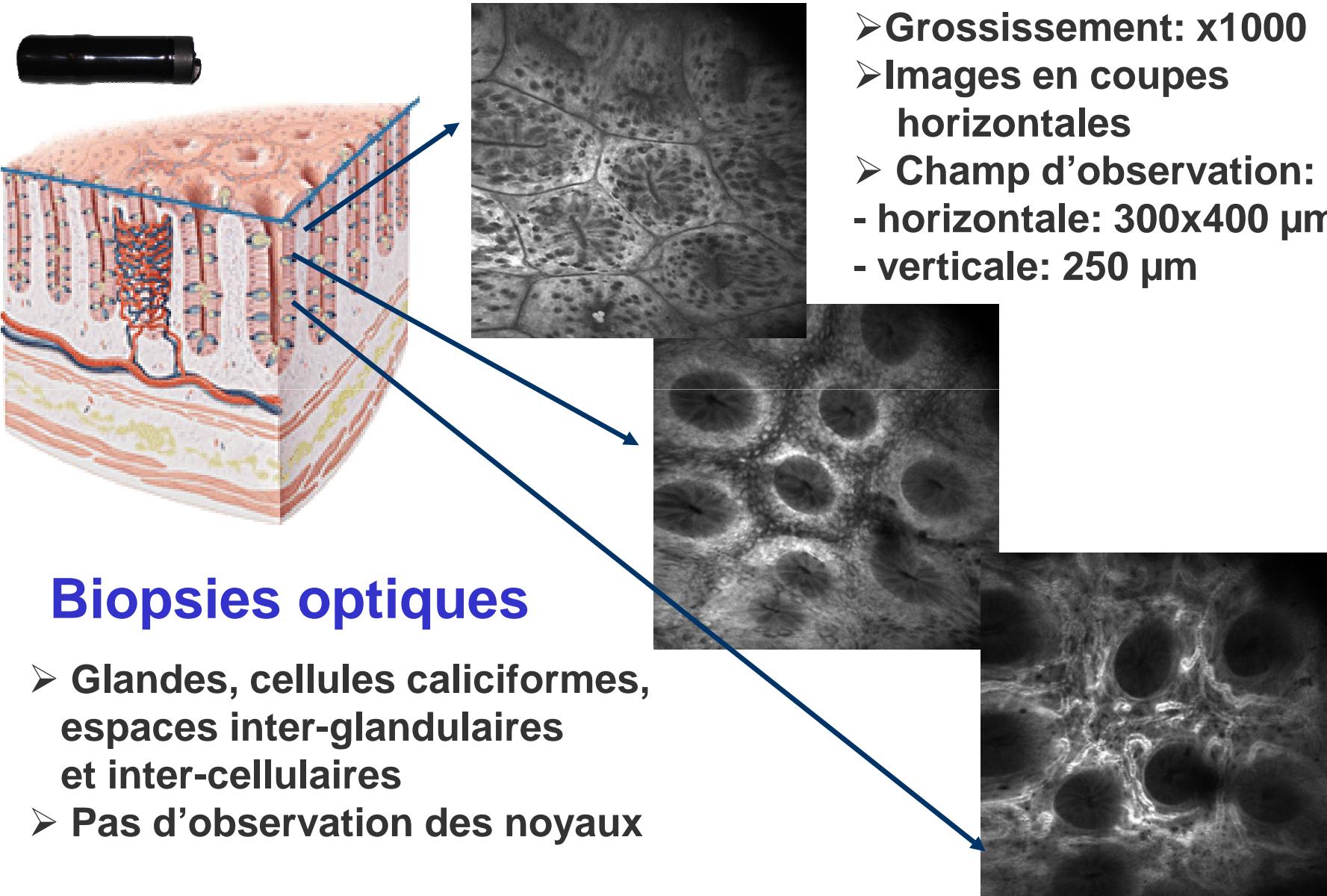


Endomicroscope Pentax
Microscope confocal miniaturisé
incorporé dans l'endoscope



**CellVizio® (Mauna Kea
Technologies, France)**
Sonde d'endomicroscopie confocale
introduite dans un endoscope standard

Endomicroscopie Confocale /Pentax



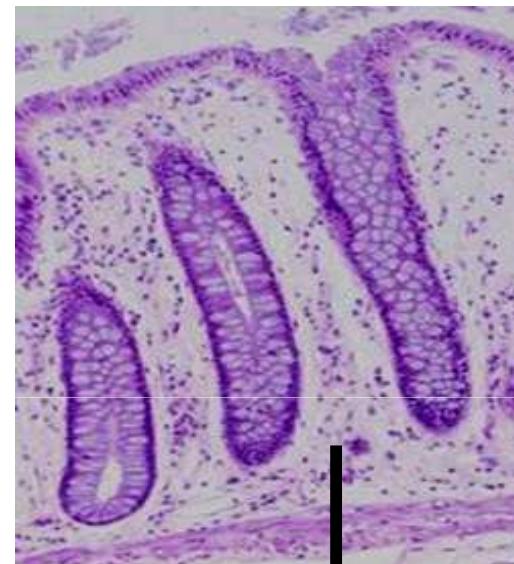
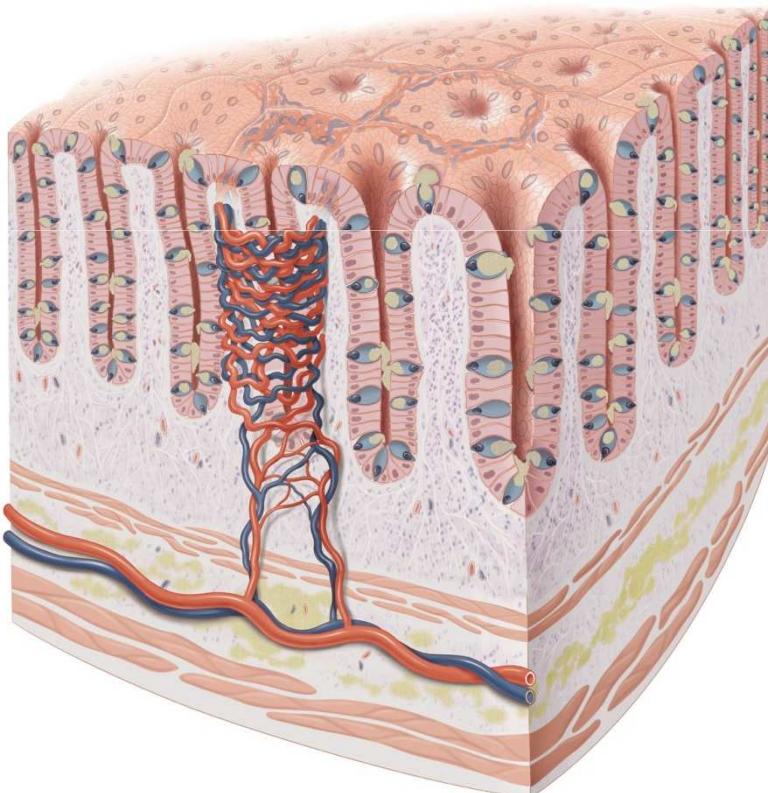
The diagram illustrates a 3D tissue cross-section with various cellular and structural components. Three blue arrows point from specific features in the diagram to corresponding confocal microscopy images. The first arrow points to a cluster of cells, the second to a larger glandular structure, and the third to a layer of cells. The microscopy images show high-resolution views of these structures: the first image shows a layer of cells with nuclei, the second shows a glandular structure with a central lumen, and the third shows a higher magnification view of the cellular boundaries and nuclei.

- Grossissement: x1000
- Images en coupes horizontales
- Champ d'observation:
 - horizontale: 300x400 µm
 - verticale: 250 µm

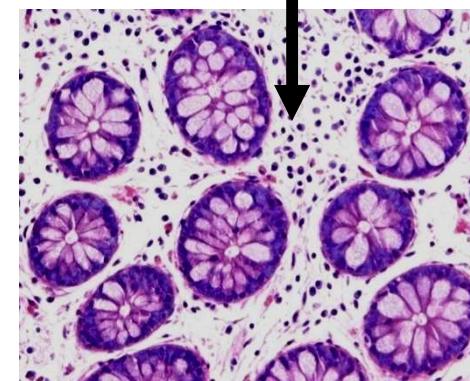
Biopsies optiques

- Glandes, cellules caliciformes, espaces inter-glandulaires et inter-cellulaires
- Pas d'observation des noyaux

Orientation des coupes: Biopsies standards vs endomicroscopie



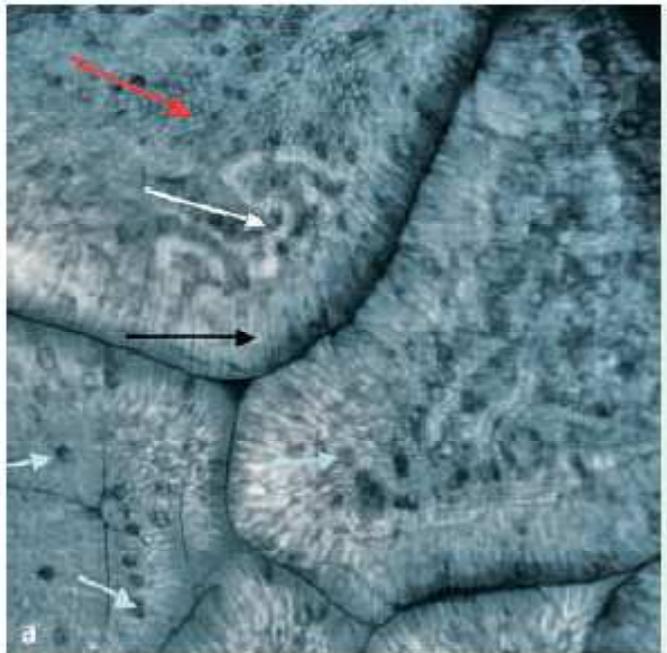
**Coupe
verticale
(Biopsie
standard)**



**Coupe
horizontale
(Biopsie
virtuelle)**

Duodénum normal

Correlation biopsie standard - endomicroscopie



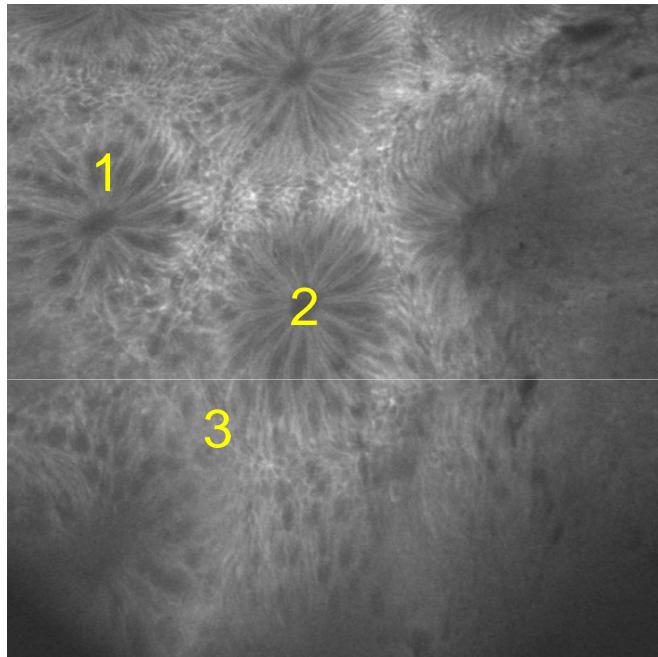
Endomicroscopie
confocale



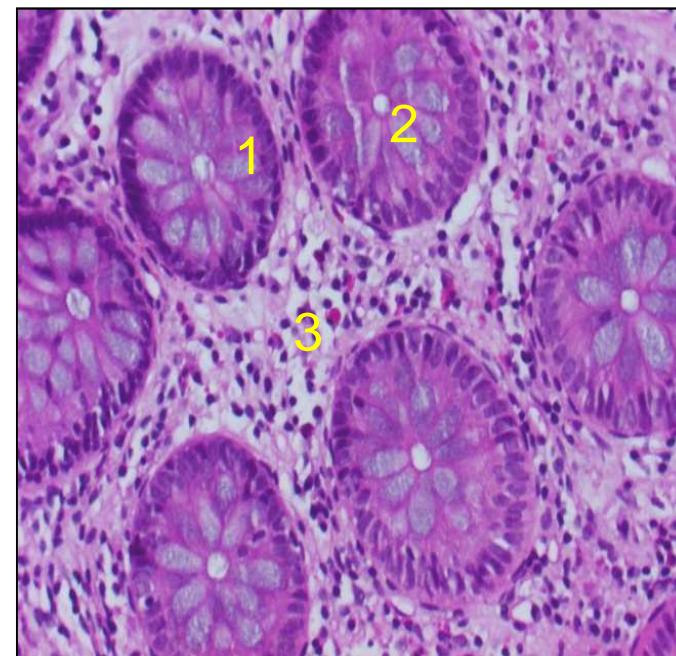
Histologie classique (H&E)

Zambelli A et al, *Endoscopy* 2007;39:1018-1020

Colon normal



Endomicroscopie confocale

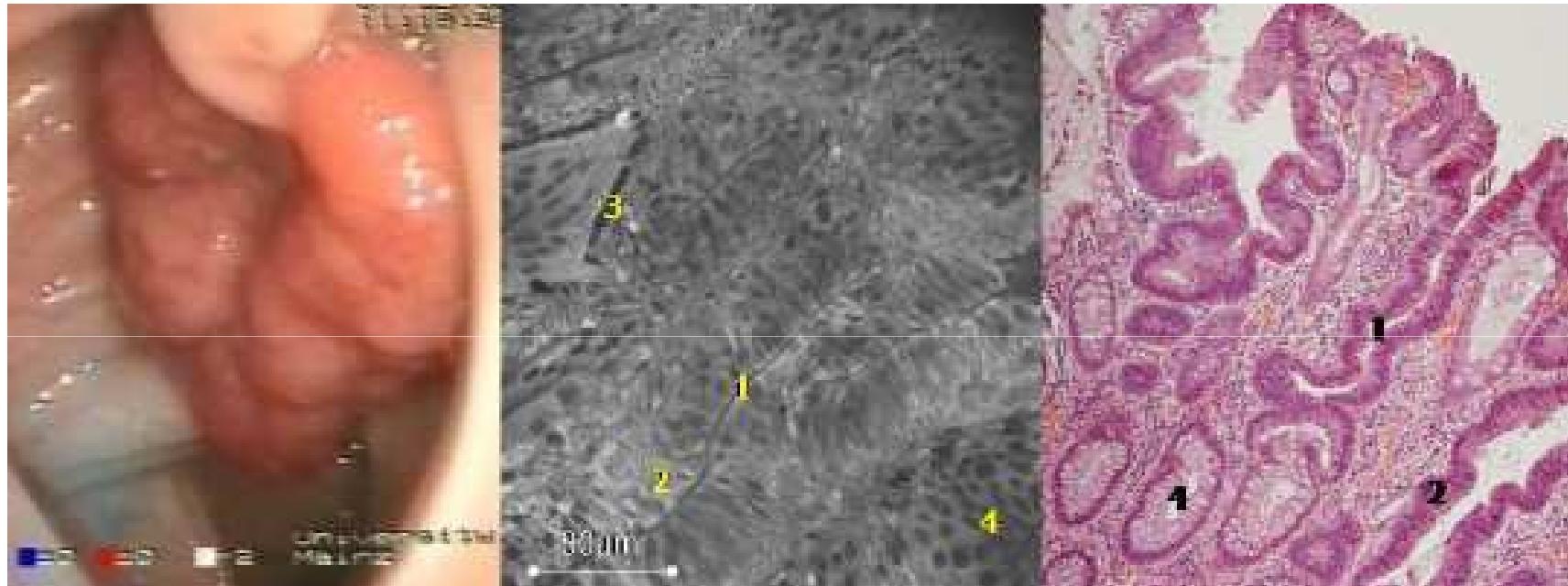


Histologie classique (H&E)

1. Cryptes régulières avec mucines (noires) dans les cellules caliciformes
2. Lumière des cryptes, 3. Stroma

Matysiak, Coron et al, UEGW 2009

Adénome du colon en dysplasie de haut grade



1 Cryptes allongés

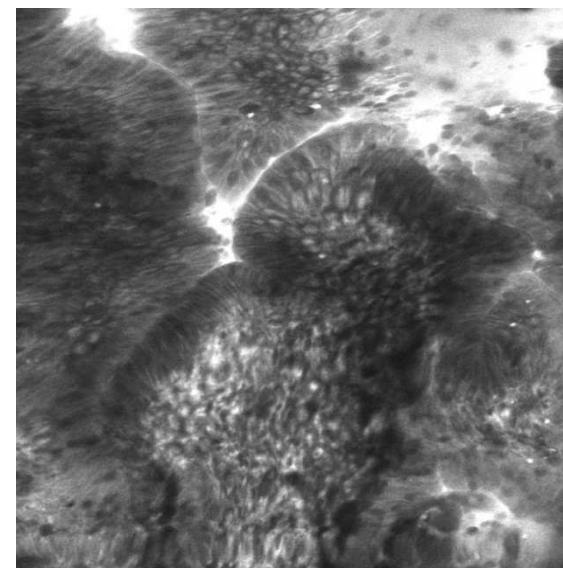
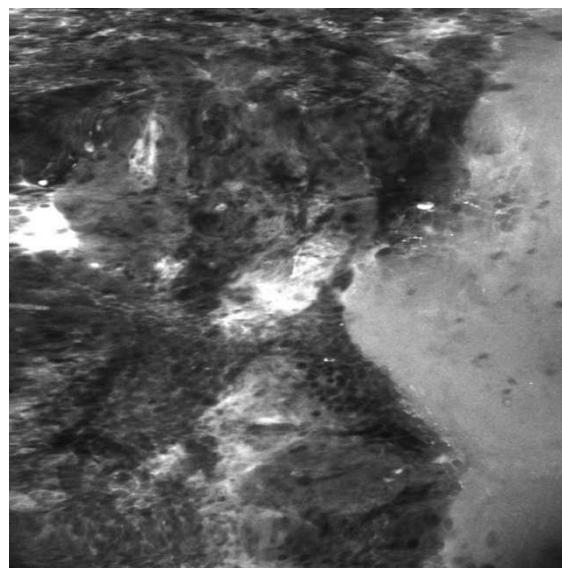
2 Perte des cellules caliciformes

3 Perte des jonction cellulaires

4 Cryptes d'aspect normal

Kiesslich Gastroenterology 2004

Cancer du sigmoïde

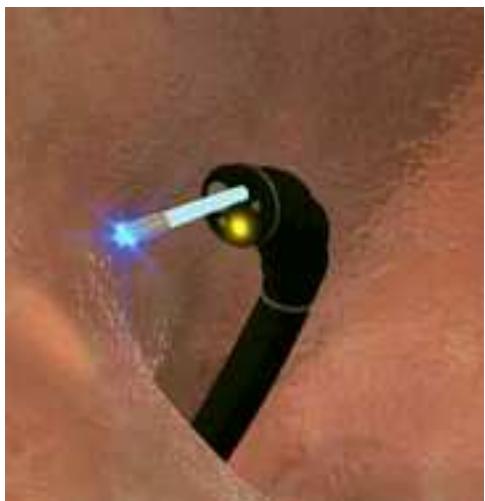
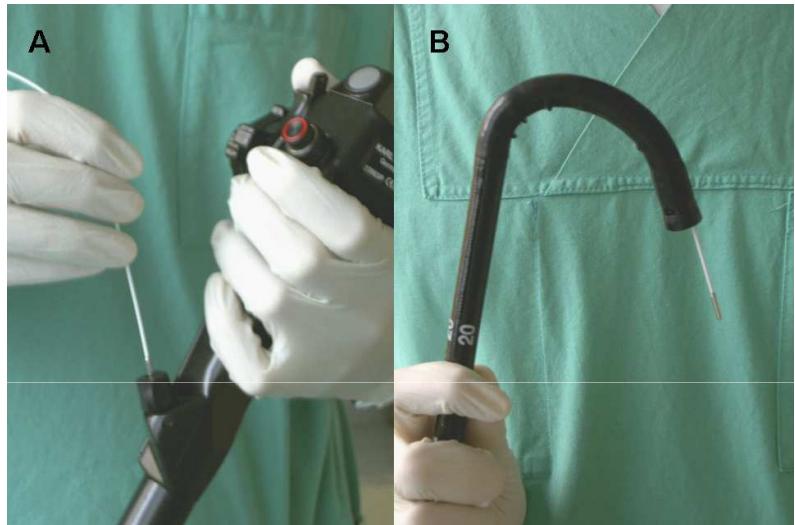


E. Coron, données personnelles

Endomicroscopie confocale: Performances diagnostiques

- Dépistage de CCR: Lésions néoplasiques vs non-néoplasiques: Sen 97.4%, Spe 99.4%, *Kiesslich et al, Gastroenterology 2004*
- RCH: Prédiction des lésions néoplasiques: Sen 94.7%, Spe 98.3%, *Kiesslich et al Gastroenterology 2007, Hurlstone et al , Gut 2008*
- EBO: Détection des lésions néoplasiques : Sen 92.9%, Spe 98.4%
Kiesslich et al Clin Gastroenterol Hepatol 2006, Dunbar et al 2009
- Colite collagène, Maladie coeliaque: Diagnostic *in vivo*,
Kiesslich et al , Gut 2006; Gunther et al, Endoscopy 2010
- Détection de *H. pylori* *in vivo*, *Kiesslich et al, Gastroenterology 2005*
- Mise en évidence des « fissures » dans les espaces inter-cellulaires au niveau de l'épithélium intestinal, *Kiesslich et al , Gastroenterology 2007*
- Evaluation de la microarchitecture hépatique, *Goetz et al, Endoscopy 2008*

Endomicroscopie Confocale par mini-sonde Cellvizio®-GI



➤ Minisonde de 1.5 - 2.5 mm
➤ Résolution, champ de vue, profondeur d'observation: dépendant de la sonde:

- Type MiniO: 1 μ m - 240 μ m - 60 μ m
- Type Z: 3.5 μ m- 600 μ m - 100 μ m
- Type S: 3.5 μ m - 600 μ m - 15 μ m

→ **UHD (*Ultra High Definition*):**
x 1000 - 240 μ m-100 μ m

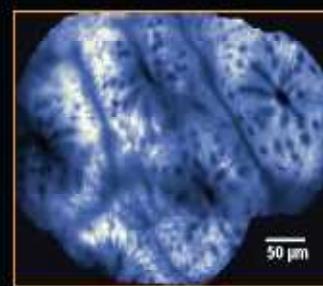
→ Observation de la muqueuse digestive au niveau du plan choisi
→ **Images dynamiques**
(12 images/s)

Exploring the entire GI tract

Duodenum and small intestine



ColoFlex
ColoFlex^{UHD}

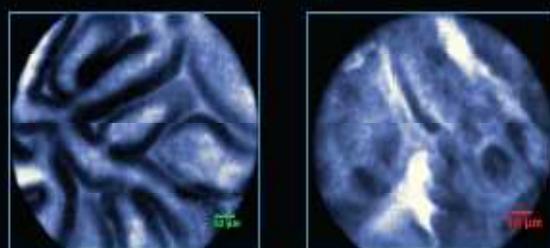


Colon

MKT

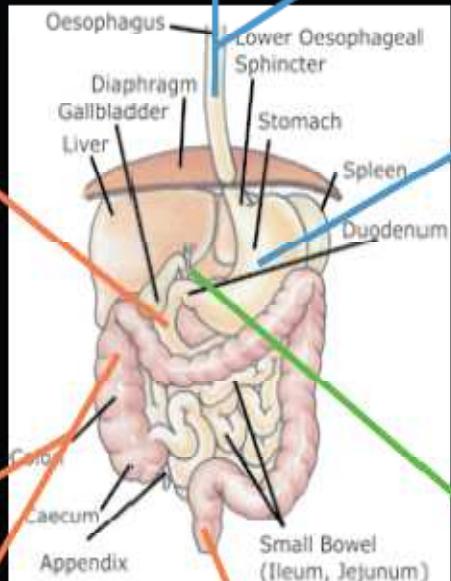
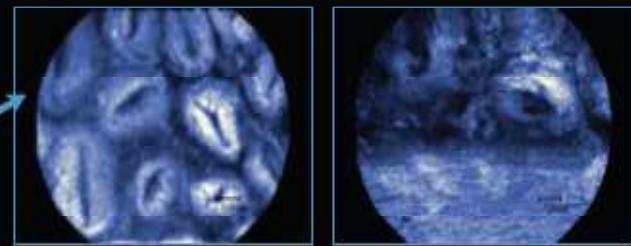
Mauna Kea Technologies

Esophagus

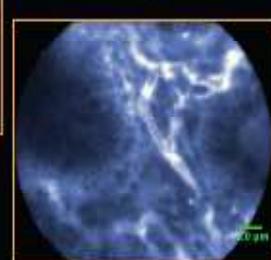


GastroFlex
GastroFlex^{UHD}

Stomach



Rectum

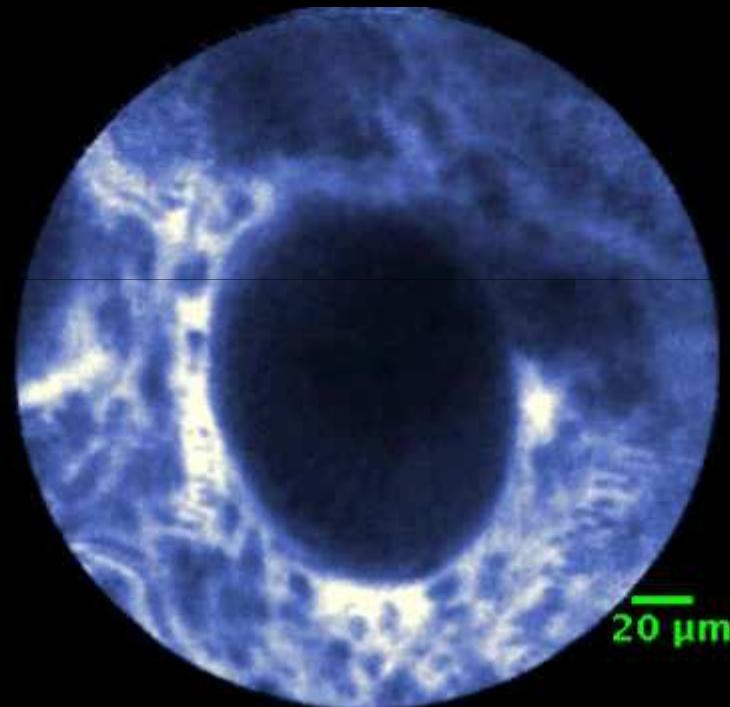
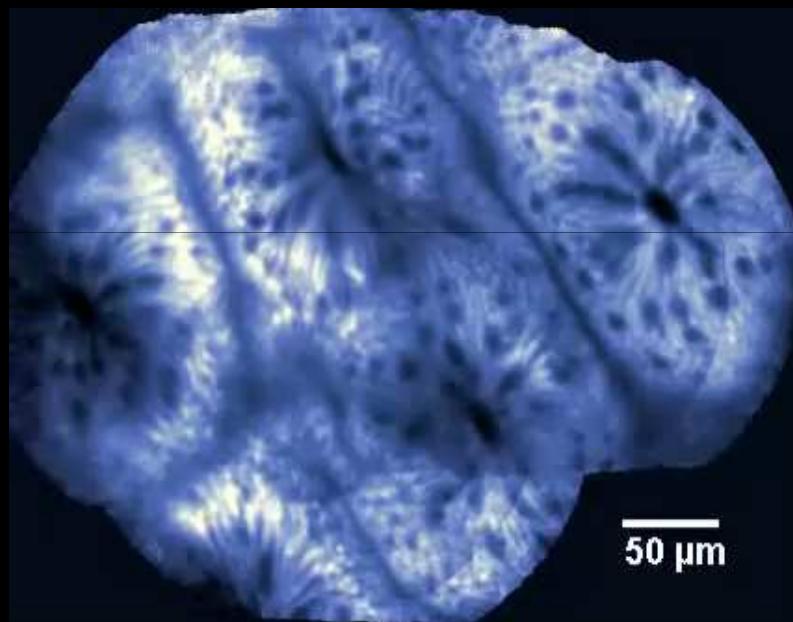


Bile duct



CholangioFlex

Colon normal



E. Coron, données personnelles

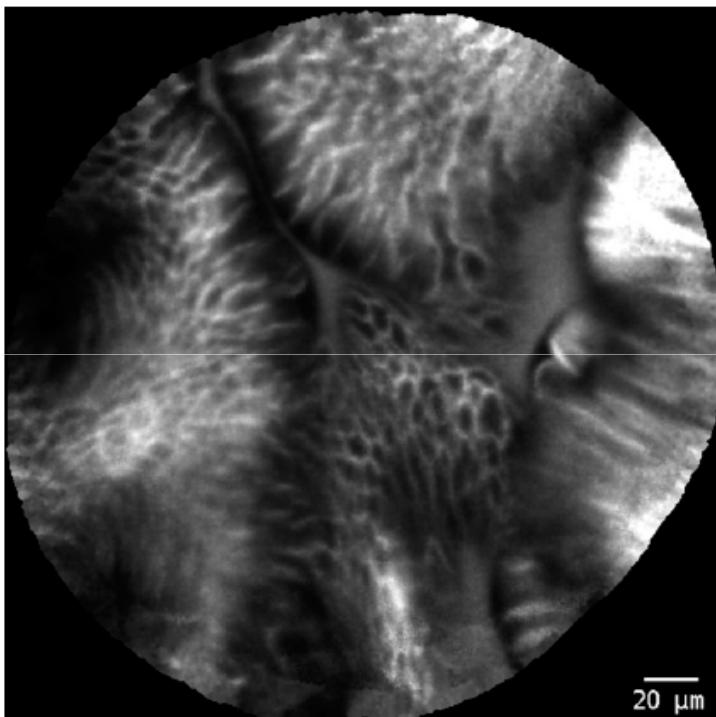
Endomicroscopie par Cellvizio®: Performances diagnostiques

- Détection des lésions néoplasiques au niveau de l'œsophage, de l'estomac et du colon (Sen 92%, Spe 93%)
Meining et al, Clin Gastroenterol Hepatol 2007
De Palma et al, Dig Liv Dis 2010
- Détection de dysplasie au sein de l'EBO
Miehlke et al, Gastrointest Endosc 2007
Wallace et al, Gastrointest Endosc 2010
Bajbouj et al, Endoscopy 2010
- Diagnostic de colite lymphocytaire, de lymphome de MALT, de cholangiocarcinome, de maladie coeliaque, de *H. pylori*
Meining et al, Gastrointest Endosc 2007
Morgner et al, Clin Gastroenterol Hepatol 2007
Meining et al, Clin Gastroenterol Hepatol 2008
Ji et al, J Gastroenterol Hepatol 2010

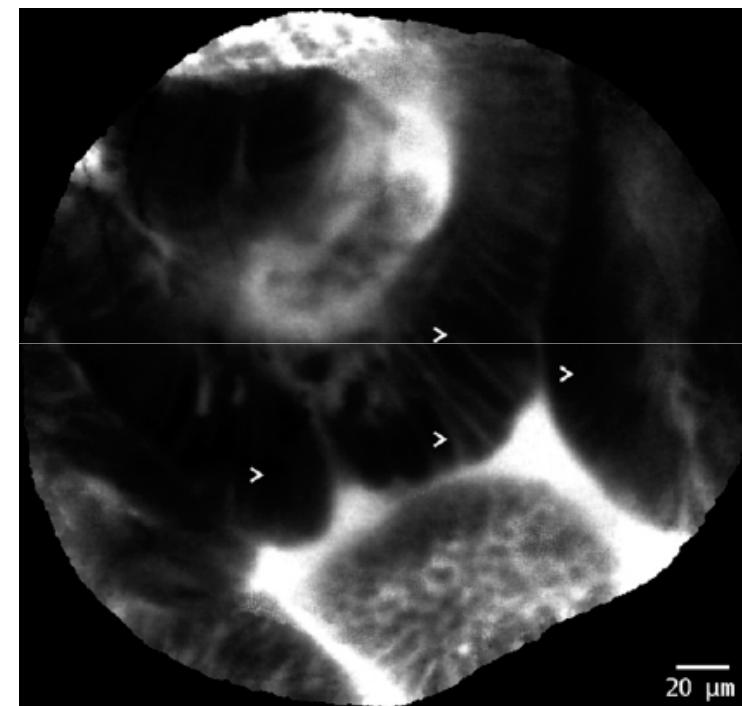
Comparaison des techniques

	Pentax	Cellvizio
Compatibilité avec autres endoscopes	Non	Oui
Possibilité de cibler des sites d'accès difficile	Non	Oui
Observation dynamique	Non	Oui
Champ de vision	Large	Selon sonde
Différents niveaux de coupe (étude '3D')	Oui	Non
Détails cellulaires	+++	++

Détection de dysplasie dans la muqueuse de Barrett par Cellvizio®



Endobrachyoesophage
sans dysplasie



Endobrachyoesophage
+ dysplasie de haut grade

Détection de dysplasie dans la muqueuse de Barrett par Cellvizio®: variation inter-observateur

TABLE 1. Accuracy of overall assessment of neoplasia by each of the 11 endoscopists (percentage and range of absolute values)

	pCLE experienced observers (n = 4)	pCLE inexperienced observers (n = 7)	10 of 11 observers
Sensitivity	91% (all 10/11)	87% (6/11-11/11)	88%
Specificity	100% (all 9/9)	94% (7/9-9/9)	96%
Accuracy	95% (all 19/20)	90% (14/20-20/20)	92%
Agreement	92%	82%	86%
Kappa (95% CI)	0.83 (0.64-1.00)	0.64 (0.48-0.80)	0.72 (0.58-0.86)

pCLE, probe-based confocal laser endomicroscopy; CI, confidence interval.

→ Courbe d'apprentissage: courte

Wallace et al *Gastrointest Endosc* 2010

Avenir de l'endomicroscopie?



Perspectives: Quelles applications potentielles de l'EMC ?

- **Pratique clinique:**
 - Mieux cibler et/ou limiter le nombre de biopsies
 - Guider le geste endoscopique *in vivo* et *in situ*
 - Aider au diagnostic de pathologies macroscopiquement normales ou subnormales (critères diagnostique EM)
- **Recherche fondamentale et translationnelle**

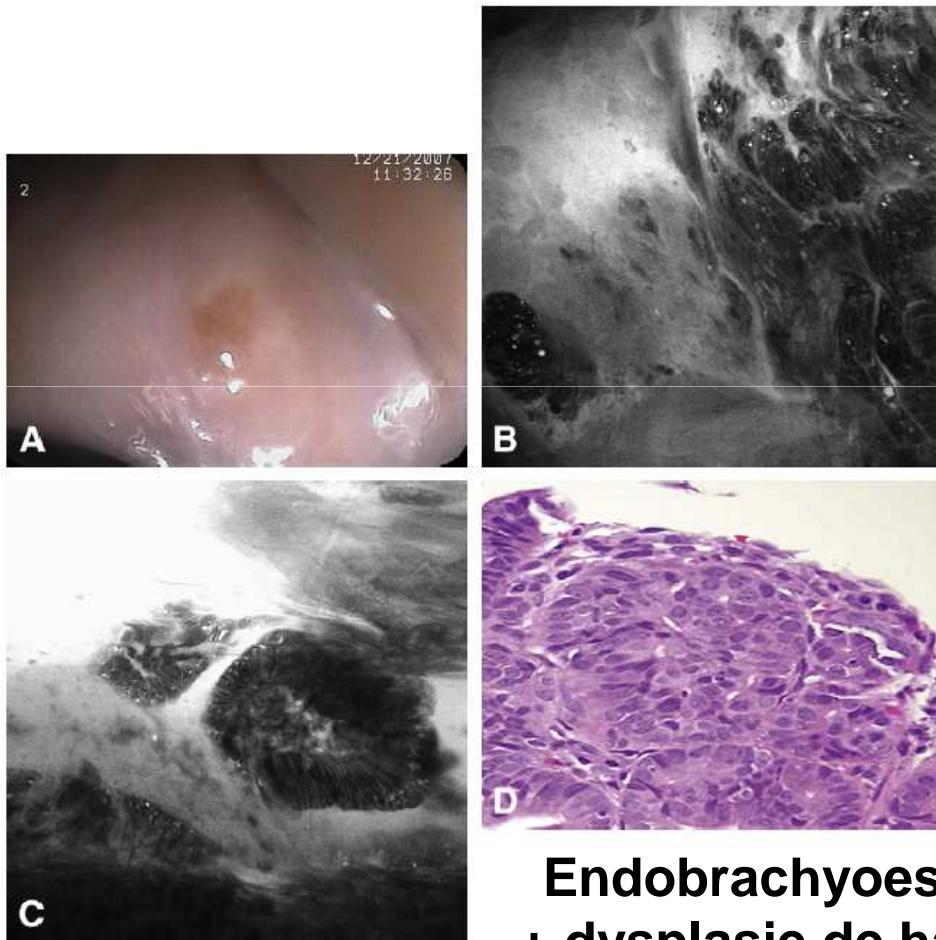
Diminuer le nombre de biopsies par l'EMC

TABLE 4. Diagnostic yield for neoplasia, per-patient analysis

	High-risk group, n = 16 (suspected HGD or CA)			Surveillance group, n = 23		
	CLE-TB	SE-RB	P	CLE-TB	SE-RB	P
Mean number of biopsies with HGD or CA (range)	3.1 (0-15)	3.7 (0-19)	.89	0	0	1.0
Mean number of mucosal biopsy specimens obtained (range)	9.8 (1-22)	23.7 (3-41)	.002	1.7 (0-12)	12.6 (1-28)	<.0001
Mean diagnostic yield (% biopsy results positive for HGD or CA)	33.7%	17.2%	.01	0	0	-

CA, Esophageal adenocarcinoma; CLE-TB, confocal laser endomicroscopy with targeted mucosal biopsy; HGD, high-grade dysplasia; SE-RB, standard endoscopy with random mucosal biopsy.

Guider un geste endoscopique: Mucosectomie dirigée par EMC



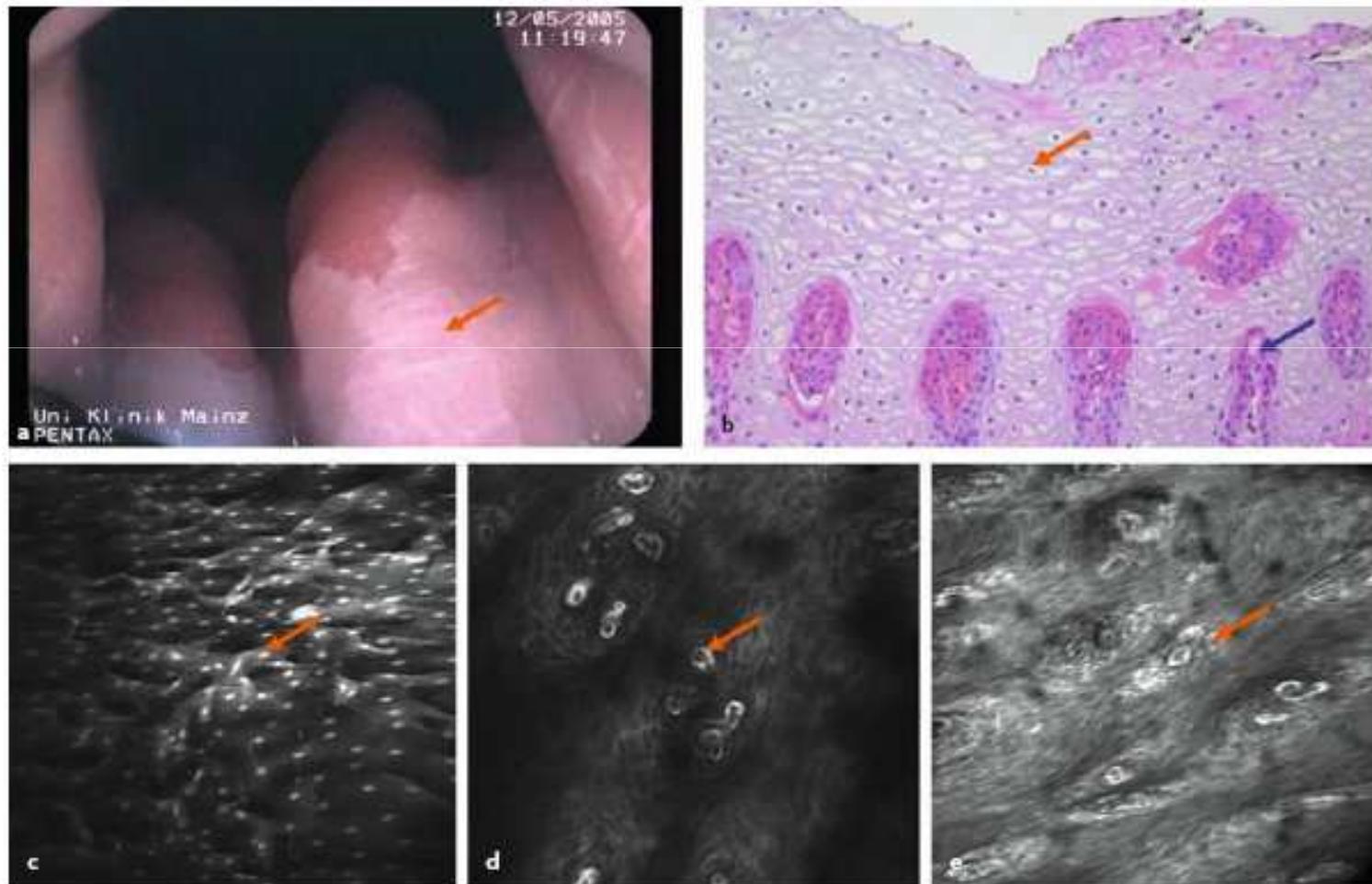
← EMC avant le geste

← Histologie de la pièce
de mucosectomie

Endobrachyoesophage
+ dysplasie de haut grade

Dunbar et al *Gastrointest Endosc* 2009;70:645

Aide au diagnostic: Reflux sans oesophagite



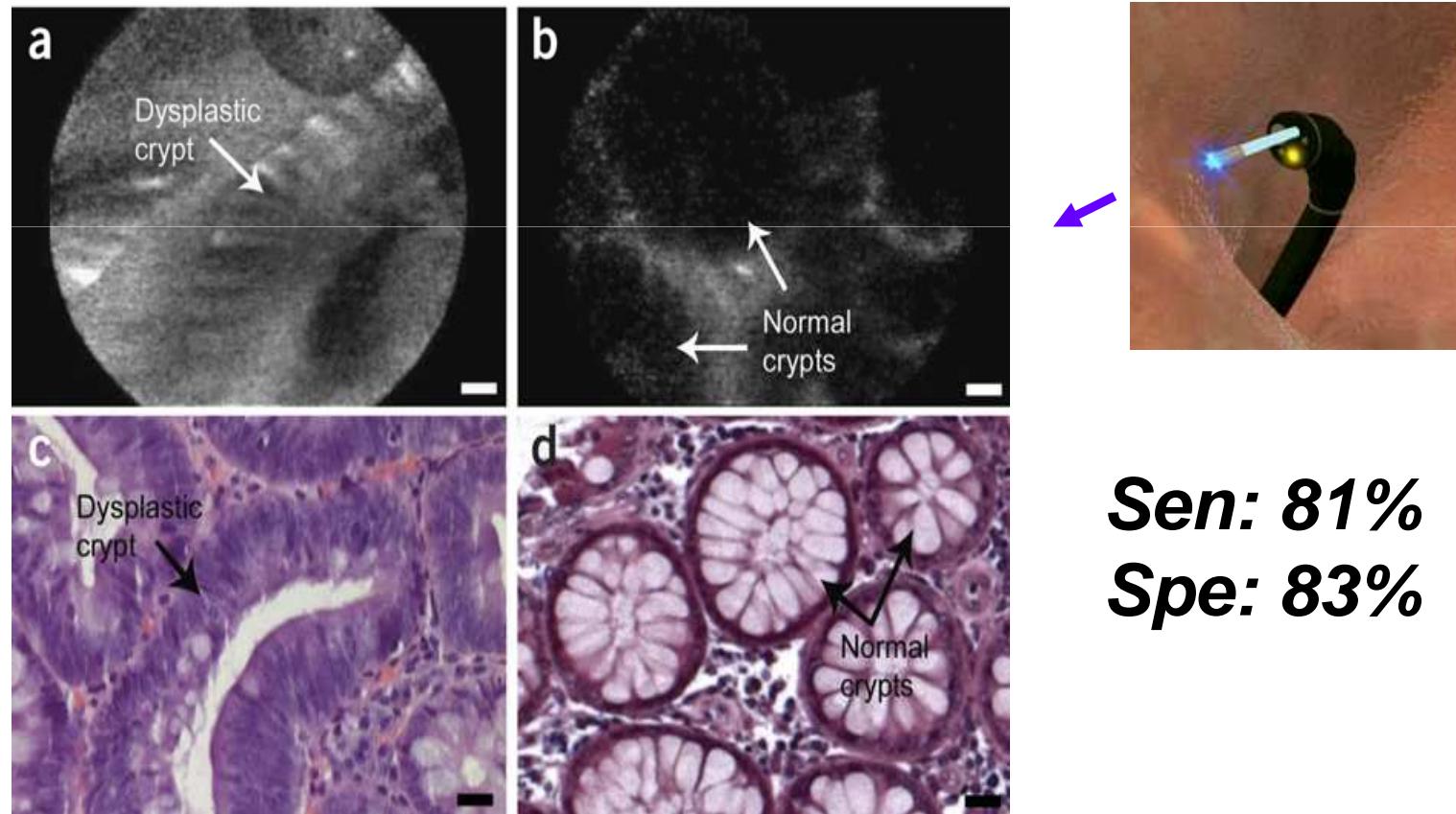
Kiesslich DDW 2007; Dunbar DDW 2009

EMC comme outil de recherche

- « **Imagerie moléculaire** »: Utilisation des marqueurs spécifiques pour détecter précocement les maladies, i.e. lésions néoplasiques
- **Etudes fonctionnelles**: réseau microvasculaire, évaluation de la réponse *in vivo*, en temps réel, aux médicaments ou agents toxiques

Détection d'une dysplasie colique *in vivo* en utilisant un heptapeptide spécifique et endomicroscopie confocale: preuve du concept

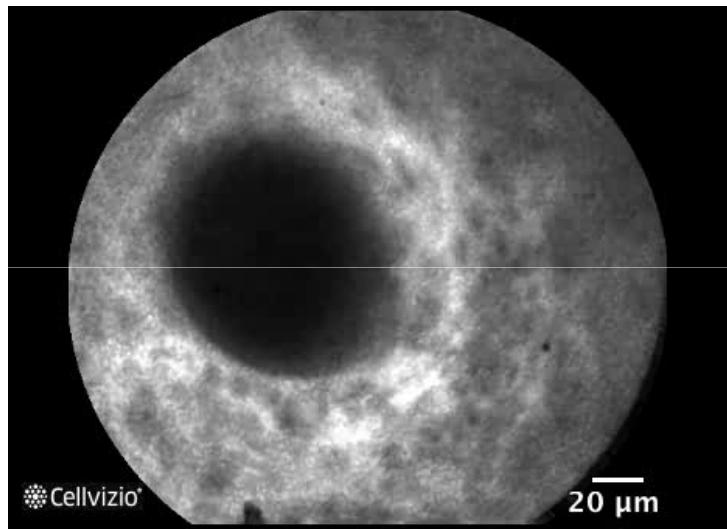
« Phage display peptide libraries » → VRPMPLQ



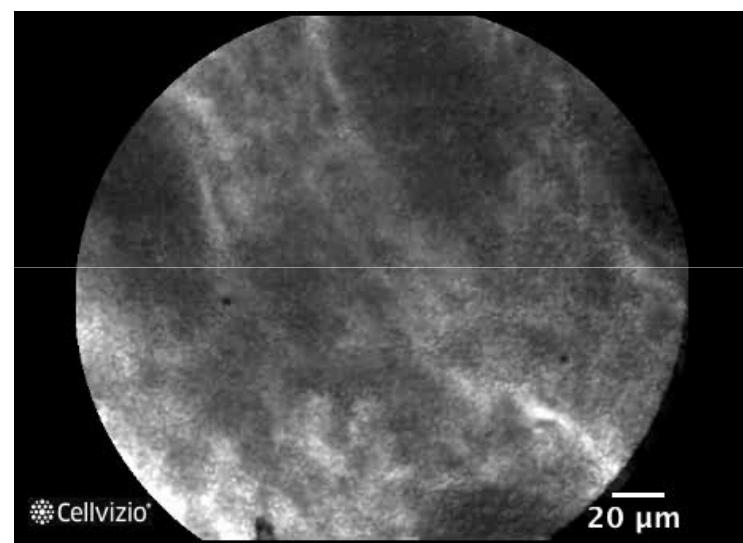
Sen: 81%
Spe: 83%

Hsiung et al, Nature Medicine 2008;14, 454

Etude du réseau microvasculaire *in vivo* par EMC



Colon normal



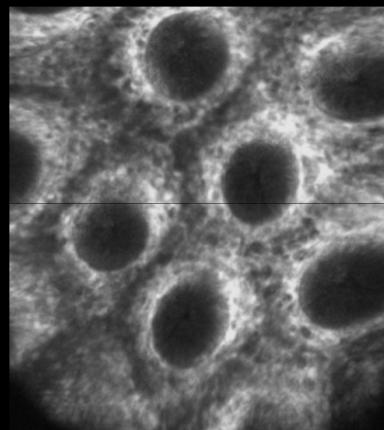
MICL en rémission

Coron et al, DDW 2010

Altérations du réseau microvasculaire dans les adénomes coliques

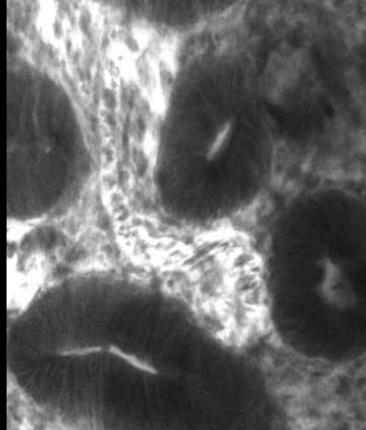
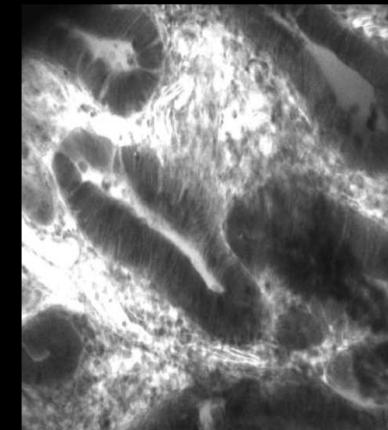
Muqueuse normale

Endo-microscopie confocale



Polype

Immuno-Fluorescence (anti-VEGF)



SIF: 223 ± 16 (intérieur des vaisseaux) vs 216 ± 14 (*lamina propria*)
→ augmentation de la perméabilité vasculaire 4X ($p < 0.0001$)

Matysiak et al, DDW 2009

EMC: Conclusions

- **Pratique clinique: technique prometteuse mais études randomisées, multicentriques, nécessaires, rapport coût (temps)/bénéfice à considérer, intérêt particulier: voir au déla de l'histologie**
- **Recherche: outil très intéressant, études nécessaires**
- **Progrès techniques à attendre**

Endocytoscopie



Endocytoscope
(Prototype)

- **Principe: microscopie optique de contact**
- **Source d'éclairage: lumière blanche halogène**
- **Sonde de 3,4 mm**
- **Coloration locale: BM**
- **Observation de la couche superficielle de la muqueuse digestive:**
 - Cellules épithéliales
 - Noyaux
 - Densité cellulaire
 - Rapport: cytosol/noyaux
 - Réseau microvasculaire
- **Images dynamiques en temps réel**

La technique parfaite?



La technique parfaite?

- Pas de colorant
- Visualisation à l'échelle cellulaire: noyaux, organelles cellulaires,
- Facilité d'utilisation: mini-sonde adaptée à tous les endoscopes
- Couche superficielle et couches plus profondes, (*lamina propria* → inflammation)
- Coupes horizontales et verticales
- ?



Merci