

Endomicroscopie confocale

Tamara Matysiak-Budnik

**Hépatogastroentérologie & 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: fluorescéine (iv), acriflavine (local)

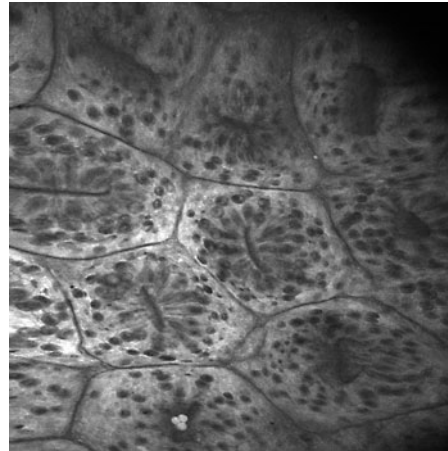
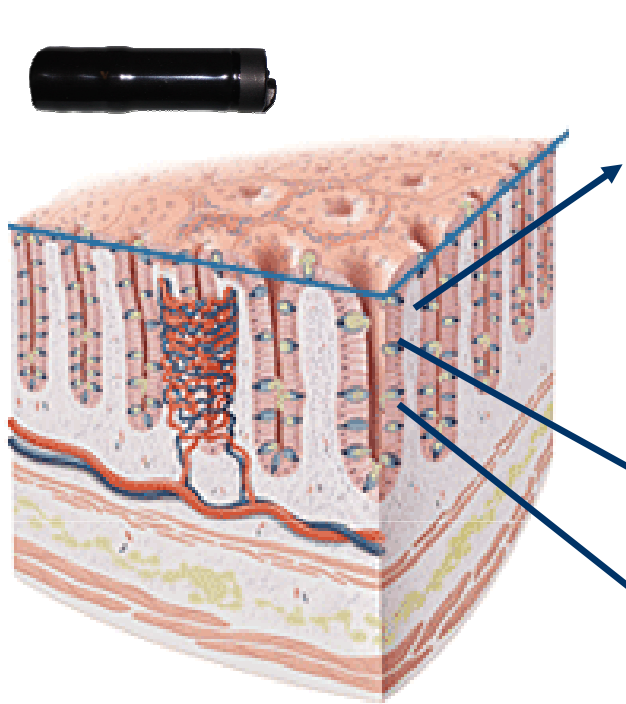


Endomicroscope Pentax
Microscope confocal miniaturisé
incorporé dans l'endoscope

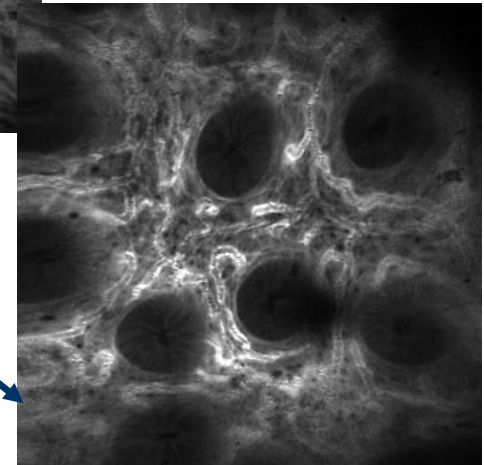
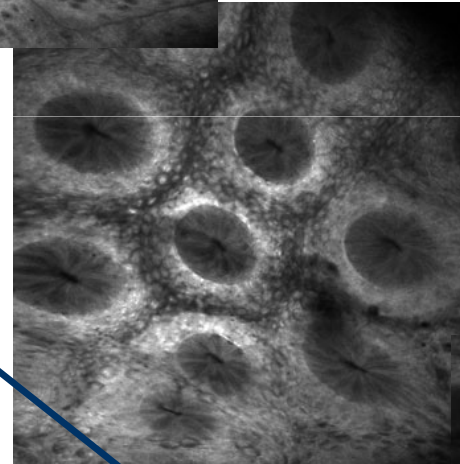


**CellVizio® (Mauna Kea
Technologies, France)**
Sonde d'endomicroscopie confocale
introduite dans un endoscope standard

Endomicroscopie Confocale /Pentax



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

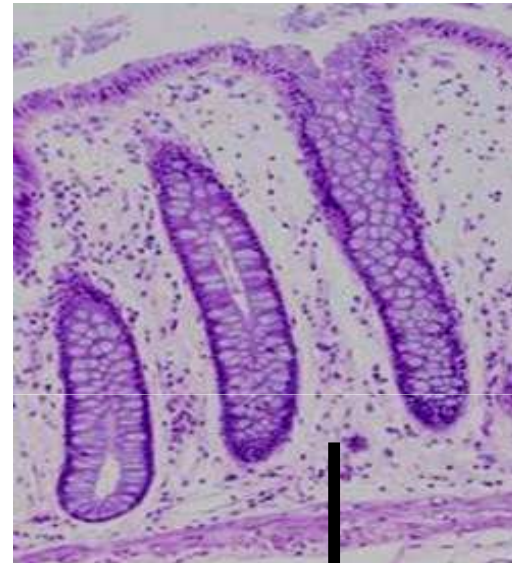
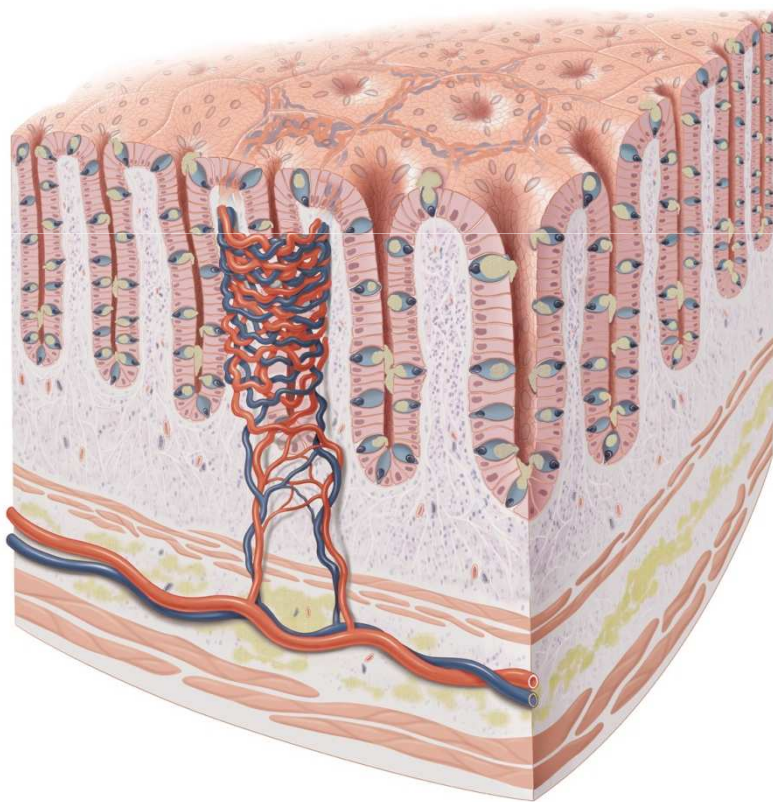


Biopsies optiques

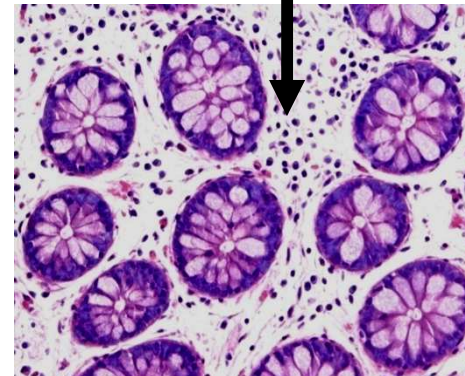
- Glandes, cellules caliciformes, espaces inter-glandulaires et inter-cellulaires
- Pas d'observation des noyaux

Orientation des coupes:

Biopsies standards vs endomicroscopie



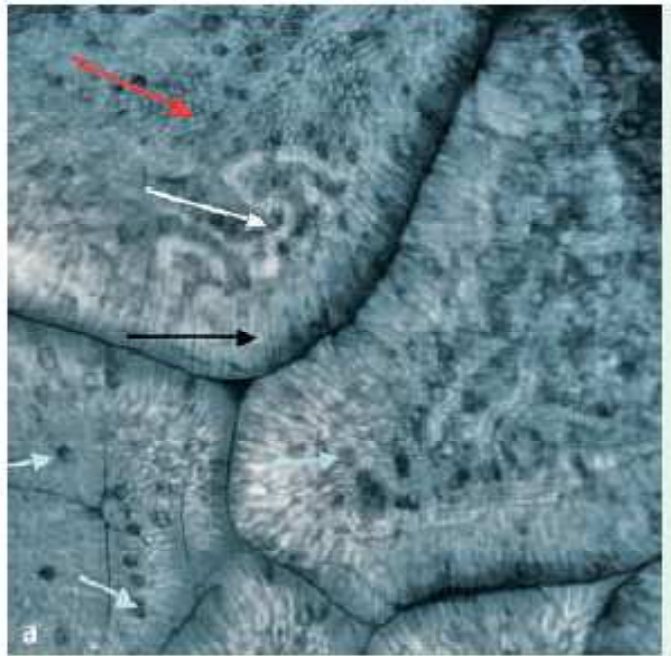
**Coupe
verticale
(Biopsie
standard)**



**Coupe
horizontale
(Biopsie
virtuelle)**

Duodénum normal

Correlation biopsie standard - endomicroscopie



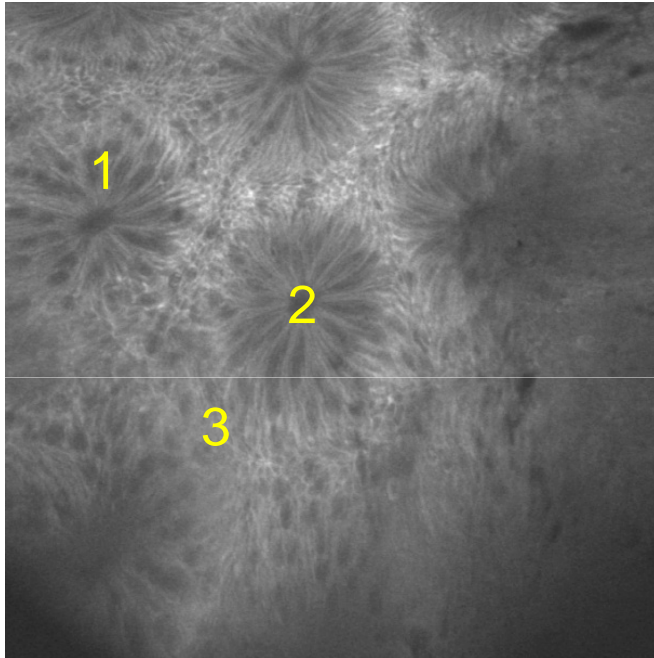
**Endomicroscopie
confocale**



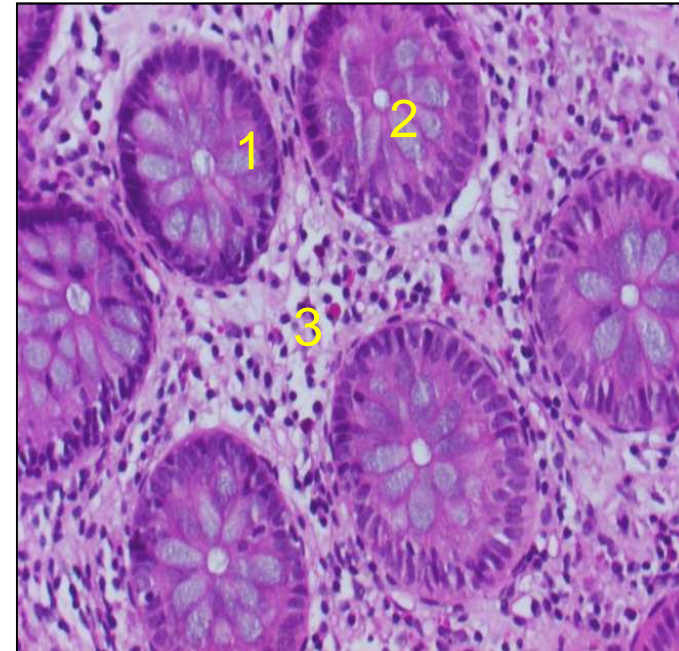
Histologie classique (H&E)

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

Colon normal



Endomicroscopie confocale

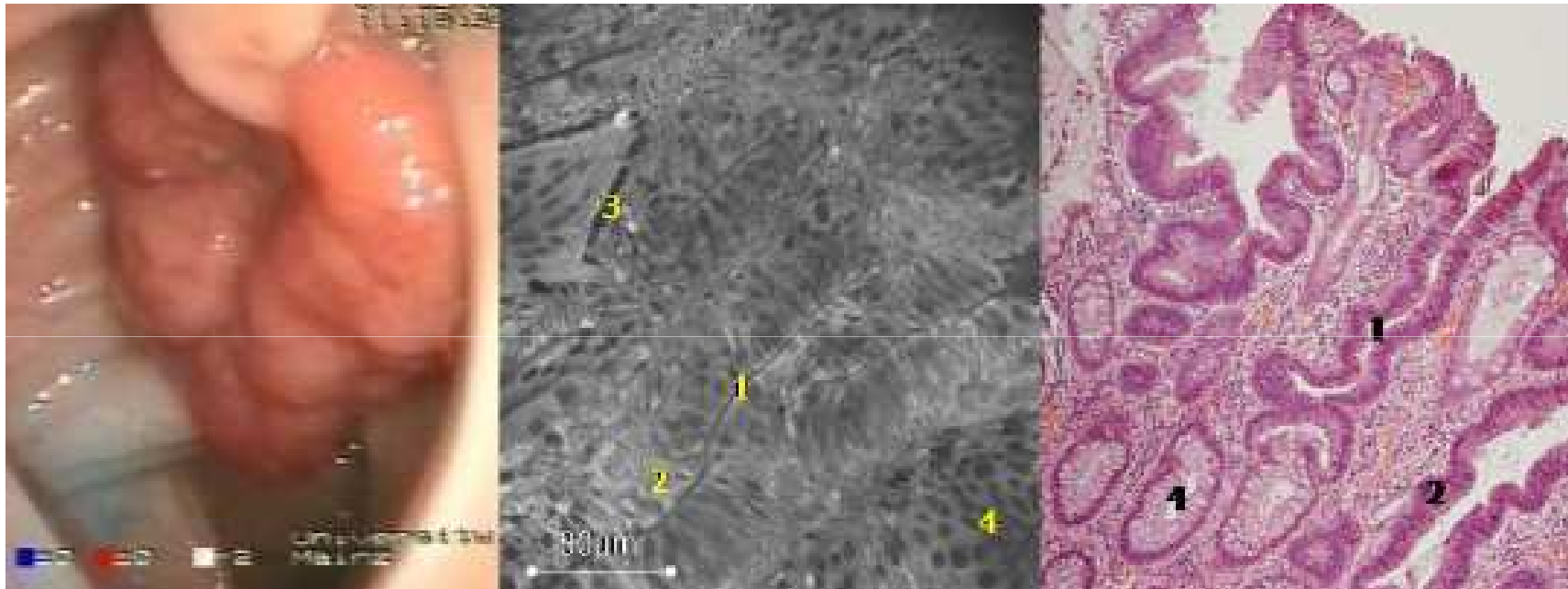


Histologie classique (H&E)

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 allongées

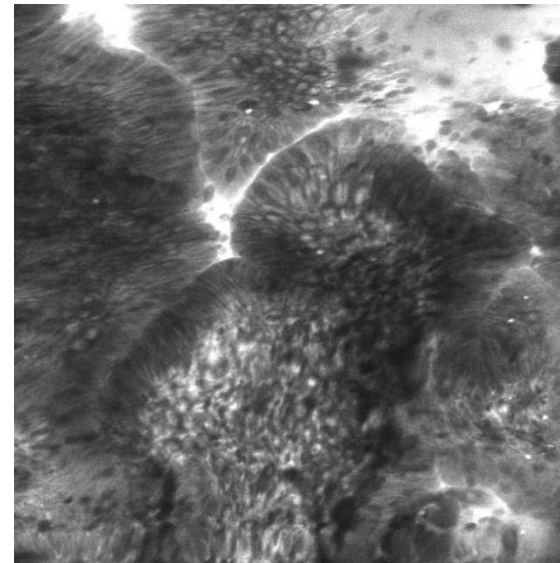
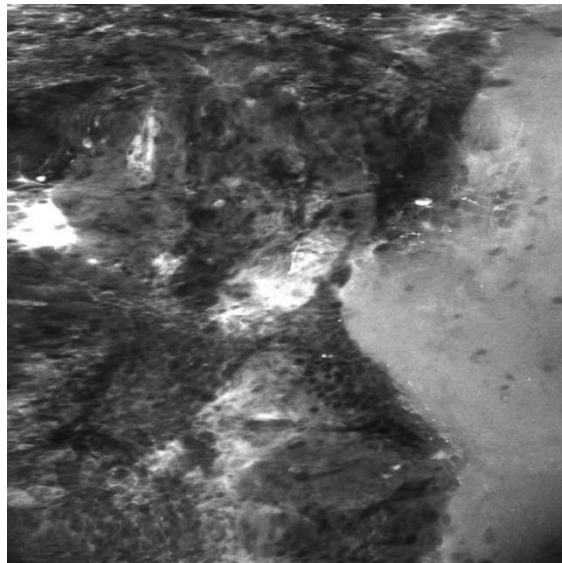
2 Perte des cellules caliciformes

3 Perte des jonction cellulaires

4 Cryptes d'aspect normal

Kiesslich Gastroenterology 2004

Cancer du sigmoïde



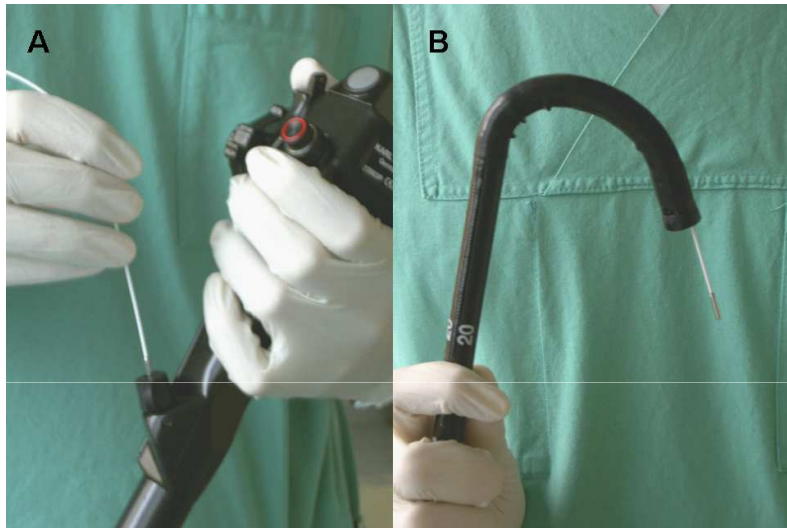
E. Coron, données personnelles

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: 1µm - 240µm - 60µm
- Type Z: 3.5µm- 600 µm - 100 µm
- Type S: 3.5 µm - 600 µm - 15 µm

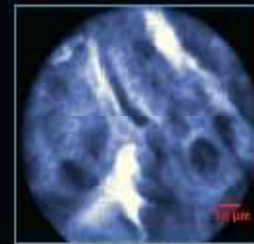
→ **UHD (*Ultra High Definition*):**
x 1000 - 240 µm-100 µm

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



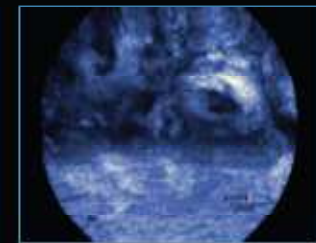
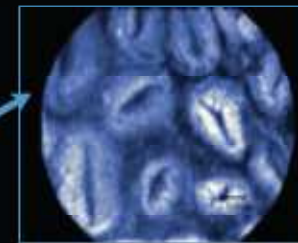
Exploring the entire GI tract

Esophagus



GastroFlex
GastroFlex^{UHD}

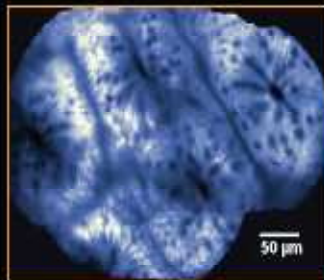
Stomach



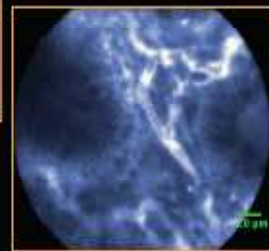
Duodenum and
small intestine



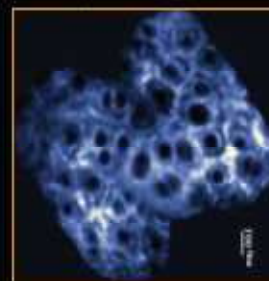
ColoFlex
ColoFlex^{UHD}



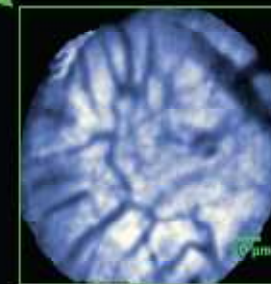
Colon



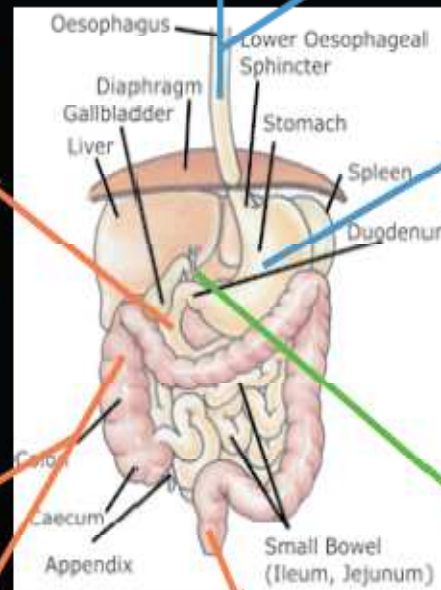
Rectum



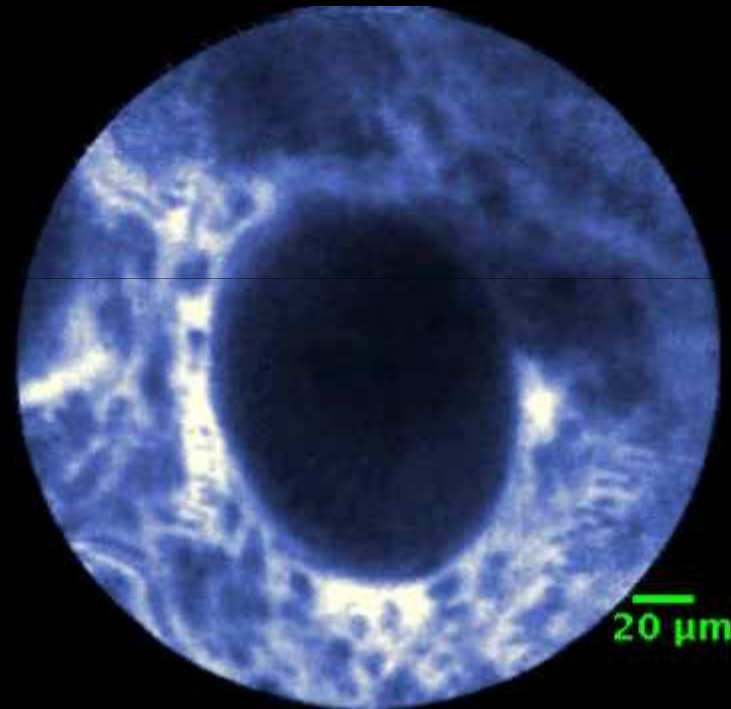
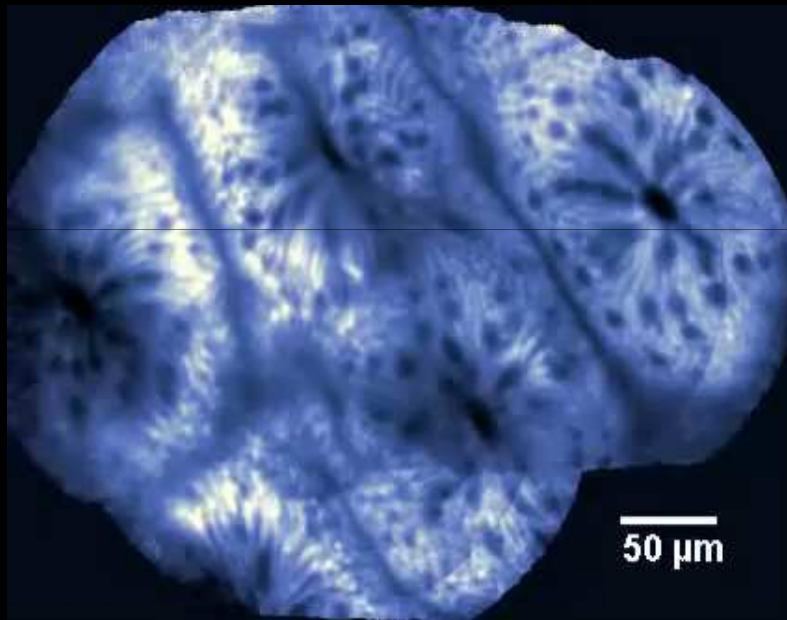
Bile duct



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*

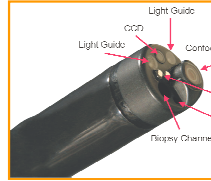
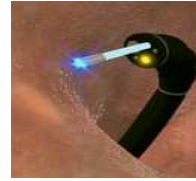
Meining et al, Gastrointest Endosc 2007

Morgner et al, Clin Gastroenterol Hepatol 2007

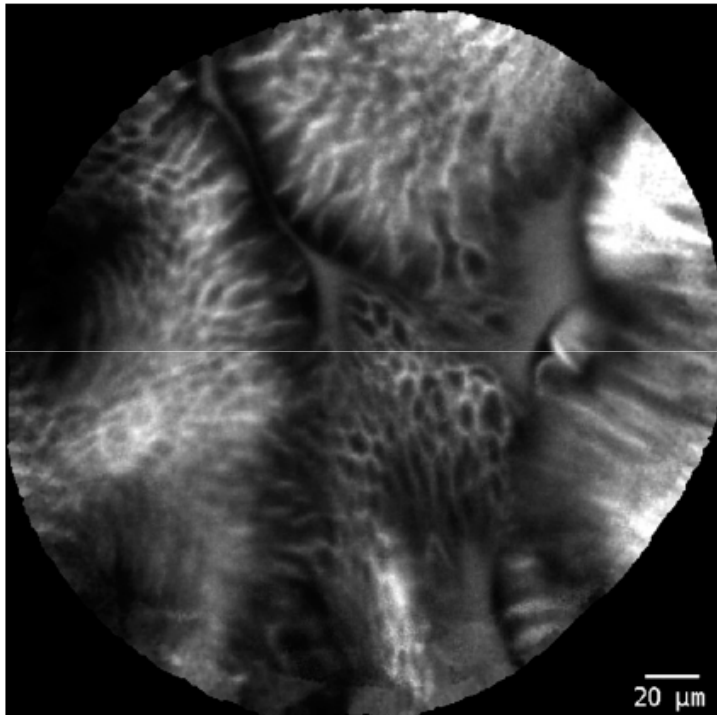
Meining et al, Clin Gastroenterol Hepatol 2008

Ji et al, J Gastroenterol Hepatol 2010

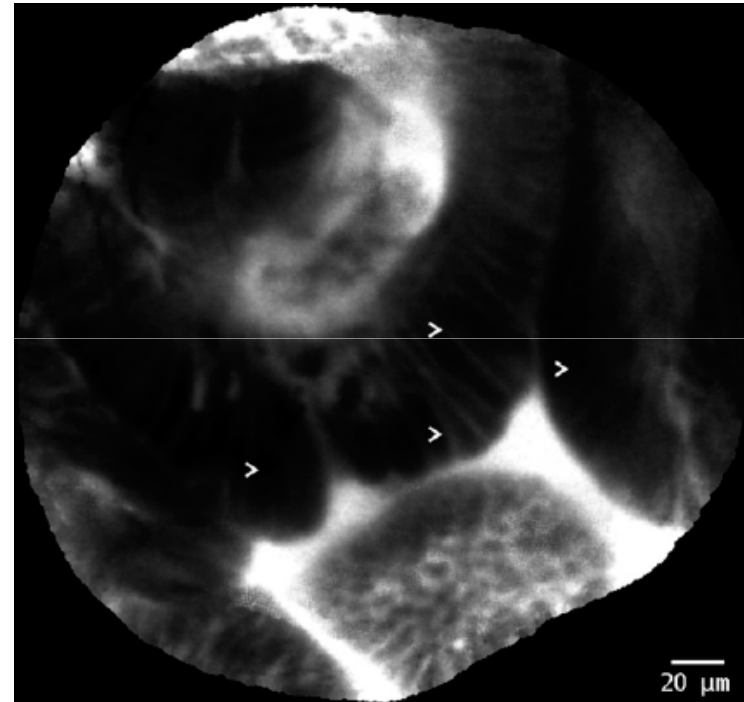
Comparaison des techniques

	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

Wallace et al Gastrointest Endosc 2010

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**

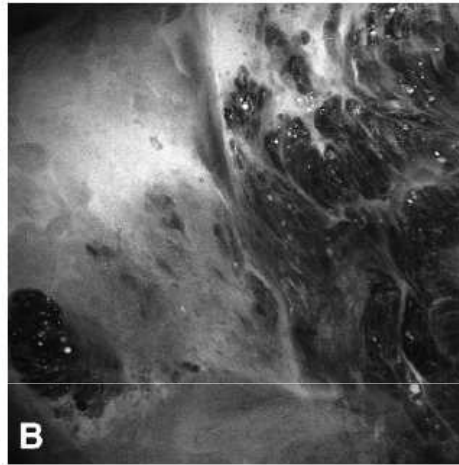
Diminuer le nombre de biopsies par l'EMC

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

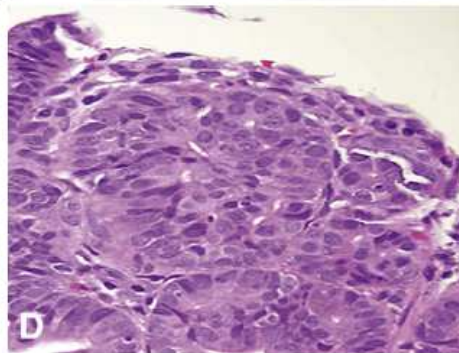
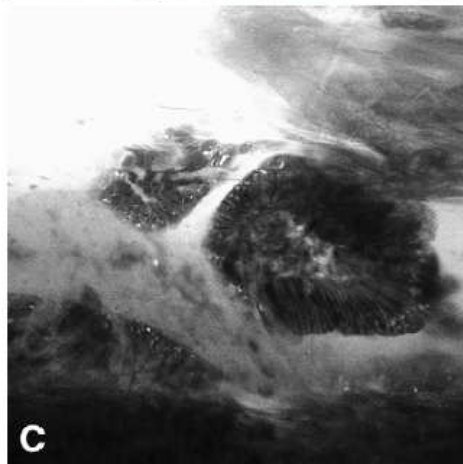
	High-risk group, n = 16 (suspected HGD or CA)			Surveillance group, n = 23		
	CLE-TB	SE-RB	P	CLE-TB	SE-RB	P
Mean number of biopsies with HGD or CA (range)	3.1 (0-15)	3.7 (0-19)	.89	0	0	1.0
Mean number of mucosal biopsy specimens obtained (range)	9.8 (1-22)	23.7 (3-41)	.002	1.7 (0-12)	12.6 (1-28)	<.0001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



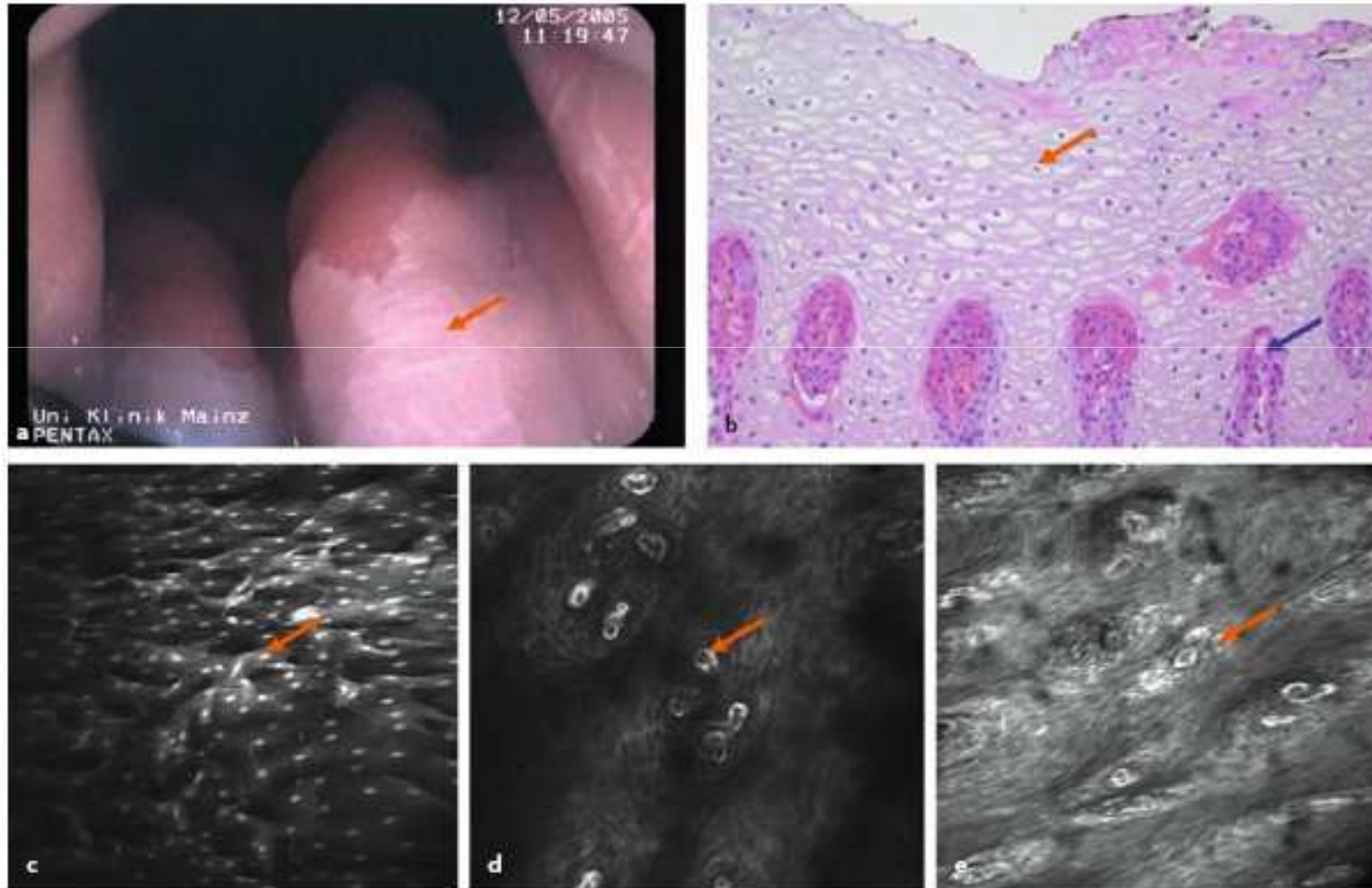
← EMC avant le geste



← Histologie de la pièce
de mucosectomie

Endobrachyoesophage
+ dysplasie de haut grade

Aide au diagnostic: Reflux sans oesophagite



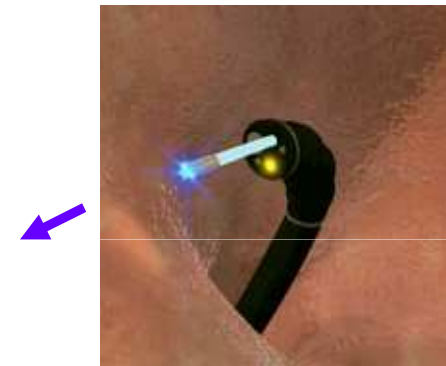
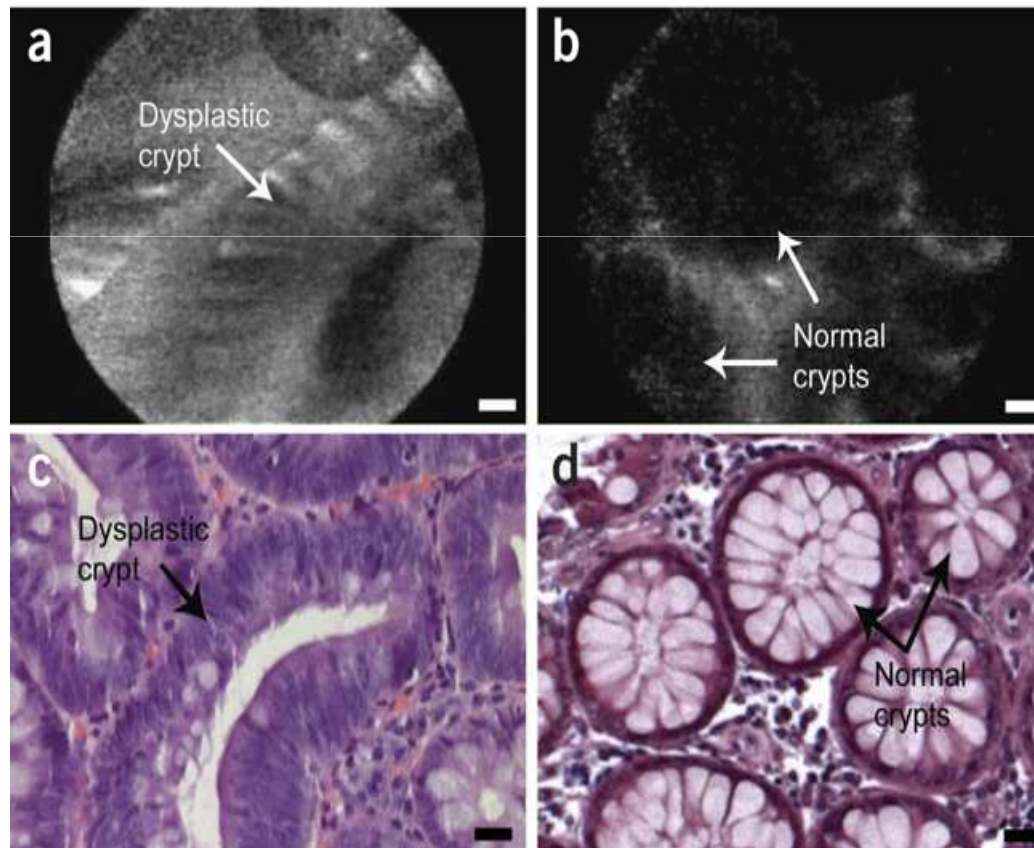
Kiesslich DDW 2007; Dunbar DDW 2009

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

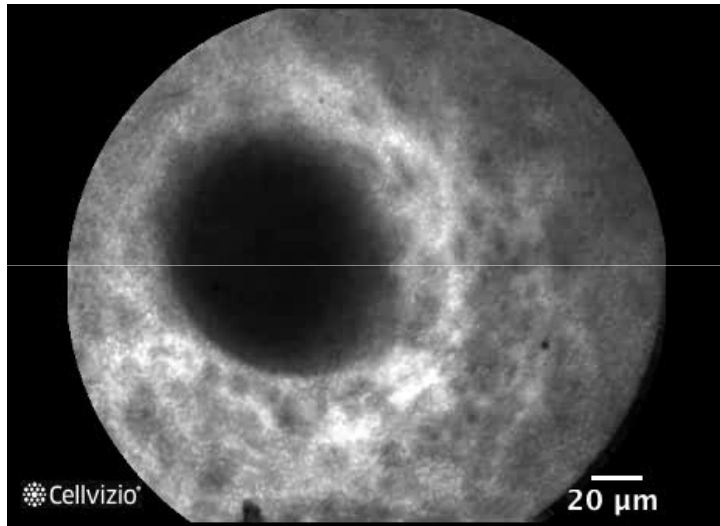
« Phage display peptide libraries » → VRPMPLQ



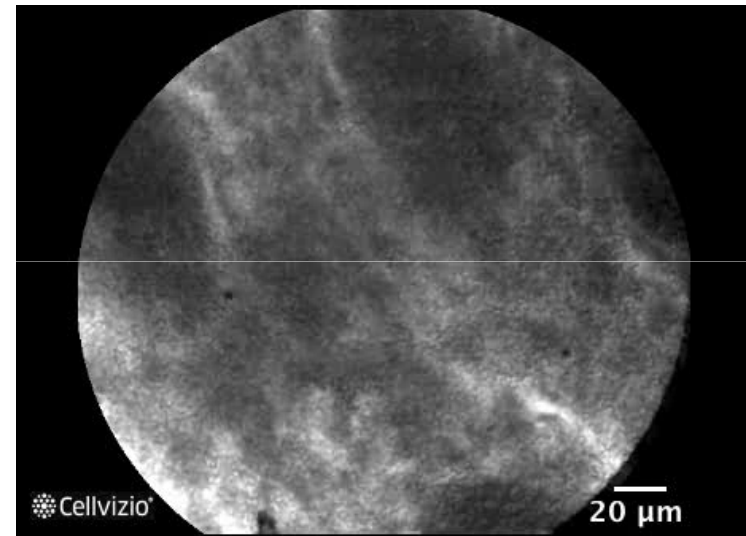
Sen: 81%
Spe: 83%

Hsiung et al, Nature Medicine 2008;14, 454

Etude du réseau microvasculaire *in vivo* par EMC



Colon normal



MICI en rémission

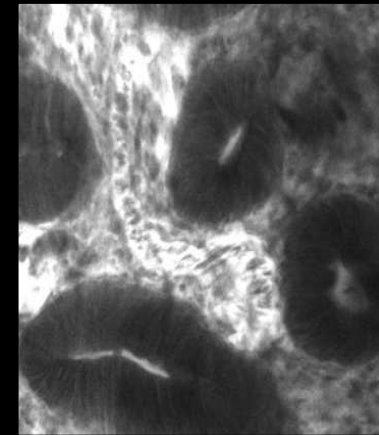
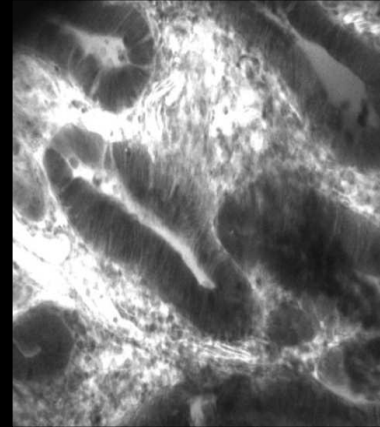
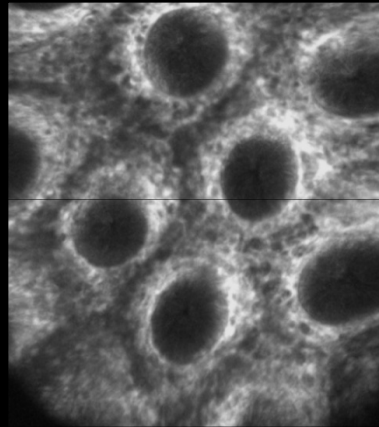
Coron et al, DDW 2010

Altérations du réseau microvasculaire dans les adénomes coliques

Muqueuse
normale

Polype

Endo-
microscopie
confocale



Immuno-
Fluorescence
(anti-VEGF)



SIF: 223 ± 16 (intérieur des vaisseaux) vs 216 ± 14 (*lamina propria*)
→ augmentation de la perméabilité vasculaire
4X ($p < 0.001$)

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

