

## DOSSIER THÉMATIQUE : LE CHOLANGIOMCARCINOME

### Endomicroscopie confocale par mini-sonde (ECM) : quelle place dans les sténoses biliaires en 2012 ?

#### *Miniprobe confocal endomicroscopy for biliary stenosis: which place in 2012?*

Marc Giovannini, Fabrice Caillol, Erwan Bories, Christian Pesenti, Flora Poizat, Geneviève Monges

Institut Paoli-Calmettes, 232 Boulevard Ste-Marguerite, F-13273 Marseille Cedex 9

[uemco@marseille.fnclcc.fr](mailto:uemco@marseille.fnclcc.fr)

#### ■ Résumé

L'endomicroscopie confocale est une technique émergente qui permet la réalisation de véritables biopsies optiques au niveau du tractus digestif. Le diagnostic histologique pré-opératoire du cholangiocarcinome reste toujours très difficile avec une fiabilité très basse. Pour essayer d'améliorer cette situation, certaines équipes ont évalué la microscopie confocale pour la détection *in vivo* du cholangiocarcinome.

Récemment des mini-sondes de microscopie confocale ont été développées permettant d'obtenir une histologie *in vivo*. Les images sont obtenues après injection de fluoroscéine qui permet une meilleure visualisation des vaisseaux sanguins. Etant donné que la néo-angiogénèse est un des premiers événements de la cancérogenèse, la mise en évidence d'une néo-vascularisation anarchique serait fortement évocatrice d'une transformation maligne. Cet article va

#### Mots-clés

Sténose biliaire, Cholangiocarcinome, Microscopie confocale, Cholangio-pancréatographie endoscopique rétrograde

#### ■ Abstract

Confocal endomicroscopy is an emergent technique allowing for real optical biopsies in the GI tract. The preoperative diagnosis of cholangiocarcinoma is associated with a low sensitivity. To overcome this limitation, a new imaging modality was evaluated to detect neoplasia *in vivo* in the biliary tract. Recently, confocal mini-probes have been introduced, enabling *in vivo* histopathology. Images can be acquired after intravenous application of fluorescein. This approach has the further benefit to make blood vessels clearly visible. Because angiogenesis has been mentioned as an essential step in the development of cancers, documentation of blood flow, vessel density, and configuration might be relevant. This paper refers to the literature data regarding this new diagnostic technique

#### Keywords

Biliary stenosis, Cholangiocarcinoma, Confocal microscopy, Endoscopic retrograde cholangiopancreatography

essayer de faire le point sur les données de la littérature concernant cette nouvelle technique appliquée aux sténoses biliaires d'origine indéterminée. Des critères de la malignité ont déjà été établis en 2009 et publiés en 2011 sous le nom des critères de Miami. Depuis, deux études comparatives (Confocal I vs Brossage et biopsies biliaires per CPRE) ont montré la supériorité de la microscopie confocale avec une fiabilité de 83 à 86 % pour le diagnostic de malignité *versus* 50 à 53 % pour l'histologie standard.

L'endomicroscopie confocale biliaire représente un progrès incontestable dans le diagnostic de malignité des sténoses biliaires indéterminées ; néanmoins, d'autres études restent nécessaires notamment pour définir les critères de sténoses inflammatoires afin de pouvoir différencier cholangite sclérosante primitive et cholangiocarcinome.

for undetermined biliary strictures. Malignancy criteria were described during a meeting in Miami in 2009 and published on the same year as Miami's criteria. Two studies reported the superiority of confocal microscopy *versus* the conventional brush cytology or ERCP guided biopsies with an accuracy of 83 to 86% vs. 50-53%. The last study has reported a high negative predictive value of the confocal microscopy around 93%.

Intraductal confocal microscopy represents a huge progress in the diagnostic of undetermined biliary strictures, but a better definition of benign criteria will be necessary to differentiate cholangiocarcinoma from primary sclerosing cholangitis.

## ■ Introduction

L'endomicroscopie est l'adaptation en endoscopie digestive de la microscopie optique traditionnelle, grâce à l'intégration de microscopes miniaturisés permettant l'étude de la muqueuse digestive à l'échelon cellulaire. Du point de vue technique, il s'agit d'illuminer la muqueuse digestive préalablement marquée par une molécule fluorescente à l'aide d'un laser argon de faible puissance, et de sélectionner les photons provenant du même plan focal dans une zone d'intérêt, afin de créer une section optique de cette zone.

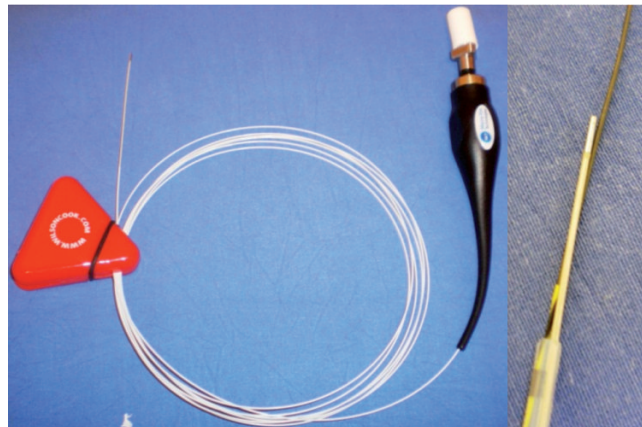
Les tumeurs des voies biliaires et du pancréas posent souvent un problème pour obtenir un diagnostic histologique pré-thérapeutique. Environ, 15 % des sténoses biliaires sont bénignes (cholangite sclérosante) et sont considérées (et parfois traitées) à tort comme des cholangiocarcinomes [1,2] et 20-25 % des masses pancréatiques diagnostiquées en tomodensitométrie ne sont pas des adénocarcinomes (tumeurs bénignes, tumeurs endocrines, pancréatite chronique pseudo-tumorale). L'obtention d'un diagnostic cytologique ou histologique d'un cholangiocarcinome est difficile, le brossage ou la biopsie endocanalaire lors de la cholangiographie endoscopique rétrograde n'a qu'une fiabilité de 30 à 50 % et bon nombre de patients sont traités sans preuve histologique. La biopsie guidée par échoendoscopie permet d'obtenir dans environ 90 %, la preuve histologique d'un cancer du pancréas, mais elle nécessite un deuxième examen endoscopique.

L'endomicroscopie confocale est une technique émergente permettant la réalisation de véritables biopsies optiques au niveau du tube digestif. L'ECM consiste à illuminer la muqueuse digestive, préalablement marquée par une molécule fluorescente (la fluorescéine), à l'aide d'un laser argon de faible puissance, afin de visualiser des coupes de tissus au niveau microscopique, *in vivo* et en temps réel.

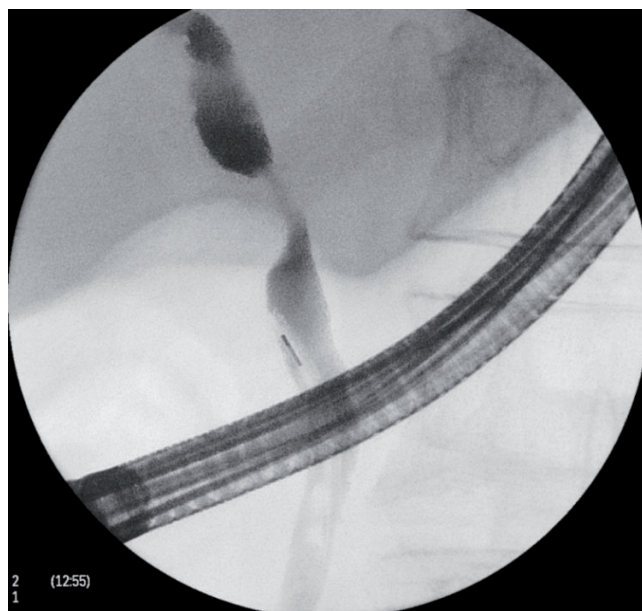
La minisonde confocale est insérée dans le canal opérateur de l'endoscope (via un cathéter ou un cholangioscope pour les voies biliaires et pancréatiques), puis elle est appliquée au contact de la muqueuse digestive. Grâce à un grossissement allant jusqu'à 1 000 (résolution de 1 micron), elle permet d'analyser l'architecture épithéliale et les vaisseaux. Ainsi, la différenciation de l'architecture épithéliale du tissu normal, métaplasique, ou néoplasique devient possible.

## ■ Technique de l'ECM dans les voies biliaires

L'ECM est réalisée au décours de la CPRE en utilisant un cathéter double voie de 10F (Cook-Endoscopy). La minisonde de microscopie confocale (Fig. 1, 2) d'un diamètre de 0,96 mm, est introduite dans un cathéter double-voie lui-même positionné dans les voies biliaires grâce à un fil guide de 0,035 inches (Jagwire – Boston Scientific ou Metro-wire – Cook Endoscopy). Le matériel utilisé pour l'ECM est la mini sonde Cholangioflex de Cellvizio



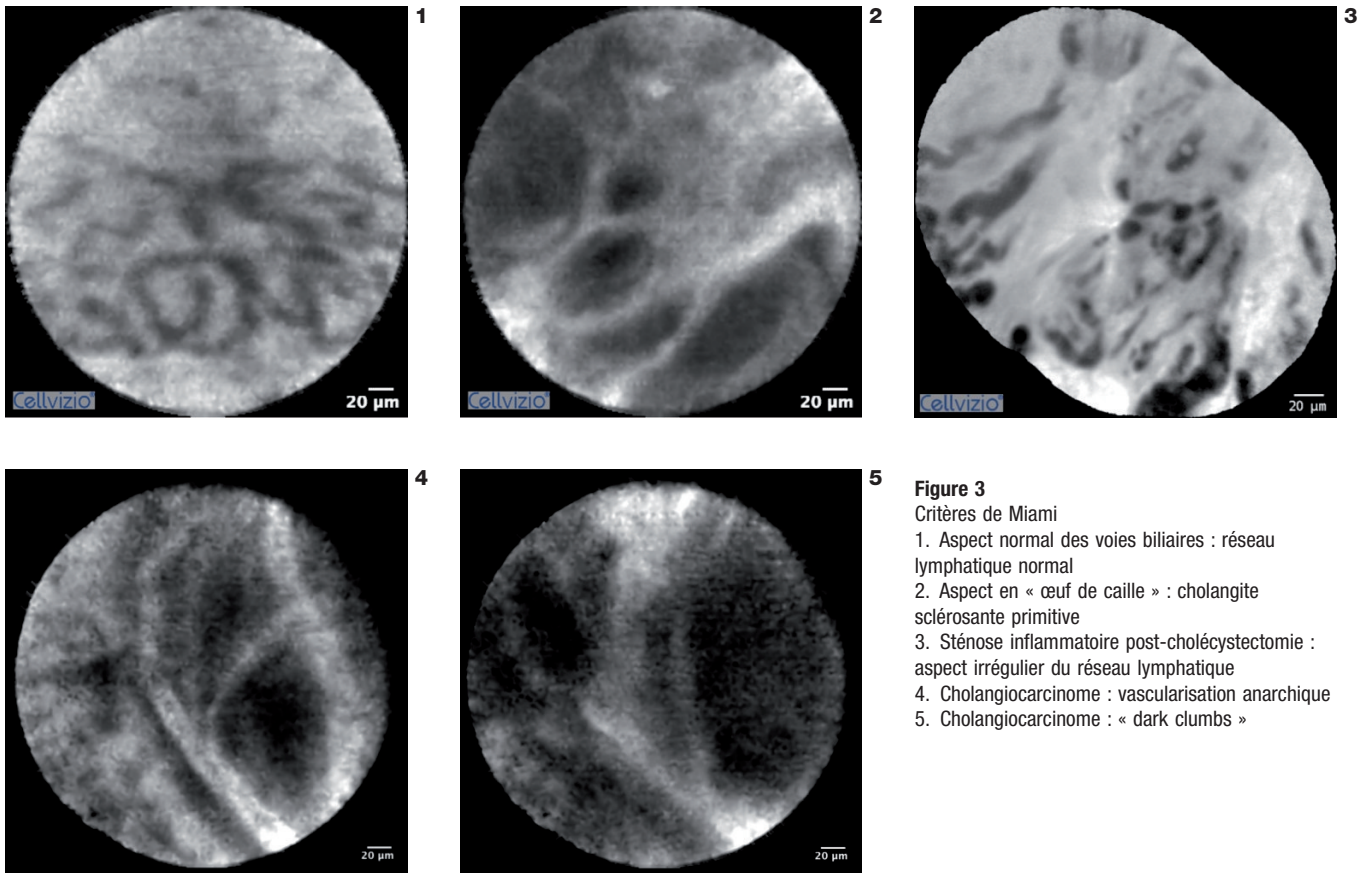
**Figure 1**  
Minisonde cholangioflex (Cellvizio-Maunakea Company)



**Figure 2**  
Minisonde et CPRE

Technology (Mauna-Kea Company). Le degré de pénétration de la mini sonde Cholangioflex est de 20 microns avec un grossissement de 400 fois (Fig. 3). L'examen et l'ensemble des images sont enregistrés sur le disque dur de l'ordinateur connecté au microscope confocal. Une injection I.V. de 2,5 ml fluorescéine à 10 % est nécessaire afin d'obtenir des images interprétables.

L'examen en mode endomicroscopie requiert d'une part, un allongement modéré du temps d'examen sous anesthésie générale et d'autre part, le marquage de la muqueuse digestive par l'injection intraveineuse de 5 à 10 ml de fluorescéine à 10 %. L'injection intraveineuse de fluorescéine en endomicroscopie a été validée par les comités d'éthique des hôpitaux de Cabrini



**Figure 3**

Critères de Miami

1. Aspect normal des voies biliaires : réseau lymphatique normal
2. Aspect en « œuf de caille » : cholangite sclérosante primitive
3. Sténose inflammatoire post-cholecystectomie : aspect irrégulier du réseau lymphatique
4. Cholangiocarcinome : vascularisation anarchique
5. Cholangiocarcinome : « dark clumps »

(Melbourne, Australie), Frankston (Melbourne, Australie), Mayence (Allemagne) et Nagoya (Japon) [3,4,5]. L'injection intraveineuse de fluorescéine est également utilisée depuis près de 30 ans en ophtalmologie afin de réaliser les angiographies nécessaires à l'examen du fond d'œil. Une large série rétrospective a rapporté les effets secondaires à l'injection intraveineuse de fluorescéine dans cette indication. Parmi les 2 671 procédures réalisées entre juin 1998 et juin 2004 avec la fluorescéine Alcon 10 % (également utilisée dans les études publiées sur l'endomicroscopie par l'équipe de Mayence), 60 étaient compliquées d'effets secondaires bénins à type de nausées ou vomissements modérés soit 2,2 %. Aucun effet indésirable grave ni décès n'a été rapporté. Cette publication concluait sur le fait que l'injection intraveineuse de fluorescéine était une procédure non dangereuse à condition de prendre en compte les antécédents allergiques du patient et de réaliser l'examen dans un environnement incluant la possibilité de réanimation dans l'hypothèse d'un accident allergique grave.

## ■ Données de la littérature

La première étude de faisabilité publiée montrait une excellente sensibilité de l'ECM dans le diagnostic des sténoses

indéterminées des voies biliaires et pancréatiques : 83 % sur une série de 14 patients dans cette étude de Meining *et al.* [8]. D'autres études ont confirmé l'apport de l'ECM dans cette indication. Une étude monocentrique française, menée par Giovannini *et al.* [9] a confirmé ces premiers résultats : 37 patients (23 H) ont eu une CPRE pour calculs biliaires (7 cas) ou pour une sténose de la voie biliaire principale (30 cas). L'ECM a été réalisée durant la CPRE en utilisant la technique « probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) ». Les images obtenues ont été revues par un anatomopathologiste spécialisé en gastroentérologie et comparées aux données de la CPRE, aux biopsies obtenues lors de la CPRE ou de la biopsie guidée par EUS et à la pièce de résection chirurgicale chez 15 patients (duodéno pancréatectomie céphalique).

Aucune complication n'est survenue au cours de cette étude. La présence de vaisseaux irréguliers de plus de 20 µm de diamètre et de gros amas de cellules sombres (dark clumps) était corrélée au diagnostic de sténose maligne avec une fiabilité de 86 %, une sensibilité de 83 %, et une spécificité de 75 %. En comparaison, la fiabilité, sensibilité et spécificité de la biopsie per CPRE étaient respectivement de 53, 65, et 53 %. Il apparaît donc clairement dans cette étude que l'apport de l'ECM dans les voies biliaires est important notamment pour la caractérisation des sténoses

tumorales. Leblanc *et al.* [10] a également montré l'intérêt de coupler l'ECM à la cholangioscopie par SpyGlass (Boston Scientific) dans une série préliminaire de 9 patients.

Au niveau international, une étude multicentrique prospective (Cellvizio ERCP registry) a été menée par Chen *et al.* [11]. Dans un premier temps, cette étude a permis de développer, tester et valider les critères diagnostiques dits de Miami, prédictifs de bénignité et de malignité (Fig. 3). Dans un deuxième temps, l'efficacité de l'ECM dans le diagnostic des voies biliaires et pancréatiques a été évaluée. Quarante-neuf patients ont été inclus dans 5 centres et ont été retenus pour l'analyse : lors de la première procédure CPRE, seuls 18 patients sur 40 atteints d'une sténose maligne ont été détectés par biopsie ou brossage cytologique (soit une sensibilité de 45 %, conforme à la littérature), alors que l'ECM a permis de détecter 39 de ces 40 patients, soit une sensibilité de 98 %. Vingt-sept des 40 patients ont eu une CPRE avec cholangioscopie sans qu'apparaisse de différence significative de la précision diagnostique de l'ECM entre les deux méthodes permettant de positionner la mini sonde confocale (cathéter ou cholangioscope). Plus important, la valeur prédictive négative de l'ECM dans cette étude étant de 97 %, il paraît envisageable de se fier à un résultat négatif de l'ECM obtenu en cours de procédure, permettant de diminuer le taux de patients opérés à tort d'une sténose bénigne.

Il existe dans les différentes séries publiées quelques rares dossiers de faux positifs. Ces dossiers ont été revus en seconde lecture par un comité d'experts. Il apparaît que ces faux positifs peuvent être pratiquement tous éliminés en respectant un certain nombre de principes : pratiquer l'ECM avant toute autre procédure endo-biliaire (notamment dilatation), et exiger au moins 3 critères de Miami pour le diagnostic de malignité.

L'approche actuelle oppose aspect normal ou anormal, ce dernier étant synonyme de malignité. Ce raccourci binaire doit être amélioré en tenant compte notamment des aspects inflammatoires, avec comme signes principaux : l'épaississement du réticulum, l'augmentation en nombre, en calibre et en flux des vaisseaux, l'élargissement de l'espace inter-glandes avec un aspect en « œuf de caille ».

## ■ Discussion

Les avantages de cette technique sont différents selon le type de pathologie étudiée ; en effet, il faut distinguer les pathologies néoplasiques et non- néoplasiques.

### Dans le cas des pathologies néoplasiques

Il est envisageable d'atteindre un triple objectif : 1) améliorer la détection des zones cancéreuses ; 2) mieux orienter les biopsies standards. Ainsi, cette technique permettrait de limiter d'une part, le risque d'erreur d'échantillonnage et d'autre part, le risque physique de saignement ou de perforation lié aux biopsies ; et 3) à terme, obtenir un diagnostic en temps réel permettant de réaliser un geste adapté au cours de la même endoscopie,

comme par exemple mettre en place une prothèse biliaire métallique définitive ou en cas de cholangite sclérosante initier un traitement par acide ursodésoxycholique.

### Dans le cas de pathologies non néoplasiques

Cette technique pourrait permettre d'obtenir des paramètres complémentaires à l'endoscopie standard et indiquer une surveillance clinique et radiologique comme par exemple, en cas de tumeur mucineuse intracanalair pancréatique.

Néanmoins, l'interprétation des images de la paroi de la voie biliaire par rapport aux données histopathologiques reste débattue. En effet, si les critères de Miami pour la distinction malin-bénin sont significativement supérieurs aux résultats du brossage et/ou de la biopsie endo-biliaire [8,9,10], leurs corrélations anatomo-pathologiques n'ont pas été clairement définies. L'article récemment publié par Loeser *et al.* [12] a étudié la corrélation des images en ECM avec l'histologie des voies biliaires normales et des cholangiocarcinomes. La reconstruction multiphotonique de la paroi de la voie biliaire a montré que l'aspect réticulaire de la voie biliaire normale en ECM correspondrait au réseau lymphatique normal ; cet aspect ne serait jamais retrouvé en cas de cholangiocarcinome et aurait donc une très bonne valeur négative prédictive.

## ■ Conclusion

Dans ce problème difficile des sténoses bilio-pancréatiques indéterminées, l'ECM apporte une démarche novatrice car elle permet, au cours d'une procédure endoscopique unique, un temps diagnostique plus performant que les techniques antérieures, et un complément thérapeutique immédiat.

Les améliorations en vue portent sur le développement de sondes encore plus performantes, introduites éventuellement par échocodoscopie, pour une meilleure approche des pathologies kystiques du pancréas.

## ■ Références

1. Anderson CD, Pinson CW, Berlin J, Chari RS. Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma. *Oncologist* 2004;9:43-57.
2. Fevery J, Verslype C, Lai G, Aerts R, Van Steenberghe W. Incidence, diagnosis, and therapy of cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *Dig Dis Sci* 2007;52:3123-35.
3. Uhlmann D, Wiedmann M, Schmidt F, Kluge R, Tannapfel A, Berr F, et al. Management and outcome in patients with Klatskin-mimicking lesions of the biliary tree. *J Gastrointest Surg* 2006;10(8):1144-50.
4. Puhalla H, Schuell B, Pokorny H, Kornek GV, Scheithauer W, Gruenberger T. Treatment and outcome of intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Am J Surg* 2005;189(2):173-7.
5. Rosch T, Hofrichter K, Frimberger E, Meining A, Born P, Weigert N, et al. ERCP or EUS for tissue diagnosis of biliary strictures? A

- prospective comparative study. *Gastrointest Endosc* 2004;60(3):390-6.
6. Ponchon T, Gagnon P, Berger F, Labadie M, Liaras A, Chavaillon A, et al. Value of endobiliary brush cytology and biopsies for the diagnosis of malignant bile duct stenosis: results of a prospective study. *Gastrointest Endosc* 1995;42(6):565-72.
  7. Schoefl R, Haefner M, Wrba F, Pfeffel F, Stain C, Poetzi R, et al. Forceps biopsy and brush cytology during endoscopic retrograde cholangiopancreatography for the diagnosis of biliary stenoses. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32(4):363-8.
  8. Wallace M, Lauwers GY, Chen Y, Dekker E, Fockens P, Sharma P, Meining A. Miami classification of probe-based Confocal Laser Endomicroscopy findings in patients with pancreaticobiliary strictures. *Endoscopy* 2011;43(10):882-91.
  9. Giovannini M, Bories E, Monges G, Pesenti C, Caillol F, Delpero JR. Results of phase I-II study on intraductal confocal microscopy (IDCM) in patients with common bile duct (CBD) stenosis. *Surg Endosc* 2011 ;25(7):2247-53. Epub 2011 Mar 18.
  10. Leblanc S, Vienne A, Chaput U, Duchmann JC, Boyer J, Mangialavori L, Gaudric M, Chaussade S, Prat F. Combined cholangioscopy (Spyglass®) and probe-based Confocal Laser Endomicroscopy (pCLE- in undetermined biliary stenosis: preliminary results. *Endoscopy* 2011; 43:263.
  11. Meining A, Chen YK, Pleskow D, Stevens P, Shah RJ, Chuttani R, Michalek J, Slivka A. Direct visualization of indeterminate pancreaticobiliary strictures with probe-based confocal laser endomicroscopy: a multi-center experience. *Gastrointest Endosc* 2011;74(5):961-8. Epub 2011 Jul 29.
  12. Loeser CS, Robert ME, Mennone A, Nathanson MH, Jamidar P. Confocal endomicroscopic examination of malignant biliary strictures and histologic correlation with lymphatics. *J Clin Gastroenterol* 2011, 45; 246-52.