



HAL
open science

Valeur diagnostique de la microscopie confocale fibrée en fluorescence sur le liquide de lavage broncho-alvéolaire pour le diagnostic de pneumopathie à l'amiodarone chez les patients non-fumeurs

Nicolas Delberghe

► To cite this version:

Nicolas Delberghe. Valeur diagnostique de la microscopie confocale fibrée en fluorescence sur le liquide de lavage broncho-alvéolaire pour le diagnostic de pneumopathie à l'amiodarone chez les patients non-fumeurs. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02399967

HAL Id: dumas-02399967

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02399967>

Submitted on 22 Apr 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

D.E.S. DE PNEUMOLOGIE

PAR

NICOLAS DELBERGHE

NE LE 29 MAI 1990 A ROUBAIX

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE MERCREDI 18 SEPTEMBRE 2019

**VALEUR DIAGNOSTIQUE DE LA MICROSCOPIE CONFOCALE FIBREE EN FLUORESCENCE SUR LE
LIQUIDE DE LAVAGE BRONCHO-ALVEOLAIRE POUR LE DIAGNOSTIC DE PNEUMOPATHIE A
L'AMIODARONE CHEZ LES PATIENTS NON-FUMEURS**

Président du jury : Pr Luc THIBERVILLE

Directeur de thèse : Pr Mathieu SALAUN

Membres du jury : Pr Antoine CUVELIER

Dr Stéphane DOMINIQUE

Dr Nicolas PITON

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018 - 2019

U.F.R. SANTÉ DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Agnès LIARD-ZMUDA
Professeur Guillaume SAVOYE

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle APTER	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc BASTE	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mme Sophie CANDON	HCN	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie

Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI communication	HCN	Informatique médicale et techniques de
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	HCH-CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie

Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépto-gastro-entérologie
M. Benoit MISSET (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation Médicale Mr Jean-François
M. Jean-François MUIR (<i>surnombre</i>)	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophtalmologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN (<i>disponibilité</i>)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto-gastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ (<i>surnombre</i>)	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion

M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER (<i>urnombre</i>)	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ (<i>détachement</i>)	HCN	Virologie
Mr Gaël NICOLAS	HCN	Génétique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mr Julien WILS	HCN	Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry **WABLE** UFR Communication

Mme Mélanie **AUVRAY-HAMEL** UFR Anglais

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEUIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy BELLIEN (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (LE CLEZIO)	Statistiques

Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB santé	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie – Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
M. Jérémie MARTINET (MCU-PH)	Immunologie
Mme Marine MALLETER	Toxicologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mme Anaïs SOARES	Bactériologie
-------------------------	---------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Sophie **MOHAMED**

Chimie Organique

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECIN GENERALISTE

Mr Jean-Loup **HERMIL** (PU-MG)

UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES MEDECIN GENERALISTE

Mr Matthieu **SCHUERS** (MCU-MG) UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale
Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale
Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale
Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale
Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale
Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale
Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale
Mme Lucile **PELLERIN** UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei **FETISSOV** (med) Physiologie (ADEN)
Mr Paul **MULDER** (phar) Sciences du Médicament
Mme Su **RUAN** (med) Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil **ADRIOUCH** (med) Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle **BOUGEARD-DENOYELLE** (med) Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine **CLEREN** (med) Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain **FRAINEAU** (med) Physiologie (Inserm U 1096)

Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mr Youssan Var TAN	Immunologie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ - Saint Julien Rouen

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Table des matières

REMERCIEMENTS	14
ABREVIATIONS	19
INTRODUCTION	20
a. Amiodarone	20
b. Amiodarone et atteinte pulmonaire	21
c. Diagnostic de pneumopathie à l'amiodarone	23
d. Microscopie confocale fibrée en fluorescence (MCFF)	27
e. Imagerie normale du tissu pulmonaire sain en MCFF	30
f. MCFF et diagnostic de PnpA	33
MATERIEL ET METHODE	35
a. Protocole de l'étude	35
b. Critères d'inclusion	36
c. Analyse du LBA	36
d. Analyse du LBA en microscopie confocale	36
e. Diagnostic de PnpA	38
f. Statistiques	39
RESULTATS	39
a. Caractéristiques de la population	39

b. Analyse standard du LBA	45
c. Évaluation de la valeur diagnostique de l'analyse en MCFF du LBA	47
DISCUSSION	53
CONCLUSION	56
BIBLIOGRAPHIE	57
RESUME	61
MOTS CLES	61

REMERCIEMENTS

Monsieur le Professeur Luc THIBERVILLE :

Vous me faites l'honneur de juger et de présider cette thèse. Pendant ces quatre années vous m'avez enseigné la pneumologie et soutenu dans mon projet professionnel, en particulier dans mon souhait d'apprendre l'oncologie thoracique. Vous m'avez encadré et guidé avec bienveillance dans mon travail de mémoire de pneumologie. Je vous remercie donc pour l'ensemble de votre accompagnement, de vos conseils et de votre bienveillance à mon égard. Je suis heureux de poursuivre mon activité professionnelle à vos côtés. Soyez assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Professeur Mathieu SALAUN

Vous m'avez fait l'honneur de diriger mon travail de thèse. Vous m'avez accompagné et enseigné la pneumologie durant mes quatre années en particulier dans le domaine de l'interstitiel ou votre enseignement m'a permis de découvrir, d'apprécier et de comprendre cette partie importante de notre spécialité. Je me réjouis de poursuivre mon activité professionnelle à vos côtés ainsi que de poursuivre notre activité footballistique commune. Soyez assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Professeur Antoine CUVELIER.

Vous m'avez enseigné la pneumologie et vous me faites l'honneur de juger cette thèse. Soyez assuré de ma reconnaissance de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Docteur Stéphane DOMINIQUE

Vous me faites l'honneur de juger mon travail de thèse. Vos conseils souvent nébuleux lorsque vous les énoncez se sont toujours avérés d'une justesse incroyable. Apprendre la pneumologie à vos côtés est un honneur. Je me réjouis de poursuivre notre collaboration professionnelle dans les années à venir. Soyez assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Docteur Nicolas PITON

Vous me faites l'honneur de juger mon travail de thèse. Merci pour votre aide sur ce travail ainsi que de votre disponibilité sur le plan professionnel. Soyez assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Professeur MUIR

Vous m'avez enseigné la pneumologie dès mes débuts en insistant particulièrement sur la clinique. Je vous remercie pour ce précieux apprentissage. Soyez assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Docteur David DELACOUR

Merci de m'avoir aidé à réaliser ce travail en apportant votre expertise dans le domaine de l'imagerie thoracique. Soyez assuré de ma reconnaissance

Madame le Docteur Suzanna BOTA

Merci de ton aide au quotidien, merci de me faire confiance et de m'impliquer dans plein de projets professionnels. Je suis heureux de continuer à travailler à tes cotés. Sois assurée de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Docteur Maxime ROGER

Merci de m'avoir accompagné dès mes débuts, d'avoir pris soins de corriger mes rares fautes d'orthographe et de m'avoir fait passer d'interne à docteur. Sois assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Madame le Docteur Hélène MORISSE PRADIER

Merci d'avoir pris du temps pour m'enseigner la pneumologie. Merci pour ta présence, ton soutien et ton aide à tout instant. Sois assurée de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Madame le Docteur Stéphanie COUSSE

D'abord co-interne, puis chef, tu as toujours porté une écoute attentive à mes questions. Tu es passée de collègue à amie et c'est en tant qu'ami que je continuerai à te questionner et t'appeler COUSCOUS.

Monsieur le Docteur Sébastien THUREAU

Merci pour m'avoir fait découvrir et expliqué la radiothérapie., même si je ne me destinais pas à cette spécialité. Grâce à toi j'ai pu comprendre ta spécialité et mieux l'appréhender. Tu m'as toujours aidé sur un plan professionnel et tu as su te rendre disponible quand j'en avais besoin. Sois assuré de ma reconnaissance, de mon profond respect et de mon estime.

Monsieur le Docteur Samy LACHKAR

D'un bronchage toujours parfait surement acquis avec patience sur la plage de Jullouville, je te remercie pour m'avoir enseigné l'art de la bronchoskopie. Aussi rapide que Bip Bip je te sentais frustré quand tu devais attendre que j'arrive à rentrer péniblement dans la bronche sans toucher les bords.... « C'est pourtant facile » me disais tu sous ton masque canard !! Merci d'avoir pris le temps de m'expliquer et de m'apprendre cet examen primordial pour un pneumologue.

Monsieur le Docteur Ludovic BERRUBE

Merci pour ton aide que tu m'as apporté pour différents travaux. Merci également d'avoir répondu à mes questions sur mon avenir professionnel et de la confiance que tu m'as donnée. Je me réjouis de poursuivre mon activité professionnelle dans la région pour poursuivre notre collaboration.

Monsieur le Docteur Emmanuel VAVASSEUR

Merci pour tes conseils avisés et ton aide dans mon apprentissage de la bronchoscopie.

Monsieur le Docteur Pierre-Alexandre HAUS

Merci de ton aide pour la réalisation de mon mémoire de pneumologie ainsi que de ta disponibilité. Merci de la confiance que tu as placée en moi et de ton soutien même si je ne poursuis pas mon activité dans ton service.

Les lignes qui vont suivre concernent mes co-internes de ma promotion de 2015. Je veux d'abord signaler que malgré leurs efforts pour me passer devant je suis le premier à soutenir ma thèse, cela leur permettra de lire ces remerciements et de me répondre en cas de panne d'intuition :

Timothée LAMBERT

Je me suis appliqué à écrire sans faute ton prénom au bout de 4 ans ! Merci pour ces quatre années d'internat, même si tu as tout fait pour t'isoler en utilisant un humour plus que douteux, j'accepte de venir te voir là où tu fuis pour essayer de t'améliorer en sport de montagne. Pas sûr que cela t'aide pour le badminton !!! Je ne te laisse pas trop le choix je compte bien te revoir, je suis toujours prêt à venir voir un ami. Bon voyage en Savoie.

Christian CAILLARD

Bon, sur un terrain de foot j'accepte d'être battu mais ne l'oublie jamais si tu as une question sur un pari sportif je serai toujours d'accord pour t'aider, ou pour remettre mon titre de meilleur parieur en jeu. Merci d'être devenu un ami.

Pierre DEMONTROND

Monsieur l'interne de pneumologie merci pour avoir passé tout ton début d'internat à mes côtés. Je me doute bien que c'était par choix et non par pur hasard. Toujours prêt pour une soirée, une raclette, une bouffe, une bière sans réel motif. Ton sérieux indéfectible en stage m'a toujours épaté, ainsi que ton répertoire musical pour le moins surprenant. A bientôt pour de nouvelles aventures !

Grégoire JOLLY

Le juste retour des choses serait de parler ici de ce tu me disais en début d'internat. Mais bon maintenant que nous sommes amis j'espère pouvoir te le dire autour d'une bière devant une énième victoire du LOSC sur l'OM. En tout cas je serai toujours disponible pour venir voir un match si un jour tu arrives à avoir la fibre dans ta nouvelle maison !

Raphael LUKASZEWICZ

Par soucis de confidentialité je vais te faire mes remerciements en polonais. Ainsi tout ce que je te dis restera entre nous. Dziękujemy za nasze 4 lata spędzone w wielu miejscach, szpitalu, na boisku piłkarskim, w barze, na parkingu do zmiany koła i oczywiście przed kolekcją wódki. Poza tym, jeśli potrzebujesz mojej pomocy, żeby dokończyć kilka butelek, nie wahaj się. Życzę ci również wielkiej przygody od taty.

Mathilde AZZI

Avec 6 mecs dans ta promo, pas facile de t'intégrer à nos blagues et nos discussions footballistiques. Mais tu étais aussi la seule personne avec qui je pouvais danser dans cette promo alors merci d'avoir subi et accepté mes invitations intempestives à m'accompagner sur la piste de danse des journées DES !!

La parenthèse de ma promotion étant refermée reprenons les remerciements

Un grand merci à toute l'équipe médicale de pneumologie pour m'avoir accompagné pendant 4 ans et de m'avoir aidé à acquérir les compétences nécessaires pour devenir pneumologue

Merci aux équipes paramédicales.

Merci à toute ma famille et belle famille qui m'a soutenue pendant mes longues années d'études. Merci d'être présent aujourd'hui, hier et demain.

Paul HERMAN

Je tenais absolument à te remercier dans cette thèse pour souligner notre amitié de 30 ans. Je suis heureux de t'avoir à mes côtés pour les bons et mauvais moments. J'espère vivre encore plein de moments magnifiques à 2, enfin à 6 dans très peu de temps.

Benoît PETIT

Tu auras réussi à passer ta thèse avant moi ! Merci pour m'avoir supporté pendant notre externat et merci pour cette amitié qui ne demande qu'à se poursuivre. J'ai hâte de continuer ce chemin.

Mes beaux-parents

Eh oui je remercie mes beaux-parents. Car pour moi voir mes beaux-parents c'est loin d'être une corvée. J'adore discuter avec vous et confronter nos idées. Je sais que je peux compter sur vous en cas de besoin et vous êtes prêts à nous conseiller lorsque nous vous le demandons. Alors merci à vous et merci de continuer à être vous.

Mes parents

Il y a 20 ans, alors que j'étais encore à l'école primaire, je dévalai les marches de la fac de médecine de Lille en disant « papa, maman c'est bon je suis docteur ». 20 ans plus tard j'ai réussi. Un grand merci de m'avoir accompagné dans mes études mais aussi dans ma vie. Vous avez réussi à m'aider, me guider dans mes choix et surtout vous m'avez permis de les réaliser grâce à cet accompagnement de tous les instants. Il me reste à continuer de faire fructifier votre éducation pour poursuivre mon parcours professionnel et personnel. Je compte (encore) sur vous pour les années qui arrivent et m'aider dans mon prochain défi, celui de devenir papa.

A Marion

Voilà maintenant 10 ans que tu partages ma vie. En 10 ans, nous avons fait un chemin immense, nous avons appris à nous connaître, puis nous avons appris à vivre ensemble et maintenant nous voilà décidé à construire une vie ensemble. Plein d'étapes remplies de bonheur. J'ai hâte d'écrire la suite et de vivre pleinement ces moments à venir. Il me semble que notre prochain défi est de devenir parent. Je suis heureux de le relever avec toi car ce défi ne se relèvera qu'ensemble avec une union de tous les instants.

ABREVIATIONS

- DMD : Discussion Multi-Disciplinaire
- LBA : Lavage broncho-alvéolaire
- MCFF : Microscopie confocale fibrée en fluorescence
- SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aiguë
- PEEP : Pression positive télé-expiratoire
- PNP : Pneumopathie
- PnpA : Pneumopathie à l'amiodarone

INTRODUCTION

a. Amiodarone

L'amiodarone, molécule synthétisée depuis 1962 de la famille des benzofuranes, était initialement utilisée à visée anti-angineuse. Ses puissantes propriétés anti-arythmiques ont été reconnues durant les années 1980 tant dans le traitement des arythmies supraventriculaires que des arythmies ventriculaires. L'amiodarone, agent anti-arythmique de classe III, est l'un des médicaments les plus couramment prescrits dans le monde(1).

Sa formule chimique est le chlorhydrate de (2-butyl-3-benzofuranyl)[4-[2-(diéthylamino)éthoxy]-3,5-diiodophényl]méthanone. (Figure 1)

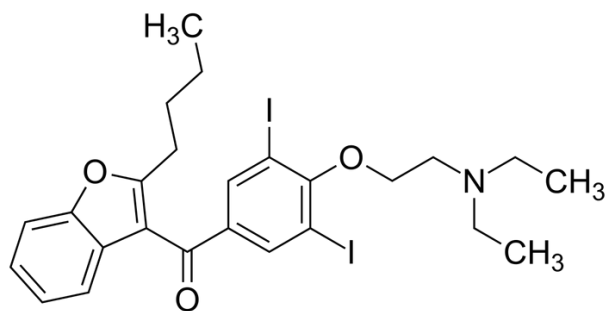


Figure 1 : Formule chimique de l'amiodarone

Son action principale est de retarder la repolarisation de la cellule cardiaque et d'en allonger la période réfractaire. En complément de cette activité antiarythmique de classe III, l'amiodarone possède une activité antiarythmique de classe I. Cet effet est obtenu par le blocage des canaux sodiques dans leur conformation inactivée. Cela a pour conséquence un ralentissement de la conduction de l'influx nerveux des fibres musculaires myocardiques (effet dromotrope négatif).

L'absorption de l'amiodarone par voie orale est lente et très variable. Sa biodisponibilité est en moyenne de 40% et varie de 20 à 86%. Pour favoriser son absorption il est conseillé de la prendre pendant les repas. (2)

L'amiodarone a une fixation aux protéines plasmatiques voisine de 95%, dont 62% à l'albumine et 33% à des bêtalipoprotéines. L'amiodarone se caractérise par une très importante fixation tissulaire à l'origine de concentrations tissulaires pouvant être 100 à 1 000 fois supérieures aux concentrations plasmatiques.(3). La demi-vie de l'amiodarone est en moyenne de 50 jours (20-100 jours). Son métabolite, la déséthylamiodarone, a quant à lui une demi-vie de 60 jours.

Son élimination s'effectue principalement par voie hépatique via la voie du cytochrome P450. La molécule d'amiodarone se compose de deux atomes d'iode. Environ 10% de cet iode sera relargué dans l'organisme durant son élimination entraînant un apport quotidien d'environ 10mg/j.

L'amiodarone est responsable d'un allongement du segment QT. Il faut donc rester vigilant lors de la prescription d'autres médicaments allongeant le QT au risque de voir apparaître des effets indésirables graves comme la torsade de pointe.

Les effets indésirables de l'amiodarone sont habituellement bénins. Cependant il existe un effet toxique potentiellement létal de cette molécule en particulier sur le parenchyme pulmonaire.(4) (5)

b. Amiodarone et atteinte pulmonaire

Le premier cas de toxicité pulmonaire induit par l'amiodarone a été décrit dans l'American Heart Journal en 1980.(6) L'amiodarone compte aujourd'hui parmi les molécules les plus fréquemment incriminées dans les registres de pneumopathies interstitielles diffuses médicamenteuses (7).

L'amiodarone ainsi que son métabolite, s'infiltrent dans le poumon, le foie, la peau, la thyroïde et l'œil. Ces tissus sont des sites courants d'effets indésirables du médicament. La séquestration du médicament et de son métabolite est envisagée comme un déterminant majeur de la toxicité.

Le tissu pulmonaire présente une forte affinité pour l'amiodarone ainsi que pour son métabolite. Les mécanismes physiopathologiques sont partiellement compris mais il existerait deux types de toxicité : une toxicité directe et une toxicité indirecte, immunologique (8).

La toxicité directe pulmonaire est secondaire au caractère amphiphile de la molécule, qui permet une forte fixation tissulaire par l'intermédiaire des phospholipides membranaires intracellulaires. Cette fixation est responsable de l'inhibition d'une enzyme lysosomale, la phospholipase A. L'inactivation de cette enzyme est responsable d'une lipidose pulmonaire aboutissant à la mort cellulaire, notamment par lésions membranaires. L'amiodarone est également responsable de la production de radicaux libres oxygénés, eux-mêmes responsables d'une toxicité cellulaire importante.

Le second mécanisme, indirect, est un mécanisme immunologique à médiation cellulaire via les lymphocytes T.

En l'absence de données scientifiques robustes sur le traitement des pneumopathies à l'amiodarone, actuellement, la prise en charge des pneumopathies sévères à l'amiodarone repose sur la corticothérapie à haute dose, et bien sur l'arrêt du médicament.

D'après le registre Pneumotox[®], le type d'atteinte pulmonaire de l'amiodarone est extrêmement varié. Elle peut s'exprimer sous la forme de pneumopathies

interstitielles (pneumopathie interstitielle aiguë/subaiguë/chronique, pneumopathie à éosinophiles, pneumopathie organisée), de défaillances respiratoires aiguës (syndrome de détresse respiratoire aiguë), d'atteintes alvéolaires (ex : hémorragie alvéolaire, hémoptysie), d'atteintes bronchiques (ex : toux, bronchospasme), d'atteintes pleurales (pleurésie), d'atteintes vasculaires et d'atteintes neuromusculaires.

La fréquence de la pneumopathie à l'amiodarone (PnpA) reste variable selon les études et se situe entre 0,5% et 15% (9). Le risque de développer une PnpA est estimé à 1% par an (10)(11).

La PnpA peut se développer dès la mise en route du traitement et jusqu'à plusieurs années après son initiation (12)(13)(14). Certains patients vont même développer la maladie jusqu'à trois mois après l'arrêt de l'amiodarone (15).

En France la posologie la plus prescrite est 200mg/j ou moins. Pour ces doses d'amiodarone, la prévalence se situe entre 0,1 % et 0,5 %. Elle peut atteindre 50 % chez les patients qui reçoivent des schémas posologiques élevés (ex 1200 mg/jour). La PnpA se développera chez 5 % à 15 % des patients pour une posologie de 500 mg/jour ou plus (16).

Elle est plus fréquente chez les hommes de plus de 40 ans (17). Cette probabilité augmente avec l'âge (18). Les stress pulmonaires comme une chirurgie, une ventilation mécanique et une forte oxygénothérapie peuvent également favoriser l'apparition des pneumopathies à l'amiodarone (19) (20) (21).

c. Diagnostic de pneumopathie à l'amiodarone

Actuellement, les données cliniques, les tests de laboratoire et les examens radiologiques ne permettent pas de poser de manière certaine le diagnostic de

PnpA. Il reste un diagnostic d'exclusion. En moyenne, il faut deux mois entre le début des symptômes et le diagnostic de PnpA (22).

Les signes fonctionnels et cliniques de PnpA sont aspécifiques et nombreux (23). En effet, une toux, une dyspnée de repos ou d'effort, des sibilants, des crépitants, une diminution du murmure vésiculaire peuvent témoigner d'une PnpA.

Sur le plan iconographique, le scanner thoracique retrouve habituellement une atteinte alvéolo-interstitielle, bilatérale volontiers asymétrique. Cette asymétrie semble plus marquée comparativement aux autres pneumopathies médicamenteuses. Cependant il existe de nombreux patterns radiologiques compatibles avec ce diagnostic.(24) (Figure2)

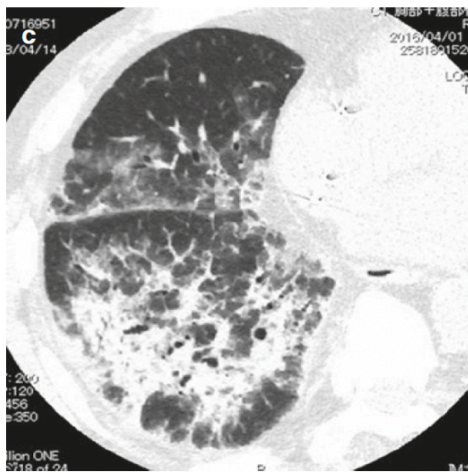
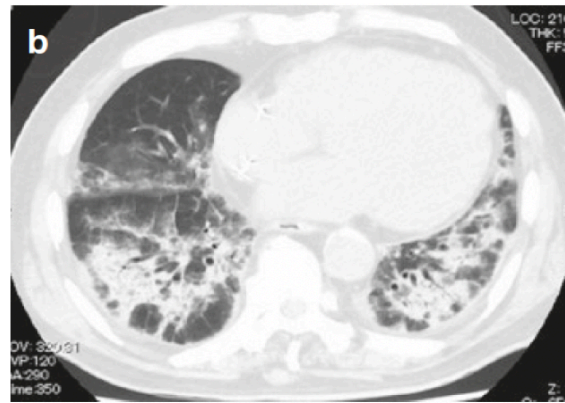
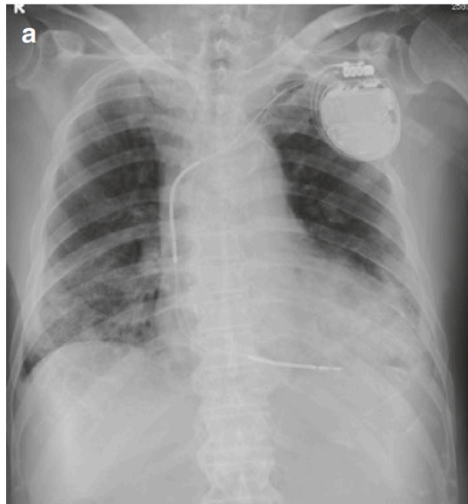


Figure 2 : Imageries de pneumopathie à l'amiodarone. Image A : Radiographie de thorax montrant des opacités pulmonaires bilatérales prédominant dans les lobes inférieurs / Image B et C : Scanner thoracique retrouvant des images associant verre dépoli et condensations péribronchovasculaires
Images issues de Sakai F(25).

Une étude, menée sur 20 patients atteints de PnpA, visant à décrire les images scannographiques, retrouve chez tous les patients des opacités en verre dépoli. Chez 4 patients, il est retrouvé des condensations et chez 5 patients des réticulations intra-lobulaires. La distribution des anomalies est principalement sous pleurale (n=18) (25).

Un épanchement pleural exsudatif est occasionnellement retrouvé en association avec la maladie pulmonaire (26).

Les données cytologiques du liquide alvéolaire permettent d'orienter le diagnostic en écartant les diagnostics différentiels (27). En cas de PnpA, il est retrouvé dans le LBA des macrophages spumeux associés à une augmentation du nombre de

lymphocytes et de leucocytes. Il est généralement admis que l'absence de macrophages spumeux élimine la toxicité de l'amiodarone, alors que leur présence ne fait que confirmer l'exposition à l'amiodarone (28).

La biopsie pulmonaire est rarement réalisée car elle présente une agressivité importante pour le patient et l'expose à de graves complications. Elle n'est pas réalisable dans un contexte de détresse respiratoire aiguë.

L'histologie de la PnpA correspond à une fibrose interstitielle sévère avec un épaississement des septas alvéolaires. La présence d'hyperplasie voire de dysplasie des cellules pulmonaires de type II et la présence d'une accumulation tissulaire de cellules spumeuses sont alors spécifiques de la toxicité de l'amiodarone (29) (Figure3).

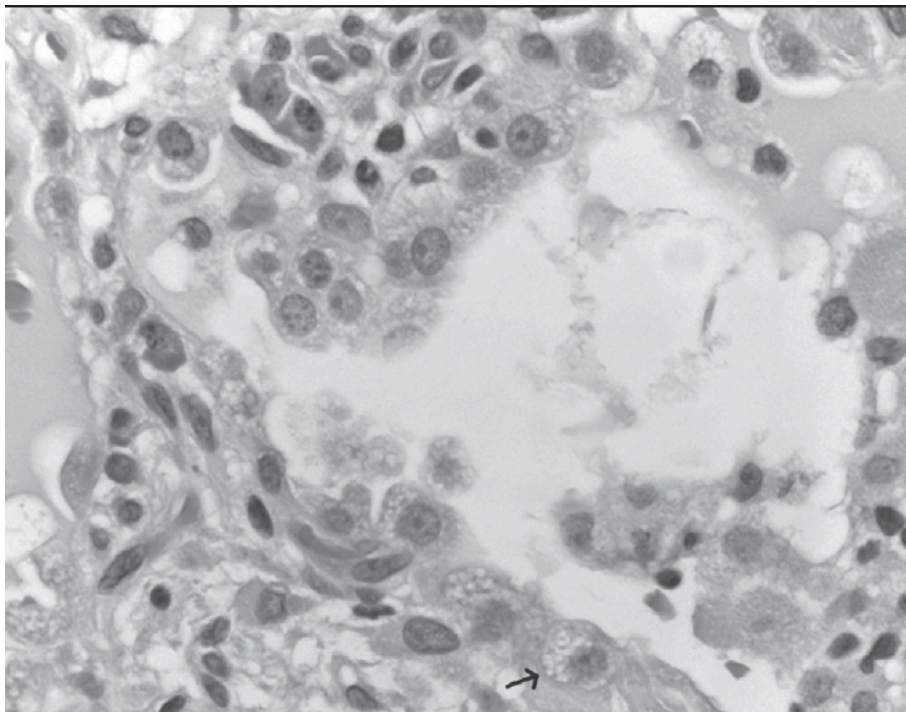


Figure 3 : Image en microscopie optique d'une alvéole retrouvant une inflation du tissu interstitiel et une hyperplasie des cellules pulmonaires de type II. Au sein des pneumocytes nous retrouvons des vacuoles cytoplasmiques de grande tailles (flèche). (Grossissement X400) Image issue de Wolkove N, Baltzan M. Amiodarone pulmonary toxicity. 2009;16(2):7. (8)

Il est habituel de distinguer trois formes de pneumopathies à l'amiodarone en fonction du délai d'installation des symptômes. On parle de pneumopathie aiguë à l'amiodarone lorsque l'installation des symptômes s'effectuent sur moins d'un mois, de subaiguë si ces derniers s'installent sur trois mois et de chronique au-delà de trois mois.

Le pronostic de la toxicité pulmonaire induite par l'amiodarone est généralement favorable. Il existe habituellement une amélioration des signes cliniques après un à trois mois d'arrêt de l'amiodarone. Dans 85% des cas, les signes radiologiques disparaissent complètement (25).

Une partie non négligeable des patients évoluent vers une fibrose pulmonaire induite par l'amiodarone responsable d'une morbi-mortalité importante.

La mortalité hospitalière induite par la PnpA se situe entre 21% et 33% (30) (22).

La forme aiguë se manifeste le plus souvent par un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA). En cas de SDRA secondaire à l'amiodarone le pronostic est sombre avec une mortalité proche des 50% en particulier lorsque ce dernier se développe suite à une chirurgie thoracique (31) (20).

Compte-tenu de la sévérité et de la fréquence de cette complication, il semble intéressant et nécessaire de rechercher d'autres critères diagnostiques pour la PnpA.

d. Microscopie confocale fibrée en fluorescence (MCFF)

L'endomicroscopie confocale (MCFF) est une nouvelle technique peu invasive qui permet de fournir une image microscopique d'un tissu vivant. Cette technique permet

d'observer une coupe optique de cellules ou de tissu à différents plans sous la surface de l'échantillon, avec une résolution latérale et axiale optimales (32) (33).

La MCFF résout le problème majeur de la perte de résolution due à l'émission de signaux lumineux dits « défocalisés » présents en microscopie optique conventionnelle. Ces signaux « défocalisés » sont responsables d'images d'additions se superposant à l'image du plan focal.

La MCFF repose ainsi sur 2 principes : l'observation d'un point précis de l'échantillon et le balayage point par point de cet échantillon. La figure 4 illustre le principe de la microscopie confocale. Une source lumineuse (source laser) illumine l'échantillon à étudier en un point précis correspondant au plan focal. Un pinhole ou diaphragme, filtre le rayonnement pour ne laisser passer que les rayons lumineux issus du plan focal.

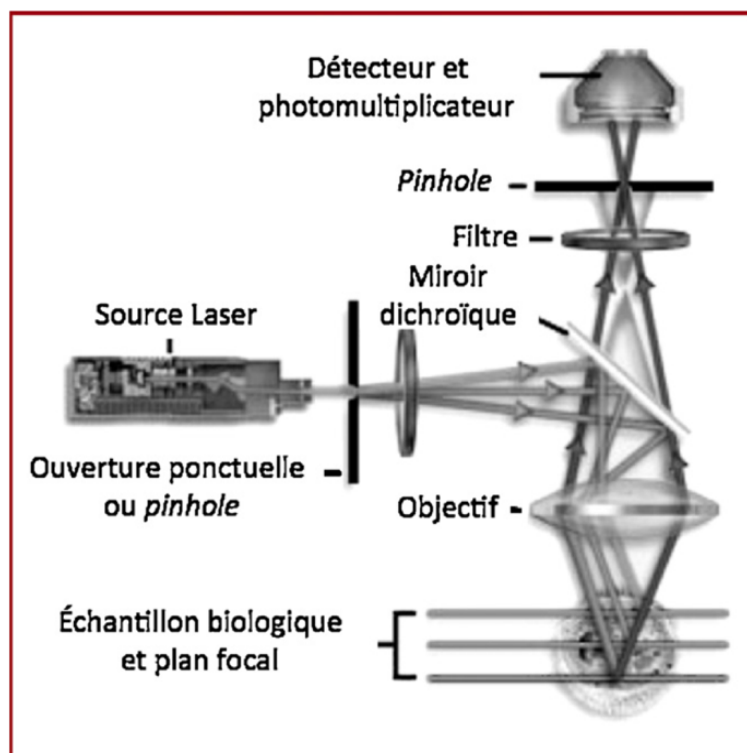


Figure 4 : Principe de la MCFF. Illustration issue de SALAUN et al, Revue des maladies respiratoires 2010.(34)

Le second principe de la MCFF permet l'acquisition de points adjacents par balayage afin de reconstruire l'image du plan focal. Cette seconde caractéristique permet de réaliser des coupes optiques à différentes profondeurs dans un échantillon par variation du plan focal.

Le système Cellvizio® (Mauna Kea Technologies, Paris, France), utilisé dans cette étude, repose sur le principe d'un balayage proximal. La source laser balaye l'extrémité proximale d'une minisonde, d'un diamètre de 300 μm à 1,4 mm, indépendante de l'endoscope et composée de 15 000 à 30 000 fibres optiques. Chacune de ces fibres transmet la lumière, source excitatrice, et recueille le signal fluorescent émis par le tissu qu'elle retransmet vers le détecteur (35).

Le diamètre des mini-sondes étant de 1 mm, il est possible de les utiliser avec un bronchoscope standard possédant un canal opérateur de 2 mm. Elles permettent d'obtenir une profondeur de champ de 0 à 50 μm correspondant à l'épaisseur du plan focal, une résolution latérale de 3 μm et offrent un champ de vue de 600×600 μm . Le système fournit une image endomicroscopique en temps réel de neuf à douze images par seconde.

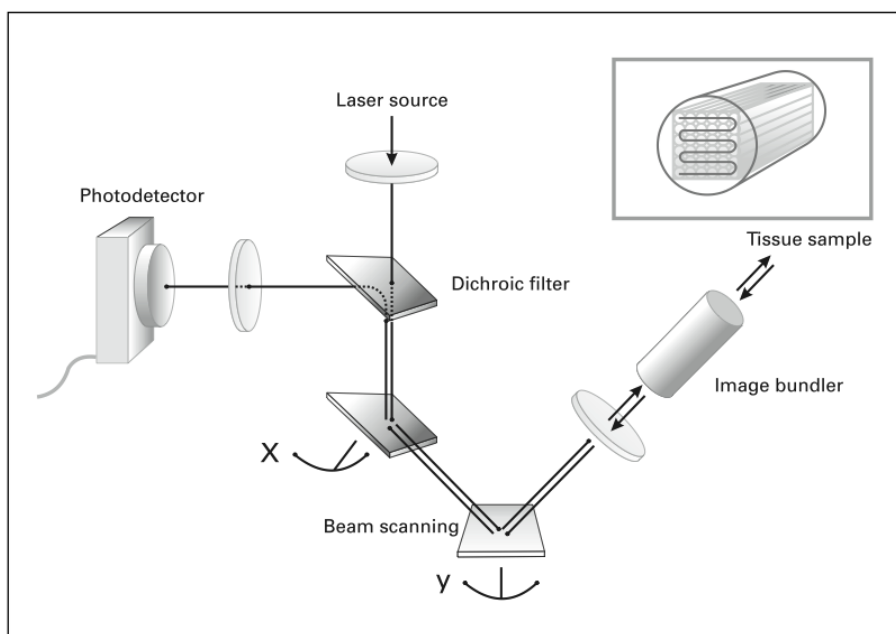


Figure 5 : Schéma du microscope confocal fibré en fluorescence (Cellvizio®). Issu de Thiberville et al. Eur Respir J (2009).(36)

Le signal obtenu dépend des propriétés de fluorescence intrinsèque du tissu observé et/ou de la distribution d'un fluorophore exogène.

En pneumologie, la technique permet l'exploration microscopique des bronches proximales et des régions alvéolaires en temps réel, chez un sujet en ventilation spontanée, au cours d'une bronchoscopie souple (36) (37) (38).

e. Imagerie normale du tissu pulmonaire sain en MCFF

L'exploration en MCFF de l'arbre bronchique proximal est obtenue facilement lors d'une séance de bronchoscopie standard. Il suffit d'introduire la mini-sonde dans le canal opérateur du bronchoscope et d'appliquer l'extrémité de cette dernière sur la muqueuse bronchique.

La profondeur de champ étant de 50 μm sous la zone de contact, le système permet théoriquement d'observer les premières couches épithéliales et le tissu conjonctif

bronchique sous-épithélial, vraisemblablement la *lamina densa* et la *lamina reticularis* (Figure 6) (37).

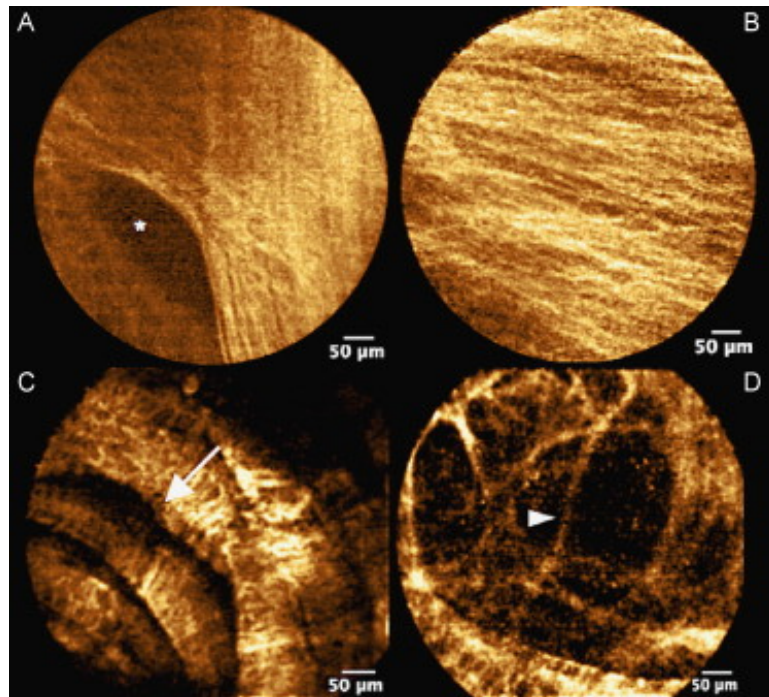


Figure 6 : Aspects d'une imagerie bronchique normale en MCFE montrant le réseau élastique de la membrane basale et la microstructure des bronchioles distales. A. Canal d'une glande bronchique (étoile). B. Réseau élastique fibré orienté selon l'axe longitudinal de la bronche. C. Empreinte hélicoïdale des muscles lisses péribronchiques sur la face interne d'une bronchiole membraneuse (flèche). D. Bronchiole transitionnelle montrant un bourgeon alvéolaire (pointe de flèche) |

Illustration issue de SALAUN et al, Revue des maladies respiratoires 2010 (34)

L'exploration alvéolaire par MCFE est quant à elle obtenue facilement. Il suffit d'utiliser un microscope de petit calibre (ex : MP60® Olympus, Japon) qu'on insère dans les voies aériennes jusqu'à la plus petite bronche possible. Secondairement la mini-sonde est introduite dans le canal opérateur du bronchoscope et délicatement poussée jusqu'à atteindre le territoire alvéolaire. Le diamètre de la mini-sonde étant trop important pour progresser jusque dans le canal alvéolaire, cette dernière atteint le territoire alvéolaire en traversant une paroi bronchiolaire distale.

Une étude portant sur 41 sujets volontaires sains a démontré que la technique était très bien tolérée lorsque l'examen était réalisé sous anesthésie locale en ventilation spontanée (36).

La MCFF du poumon sain est différente chez le sujet fumeur et chez le sujet non-fumeur.

Chez le sujet non-fumeur, la MCFF permet d'étudier les fibres élastiques qui cerclent les bouches alvéolaires, qui renforcent la paroi virtuelle des canaux alvéolaires et qui entourent les microvaisseaux extra-alvéolaires.

L'imagerie alvéolaire en MCFF chez le fumeur actif diffère de manière radicale de celle observée chez le sujet non-fumeur. Les espaces alvéolaires sont généralement remplis de cellules très fluorescentes, correspondant à des macrophages alvéolaires activés (Figure7).

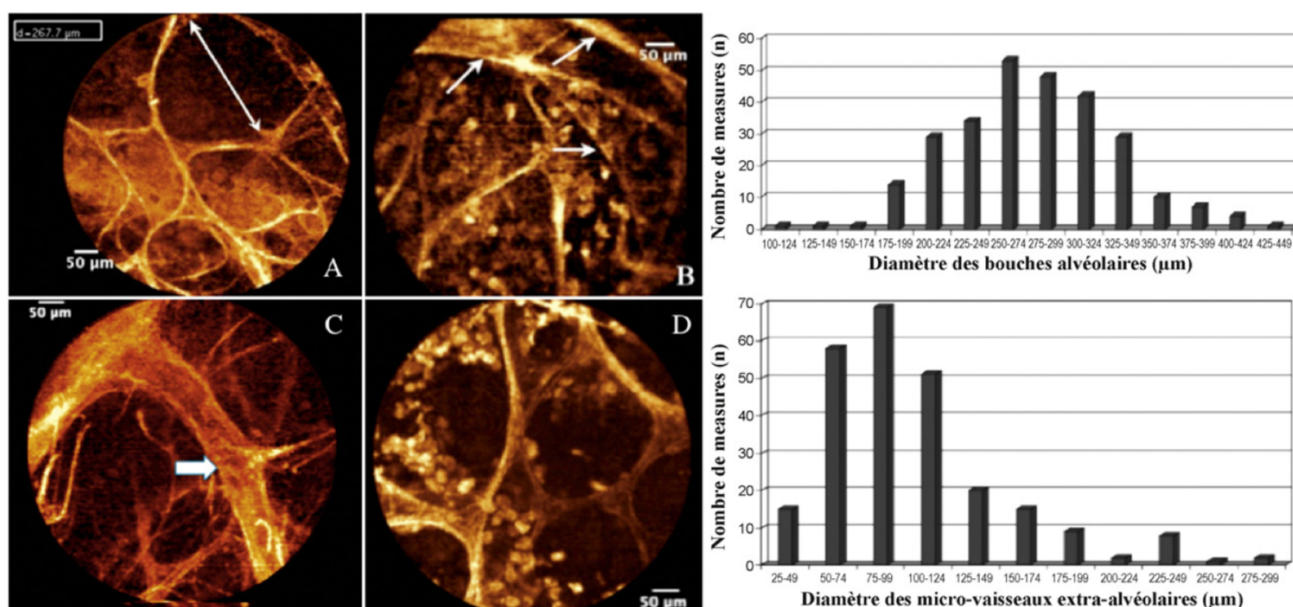


Figure 7 : Aspects typiques des images d'endomicroscopie confocale alvéolaire in vivo chez le sujet sain fumeur et non-fumeur. À gauche : A. Observation du squelette élastique axial avec mesure d'une bouche alvéolaire chez un sujet non-fumeur. Au second plan, on devine la fluorescence de la gaine élastique externe d'un vaisseau extra-alvéolaire. C. Vaisseau extra-alvéolaire (flèche) chez un sujet non-fumeur. B et D. Aspects d'un territoire alvéolaire chez un sujet fumeur : on observe de nombreux macrophages dans les espaces alvéolaires, la structure hélicoïdale du canal alvéolaire (flèches), ainsi que des parois alvéolaires. À droite : distribution des diamètres des bouches alvéolaires et de la taille des vaisseaux extra-alvéolaires dans cette série de volontaires sains.

Illustration issue de SALAUN et al, Revue des maladies respiratoires 2010 (34)

Cette étude a pu montrer que l'intensité de l'auto fluorescence alvéolaire en MCFF était corrélée à l'intensité de l'alvéolite macrophagique chez le fumeur et était plus importante que chez le sujet non-fumeur.

L'infiltration cellulaire par les macrophages alvéolaires fluorescents présente chez les sujets fumeurs impose de n'étudier que les sujets non-fumeurs.

Grâce à la description précise du poumon sain distal chez les non-fumeurs en MCFF par Thiberville et al, il est maintenant possible de relier certaines pathologies du poumon profond avec des anomalies observé en MCFF, parmi lesquelles la protéinose alvéolaire (39), les microlithiases alvéolaires (40), le rejet aigu cellulaire en transplantation pulmonaire (41)(42), la pneumocystose et plus récemment les pneumopathies interstitielles diffuses fibrosantes (fibrose pulmonaire idiopathique et asbestose), la sarcoidose, les pneumopathies d'hypersensibilité et les pneumopathies associées aux connectivites (43). En 2013, notre équipe a décrit les aspects spécifiques en endomicroscopie confocale de la PnpA (44).

f. MCFF et diagnostic de PnpA

En 2013, notre équipe a démontré l'intérêt de l'utilisation de la MCFF *in vivo* pour le diagnostic de PnpA (Figure 8).

Dans cette étude les auteurs retrouvaient une infiltration caractéristique des alvéoles avec des cellules fortement fluorescentes de grande taille (>20µm) chez tous les patients du groupe à fort probabilité de présenter une PnpA. A l'inverse cette observation n'a été faite que chez un patient du groupe faible probabilité de présenter une PnpA.

Ainsi, dans cette série, la technique a une sensibilité de 100% (IC 95 % = [0,66-1]), une spécificité de 88% (IC 95 % = [0,47-1]) et des valeurs positives et négatives de 90 % (IC 95 % = [0,55-1]) et de 100 % (IC 95 % = [0,59-0,1]) pour le diagnostic de PnpA chez les patients non-fumeurs.

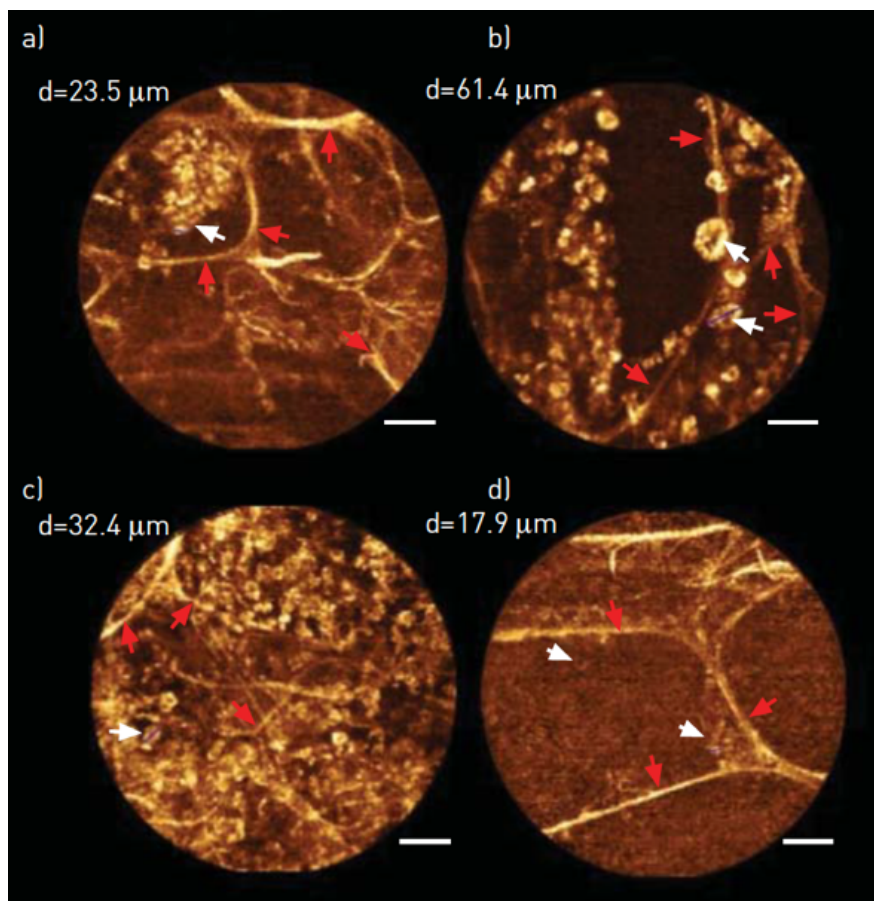


Figure 8 : MCFF chez des patients présentant une pneumopathie à la cordarone (a-b-c) comparativement à un patient ne présentant pas de pneumopathie à la cordarone (d). On peut observer un nombre plus important de cellules et une taille de cellule plus importante ($>20\mu\text{m}$) chez les patients présentant une pneumopathie à la cordarone (a-b-c).

Issu de SALAUN m et al, Eur Resp J 2013(45)

Les analyses cytologiques des LBA de cette étude retrouvaient, chez les patients du groupe à fort probabilité, 55% d'alvéolite lymphocytaire, 22% d'alvéolite neutrophilique et 22% d'alvéolite macrophagique.

Si la technique est particulièrement pertinente pour le diagnostic de la PnpA, elle ne peut pas être utilisée chez tous les patients. En effet, le matériel n'est pas facilement déplaçable et il est donc nécessaire que le patient soit transféré dans un

centre/service disposant de cette technique. Dans notre CHU, seule l'unité de bronchoscopie du service de pneumologie en est équipée, et la procédure ne peut donc être réalisée que chez un patient stable, hors d'un secteur de soins intensifs.

Afin de palier à ces difficultés, nous avons souhaité évaluer la pertinence d'étudier le liquide de LBA en endomicroscopie confocale chez les patients atteints de pneumopathie interstitielle diffuse aiguë ou subaiguë et traités par amiodarone.

L'objectif de cette étude rétrospective était de déterminer la précision diagnostique de la MCFF *ex-vivo* sur le LBA chez des patients non-fumeurs pour le diagnostic de PnpA aiguë ou subaiguë.

Matériel et méthode

a. Protocole de l'étude

Nous avons sélectionné tous les LBA de patients avec suspicion de PnpA, provenant de 4 centres hospitaliers de Normandie (CHU de Rouen, CH Dieppe, CH Évreux, CH Elbeuf) pour lesquels une exploration en MCFF a été réalisée *ex-vivo* sur le LBA.

Les LBA étaient réalisés sur le lieu où le patient était hospitalisé puis acheminé au dans l'unité de bronchoscopie du service de Pneumologie, Oncologie thoracique et Soins Intensifs Respiratoires du CHU de Rouen, dès sa réalisation, protégé de la lumière. Au moment de l'analyse en MCFF du LBA, l'opérateur (Pr SALAUN) ne connaissait pas la probabilité radio-clinique de PnpA.

Nous avons étudié les 17 LBA qui ont été adressés pour analyse en MCFF entre décembre 2016 à juillet 2019.

L'ensemble des données a été recueillie de manière rétrospective.

b. Critères d'inclusion

Les patients dont le LBA avait été étudié en MCFF avaient :

- 1) une prise d'amiodarone sans limite ni de temps ni de dose, à l'interrogatoire.
- 2) un tableau d'altération respiratoire subaiguë (< 3 mois) ou aiguë (< 1 mois).
- 3) un scanner thoracique montrant une pneumopathie interstitielle diffuse et pour laquelle le diagnostic de PnpA était évoqué.
- 4) une fibroscopie bronchique avec LBA à visée diagnostique réalisée dans le centre où le malade était hospitalisé
- 5) un tabagisme absent ou sevré depuis plus de 5 ans.

c. Analyse du LBA

Le LBA était adressé spontanément par le clinicien en charge du patient qui avait réalisé la bronchoscopie. Le liquide de LBA était par ailleurs traité selon le protocole habituel dans le centre/service où la bronchoscopie avait été réalisée, avec en particulier, une étude microbiologique et cytologique.

d. Analyse du LBA en microscopie confocale

Environ 10ml de LBA étaient nécessaires pour réaliser l'analyse. Cette dernière était réalisée directement dans la salle de fibroscopie bronchique du CHU de Rouen, à l'aide du dispositif Cellvizio® Lung avec excitation à 488 nm, couplé à un spectromètre (Mauna Kea Technologies, Paris, France) et une sonde AlveoFlex®. L'analyse était réalisée après avoir laissé reposer le liquide de LBA pendant environ

30 minutes, permettant aux cellules du LBA de sédimenter. Aucun traitement particulier n'était réalisé sur le LBA avant l'analyse en microscopie confocale, qui consistait à plonger la sonde AlveoFlex® dans le flacon contenant le liquide de LBA. Le résultat de l'analyse était disponible immédiatement. Les critères utilisés pour le diagnostic de PnpA en MCFF *ex vivo* étaient les mêmes que ceux utilisés en *in vivo* dans l'étude de Salaun et al en 2013(45). Le LBA était considéré comme évocateur de PnpA lorsque les experts y observaient des cellules de grandes tailles (>20µm), fluorescentes avec une intensité supérieure à 100 unités arbitraires de fluorescence (U.A).

Les séquences obtenues par l'analyse en MCFF *ex-vivo* sont enregistrées et stockées dans le système Cellvizio, permettant, à posteriori, une double analyse en aveugle des LBA par les Pr. SALAUN et THIBERVILLE, experts dans l'interprétation de cet examen.

Secondairement nous avons réalisé une analyse sur 5 images par LBA, choisies sur avec l'intensité de fluorescence la plus importante visualisée sur l'histogramme d'intensité de fluorescence des images de chaque série.

Sur chacune des images sélectionnées, nous avons mesuré les dix cellules les plus fluorescentes puis réalisé une moyenne des tailles des cellules afin de les comparer entre les groupes « certain », « probable » et « improbable » de présenter une PnpA, définis par les experts lors d'une réunion de discussion multidisciplinaire.

Enfin, nous avons évalué et comparé l'intensité de la fluorescence des images d'intérêt entre les différents groupes de probabilité de PnpA.

Nous avons évalué la variabilité inter observateur en comparant les résultats obtenus entre le Pr THIBERVILLE et le Pr SALAUN lors de leur analyse respective des LBA en MCFF.

e. Diagnostic de PnpA

Afin d'établir le diagnostic étiologique final de la pneumopathie interstitielle ayant motivé le lavage broncho-alvéolaire, et de confirmer ou non le diagnostic de PnpA, les données cliniques, radiologiques, biologiques et de suivi, lorsqu'elles étaient disponibles, ont été analysées au cours d'une réunion de concertation multidisciplinaire (RCP-PID) par un panel d'experts : un pneumologue (Dr DOMINIQUE), un radiologue (Dr DELACOUR) et d'un anatomopathologiste (Dr PITON), en aveugle du résultat de la MCFF.

Le diagnostic de PnpA a été posé sur la base des informations susmentionnées. A la suite de cette RCP-PID, les experts classaient les patients en probabilité de PnpA (improbable, probable, certaine). Lorsque les experts classaient le patient comme improbable de présenter une PnpA, ils proposaient un diagnostic alternatif.

Afin d'évaluer la valeur diagnostique de la MCFF *ex-vivo* sur le LBA, nous avons comparé le diagnostic de la MCFF *ex-vivo* versus le diagnostic retenu par les experts en DMD-PID.

f. Statistiques

Les variables continues ont été exprimées en moyenne \pm écart-type ou médiane \pm interquartile, et les comparaisons entre groupes effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney. Les variables catégorielles ont été exprimées en effectifs et pourcentages, et les comparaisons entre groupes effectuées à l'aide du test du Chi² (ou test exact de Fisher si approprié).

Le risque α a été fixé à 5%.

Résultats

a. Caractéristiques de la population

17 LBA ont été étudiés en MCFF sur la période de décembre 2016 à juillet 2019. L'ensemble des dossiers des patients a pu être analysé.

Les caractéristiques de chaque patient sont présentées dans le tableau I. La quasi-totalité des patients étaient des hommes (14 hommes et 3 femmes)

L'âge médian était de 73 ans (\pm 8,3).

Concernant l'indication de la prescription d'amiodarone : 15 patients (87%) l'avaient pour une fibrillation atriale, 1 patient pour un flutter et 1 pour une maladie de l'oreillette.

La posologie prescrite était de 200mg/j d'amiodarone excepté pour deux patients, l'un avait 150mg/j d'amiodarone et l'autre 200mg/j d'amiodarone cinq jours par semaine.

Il existait une grande disparité de la dose cumulée d'amiodarone entre les patients avec une médiane de 176 grammes (+/- 352 grammes). Le maximum était de 1046g d'amiodarone cumulée (patient 16), pour un minimum de 6g (patient 13).

Le temps d'exposition à l'amiodarone est également très variable. Le maximum étant de 5233 jours (patient 16), et le minimum étant de 31 jours (patient 13). La médiane calculée est de 883 jours (+/- 1757).

Deux patients présentaient un antécédent de maladie pulmonaire au moment de la réalisation de la MCFF (1 HTAP groupe 1' et 1 BPCO). Aucun patient ne présentait d'effet secondaire extra-pulmonaire à l'amiodarone au moment du LBA.

Onze patients (65%) présentaient un tableau clinique aigu et 6 patients (35%) présentaient un tableau clinique subaigu d'atteinte interstitielle pulmonaire.

Tableau 1 : caractéristiques des 17 patients de l'étude

Patient	Sexe	Age	Indication amiodarone	Posologie	Dose cumulée amiodarone en gramme	Temps sous amiodarone en jours	Autre maladie pulmonaire	Tableau clinique initial
1	M	67	Fibrillation atriale	200mg/j	48	365	-	Subaigu
2	M	73	Fibrillation atriale	200mg/j	560	2801	HTAP groupe 1'	Subaigu
3	M	70	Fibrillation atriale	200mg/j	645	3225	-	Subaigu
4	M	81	Maladie de l'oreillette	200mg/j	176	883	-	Aigu
5	F	76	Fibrillation atriale	200mg 5J/7	70	348	-	Aigu
6	M	78	Fibrillation atriale	200mg/j	702	3513	-	Aigu
7	F	69	Fibrillation atriale	200mg/j	30	153	-	Aigu
8	M	69	Fibrillation atriale	150mg/J	190	946	-	Aigu
9	M	70	Fibrillation atriale	200mg/j	152	761	-	Aigue
10	M	87	Fibrillation atriale	200mg/j	803	4018	BPCO	Aigu
11	M	76	Fibrillation atriale	200mg/j	730	3652	-	Subaigu
12	M	83	Fibrillation atriale	200mg/j	730	3652	-	Aigu
13	M	54	Flutter	200mg/j	6	31	-	Aigu
14	M	81	Fibrillation atriale	200mg/j	18	92	-	Subaigu
15	M	82	Fibrillation atriale	200mg/j	84	424	-	Subaigu
16	F	62	Fibrillation atriale	200mg/j	1046	5233	-	Aigu
17	M	70	Fibrillation atriale	200mg/j	48	242	-	Aigu

4 patients sont classés comme certains (groupe A) de présenter une PnpA par les experts, 4 patients comme probables (groupe B) et 9 patients comme improbables (groupe C).

Le groupe A inclut les patients numéro 8, 10, 15 et 17. Le groupe B inclut les patients numéro 6, 9, 11 et 16. Le groupe C est constitué des patients numéro 1, 2, 3, 4, 5, 7, 12, 13 et 14.

Le tableau II compare l'âge, la dose cumulée d'amiodarone, le temps passé sous amiodarone et le tableau clinique entre les 3 groupes de probabilité de PnpA.

Dans les groupes A et B le temps passé sous amiodarone et la dose cumulée d'amiodarone sont plus importants que dans le groupe C. En effet, le temps médian passé sous amiodarone est respectivement de 685 jours et 3582 jours pour les groupes A et B contre 365 jours pour le groupe C. La dose médiane cumulée est respectivement de 137 grammes et 716 grammes pour les groupes A et B contre 70 grammes pour le groupe C. Cependant cette différence n'est pas statistiquement significative (test de Mann-Whitney ; $p > 0,05$).

En groupant les patients avec PnpA certaine et probable, la durée d'exposition et la dose cumulée tendent à être supérieures en comparaison avec le groupe des patients avec PnpA improbable (2230 jours [508 - 3927] vs 365 jours [123 - 3013] ; 446 grammes [101 - 785] vs 70 grammes [24 - 603]; $p = 0,1$ et $p = 0,09$ respectivement ; test de Mann-Whitney) (Figure 9 et 10).

Tableau II : Caractéristiques générales en fonction des groupes de probabilité

	Certain (N=4)	Probable (N=4)	Improbable (N=9)
Age (années)	76 (± 8,9)	73 (± 7,2)	73 (± 9)
Temps sous amiodarone (jours)	685 (± 1765)	3582 (± 1857)	365 (± 1492)
Dose cumulée (g)	137 (± 353)	716 (± 371)	70 (± 300)
Tableau clinique	Aigu : 3 Subaigu : 1	Aigu : 3 Subaigu : 1	Aigu : 5 Subaigu : 4

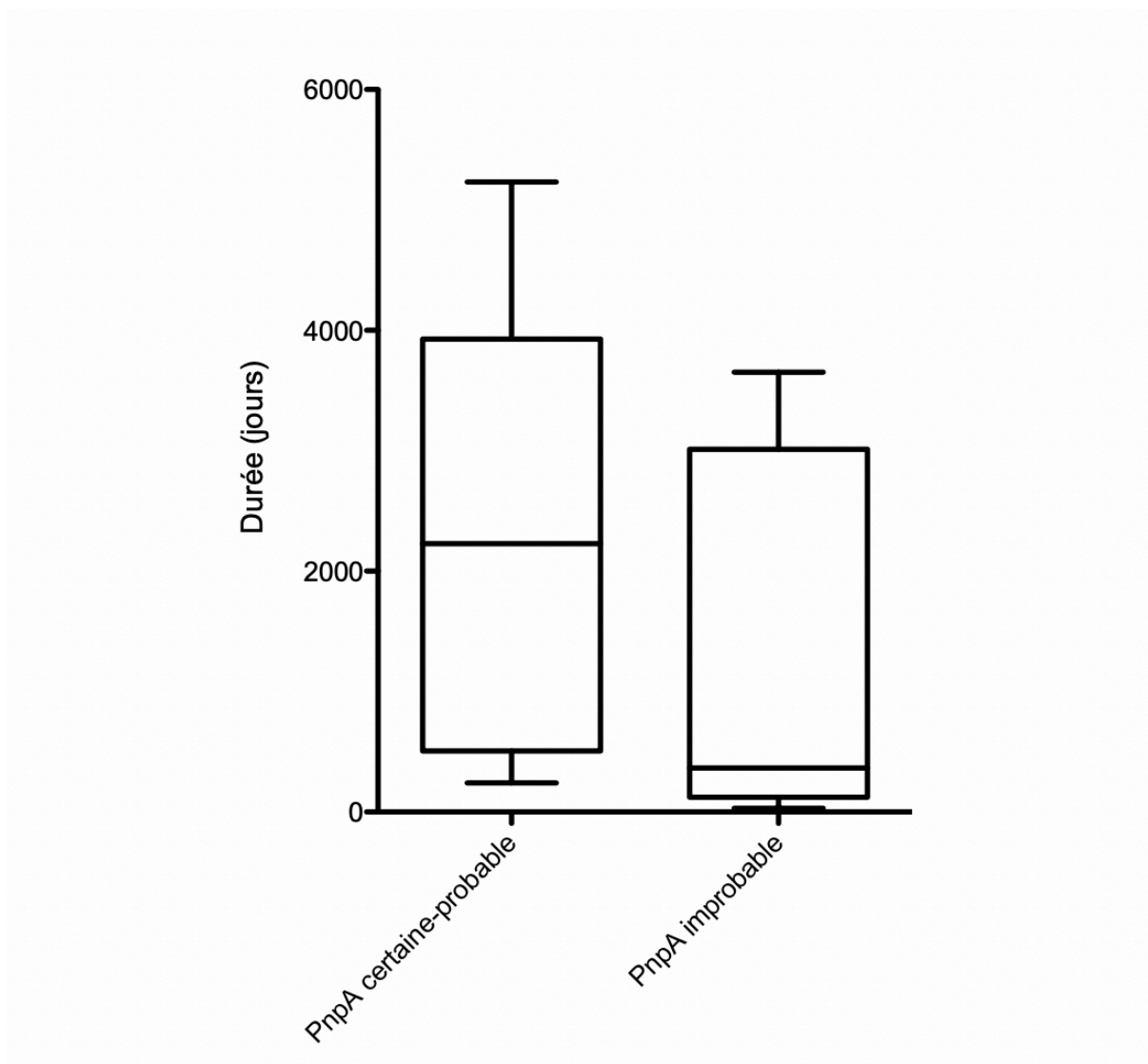


Figure 9 : Comparaison de la durée de traitement par amiodarone entre les groupes PnpA certaine/probable vs improbable

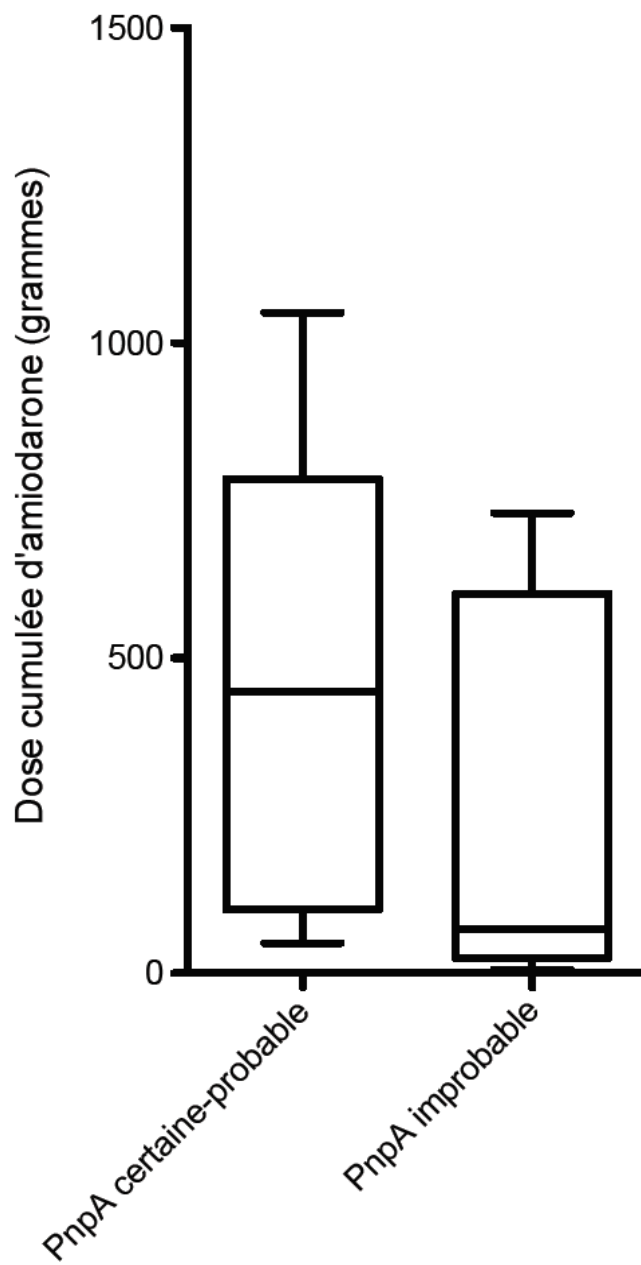


Figure 10 : Dose cumulée d'amiodarone entre les groupes PnpA certaine/probable vs improbable

b. Analyse standard du LBA

Dans le Tableau III sont présentées les données standards des LBA faits chez les 17 patients.

Sur le plan cellulaire, le profil des LBA recueillis est très varié entre les patients. Nous retrouvons 8 alvéolites macrophagiques (47%), 3 alvéolites neutrophiliques (18%), 3 alvéolites avec formule panachée (18%) et 3 alvéolites lymphocytaires (18%).

L'analyse cellulaire complète de chaque LBA est disponible en annexe.

Deux patients présentaient un score de Golde élevé. Il s'agit du patient numéro 2 avec un score à 124 et du patient numéro 17 avec un score à 80. Cependant, l'analyse du score de Golde n'a pu être réalisée que pour 9 patients (tableau III).

L'analyse cytologique des LBA est revenue normale pour 16 des 17 patients.

Sur les 17 patients de cette série, 11 ont bénéficié de l'analyse anatomopathologique (6 non analysés : 3 par absence d'envoi au laboratoire d'anatomopathologie et 3 par manque de matériel exploitable). On ne retrouvait de macrophages spumeux chez aucun des 11 patients analysés.

Concernant l'analyse bactériologique des LBA : 5 présentaient des anomalies. Le patient numéro 2 présentait une infection grippale à grippe A, les patients 4, 6 et 7 avaient une pneumocystose, le patient 6 avait en plus une infection à *Staphylococcus aureus* et à *Escherichia coli*. Le patient 16 avait une infection à *Parainfluenza virus*.

Tableau III : Caractéristiques du LBA des 17 patients

Patient	Céllularité LBA en mm ³ / Lymphocyte % / Macrophage % / PNN %	Golde	Macrophage spumeux	Bactériologie
1	228/5,5/87/6,5	NA	Non	-
2	500/1,5/98/0,5	124	Non	Grippe A
3	6000/2/2,5/95,5	NA	NA	-
4	356/12,5/35/52,5	NA	NA	Pneumocystose
5	496/10,5/85/3	NA	NA	-
6	226/2/53,5/43,5	NA	NA	Pneumocystose + <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Escherichia coli</i>
7	97/63,5/23,5/12	NA	Non	Pneumocystose
8	1100/1,5/13/85	0	Non	-
9	173/2,5/14/83	0	Non	-
10	262/75,5/0/17	0	NA	-
11	356/4,5/95,5/0	NA	Non	-
12	1510/8/91/1	0	NA	-
13	470/38/50/11,5	NA	Non	-
14	154/8/91/0,5	0	Non	-
15	610/3,5/92,5/0	0	Non	-
16	1190/5/95/0	0	Non	virus Parainfluenza
17	200/5,5/89/1	80	Non	-

Le tableau IV présente les données cytologiques du LBA en fonction des 3 groupes de probabilité de PnpA.

Table IV : Répartition de la formule du LBA en fonction des groupes de probabilité diagnostique de PnpA

Formule du LBA	Certain (N=4)	Probable (N=4)	Improbable (N=9)
Macrophagique	2	1	5
Neutrophilique	1	1	1
Lymphocytaire	1	1	1
Panachée	0	1	2

c. Évaluation de la valeur diagnostique de l'analyse en MCFF du LBA

Nous avons comparé les résultats de l'analyse en MCFF du LBA avec celui obtenu par la DMD-PID.

En utilisant les critères de PnpA en MCFF *in vivo* sur les 8 patients du groupe A et B, 4 avaient un LBA compatible avec le diagnostic de PnpA en MCFF *ex vivo*. Sur les 9 patients du groupe C, 6 avaient un LBA en MCFF compatible avec le diagnostic de PnpA en MCFF *ex vivo* (Tableau V).

Table V : mesure de la validité intrinsèque de la MCFF ex vivo

	Diagnostic +	Diagnostic -
Test +	4	6
Test -	4	3

Dans notre série, la spécificité de la MCFF *ex vivo* est de 33%, pour une sensibilité de 50% ($p= 0,64$; test exact de Fisher)

La figure 9 montre les images que nous avons obtenu en MCFF *ex vivo*. L'image A correspond à un LBA considéré comme positif par les experts. L'image B est quant à elle issue d'un patient où les experts MCFF n'ont pas retenu le diagnostic de PnpA sur les données du LBA. On peut observer sur l'image A la présence de cellules fortement fluorescentes et de taille supérieur à $20\mu\text{m}$. A l'inverse sur l'image B aucune cellule à forte fluorescence n'est visualisée.

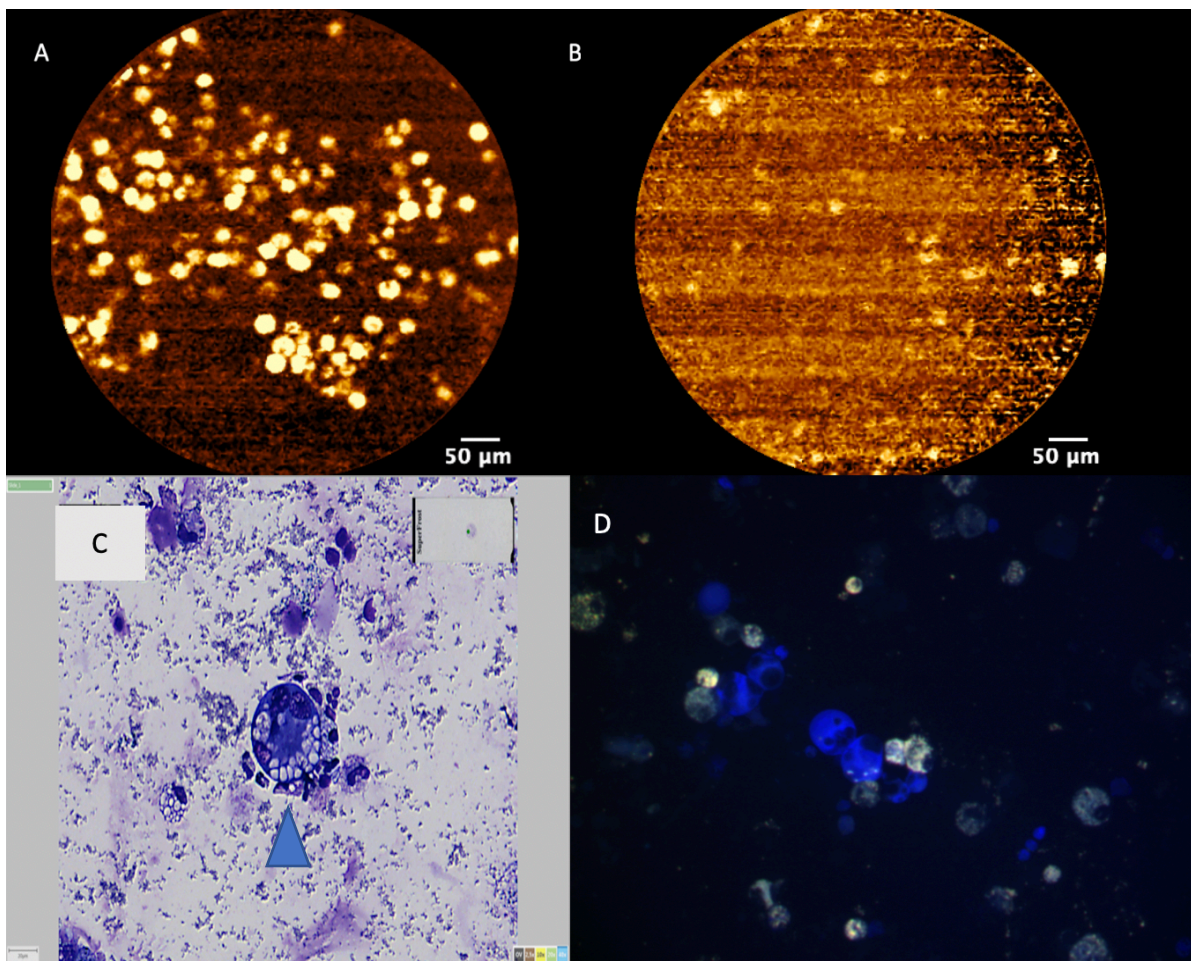


Figure 9 : Les images A et B sont les images observé en MCFF *ex vivo* sur le LBA. Les images C et D sont des exemples de cytologie d'un LBA adressé d'un centre extérieur. Image A : patient classé par les experts comme susceptible de présenter une PnpA. /Image B : LBA non en faveur de PnpA. / Image C : coloration MGG : au centre, on identifie un volumineux macrophage spumeux (flèche) / Image D : cytologie en auto-fluorescence

La concordance inter observateur est très bonne, puisque les 2 experts ont classé les patients en MCCF *ex vivo* de manière identique pour 100% d'entre eux.

En regardant la taille moyenne des cellules observées sur 5 images d'intérêt, nous retrouvons une différence significative entre les groupes A et B comparativement au groupe C. En effet, dans le groupe C les cellules observées en MCCF *ex vivo* étaient significativement plus grandes que dans les groupes A et B. (20 μ m vs 17 μ m ; $p=0,0008$) (Figure 10)

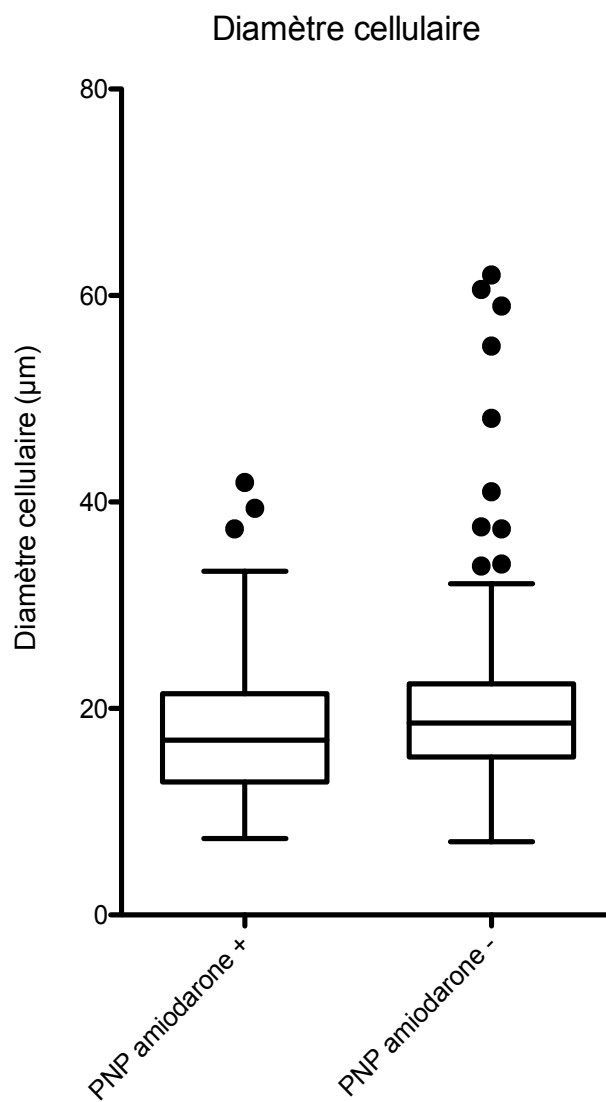


Figure 10 : Comparaison entre le diamètre moyen des cellules observées sur le LBA en MCFE entre les groupes A et B (PNP amiodarone +) versus le groupe C (PNP amiodarone -)

La fréquence de distribution du diamètre cellulaire est illustrée sur la figure 11. On observe que les courbes de distribution sont superposables entre les deux groupes.

Diamètre cellulaire : fréquence de distribution

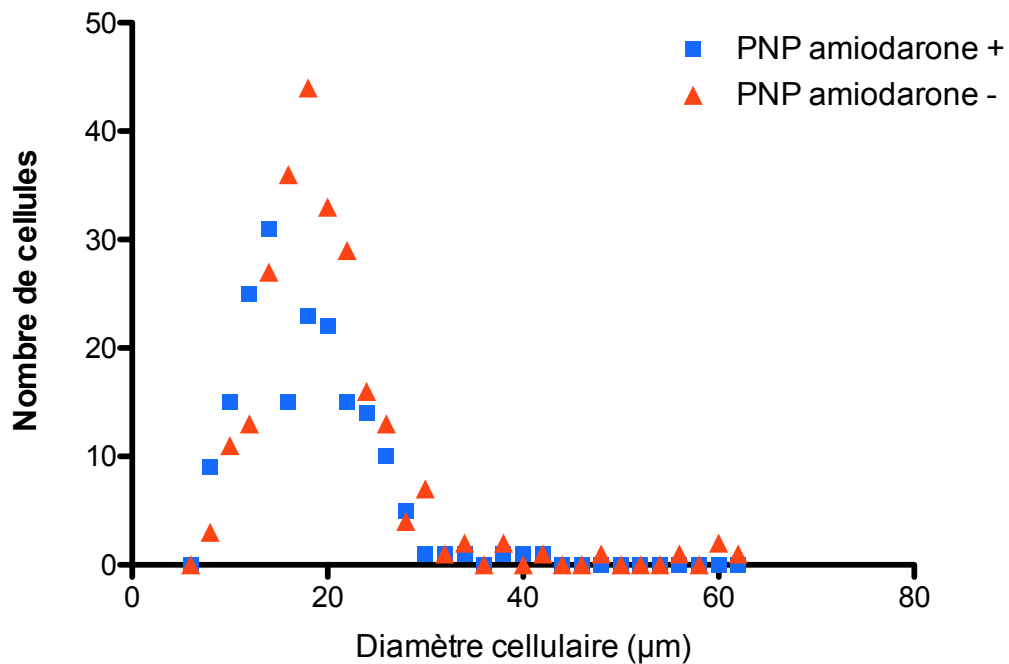


Figure 11 : Fréquence de distribution des diamètres cellulaires observés en MCFF ex vivo en fonction du groupe diagnostique : PNP amiodarone positif versus PNP amiodarone négatif

La comparaison de l'intensité de fluorescence moyenne entre les groupes A + B versus C, retrouve une intensité de fluorescence moyenne plus importante dans le groupe C. Cette différence est significative (39 UA vs 49 UA ; $p = 0,048$) (figure 12).

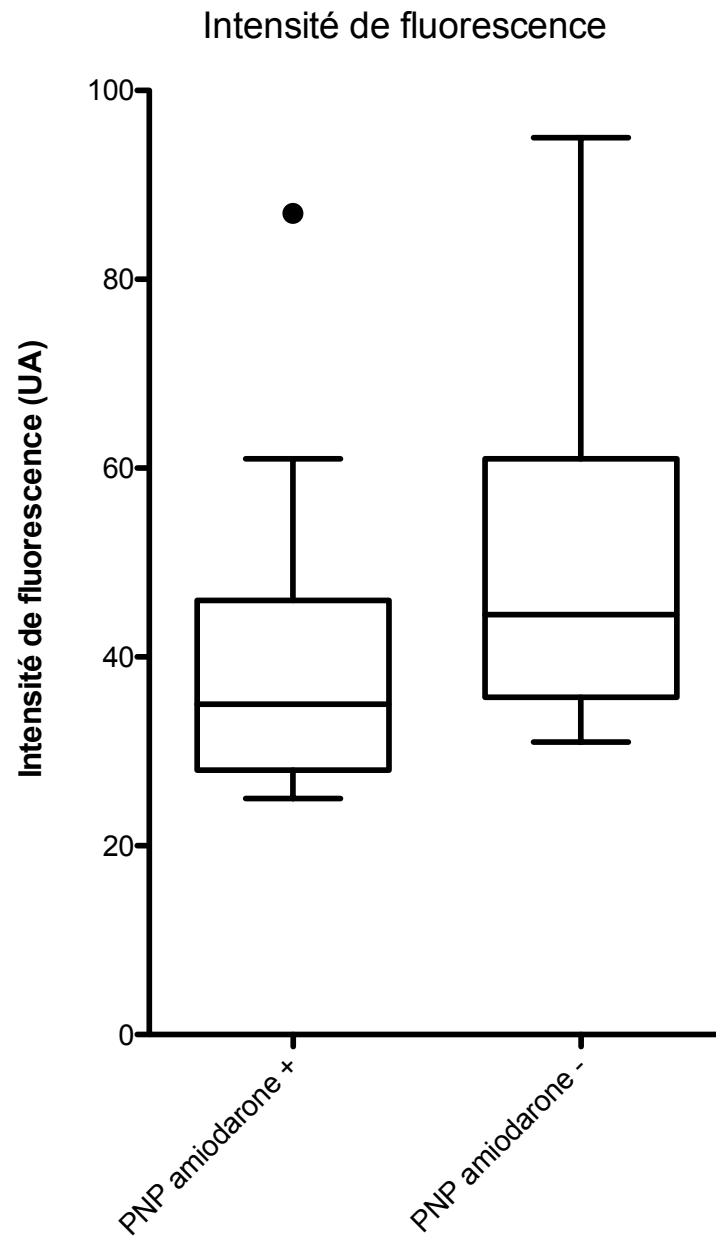


Figure 12 : Comparaison de l'intensité de fluorescence moyenne en fonction du diagnostic de PNP à l'amiodarone.

Discussion

A ce jour le diagnostic de PnpA repose sur un ensemble d'éléments non discriminants. La présence de macrophages spumeux au LBA est le signe le plus couramment utilisé pour suspecter l'atteinte pulmonaire de l'amiodarone (27). Cependant ce signe ne témoigne pas de manière certaine d'une toxicité pulmonaire (28). La clinique et l'imagerie étant non spécifiques, il est actuellement indispensable de réunir un panel d'experts pour poser le diagnostic de PnpA. Ce processus lourd entraîne un retard diagnostic et donc une incertitude thérapeutique. Néanmoins, l'amiodarone doit être arrêtée devant toute suspicion de PnpA.

Malgré une sensibilité et une spécificité intéressante la MCFF *in vivo* du poumon distal ne peut pas être réalisée chez tous les patients. Il existe en effet de nombreuses contre-indications rendant son utilisation en routine difficile, en particulier dans un contexte d'urgence diagnostique, ou de défaillance respiratoire.

Notre étude est, à notre connaissance, la première visant à évaluer la MCFF *ex vivo* dans le LBA pour le diagnostic de PnpA.

Dans cette série étudiant les aspects en MCFF du liquide de LBA *ex-vivo* chez les patients de PnpA, les résultats obtenus démontrent que l'utilisation des critères diagnostiques de PnpA en MCFF *in vivo* ne sont pas transposables en analyse *ex vivo*. En effet en utilisant ces critères la sensibilité est de 50% avec une spécificité de 33% dans notre étude.

La taille des cellules observées ne semble pas un bon critère en MCFF *ex vivo* puisque dans notre étude les patients classés comme certain ou probable de

présenter une PnpA, avaient une taille cellulaire inférieure aux patients classés comme improbable de présenter une PnpA. De même, l'intensité de fluorescence ne semble pas non plus un bon marqueur de PnpA en MCFF *ex vivo*. En effet dans notre étude nous avons observé que cette intensité de fluorescence moyenne était plus importante chez les patients ne présentant pas de PnpA.

Une des explications possibles est que dans cette étude l'ensemble des patients présentaient Pnp aiguë, avec une alvéolite intense. Ainsi en MCFF *ex vivo* nous visualisons de nombreuses cellules de taille moyenne (neutrophiles, lymphocytes), fluorescentes. L'échantillon de liquide de LBA n'est pas préparé avant l'observation en MCFF, et il est possible que les aspects de « grandes cellules fluorescentes » soient liés à des agglomérats de cellules plus petites (lymphocytes et/ou neutrophiles). Il est également possible que les conditions de conservation/transport du liquide de LBA entraînent une altération des cellules et/ou de leurs propriétés de fluorescence.

La discordance de spécificité et de sensibilité entre la MCFF *in vivo* et la MCFF *ex vivo* retrouvée dans cette étude peut également s'expliquer par la différence du milieu analysé. En effet dans le cadre de la MCFF *in vivo* nous étudions les espaces inter-alvéolaires et alvéolaires. Il est probable que nous observions donc les macrophages alvéolaires activés dans les compartiments pulmonaires interstitiels et intra-alvéolaires, s'accumulant pour éliminer les débris cellulaires dans le cadre de cette maladie de surcharge. La MCFF *ex vivo* est quant à elle faite à partir du LBA. Ce dernier reflète les populations cellulaires présentes dans les espaces bronchiolaires et alvéolaires sans analyser le secteur tissulaire. En effet, il est admis que la présence d'une accumulation tissulaire de cellules spumeuses sont alors spécifiques de la toxicité de l'amiodarone (29) Cette différence de site d'analyse est

majeure et explique peut-être à elle seule l'absence de spécificité de la technique dans cette série *ex-vivo*.

D'autres affections pulmonaires aiguës et sub-aiguës que la PnpA, peuvent entraîner une infiltration cellulaire fluorescente en endomicroscopie confocale. C'est le cas en particulier du rejet aigu cellulaire du greffon en transplantation pulmonaire, et de la pneumocystose. Dans la transplantation pulmonaire, il a été montré que la présence de cellules fluorescentes alvéolaires était retrouvée à la fois dans les situations de rejet mais également dans les greffons sans rejet, dans environ 65% des cas (42). L'origine de la fluorescence cellulaire n'est pas identifiée. Keller et al (43) ont montré en revanche que l'étude de la distribution des cellules fluorescentes, péri-vasculaires, signe de rejet aigu cellulaire, était aussi bien identifiée en endomicroscopie confocale que sur les biopsies transbronchiques, ouvrant la voie à la biopsie optique pour le suivi des patients transplantés. Il était cependant noté dans cette étude, concernant l'infiltration cellulaire fluorescente des territoires alvéolaires, des cas faux-positifs en rapport avec des infections virales.

Dans la pneumocystose pulmonaire Shafief et al, (45) ont eux aussi démontré, que la présence de cellules fluorescentes au sein des espaces intra-alvéolaires, chez des patients VIH suspectés de présenter une pneumocystose, était un bon marqueur de la pathologie. En effet dans cette étude la spécificité est de 89% et la sensibilité de 79% ($p = 0,0001$) pour le diagnostic de pneumocystose en MCFF *in vivo*. Dans notre série, 3 patients (patients 4, 6 et 7) présentaient une pneumocystose active au moment de la MCFF *ex vivo*. Le patient 6 était classé comme compatible de présenter une PnpA par les experts en MCFF *ex vivo*. La présence de cellules fortement fluorescentes de la pneumocystose a donc pu interférer avec nos résultats pour le diagnostic de PnpA.

Nous notons dans notre série l'absence de macrophage spumeux dans les LBA des patients. Or 4 patients étaient considérés par les experts comme certains de présenter une PnpA et 4 probables. Sur les 8 patients des groupes A et B, seuls les patients 6 et 10 n'ont pas pu bénéficier d'une analyse anatomopathologique de leur LBA. Ainsi même en l'absence de macrophage spumeux, les experts se sont prononcés en faveur du diagnostic de PnpA. Ce constat est surprenant car il est généralement admis que l'absence de macrophages spumeux élimine la toxicité de l'amiodarone (28). Cela renforce l'idée que les cellules observées ou recueillies dans les alvéoles ne sont pas un bon marqueur de la toxicité de l'amiodarone sur le parenchyme pulmonaire.

Afin de confirmer ou d'infirmer les résultats de cette étude il serait intéressant de comparer l'analyse par MCFF *ex vivo* à l'analyse par MCFF *in vivo* dans une cohorte de patients atteints de PnpA, et à la DMD.

En revanche cette étude confirme l'excellente reproductibilité dans l'interprétation des résultats puisque les 2 experts ont classé de manière identique les LBA des patients en MCFF sur la base des critères de la MCFF *in vivo*.

Conclusion

L'analyse en MCFF du liquide de LBA est reproductible. Les critères de MCFF *in vivo* ne sont pas extrapolables à l'analyse *ex vivo* du liquide de LBA pour le diagnostic de pneumopathie à l'amiodarone.

BIBLIOGRAPHIE

1. Connolly SJ. Evidence-Based Analysis of Amiodarone Efficacy and Safety. *Circulation*. 1999 Nov 9;100(19):2025–34.
2. Meng X, Mojaverian P, Doedée M, Lin E, Weinryb I, Chiang ST, et al. Bioavailability of amiodarone tablets administered with and without food in healthy subjects. *Am J Cardiol*. 2001 Feb;87(4):432–5.
3. van Erven L, Schalij MJ. Amiodarone: an effective antiarrhythmic drug with unusual side effects. *Heart*. 2010 Oct 1;96(19):1593–600.
4. Rakita L, Sobol SM, Mostow N, Vrobel T. Amiodarone pulmonary toxicity. *Am Heart J*. 1983 Oct;106(4):906–16.
5. Rotmensch HH, Liron M, Tupilski M, Laniado S. Possible association of pneumonitis with amiodarone therapy. *Am Heart J*. 1980 Sep;100(3):412–3.
6. Harris L, McKenna WJ, Rowland E, Krikler DM. Side effects and possible contraindications of amiodarone use. *Am Heart J*. 1983 Oct;106(4):916–23.
7. Skeoch S, Weatherley N, Swift A, Oldroyd A, Johns C, Hayton C, et al. Drug-Induced Interstitial Lung Disease: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2018 Oct 15;7(10):356.
8. Wolkove N, Baltzan M. Amiodarone pulmonary toxicity. 2009;16(2):7.
9. Martin WJ, Rosenow EC. Amiodarone Pulmonary Toxicity. *Chest*. 1988 May;93(5):1067–75.
10. Roca J, Heras M, Rodriguez-Roisin R, Magrina J, Xaubet A, Sanz G. Pulmonary complications after long term amiodarone treatment. *Thorax*. 1992 May 1;47(5):372–6.
11. Effect of prophylactic amiodarone on mortality after acute myocardial infarction and in congestive heart failure: meta-analysis of individual data from 6500 patients in randomised trials. Amiodarone Trials Meta-Analysis Investigators. *Lancet Lond Engl*. 1997 Nov 15;350(9089):1417–24.
12. Ulrik CS, Backer V, Aldershvile J, Pietersen AH. Serial pulmonary function tests in patients treated with low-dose amiodarone. *Am Heart J*. 1992 Jun;123(6):1550–4.
13. Lardinois D, Handschin A, Weder W. Acute amiodarone-induced pulmonary toxicity after lung operation. *Ann Thorac Surg*. 2002 Jun;73(6):2033–4.

14. Range FT, Hilker E, Breithardt G, Buerke B, Lebiez P. Amiodarone-Induced Pulmonary Toxicity—A Fatal Case Report and Literature Review. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2013 Jun;27(3):247–54.
15. Wilhelm JM, Thannberger P, Derragui A, Ruxer S, Saraceni O, Kieffer P. [Interstitial pneumopathy 2 months after discontinuing treatment with amiodarone]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 1999 Nov 27;28(37):2040.
16. Arbillaga-Etxarri A, Gimeno-Santos E, Barberan-Garcia A, Balcells E, Benet M, Borrell E, et al. Long-term efficacy and effectiveness of a behavioural and community-based exercise intervention (Urban Training) to increase physical activity in patients with COPD: a randomised controlled trial. *Eur Respir J.* 2018 Oct;52(4):1800063.
17. Kothari SS, Balijepally S, Taneja K. Amiodarone-induced pulmonary toxicity in an adolescent. *Cardiol Young.* 1999 Mar;9(2):194–6.
18. Magro SA, Lawrenck EC, Wheeler SH, Krafchek J, Lin H-T, Wyndham CRC. Amiodarone pulmonary toxicity: Prospective evaluation of serial pulmonary function tests. *J Am Coll Cardiol.* 1988;12(3):781–8.
19. Kay GN, Epstein AE, Kirklin JK, Diethelm AG, Graybar G, Plumb VJ. Fatal postoperative amiodarone pulmonary toxicity. *Am J Cardiol.* 1988 Sep;62(7):490–2.
20. Van Mieghem W, Coolen L, Malysse I, Lacquet LM, Deneffe GJD, Demedts MGP. Amiodarone and the Development of ARDS After Lung Surgery. *Chest.* 1994 Jun;105(6):1642–5.
21. Handschin AE, Lardinois D, Schneiter D, Bloch K, Weder W. Acute Amiodarone-Induced Pulmonary Toxicity following Lung Resection. *Respiration.* 2003;70(3):310–2.
22. Camus P, Martin WJ, Rosenow EC. Amiodarone pulmonary toxicity. *Clin Chest Med.* 2004 Mar;25(1):65–75.
23. Schwaiblmair M, Berghaus T, Haeckel T, Wagner T, von Scheidt W. Amiodarone-induced pulmonary toxicity: an under-recognized and severe adverse effect? *Clin Res Cardiol.* 2010 Nov;99(11):693–700.
24. Camus P, Fanton A, Bonniaud P, Camus C, Foucher P. Interstitial Lung Disease Induced by Drugs and Radiation. *Respiration.* 2004;71(4):301–26.
25. Vernhet H, Bousquet C, Durand G, Giron J, Senac J. Reversible amiodarone-induced lung disease: HRCT findings. *Eur Radiol.* 2001 Sep;11(9):1697–703.
26. Clarke B, Ward DE, Honey M. Pneumonitis with pleural and pericardial effusion and neuropathy during amiodarone therapy. *Int J Cardiol.* 1985 May;8(1):81–8.

27. Martin WJ, Osborn MJ, Douglas WW. Amiodarone Pulmonary Toxicity. *Chest*. 1985 Oct;88(4):630–1.
28. Bedrossian CW, Warren CJ, Ohar J, Bhan R. Amiodarone pulmonary toxicity: cytopathology, ultrastructure, and immunocytochemistry. *Ann Diagn Pathol*. 1997 Oct;1(1):47–56.
29. Füzési K, Károlyi A. [Amiodarone-induced pulmonary fibrosis]. *Orv Hetil*. 1997 Jan 5;138(1):43.
30. Oyama N, Oyama N, Yokoshiki H, Kamishima T, Nambu T, Tsutsui H, et al. Detection of Amiodarone-Induced Pulmonary Toxicity in Supine and Prone Positions. *Circ J*. 2005;69(4):466–70.
31. Donaldson L, Grant IS, Naysmith MR, Thomas JSJ. Acute amiodarone-induced lung toxicity. *Intensive Care Med*. 1998 Jun;24(6):626–30.
32. MacAulay C, Lane P, Richards-Kortum R. In vivo pathology: microendoscopy as a new endoscopic imaging modality. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2004 Jul;14(3):595–620.
33. St. Croix CM, Leelavanichkul K, Watkins SC. Intravital fluorescence microscopy in pulmonary research. *Adv Drug Deliv Rev*. 2006 Oct;58(7):834–40.
34. Salaün M, Bourg-Heckly G, Thiberville L. Endomicroscopie confocale en pneumologie : de la bronche à l'alvéole. *Rev Mal Respir*. 2010 Jun;27(6):579–88.
35. Le Goualher G, Perchant A, Genet M, Cavé C, Viellerobe B, Berier F, et al. Towards Optical Biopsies with an Integrated Fibered Confocal Fluorescence Microscope. In: Barillot C, Haynor DR, Hellier P, editors. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2004* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2004 [cited 2019 Sep 8]. p. 761–8. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-30136-3_93
36. Thiberville L, Salaun M, Lachkar S, Dominique S, Moreno-Swirc S, Vever-Bizet C, et al. Human in vivo fluorescence microimaging of the alveolar ducts and sacs during bronchoscopy. *Eur Respir J*. 2009 May 1;33(5):974–85.
37. Thiberville L, Moreno-Swirc S, Vercauteren T, Peltier E, Cavé C, Bourg Heckly G. *In Vivo* Imaging of the Bronchial Wall Microstructure Using Fibered Confocal Fluorescence Microscopy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Jan;175(1):22–31.
38. Thiberville L, Salaun M, Lachkar S, Dominique S, Moreno-Swirc S, Vever-Bizet C, et al. Confocal Fluorescence Endomicroscopy of the Human Airways. *Proc Am Thorac Soc*. 2009 Aug 15;6(5):444–9.
39. Salaun M, Roussel F, Hauss P-A, Lachkar S, Thiberville L. In vivo imaging of pulmonary alveolar proteinosis using confocal endomicroscopy. *Eur Respir J*. 2010 Aug 1;36(2):451–3.

40. Dalar L, Özdemir C, Nedime S, Karasulu AL, Altin S, Fener N, et al. Probe-based Confocal Laser Endomicroscopy (pCLE) in the Diagnosis of Diffuse Parenchymal Lung Diseases: Two Cases. :6.
41. Yserbyt J, Dooms C, Decramer M, Verleden GM. Acute lung allograft rejection: Diagnostic role of probe-based confocal laser endomicroscopy of the respiratory tract. *J Heart Lung Transplant*. 2014 May;33(5):492–8.
42. Keller CA, Khor A, Arenberg DA, Smith MA, Islam SU. Diagnosis of Acute Cellular Rejection Using Probe-based Confocal Laser Endomicroscopy in Lung Transplant Recipients: A Prospective, Multicenter Trial. *Transplantation*. 2019 Feb;103(2):428–34.
43. Salaün M, Guisier F, Dominique S, Genevois A, Jounieaux V, Bergot E, et al. In vivo probe - based confocal laser endomicroscopy in chronic interstitial lung diseases: Specific descriptors and correlation with chest CT. *Respirology*. 2019 Aug;24(8):783–91.
44. Salaün M, Roussel F, Bourg-Heckly G, Vever-Bizet C, Dominique S, Genevois A, et al. *In vivo* probe-based confocal laser endomicroscopy in amiodarone-related pneumonia. *Eur Respir J*. 2013 Dec;42(6):1646–58.
45. Shafiek H, Fiorentino F, Cosio BG, Kersul A, Thiberville L, Gómez C, et al. Usefulness of Bronchoscopic Probe-Based Confocal Laser Endomicroscopy in the Diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Respir Int Rev Thorac Dis*. 2016;92(1):40–7.

RESUME

Introduction : L'amiodarone est responsable d'une toxicité pulmonaire importante qui varie selon les séries de 0,5% à 15%. Aujourd'hui il n'existe aucun examen fiable pour poser le diagnostic de pneumopathie à l'amiodarone (PnpA). La microscopie confocale fibrée en fluorescence (MCFF) a démontré *in vivo* son intérêt pour le diagnostic de PnpA. La sensibilité est de 100% (IC 95 % : 0,66-1) avec une spécificité de 88% (IC 95 % : 0,47-1) chez les patients non-fumeurs dans l'étude pilote de Salaun et al en 2013.

Objectif : Déterminer la précision diagnostique de la MCFF *ex vivo* sur le liquide broncho-alvéolaire (LBA) chez des patients non-fumeurs pour le diagnostic de PnpA aiguë (<1mois) ou subaiguë (<3mois).

Méthodes : Chaque patient de la cohorte a bénéficié en l'aveugle d'une évaluation du LBA en *ex vivo* et d'une évaluation par réunion multidisciplinaire (RCP-PID) pour poser le diagnostic de PnpA. Les patients étaient classés en 3 groupes par la RCP-PID : certain (A), probable(B), et improbable (C) de présenter une PnpA. Ils étaient comparés au résultat de la MCFF *ex vivo*. Nous utilisons le dispositif Cellvizio® Lung avec excitation à 488 nm, couplé à un spectromètre (Mauna Kea Technologies, Paris, France), avec une sonde AlveoFlex® pour la MCFF. Le LBA était considéré comme évocateur de PnpA lorsque les experts y observaient des cellules de grandes tailles (>20µm), fluorescentes avec une intensité supérieure à 100 Lux. Une deuxième analyse portait sur la différence des moyennes de fluorescence et de taille cellulaire entre les groupes A, B et C.

Résultats : 17 LBA ont été étudiés en MCFF de décembre 2016 à juillet 2019. 11 patients (65%) présentaient un tableau clinique aigu et 6 patients (35%) présentaient un tableau clinique subaigu de PnpA. 4 patients sont classés comme certains (groupe A) de présenter une PnpA par la RCP-PID, 4 patients comme probables (groupe B) et 9 patients comme improbables (groupe C). Dans notre série la spécificité de la MCFF *ex vivo* est de 33%, pour une sensibilité de 50% (p= 0,64). La taille moyenne des cellules fluorescentes est de 17µm dans les groupes A et B vs 20µm dans le groupe C (p = 0,0008). La fluorescence moyenne est de 39UA pour le groupe A et B vs 49UA dans le groupe C (p = 0,048)

Conclusion : La MCFF *ex vivo* ne permet pas de poser avec certitude le diagnostic de PnpA en utilisant les critères de la MCFF *in vivo*.

Mots clés

Microscopie confocale ; Pneumopathie à l'amiodarone ; Endoscopie pulmonaire