

Endoscopische biopten bij de hond

zijn waardevol bij de diagnose en behandeling van chronische gastro-intestinale aandoeningen

Jaco van der Lugt, BVSc PhD DiplECVP, Anatomisch Patholoog
Berit Baum, Dr.med.vet. DiplECVP, Anatomisch Patholoog
Els Acke, VetSurg PhD DipECVIM-CA, Consultant Interne Geneeskunde



De afgelopen jaren is er veel veranderd op het gebied van histologisch onderzoek van endoscopische biopten. Door toenemend inzicht in de correlatie tussen de histologie en het klinisch beeld bij honden met chronische gastro-intestinale aandoeningen en het standaardiseren van de diagnostische verslagen van de patholoog, is de meerwaarde van dit type onderzoek enorm toegenomen.

In deze Diagnostic Update leggen we uit hoe onze pathologen endoscopische biopten van het maag-darmkanaal (MDK) beoordelen en rapporteren en geven we praktische informatie over het correct afnemen en insturen van biopten. Ook bespreken we de klinische relevantie van deze biopten bij honden met chronische gastro-intestinale aandoeningen.

Endoscopische of volle dikte biopten?

De voorkeur voor endoscopische versus volle dikte biopten wordt met name bepaald door het klinisch beeld van een patiënt. In de meeste gevallen volstaan endoscopische biopten. Echter in sommige gevallen hebben volle dikte biopten de voorkeur, bijvoorbeeld als het vermoeden bestaat dat de submucosa of spierlagen zijn aangetast. Aandoeningen waarbij dit het geval is, zijn bijvoorbeeld neoplasie en intestinale lipogranulomateuze

lymfangitis. Soms worden ook volle dikte biopten genomen omdat het histologisch beeld van de endoscopische biopten niet correleert met het klinisch beeld. Hieronder volgt een overzicht van de voor- en nadelen van de verschillende soorten biopten. In de rest van de Diagnostic update zullen we ons focussen op de endoscopische biopten.

Endoscopische biopten:

Voordelen

Minimaal invasief, snel herstel

Maakt inspectie van mucosa en biopteren van gelokaliseerde laesies mogelijk

Meerdere biopten van verschillende locaties mogelijk; minimaal 6-8 individuele biopten van goede kwaliteit van elke locatie wordt aanbevolen

Laag risico op complicaties (bijv. wijkende wondranden, septisch peritonitis)

Nadelen

Van het bovenste deel van het MDK zijn alleen de maag en het duodenum bereikbaar; voor het ileum en het colon is speciale voorbereiding en apparatuur nodig. Laesies in het jejunum worden gemist*

Geen bioptnaam van lever, lymfeknopen enz. mogelijk.

Kans op artefacten in biopten (samengedrukte en gefragmenteerde stukjes weefsel; knijpartefacten)

Slechts kleine oppervlakkige biopten; diepere laesies in mucosa kunnen gemist worden, bijv. lymphangiëctasie, lymfoom, GIST, leiomyoom, en mogelijk carcinoom

Ervaring bij het uitvoeren van endoscopie en specifieke apparatuur noodzakelijk

Volle dikte(Full-thickness) biopten:

Voordelen

Grote, volle dikte biopten van alle lagen van het MDK mogelijk

Alle delen van het MDK kunnen worden gebiopteerd, minder artefacten

Inspectie/bioptnaam van overige abdominale organen mogelijk

Nadelen

Invasiever, langere herstelperiode

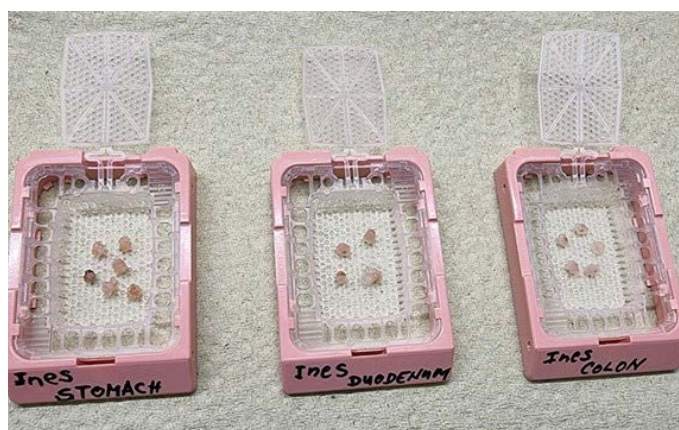
Minder biopten, daarnaast is visuele inspectie van de mucosa niet mogelijk waardoor gerichte bioptnaam niet mogelijk is

Verhoogde kans op complicaties, vooral bij protein-losing enteropathie en dikke darm biopten

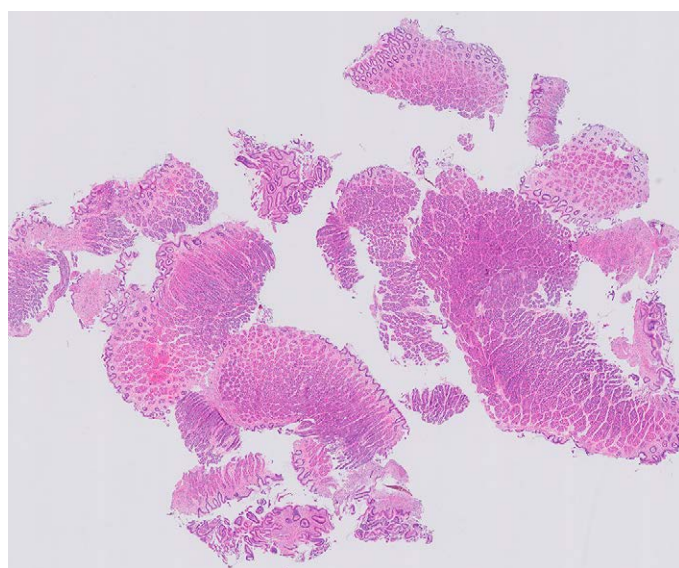
* Bij honden met chronische gastro-intestinale aandoeningen blijkt het jejunum en het ileum het meest frequent aangetast. Bioptnaam van het ileum in combinatie met het duodenum wordt daarom sterk aanbevolen.

Advies voor goede biopname en inzending naar het laboratorium

Om het maximaal resultaat uit histopathologisch onderzoek te halen, zijn biopten van hoge kwaliteit essentieel. Naast de ervaring en de techniek van degene die de biopten neemt, hangt de kwaliteit van de biopten af van een aantal factoren. Onjuiste hantering van de relatief kleine, kwetsbare biopten kan leiden tot artefacten. Het is daarom van groot belang om uitrekking en samendrukking van de biopten door een forceps, wat leidt tot knijpartefacten, te voorkomen. De instructies van het laboratorium met betrekking tot het inzenden van het weefsel moet ook nauwgezet worden gevolgd. Indien mogelijk moeten biopten voorzichtig op hun zijkant, op een dunne bevochtigde synthetische spons-inlay, in een plastic cassette worden geplaatst. Correcte positionering van de biopten in de kliniek bevordert optimale inspectie en evaluatie van het bioptmateriaal in het laboratorium. Het is zeer belangrijk dat de biopten niet uitdrogen. Cassettes moeten worden ondergedompeld in 10% neutraal-gebufferde formaline voor verzending naar het laboratorium (zie publicatie van Ruiz et al, open access). Als er in de kliniek geen cassettes beschikbaar zijn kunnen de biopten in reguliere formalinepotjes worden ingezonden. In dat geval is het belangrijk om per locatie van het maag-darmkanaal een nieuw potje te gebruiken en goed te labelen.



Figuur 1. Geopende cassette met endoscopische biopten van de maag, het duodenum en het colon; we adviseren de biopten op een dunne synthetische spons-inlay te leggen.

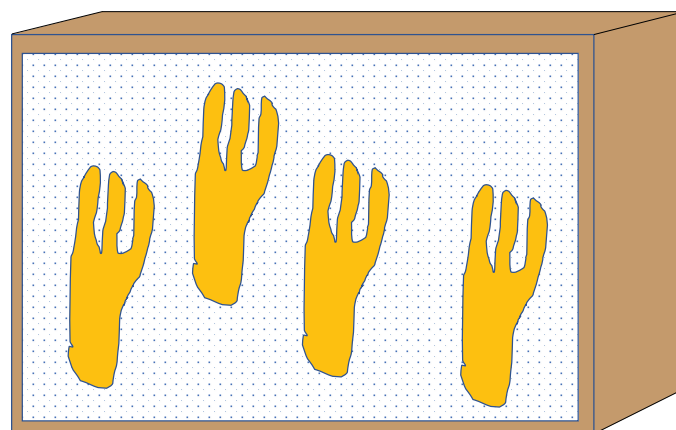


Figuur 3. Endoscopische biopten van de maag van een hond, van goede kwaliteit. Er zijn meerdere biopten van optimale grootte waarbij een representatief deel van de mucosa is gebiopteerd.

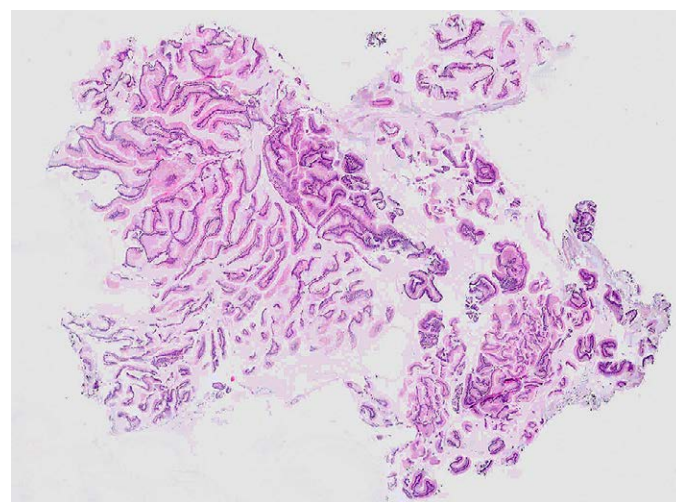
De noodzaak voor gestandaardiseerde rapportage van endoscopische biopten

Al gedurende een lange periode is er discussie over de waarde van endoscopische biopten bij het diagnosticeren van gastro-intestinale aandoeningen bij de hond. Redenen hiervoor zijn:

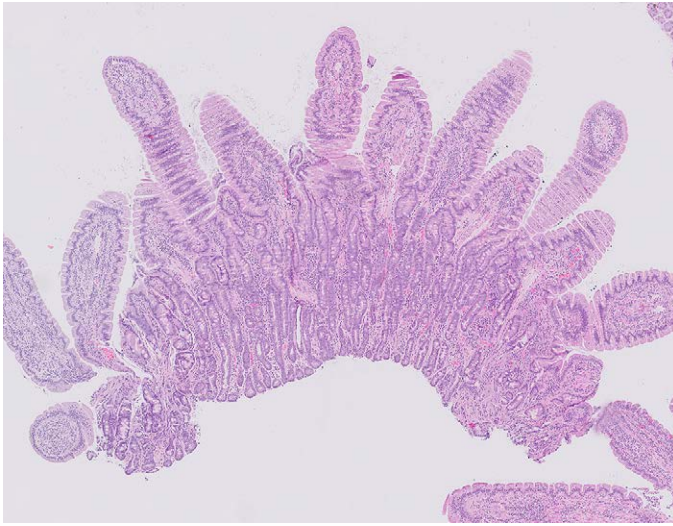
- Een definitie van 'normaal' blijkt moeilijk. Zelfs klinisch gezonde honden vertonen in de mucosa van de dunne en dikke darm een variërend aantal leukocyten, voornamelijk lymfocyten en plasmacellen. Onderscheid maken tussen biopten die vallen in het spectrum van 'normaal' of die vallen in het spectrum van 'milde graad abnormaal' is dan ook een van de grootste uitdagingen bij het beoordelen van endoscopische biopten.
- Correlatie tussen histologische bevindingen en het klinisch beeld is vaak onduidelijk.
- Het gebrek aan een breed geaccepteerd scoringsysteem voor laesies in het MDK heeft in het verleden geleid tot een grote variatie in het rapporteren van endoscopische biopten door pathologen.



Figuur 2. Het is belangrijk om de biopten op dezelfde correcte manier te positioneren. De vlokken (V) moeten parallel liggen aan de inlay (dus horizontaal), op die manier blijven de vlokken intact en worden ze niet samengedrukt.



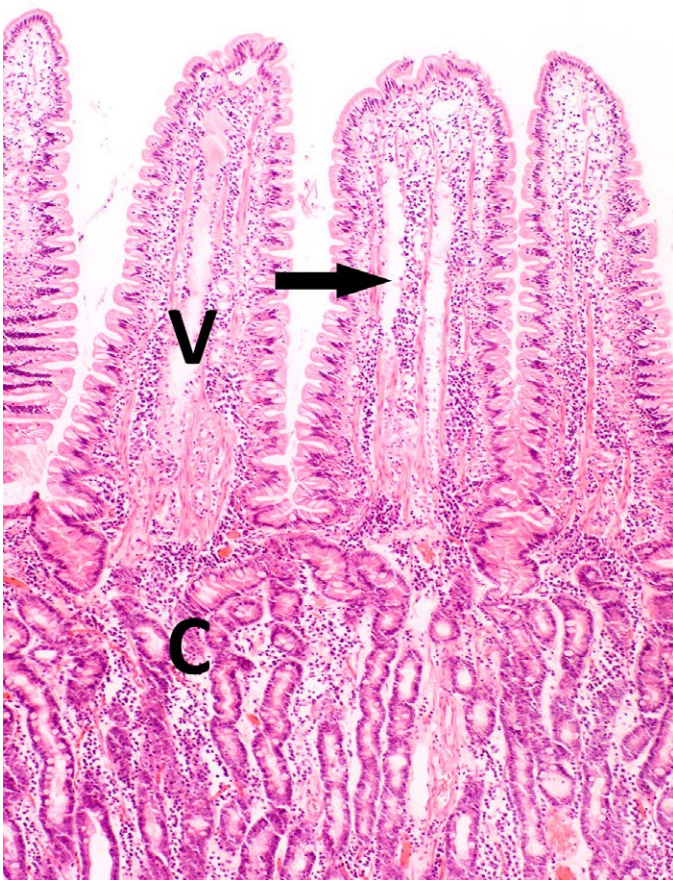
Figuur 4. Endoscopische biopten met fragmenten van oppervlakkige maagmucosa. Er is zeer weinig lamina propria en klierweefsel aanwezig en daarom zijn de biopten ongeschikt voor een betrouwbare histologische evaluatie.



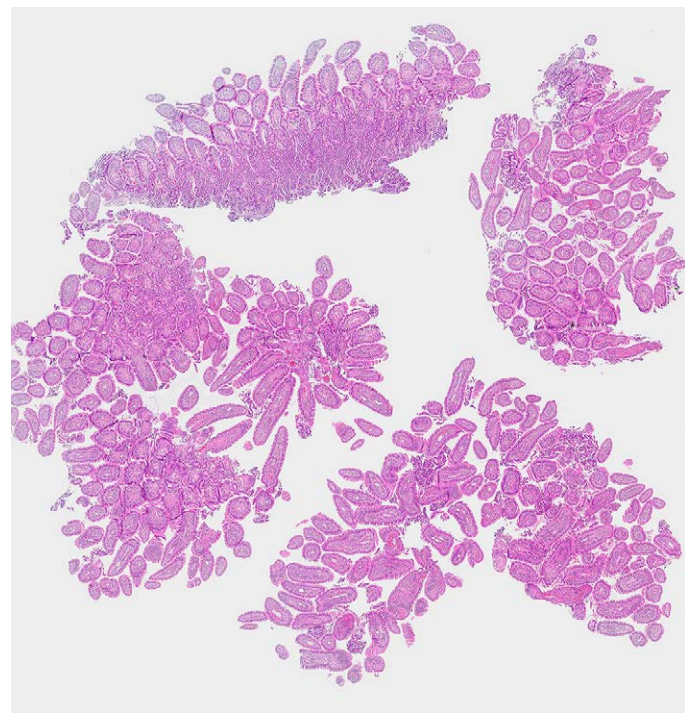
Figuur 5. Endoscopische biopten van de dunne darm van goede kwaliteit. Meerdere vlokken met diepere mucosa en crypten zijn gebioteerd.



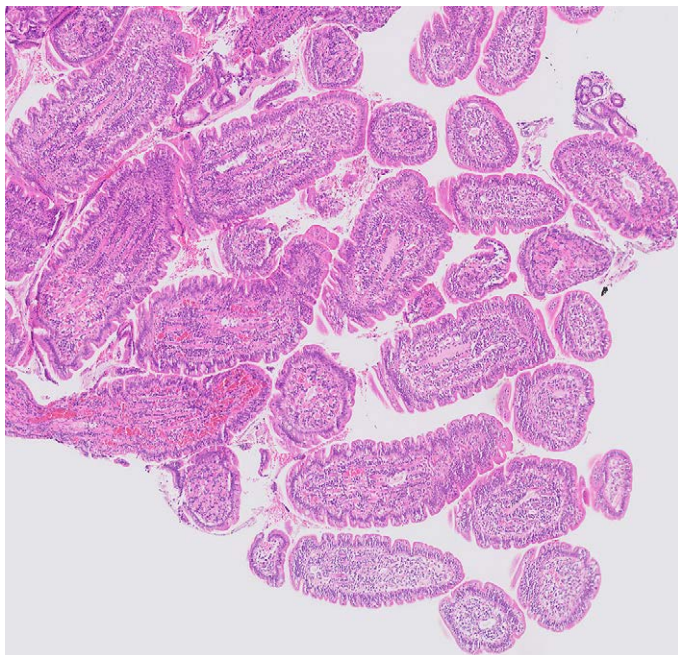
Figuur 6. Volle dikte biopten van de dunne darm van goede kwaliteit. In tegenstelling tot endoscopische biopten (zie figuur 5), zijn alle lagen van de darmwand gebioteerd.



Figuur 7. Hogere vergroting van de oppervlakkige mucosa (slijmvlies) van de dunne darm. De vingerachtige darmvlokken (V) bestaan uit een laag epitheel en lamina propria. De lamina propria bevat chylvaten (of lymfevaten, pijl) en de diepere mucosa bevat crypten (C).



Figuur 8. Endoscopische biopten van het duodenum. Op het eerste gezicht lijken de biopten van goede kwaliteit, maar de meeste biopten bestaan slechts uit toppen van darmvlokken (zie ook figuur 9) en daarom zijn de biopten ongeschikt voor beoordeling.



Figuur 9. Hogere vergroting van een van de biopten uit figuur 8 (rechts onder). De weefselfragmenten bestaan slechts uit toppen van de darmvlokken en daarom zijn de biopten niet-diagnostisch.

Scoringssysteem voor het rapporteren van endoscopische biopten

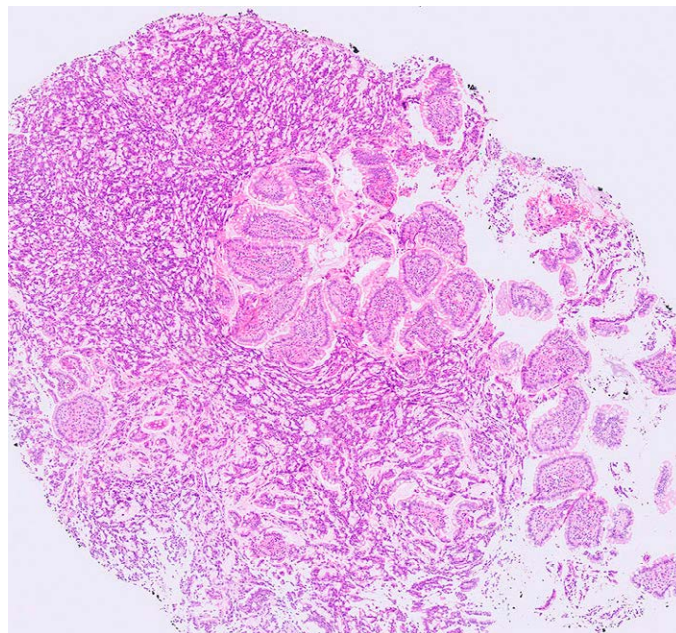
De 'World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) International Gastrointestinal (GI) Standardization Group' heeft een **scoringssysteem** voor morfologische en inflammatoire laesies in MDK-biopten bij de hond gemaakt. Dit systeem is later vereenvoudigd en bleek bruikbaar bij het correleren van histopathologische afwijkingen in endoscopische biopten met de ernst van de klinische symptomen in honden met 'inflammatory bowel disease (IBD)'. Dit vereenvoudigde WSAVA-scoringsysteem voor het beoordelen, scoren en rapporteren van laesies in endoscopische biopten van de maag, het duodenum en het colon wordt binnen IDEXX gebruikt.

Het aangepaste WSAVA scoringssysteem maakt gebruik van een combinatie van structurele en inflammatoire veranderingen om een score toe te kennen van normaal of licht/matig/sterk veranderd. Verschillende cellulaire infiltraten (bijv. lymfoplasmacellulair, eosinofiel, en granulomateus) worden ook herkend.

Het verslag van de patholoog: wat kunt u verwachten

Voor het beoordelen van endoscopische biopten gebruikt de patholoog een uniforme en systematische methode om morfologische en inflammatoire abnormaliteiten te beschrijven, scoren en interpreteren. Het rapport omvat over het algemeen:

- Korte anamnese en (vermoedelijke) klinische diagnose
- Aantal en grootte van ingezonden biopten van elke anatomische locatie van het MDK
- Artefacten en **kwaliteit** van biopten; het verslag maakt duidelijk melding van suboptimale monsters (onvoldoende materiaal, mechanische schade/ artefacten) als ze een beperkende factor zijn bij het evalueren van de biopten



Figuur 10. Niet-diagnostische biopten van het duodenum van suboptimale kwaliteit. Het bioptmateriaal bestaat slechts uit toppen van darmvlokken (rechts) en darmvlokken met knijpartefacten waardoor verlies van structuur is opgetreden (links).

Histologische parameters van het kwantitatieve scoringssysteem

Maag

Morfologische parameters

- Oppervlakkige epitheliale laesies
- Fibrose

Inflammatoire parameters

- Intra-epitheliale lymfocyten
- Lamina propria infiltraten: lymfocyten/plasmacellen, neutrofiële granulocyten en/of eosinofiele granulocyten

Dunne darm: duodenum en ileum

Morfologische parameters

- Oppervlakkige epitheliale laesies
- Vlokverkorting
- Cryptverwijding
- Lymfevatverwijding

Inflammatoire parameters

- Intraepithelial lymphocytes
- Lamina propria infiltraten: lymfocyten/plasmacellen, neutrofiële granulocyten en/of eosinofiele granulocyten

Colon

Morfologische parameters

- Oppervlakkige epitheliale laesies
- Cryptverwijding
- Fibrose
- Aantal beercellen

Inflammatoire parameters

- Lamina propria infiltraten: lymfocyten/plasmacellen, neutrofiële granulocyten en/of eosinofiele granulocyten en/of macrofagen

- **Histopathologische beschrijving** van morfologische en inflammatoire abnormaliteiten en scoring van de bevindingen volgens het vereenvoudigd WSAVA-scoringsstelsel. Overige pathologische veranderingen zoals ulceratie en infectieuze agentia worden ook beschreven
- Morfologische **diagnose** die de meest essentiële morfologische en inflammatoire veranderingen in de bipten per locatie weergeeft; bijv. duodenum: matige chronische lymfoplasmacellulaire enteritis met matige vlokverkorting
- **Commentaar** waarbij de volgende aspecten kunnen worden besproken: mogelijke pathogenese, oorzaak, differentiaaldiagnoses en/of aanvullende diagnostische testen, indien van toepassing. Als het vermoeden van neoplasie bestaat, kunnen immunohistochemische kleuringen of een klonaliteitstest (PARR) worden geadviseerd
- **Naam** van de patholoog aan het einde van het verslag, inclusief mailadres indien aanvullende bespreking van de casus nodig is.

Terminologie heeft klinische betekenis: 'idiopathic inflammatory bowel disease (IBD)' of chronische inflammatoire enteropathie (CIE)

Histologische evaluatie van endoscopische bipten bij de hond met een primair chronische MDK aandoening vertoont vaak een lymfocytair/lymfoplasmacellulaire infiltratie in de mucosa van het maag-darmkanaal. In het verleden werd dit reactiepatroon meestal gerapporteerd als 'overeenstemmend met IBD'.

De term IBD is in de veterinaire terminologie ingeburgerd omdat de ontsteking in de mucosa bij de hond morfologische overeenkomsten vertoont met IBD bij de mens. IBD bij de mens is een verzamelnaam voor een chronische ontsteking in het maag-darmkanaal en omvat twee belangrijke aandoeningen: de ziekte van Crohn en ulceratieve colitis. Bij de mens wordt initieel vaak medicamenteus behandeld met ontstekingsremmers en immunosuppressiva. Bij de meeste honden met chronische MDK-aandoeningen en bevestigde ontsteking in de mucosa zijn immunosuppressiva niet nodig. Daarom kan het gebruik van de term IBD bij de hond misleidend zijn. Om die reden wordt tegenwoordig bij voorkeur de term **chronische inflammatoire enteropathie (CIE)** gebruikt voor deze chronische aandoening bij de hond, nadat andere extra-intestinale en intestinale oorzaken zijn uitgesloten.

Protein-losing enteropathie

Endoscopische biopsies worden ook gebruikt om de oorzaken van protein-losing enteropathie (PLE) vast te stellen en om de optimale therapie te bepalen. PLE is een syndroom dat wordt gekenmerkt door abnormaal verlies van eiwitrijk lymfe in het lumen van het maag-darmkanaal. Op histologisch niveau wordt PLE in honden geassocieerd met lymfoplasmacellulaire enteritis in ongeveer 66% van de patiënten, lymphangiëctasie in ongeveer 50% van de patiënten (beide laesies kunnen gelijktijdig dezelfde patiënt optreden), en lymfangitis en intestinale cryptlaesies, elk in ongeveer 10% van de patiënten (Craven et al, 2019). Andere oorzaken van PLE zijn alimentair lymfoom en overige typen enteritis, namelijk granulomateuze en eosinofiele enteritis..

Of endoscopische bipten geschikt zijn om intestinale lymphangiëctasie te kunnen diagnosticeren blijft een onderwerp

voor discussie. In een recent artikel wordt vermeld dat het vermogen om lymphangiëctasie te diagnosticeren door endoscopische bipten 44/83 (53%) is, en daarmee bijna gelijk is aan volle dikte bipten 38/64 (59%) (Craven et al, 2019). Lymphangiëctasie komt echter meestal in het ileum voor en de diagnose kan dus worden gemist wanneer alleen duodenum wordt gebiopteerd.

Chronische inflammatoire enteropathie (CIE) bij de hond

Honden met CIE vertonen al gedurende een langere periode (> 3 weken) klinische symptomen zoals borborygmi, hyporexie, abdominale pijn, misselijkheid en/of gewichtsverlies. De diagnose CIE wordt gesteld **na uitsluiting** van extra-intestinale (bijv. lever-, pancreas- en nieraandoeningen, en hypoadrenocorticisme), infectieuze of parasitaire aandoeningen en intestinale aandoeningen met een andere oorzaak (zoals mechanische obstructie van invaginatie, vreemd voorwerp of neoplasie). Het uitvoeren van de Minimum Database (hematologie, klinische chemie, urineanalyse), ontlastingsonderzoek en nuchter gastro-intestinaal profiel (IDEXX code PROFPH hond) zijn belangrijke stappen in het opwerken van een chronische MDK aandoening, voordat begonnen wordt met therapie en voordat histologie overwogen wordt. Beeldvorming kan waardevol zijn bij het uitsluiten van obstructie en extra-intestinale afwijkingen en kan behulpzaam zijn in het lokaliseren van veranderingen en het kiezen van de juiste techniek voor monsternamen.

CIE wordt gebruikt als een verzamelnaam en wordt onderverdeeld in 4 aandoeningen op basis van reactie op behandeling:

- voedsel-responsieve enteropathie
- antimicrobieel-responsieve enteropathie*
- immunosuppressieve-responsieve enteropathie
- niet-responsieve enteropathie

Het klinisch beeld overlapt elkaar en op basis van histopathologische evaluatie van MDK bipten kan er **geen onderscheid** gemaakt worden tussen deze vier soorten.

Bij honden met milde/matige symptomen wordt endoscopische biopsie meestal uitgesteld en wordt eerst begonnen ondersteunende therapie en een verandering van voer in het kader van een voedsel-responsieve enteropathie.

*antimicrobiële therapie wordt uitsluitend gebruikt wanneer er adhesieve-invasieve bacteriën aanwezig zijn (bijv. granulomateuze colitis) en bij patiënten met aanwijzingen voor ernstige bacteriële enteritis, symptomen passend bij systemische inflammatoire respons syndroom (SIRS), immunodeficiëntie-, en extra-MDK infecties. Aanbevolen therapie in geval van intestinale dysbiose betreft dieettherapie met pro-/pre- of synbiotica. De microbiom dysbiose index is beschikbaar voor een betrouwbare evaluatie van de dysbiose (DYSBIND code).

Naast CIE zijn er andere aandoeningen van het maag-darmkanaal die kunnen worden gediagnosticeerd door middel van evaluatie van endoscopische bipten bijv. lymphangiëctasie, intestinale lipogranulomateuze lymfangitis, granulomateuze colitis en neoplasie.

Intestinale lipogranulomateuze lymfangitis

Volle dikte bipten hebben de voorkeur boven endoscopische bipten voor het diagnosticeren van intestinale

lipogranulomateuze lymfangitis, een zeldzame aandoening met PLE en chronische diarree en braken als meest voorkomende klinische symptomen. Tijdens laparoscopisch onderzoek kunnen de kenmerkende kleine stevige noduli (lipogranulomen) langs serosale en mesenteriale lymfevaten worden geïdentificeerd en gebiopteerd. Deze aandoening wordt histologisch gekenmerkt door transmurale granulomateuze ontsteking, voornamelijk in de spierlagen en serosa van het darmkanaal met uitbreiding naar het mesenterium. De mucosa kan vrij zijn van laesies en de diagnose kan daarom worden gemist bij onderzoek van oppervlakkige endoscopische biopten.

Granulomateuze colitis (histiocyttaire ulceratieve colitis)

In meeste patiënten met CIE wordt met histologisch onderzoek een lymfocyttaire/lymfoplasmacellulaire infiltratie in de intestinale mucosa gerapporteerd. In zeldzame gevallen is een granulomateus infiltraat waarneembaar, wat een (schimmel- of bacteriële) infectie doet vermoeden. Bij patiënten met symptomen van colitis is colonoscopie nodig om granulomateuze colitis of 'histiocyttaire ulceratieve colitis' geassocieerd met adhesieve-invasieve *E. coli* (AIEC) infectie te diagnosticeren. Histologisch wordt deze aandoening gekenmerkt door een infiltratie van macrofagen met periodic acid-Schiff (PAS) positief gekleurd cytoplasma in de wand van het colon. Deze antimicrobieel-responsieve enteropathie wordt het frequents gediagnosticeerd in jonge Boxers en verwante rassen zoals bijvoorbeeld de Franse bulldog.

Samenvatting

- Goede kwaliteit biopten essentieel
- Bij verdenking op chronische inflammatoire enteropathie (CIE) wordt over het algemeen endoscopie van het bovenste en onderste deel van het MDK aanbevolen, waarbij de maag, het duodenum, het ileum en het colon worden gebiopteerd
- Minimaal 6-8 biopten per locatie
- Verzend biopten bij voorkeur in cassetten
- Verschaf klinische anamnese, ingestelde therapie en klinische diagnose
- Biopten worden beoordeeld, gescoord en geëvalueerd door pathologen volgens een vereenvoudigd WSAVA scoringsstelsel, specifiek voor endoscopische MDK biopten
- Een histologische diagnose van lymfocyttaire/lymfoplasmacellulaire gastritis, enteritis en/of colitis is niet synoniem met een specifieke aandoening, maar impliceert alleen een inflammatoire aandoening van het maag-darmkanaal en moet gecorreleerd worden met het klinisch beeld en het resultaat van andere diagnostische testen
- CIE is een verzamelterm
- Histopathologie is niet in staat om het onderscheid tussen verschillende varianten van CIE vast te stellen, maar is wel essentieel om het type ontsteking, aanwezigheid van neoplasie, lymphangiëctasie/lymfangitis, granulomateuze ontsteking enz. te diagnosticeren en op basis daarvan optimale therapie in te stellen

Literatuurlijst

1. Allenspach KA et al, 2018, Correlating Gastrointestinal Histopathologic Changes to Clinical Disease Activity in Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *Veterinary Pathology* 56: 435-443.
2. Craven MD et al, 2019 Comparative pathophysiology and management of protein-losing enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33: 383-402 [open access].
3. Cerquetella, M et al, 2020, Proposal for rational antibacterial use in the diagnosis and treatment of dogs with chronic diarrhoea. *Journal of Small Animal Practice*, 61: 211-215
4. Dandrieux JRS, 2016 Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? *Journal of Small Animal Practice* 57: 589-599
5. Day MJ et al, 2008 Histopathological Standards for the Diagnosis of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Samples from the Dog and Cat: A Report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *Journal of Comparative Pathology*, 138: S1-eS43
6. Jergens AE et al, 2014 Design of a Simplified Histopathologic Model for Gastrointestinal Inflammation in Dogs. *Veterinary Pathology* 51: 946-950
7. Jergens AE et al, 2016 Maximizing the diagnostic utility of endoscopic biopsy in dogs and cats with gastrointestinal disease. *The Veterinary Journal* 214: 50-60
8. Lecoinde A et al, 2016 Focal intestinal lipogranulomatous lymphangitis in 10 dogs. *Journal of Small Animal Practice* 57: 465-471
9. Ruiz GC et al, 2016 Comparison of 3 Handling Techniques for Endoscopically Obtained Gastric and Duodenal Biopsy Specimens: A Prospective Study in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30:1014-1021 [open access]
10. Veiga-Parga T and Palgrave CJ 2021 Histopathology: how to get the best from gastrointestinal biopsies. *Companion Animal* 26: 43-50
11. Washabau RJ et al, 2010 ACVIM Consensus Statement, WSAVA International Gastrointestinal Standardization Group: Endoscopic, Biopsy, and Histopathologic Guidelines for the Evaluation of Gastrointestinal Inflammation in Companion Animals. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24: 10-26

