

Biopsie endoscopiche nel cane



Strumento per diagnosi e gestione delle malattie croniche gastrointestinali



Jaco van der Lugt, BVSc PhD DiplECVP, Anatomical Pathologist
Berit Baum, Dr.med.vet. DiplECVP, Anatomical Pathologist
Els Acke, VetSurg PhD DipECVIM-CA, Internal Medicine Consultant

In passato, la valutazione istologica delle biopsie endoscopiche si è rivelata spesso insoddisfacente sia per i patologi che per i clinici. Una delle ragioni era la mancanza di correlazione tra alterazioni istologiche e presentazione clinica. Inoltre si riscontrava una mancanza di ripetibilità tra i patologi nella refertazione delle alterazioni istologiche delle biopsie endoscopiche. Recentemente sono stati fatti progressi significativi nella standardizzazione dei referti istopatologici e nella comprensione delle correlazioni tra le alterazioni istopatologiche e le manifestazioni cliniche.

Questo documento discute la metodologia attraverso la quale i patologi valutano ed interpretano le biopsie endoscopiche e forniscono uno score delle alterazioni morfologiche osservate nel tratto gastrointestinale, ponendo l'accento su alcune considerazioni pratiche nella fase di campionamento ed invio delle biopsie. Inoltre sarà discussa l'attuale conoscenza sulla rilevanza clinica delle biopsie endoscopiche nelle malattie gastrointestinali croniche nella specie canina. Gli aspetti clinici come l'approccio diagnostico, le procedure di prelievo endoscopiche e i piani terapeutici non verranno presi in considerazione in quanto non pertinenti allo scopo informativo di questo documento.

Biopsie endoscopiche o a tutto spessore.

La scelta di basare l'approccio diagnostico su biopsie endoscopiche o su prelievi a tutto spessore è determinata dalla presentazione clinica.

Le biopsie endoscopiche sono usate più frequentemente ma le biopsie a tutto spessore potrebbero essere maggiormente indicate quando si sospetta un coinvolgimento della sottomucosa e lamina muscolare da parte del processo

patologico. Ciò potrebbe verificarsi, ad esempio, in presenza di una neoplasia della parete intestinale, in corso di linfangite lipogranulomatosa o quando i reperti istopatologici delle biopsie endoscopiche non correlano con la presentazione clinica.

Questo documento si concentra soprattutto sulle metodiche di invio e refertazione delle biopsie endoscopiche.

Biopsie endoscopiche:

Vantaggi

Minimamente invasiva, recupero veloce del paziente

Permette la visualizzazione della mucosa e il campionamento di lesioni focali.

Permette il campionamento di diverse aree; è raccomandato il prelievo di almeno 6 campioni di tessuto di buona qualità per ogni segmento intestinale.

Basso rischio di complicazioni (deiscenza chirurgica, peritonite settica)

Svantaggi

Nel tratto gastrointestinale (da ora GI) craniale si accede solo a stomaco e duodeno; Il tratto GI distale necessita di preparazione del paziente per il prelievo endoscopico da ileo e colon. Eventuali lesioni a livello digiunale potrebbero essere quindi non rilevate*.

I campioni possono manifestare artefatti dovuti a schiacciamento o frammentazione.

Il prelievo è composto da piccoli frammenti di tessuto mucosale per cui lesioni localizzate nelle porzioni della parete intestinale sottostante non possono essere evidenziate (es. linfangectasia, linfoma, GIST, leiomioma e in alcuni casi anche i carcinomi)

Necessità di specialisti e di apparecchiature specifiche.

Biopsie a tutto spessore

Vantaggi

Permette il prelievo di ampi campioni di tessuto che includono l'intero spessore della parete GI.

Tutti i tratti di GI possono essere campionati con minor rischio di produrre artefatti.

Ispezione e campionamento di altri organi addominali possibile durante laparotomia.

Svantaggi

Procedura maggiormente invasiva con più lento recupero del paziente.

Un numero inferiore di biopsie può essere prelevato. Non è possibile visualizzare lesioni mucosali durante la fase di campionamento e non permette quindi di effettuare campionamenti mirati.

Maggiore rischio di complicazioni in particolare in presenza di PLE (protein losing enteropathy) e campioni di grosse dimensioni.

* Digiuno ed ileo sono i segmenti intestinali maggiormente interessati in cani con malattia gastrointestinale cronica. Il prelievo di biopsie dell'ileo è quindi raccomandato.

Invio e qualità diagnostica di biopsie endoscopiche per una corretta valutazione istologica.

Per massimizzare il valore diagnostico dell'esame istologico è essenziale fornire biopsie endoscopiche di elevata qualità. Oltre che l'esperienza e la tecnica utilizzata dall'operatore ci sono altri fattori che possono influenzare la qualità delle biopsie endoscopiche. La manipolazione eccessiva delle biopsie può determinare artefatti in quanto il tessuto è facilmente danneggiabile. È essenziale evitare lo schiacciamento e lo stiramento dei tessuti che può essere causato durante il campionamento ad opera della pinza endoscopica. Adeguata attenzione dovrebbe essere inoltre prestata nel seguire le specifiche indicazioni del laboratorio riguardo alle modalità di invio dei campioni. Quando possibile le biopsie dovrebbero essere poste delicatamente, orientate sul lato sopra una spugna sintetica inumidita e posizionata all'interno di biocassette. L'essiccamento dei tessuti dovrebbe essere evitato. L'orientamento corretto delle biopsie effettuate al momento del campionamento (vedi sotto) permette la visualizzazione ottimale dei tessuti durante l'esame istologico. L'orientamento dei tessuti eseguito successivamente in laboratorio risulta molto più difficoltoso. Le biocassette andrebbero quindi immerse in formalina tamponata al 10% prima di essere spedite al laboratorio (riferirsi alla pubblicazione di Ruiz et al., open access). Se le biocassette non fossero disponibili i campioni



Fig. 1. Biocassette con biopsie endoscopiche di stomaco duodeno e colon; si consiglia l'orientamento su sottili spugne sintetiche poste all'interno della biocassetta.

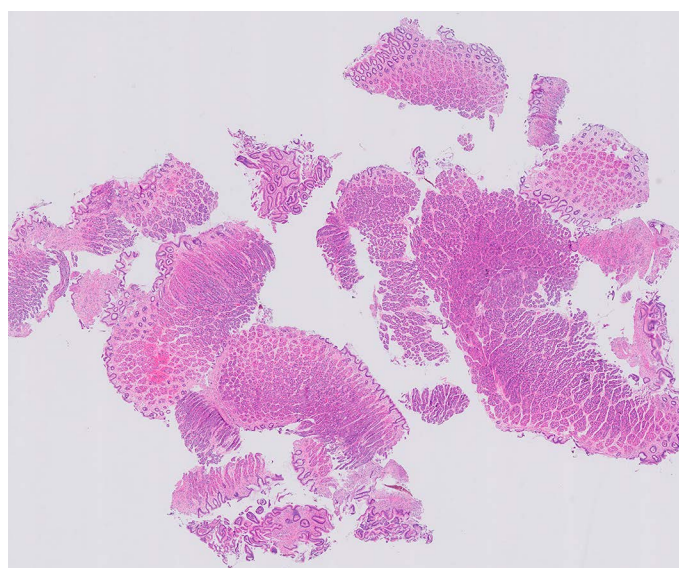


Fig. 3. Biopsie endoscopiche di stomaco di buona qualità (cane). Diverse biopsie di dimensioni ottimali che includono porzioni significative di mucosa.

possono essere comunque inviati liberi in formalina in contenitori diversi a seconda del tratto GI di provenienza.

La necessità di standardizzare la refertazione istologica per le biopsie endoscopiche.

Il valore diagnostico delle biopsie endoscopiche nella diagnosi delle malattie gastrointestinali canine è stato per diverso tempo controverso. Le ragioni sono molteplici:

- la difficoltà nello stabilire il quadro istologico di normalità. Anche in cani clinicamente sani il piccolo e grosso intestino contengono quantità variabili di leucociti, in particolare linfociti e plasmacellule. Una delle difficoltà maggiori quindi è differenziare con ragionevole certezza un quadro istologico riferibile a normalità ed un quadro istologico con lievi alterazioni.
- Spesso sembra mancare una correlazione diretta tra alterazioni istopatologiche e manifestazione clinica.
- Tradizionalmente, la mancanza di un sistema di standardizzazione universalmente accettato tra i patologi nella valutazione delle lesioni dell'apparato gastrointestinale ha prodotto una ampia variabilità tra i singoli patologi nella refertazione delle biopsie endoscopiche.

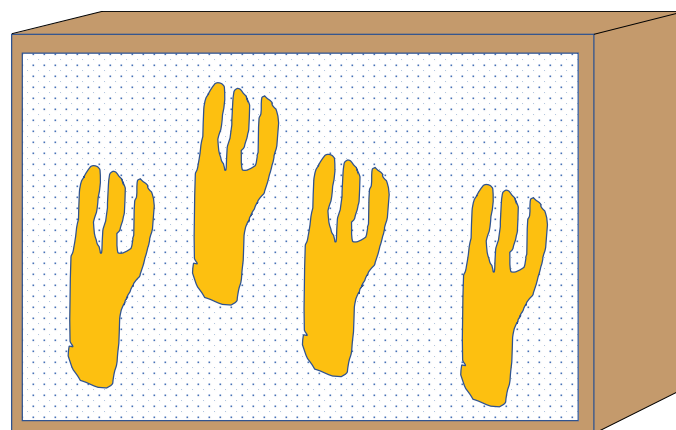


Fig. 2. Le biopsie endoscopiche andrebbero preferibilmente orientate nelle biocassette prima di essere immerse in formalina (fig. 1). Le biopsie dovrebbero essere orientate con i villi paralleli alla superficie della biocassetta (orizzontalmente).

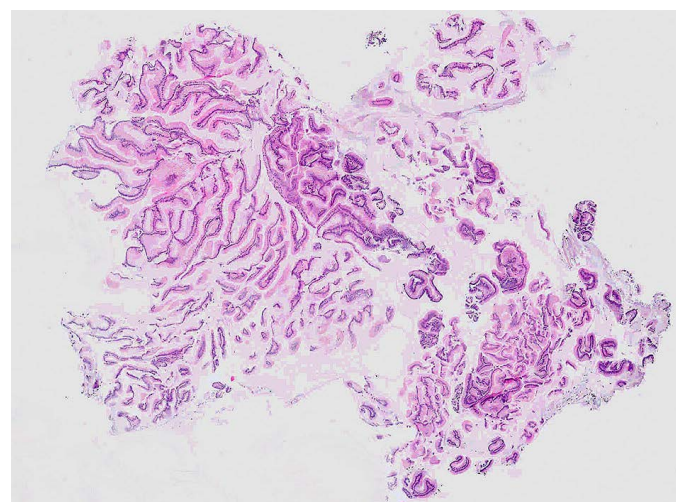


Fig. 4. Biopsie endoscopiche di frammenti di mucosa gastrica superficiale. In questo esempio il materiale è non diagnostico in quanto lamina propria e tessuto ghiandolare sono presenti soltanto in minime quantità.

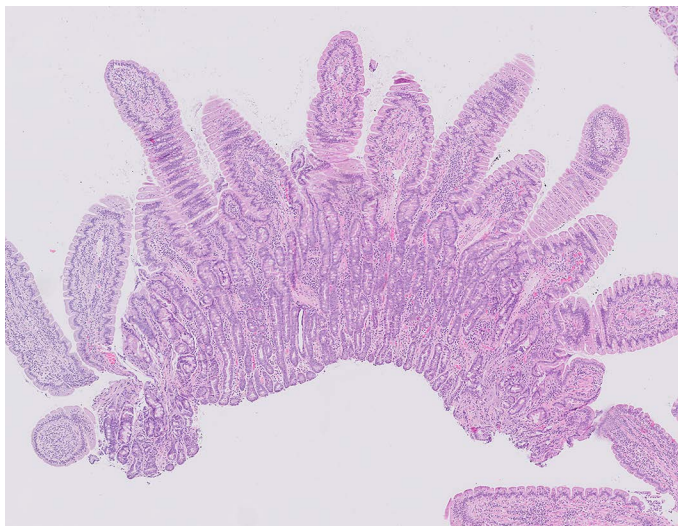


Fig. 5. Biopsie endoscopiche di piccolo intestino di ottima qualità. Il campione contiene porzioni rappresentative sia dei villi che delle cripte sottostanti.



Fig. 6. Biopsia intestinale a tutto spessore di ottima qualità. Rispetto alle biopsie endoscopiche (fig. 5) il campione mostra tutti gli strati della parete intestinale.

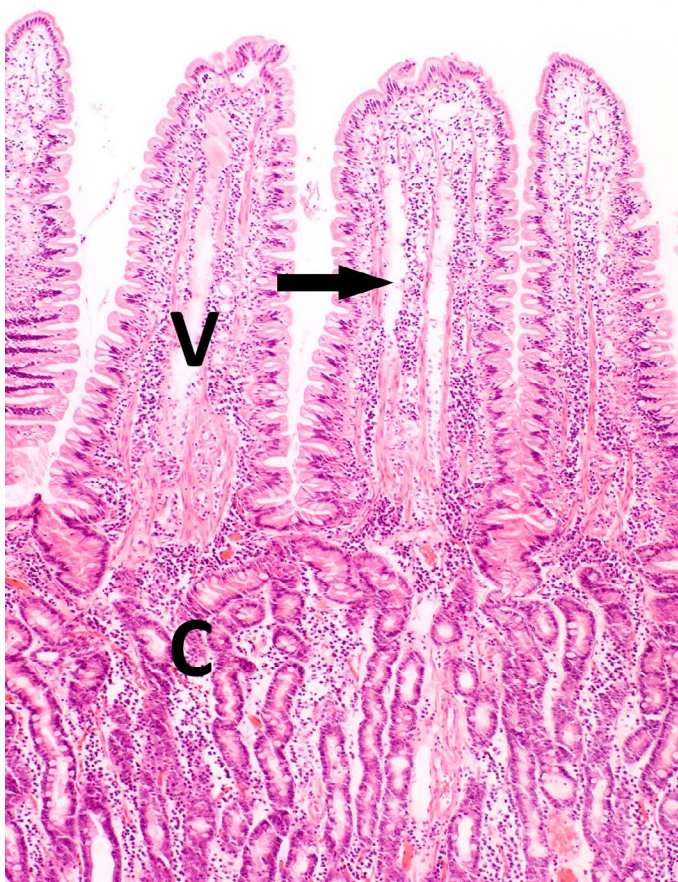


Fig. 7. Immagine a maggiore ingrandimento della superficie della mucosa del piccolo intestino. I villi (V) sono composti da un monostrato epiteliale di rivestimento e dalla lamina propria. La lamina propria contiene una trama capillare e vasi linfatici (freccia). Al di sotto dei villi si trovano le cripte (C)

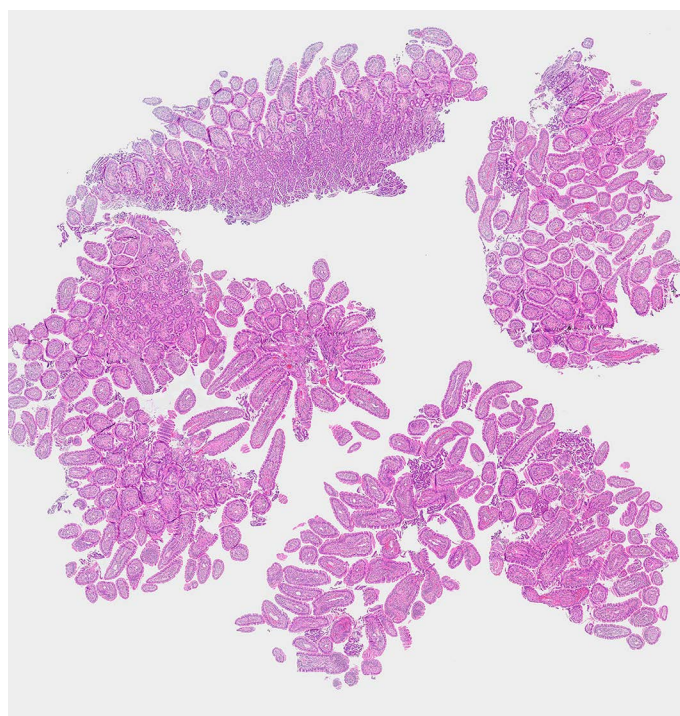


Fig. 8. Biopsie endoscopiche di duodeno. Sebbene la qualità delle biopsie possa sembrare adeguata a piccolo ingrandimento, la maggior parte delle biopsie presenta porzioni dei villi senza cripte evidenti (vedi anche fig. 9). Questi campioni sono inadeguati per la valutazione istologica.

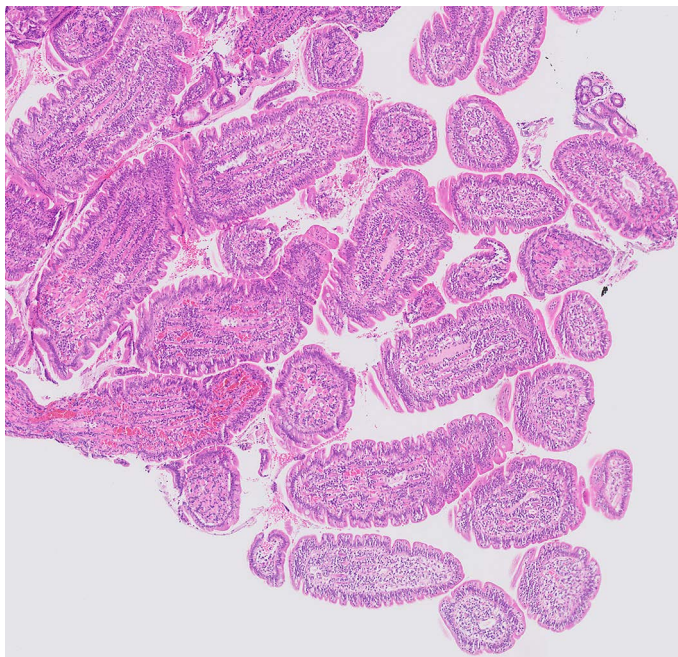


Fig. 9. Immagine a maggiore ingrandimento di una biopsia inclusa nell'immagine di fig. 8. Il campione è costituito interamente da villi per cui considerato non diagnostico.

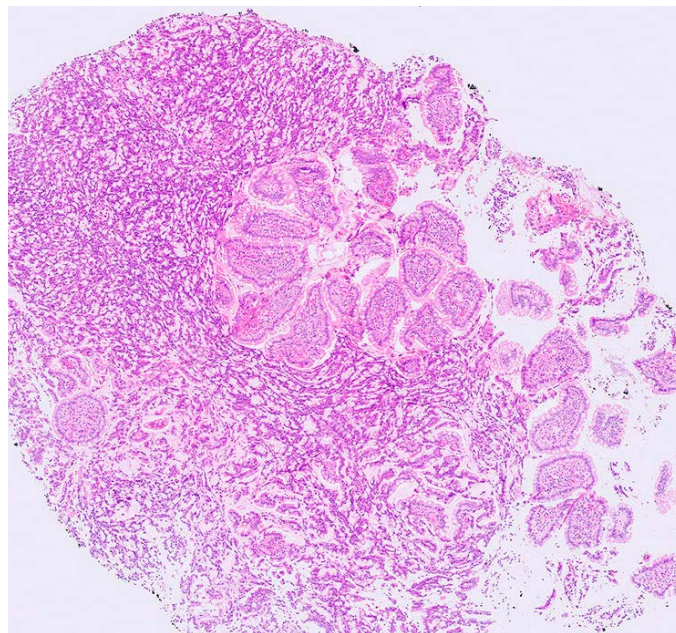


Fig. 10. Biopsie di duodeno di scarsa qualità. Campione non diagnostico. Il campione mostra solo le porzioni apicali dei villi (alla destra del campione) e artefatti da schiacciamento diffusi evidenziati dalla perdita di architettura tissutale (alla sinistra del campione).

Sistema di scoring utilizzato nella refertazione delle biopsie endoscopiche.

La World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) International Gastrointestinal (GI) Standardization Group ha stabilito un **sistema di scoring** delle alterazioni morfologiche ed infiammatorie nelle biopsie endoscopiche gastrointestinali per la specie canina. Successivamente questo sistema è stato semplificato e ha mostrato una maggiore utilità nello stabilire una correlazione tra aspetti morfologici istopatologici e manifestazione clinica in cani con malattia infiammatoria intestinale (IBD).

La versione semplificata WSAVA scoring system è attualmente universalmente applicata per la valutazione, scoring e refertazione delle biopsie endoscopiche di provenienza da stomaco, duodeno e colon.

Il sistema di scoring adottato dalla WSAVA utilizza una combinazione di alterazioni architetturali e infiammatorie per assegnare un valore soggettivo semiquantitativo riconducibile a normalità o alterazione lieve/moderata/marcata. Vengono inoltre evidenziate le componenti cellulari all'interno della reazione infiammatoria (es. linfoplasmacellulare, eosinofila, neutrofilica e granulomatosa)

Il referto istopatologico: che cosa aspettarsi.

La valutazione istologica delle biopsie endoscopiche viene eseguita utilizzando un approccio sistematico e standardizzato per descrivere, quantificare e interpretare le alterazioni morfologiche e infiammatorie presenti. Il referto include, generalmente:

- Indicazioni sull'anamnesi e sospetto clinico, qualora fornite
- Numero e dimensioni delle biopsie dai singoli tratti gastrointestinali campionati
- Informazioni sulla **qualità** diagnostica del materiale campionato. Il referto dovrebbe indicare chiaramente

Parametri istologici del sistema di scoring

Stomaco

Parametri morfologici

- Danno all'epitelio di rivestimento
- Fibrosi

Parametri infiammatori

- Linfociti intraepiteliali
- Infiltrato della lamina propria: linfociti/plasmacellule, neutrofili e/o eosinofili

Piccolo intestino: duodeno ed ileo

Parametri morfologici

- Danno all'epitelio di rivestimento
- Accorciamento dei villi
- Dilatazione delle cripte
- Dilatazione dei vasi linfatici

Parametri infiammatori

- Linfociti intraepiteliali
- Infiltrato della lamina propria: linfociti/plasmacellule, neutrofili e/o eosinofili

Colon

Parametri morfologici

- Danno all'epitelio di rivestimento
- Dilatazione delle cripte
- Fibrosi
- Numero di cellule mucipare

Parametri infiammatori

- Infiltrato della lamina propria: linfociti/plasmacellule, eosinofili neutrofili e/o macrofagi

se campioni di qualità diagnostica subottimale abbiano limitato l'interpretazione morfologica

- **Descrizione istopatologica** delle alterazioni morfologiche ed infiammatorie secondo il sistema semplificato definito dalla WSAVA. Alterazioni patologiche non incluse nel sistema, qualora presenti, verranno comunque descritte
- **Diagnosi morfologica** secondo lo schema definito dal sistema standardizzato della WSAVA; es: duodeno infiammazione linfoplasmacellulare cronica moderata diffusa con marcato accorciamento dei villi
- **Commento** che può includere indicazioni sulla possibile patogenesi, eziologia, diagnosi differenziali e/o eventuali raccomandazioni per esami aggiuntivi se necessari. Per esempio, in caso di sospetta neoplasia colorazioni immunoistochimiche o studio di clonalità (PARR test) possono essere consigliate ai fini diagnostici
- Il **nome del patologo** che ha eseguito l'esame sarà sempre riportato in calce al referto, inclusi i diversi contatti che possono essere utilizzati per la discussione del caso qualora fosse necessario.

La terminologia ha un significato clinico: malattia intestinale infiammatoria idiopatica (IBD) o enteropatia cronica infiammatoria (CIE).

La valutazione istopatologica di biopsie endoscopiche di cani con malattia gastrointestinale cronica primaria rivela spesso un infiltrato linfocitico/linfoplasmacellulare all'interno della mucosa. In passato queste alterazioni sono state frequentemente interpretate come "compatibili con IBD".

Il termine IBD è entrato quindi nella terminologia medica veterinaria in quanto l'infiammazione della mucosa nella specie canina presenta similitudini con le alterazioni osservate in corso di IBD in medicina umana. In medicina umana il termine IBD identifica una infiammazione cronica del tratto gastrointestinale e include 2 principali entità patologiche: la malattia di Crohn e la colite ulcerativa. Nell'uomo le terapie farmacologiche (antinfiammatoria e immunosoppressiva) sono spesso la prima scelta nel trattamento della IBD. Al contrario, la maggior parte dei cani con malattia cronica gastrointestinale e infiammazione della mucosa confermata istologicamente non necessitano di trattamento immunosoppressivo per cui può essere improprio l'utilizzo del termine IBD in questi casi. Quindi, il termine enteropatia cronica infiammatoria (CIE, chronic inflammatory enteropathy) è correntemente preferito per descrivere queste manifestazioni croniche gastrointestinali nel cane una volta che altre cause intestinali ed extraintestinali siano state escluse.

Enteropatia proteino-disperdente.

Le biopsie endoscopiche possono essere utilizzate per identificare le cause di una enteropatia proteino-disperdente (PLE) e ottimizzarne il trattamento. La PLE è una sindrome caratterizzata da perdita di linfa ricca in proteine nel lume intestinale. Istologicamente, PLE dovuta a malattia GI primaria nel cane è associata a enterite linfoplasmacellulare in circa il 66% dei casi, linfangectasia in circa 50% dei casi (entrambe le condizioni patologiche possono essere tuttavia concomitanti) e linfangite e malattie delle cripte in meno del 10% dei casi.

Il linfoma alimentare e altre forme di enterite, in particolare l'enterite granulomatosa e l'enterite eosinofila possono essere ulteriori cause di PLE.

Enteropatia infiammatoria cronica (CIE) nel cane.

Cani con CIE manifestano segni clinici cronici (con durata superiore alle 3 settimane) come vomito, diarrea, borborigmi, ipoessia, dolori addominali, nausea e perdita di peso. CIE viene diagnosticata **dopo esclusione** di malattie extraintestinali (es. epatiche, pancreatiche, renali e ipoadrenocorticismo) infettive o parassitarie e malattie intestinali di altro tipo (ostruzioni meccaniche dovute a dislocazione, corpo estraneo o neoplasia). Gli esami del Minimum Database (esame emocromocitometrico, profilo biochimico completo e esame delle urine), esame delle feci e profilo GI a digiuno (Profilo P – Apparato gastroenterico e pancreas, codice PROFPH) sono fasi importanti nell'approccio diagnostico alle malattie croniche gastrointestinali e dovrebbero essere eseguite prima della terapia e prima che l'esame istologico venga preso in considerazione. La diagnostica per immagini fornisce inoltre informazioni utili per escludere disordini ostruttivi o lesioni esterne al tratto gastrointestinale, può aiutare a localizzare lesioni, nonché scegliere la più appropriata tecnica di campionamento.

CIE è utilizzato come termine generico che può essere suddiviso in 4 differenti entità in base alla risposta al trattamento:

- enteropatia responsiva alla dieta;
- enteropatia antibiotico responsiva*;
- enteropatia responsiva a trattamento immunosoppressivo;
- enteropatia non responsiva a trattamenti farmacologici o prove alimentari.

La valutazione delle alterazioni istopatologiche non permette di differenziare queste 4 entità su base morfologica.

In casi in cui si rilevano segni clinici da lievi a moderati il prelievo di biopsie endoscopiche è solitamente posticipato alla valutazione della risposta alle prove alimentari.

*La terapia antibiotica andrebbe riservata ai casi con adherent-invasive bacteria (es. colite granulomatosa/istiocitica) e casi riferibili a enterite batterica grave, SIRS (systemic inflammatory response syndrome), immunodeficienza e infezioni extra-GI. Il trattamento raccomandato per la disbiosi intestinale consiste nella terapia dietetica con pro/pre o simbiotici e FMT (fecal microbiota transplant). L'indice di disbiosi del microbiota intestinale canino può essere misurato accuratamente mediante il test dedicato (codice DYSBIND).

Altre condizioni patologiche dell'apparato gastrointestinale che possono essere diagnosticate mediante biopsie endoscopiche includono linfangectasia, linfangite lipogranulomatosa, neoplasie e colite granulomatosa (istiocitica)/ulcerativa.

Linfangite lipogranulomatosa intestinale.

Biopsie a tutto spessore sono preferibili alle biopsie endoscopiche per la diagnosi della linfangite lipogranulomatosa intestinale, una rara condizione patologica che si manifesta con PLE, diarrea cronica e vomito come segni clinici predominanti. La laparotomia permette di visualizzare e campionare gli organi addominali dove i piccoli noduli caratteristici di questa malattia (lipogranulomi) sono localizzati (prevalentemente sulla superficie della sierosa e lungo

i vasi linfatici mesenterici). Questa condizione è caratterizzata istologicamente da una infiammazione granulomatosa trasmurale che coinvolge principalmente la lamina muscularis mucosae e la sierosa e si estende al mesentere.

La mucosa può, al contrario, non essere coinvolta dalla lesione per cui biopsie endoscopiche superficiali potrebbero essere non rappresentative nell'identificare questa condizione patologica.

Colite granulomatosa (colite istiocitica ulcerativa).

Nella maggior parte dei casi di enteropatia cronica, nella specie canina, si rileva un infiltrato linfocitico o linfoplasmacellulare all'interno della mucosa. Il riscontro di un infiltrato granulomatoso è poco frequente e suggerisce che un processo infiammatorio di natura infettiva (batterico o fungino) andrebbe considerato come principale fattore determinante. Nei casi con segni di colite, una colonscopia è necessaria per diagnosticare la "colite ulcerativa istiocitica", associata ad adherent-invasive E/coli (AIEC). In questa condizione patologica i macrofagi che infiltrano la lamina propria del colon mostrano granuli intracitoplasmatici positivi alla colorazione PAS (acido periodico di Schiff).

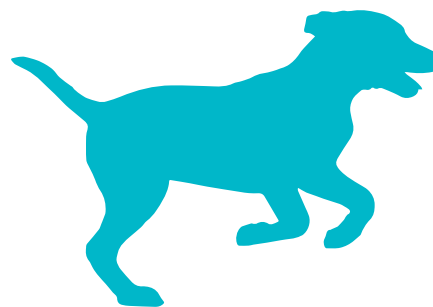
Questa è una forma di enteropatia antibiotico responsiva più comunemente riportata nei cani giovani di razza Boxer o razze correlate come il Bulldog Francese.

Punti chiave

- La buona qualità del campione prelevato è di fondamentale importanza.
- In caso di sospetta enteropatia infiammatoria (CIE) il campionamento del tratto gastrointestinale dovrebbe includere stomaco, duodeno, ileo e colon.
- Andrebbero prelevate almeno 6-8 biopsie per singola sede anatomica.
- Le biopsie andrebbero inviate preferibilmente in biocassette.
- Andrebbero forniti informazioni anamnestiche, eventuali trattamenti e sospetto clinico.
- Le biopsie vengono esaminate ed interpretate dal patologo fornendo un punteggio secondo quanto previsto dal sistema di scoring semplificato della WSAVA per le biopsie gastrointestinali.
- Una diagnosi istologica di gastrite, enterite o colite linfocitica/linfoplasmacellulare non identifica una specifica patologia ma implica la presenza di un processo infiammatorio nel tratto gastrointestinale che dovrebbe essere correlato ai sintomi clinici ed altri reperti diagnostici.
- CIE (enteropatia cronica) è utilizzato come termine generico che include più possibili cause.
- L'istopatologia non può distinguere tra le diverse forme di enteropatia cronica ma permette di identificare l'infiltrato infiammatorio, la presenza di una neoplasia, linfangectasia/linfangite, infiammazione granulomatosa e di stabilire una terapia ottimale.

Bibliografia

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. Lecointre 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



IDEXX Laboratories Italia S.r.l.

Via Guglielmo Silva, 36

IT - 20149 MILANO

idexx.it | laboratorioitalia@idexx.com

© 2022 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. • 09-2690195-00

All ®/TM marks are owned by IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries. The IDEXX Privacy Policy is available at idexx.com.

IDEXX