

# Diagnostiek van sarcoïden bij het paard

JOS M. ENSINK<sup>1</sup>, ELS M. BROENS<sup>2</sup>, KOEN M. VERSTAPPEN<sup>2</sup>, DOMINIQUE SMILDE<sup>3</sup> EN  
MARIANNE M. SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN<sup>1</sup>

**Volledige titel** Diagnostiek van sarcoïden bij het paard door middel van PCR op bovine papilloma virus

## Inleiding

Sarcoïden zijn de meest voorkomende huidtumoren bij het paard (5). Het bovine papillomavirus (BPV) speelt een belangrijke rol in de pathogenese. Daarnaast speelt ook een genetische aanleg een rol (3). Vaak kan de diagnose op basis van het klinisch beeld met redelijke zekerheid worden gesteld, vooral als bij één paard sarcoïden van verschillende typen voorkomen. Toch is het verstandig de diagnose sarcoïd te bevestigen voordat een behandeling wordt ingesteld. Bij sarcoïden wordt namelijk vaak voor een behandeling gekozen, bijvoorbeeld met BCG (Bacillus Calmette Guerin) of acyclovir crème (6) die wel geschikt is voor een sarcoïd, maar niet voor andere tumoren of proliferatieve ontstekingsprocessen, zoals nodulaire necrobiose.

## Diagnose

De diagnose 'sarcoïd' kan worden gesteld aan de hand van klinisch onderzoek, histopathologie en/of het aantonen van BPV DNA.

### Klinisch onderzoek

Er bestaan verschillende typen sarcoïd (5). De belangrijkste zijn:

- Verruceus type: grijs en bloemkoolachtig. Dit type sarcoïd lijkt veel op een wrat (figuur 1).
- Nodulair type: een stevige knobbel onder de huid (figuur 2). Soms is de huid daarbij ook dun en haarloos, soms is het normale huid die verschuifbaar is ten opzichte van de knobbel.
- Fibroblasttype: het aspect van granulatieweefsel (rozerood weefsel zonder huid erover, figuur 3).
- Occult type: een vlakke grijze schilferige plek die kan lijken op een schimmelinfectie. In deze plek komen vaak hele kleine knobbeltjes voor (soms beter voelbaar dan zichtbaar).
- Malevolent type: een snel groter wordende stevige schijf onder de huid.

Verder bestaan er nog gemengde typen (combinaties van het verruceuze, nodulaire en fibroblasttype, figuur 4).

### Histopathologie

Met behulp van histopathologie van een biopt kan de (waarschijnlijkheids)diagnose sarcoïd worden gesteld. Hiervoor is een ponsbiopt van tenminste 4 millimeter, maar bij voorkeur 6 of 8 millimeter diameter nodig (5).

De histopathologie van een sarcoïd is niet altijd eenduidig. Dit is bijvoorbeeld het geval als bij een

<sup>1</sup>Universiteitskliniek voor Paarden, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht, Yalelaan 112, 3584 CM Utrecht.

<sup>2</sup>Veterinair Microbiologisch Diagnostisch Centrum (VMDC), Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht, Yalelaan 1, 3584 CL Utrecht.

<sup>3</sup>Student diergeneeskunde.



Figuur 1. Verrucose sarcoïd in de oksel.



Figuur 2. Sarcoïden aan de binnenkant van de dij, horizontale pijl: nodulair type, verticale pijl: occult type.



Figuur 3: Fibroblasttype sarcoïd op de metatarsus (mediale of laterale zijde).



Figuur 4: gemengde sarcoïden op het hoofd.

nodulair sarcoïd de overliggende huid niet duidelijk afwijkend is. Ook een fibroblasttype sarcoïd met veel secundaire ontstekingsverschijnselen kan soms histologisch bevindingen opleveren die geen uitsluitel bieden. Nadelen van histopathologie zijn dat de uitslag enige tijd op zich kan laten wachten en dat na het nemen van een biopt het sarcoïd sneller kan gaan groeien. Daarom is een snelle behandeling na het nemen van het biopt raadzaam. Een voordeel van histopathologie is dat wanneer het weefsel geen sarcoïd blijkt te zijn, het onderzoek meestal wel direct aangeeft wat dan wel de diagnose is.

#### **Aantonen van BPV DNA:**

Onderzoek van 83 biopten van paarden die

werden aangeboden bij de Universiteitskliniek Paard (zie kader) bevestigt de rol van bovine papilloma virus (BPV) in de pathogenese van sarcoïden die al eerder beschreven werd (1,4). De resultaten van dit onderzoek en de ervaringen van Universiteit Gent hebben geleid tot het advies om bij verdenking sarcoïd in eerste instantie de tumor te testen op de aanwezigheid van BPV. Voor het aantonen van BPV moet op celmateriaal van de tumor een polymerase chain reaction (PCR) worden toegepast om het virale DNA aan te tonen. Een nadeel van de PCR is dat er een kleine kans bestaat dat de PCR een vals-positief resultaat geeft, omdat BPV DNA soms ook in gezonde huid kan worden aangetoond (2). Een goede patiëntselectie (op basis van

## BIOPTEN

Tussen 2007 en 2012 zijn 83 biopten van huidtumoren (klinisch verdacht sarcoïd) van paarden, die bij de Universiteitskliniek voor Paarden in Utrecht (UKP) werden aangeboden, zowel door middel van histopathologie als in een PCR onderzocht. Deze PCR werd uitgevoerd bij de Vakgroep Heelkunde en Anesthesie van de Grote Huidsdieren van Universiteit Gent, waar al veel onderzoek verricht is naar de rol van BPV bij sarcoïden. In 75 van de 83 biopten (= 90%) kwamen de (negatieve en positieve) uitslagen van beide onderzoeken overeen. Op basis van histopathologie werd bij 61 biopten (= 73%) een (verdenking van een) sarcoïd vastgesteld, terwijl in 67 van de biopten (= 81%) BPV DNA werd aangetoond met de PCR (tabel 1).

**Tabel 1.** Uitslag van biopten op basis van histopathologie en op basis van PCR op BPV.

Uitslag PCR op BPV	Uitslag op basis van histopathologie		Totaal
	(verdacht) sarcoïd	geen sarcoïd	
positief	60	7	67
negatief	1	15	16
Totaal	61	22	83

De resultaten laten zien dat de PCR vaker een positief resultaat geeft dan histopathologie. Voor de zeven paarden die een positieve PCR hadden en een negatieve histopathologie is toch een sarcoïdbehandeling ingezet; 'follow up' van deze paarden laat zien dat deze behandeling effectief was.

klinisch beeld) is dan ook erg belangrijk. Een voordeel van de PCR is dat een PCR-uitslag binnen enkele dagen bekend is en dat er veel minder celmateriaal nodig is dan voor histopathologie; in sommige gevallen levert een swab zelfs voldoende materiaal op voor de PCR.

### Wat te doen bij een verdenking sarcoïd?

#### Afname van materiaal voor PCR (en/of histopathologie)

Voordat men een biopt van een sarcoïd gaat nemen, is het goed na te gaan of de eigenaar genegen is zodra de diagnose bekend is een behandeling in te stellen. Soms kunnen sarcoïden namelijk sneller gaan groeien als er een biopt is genomen (ook als een eenvoudige excisie is uitgevoerd). Is een eigenaar van plan voorlopig af te wachten hoe het sarcoïd zich ontwik-

kelt, dan kan men dus beter niet bioteren.

Verder moet bedacht worden dat bij een negatieve uitslag van de PCR de vraag wat het dan wel voor tumor is nog niet is beantwoord.

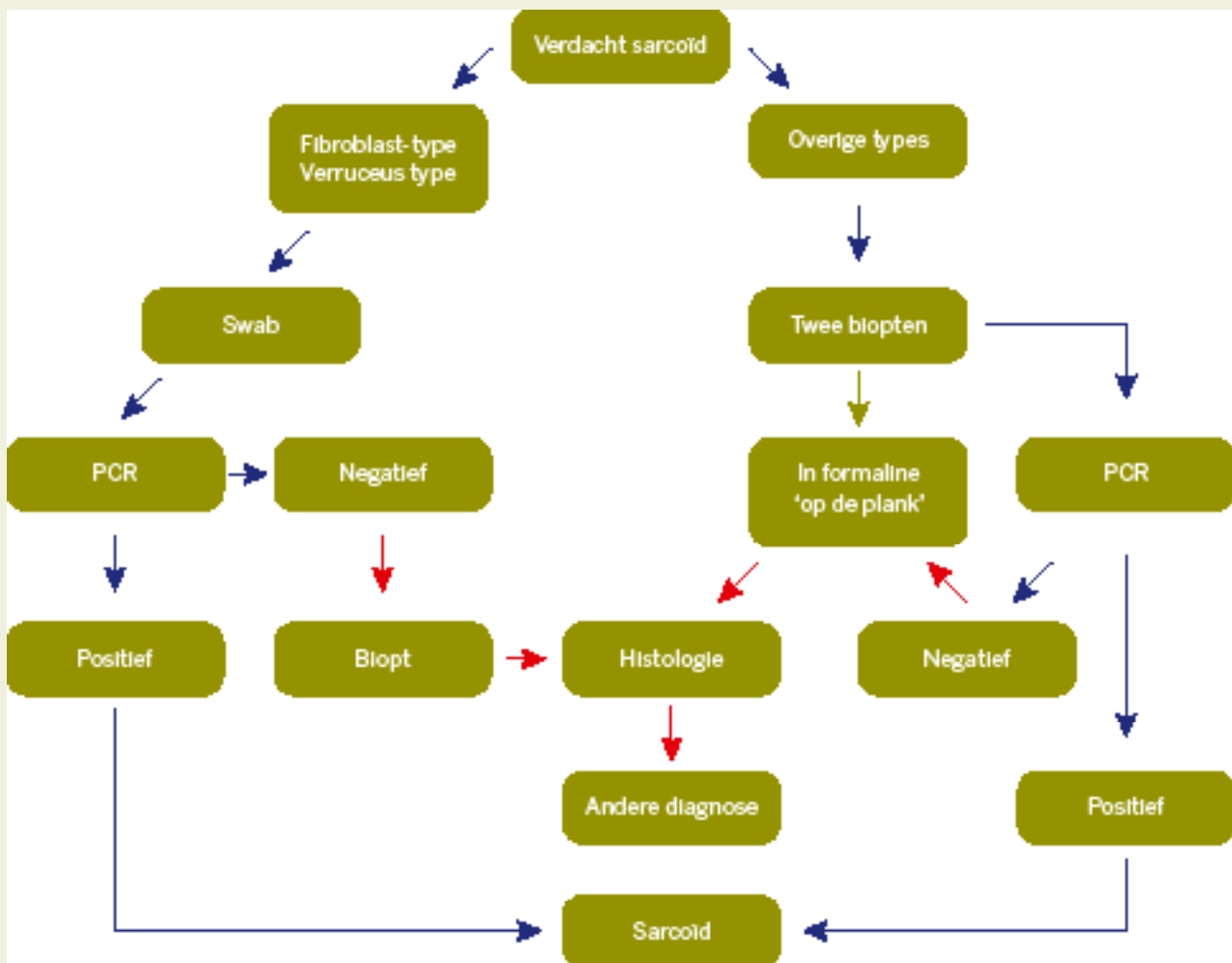
Daarom is het bij het bioteren vaak verstandig twee biopten te nemen. Het eerste biopt gaat (zonder formaline) naar het laboratorium voor de PCR, het tweede biopt gaat (in formaline) tijdelijk op de plank. Als de PCR-uitslag negatief is, kan het tweede biopt alsnog voor histopathologie worden ingestuurd. Voor de PCR volstaat een klein biopt (bijvoorbeeld 3 mm ponsbiopt); voor histopathologie moet bij voorkeur een 6 of 8 mm biopt genomen worden.

Fibroblast- en verrucoseus type sarcoïden lenen zich goed voor een minder invasieve monstername voor PCR. De afname van een wattenstaafje (swab) levert bij deze typen doorgaans voldoende celmateriaal op voor de PCR. Voor het afnemen van een swab dient het sarcoïd eerst oppervlakkig gereinigd te worden (bijvoorbeeld met een tampon met 70 procent alcohol). Daarna wordt een droog wattenstaafje bevochtigd met 0,9 procent NaCl oplossing en gedurende dertig seconden stevig over het oppervlak van het sarcoïd gewreven. Het doel is celmateriaal van het sarcoïd op het wattenstaafje te krijgen. Het wattenstaafje wordt vervolgens gestoken in de bijgeleverde huls (zonder kweekmedium).

De bruikbaarheid van dunne naald aspiratie biopten (DNAB) in plaats van een ponsbiopt bij de andere sarcoïd-typen (nodulair, occult en malevolent) wordt momenteel nog onderzocht.

#### Van uitslag PCR naar behandelplan

Een PCR voor onderzoek op BPV kan worden gedaan bij het Veterinair Microbiologisch Centrum van de faculteit Diergeneeskunde (VMDC). Wanneer de uitslag van de PCR bekend is, moet in combinatie met het klinisch beeld een definitieve diagnose worden gesteld. Als het klinisch beeld overeenkomt met sarcoïd en de PCR is positief, dan kan de diagnose sarcoïd met voldoende zekerheid worden gesteld en kan een keus worden gemaakt uit voor sarcoïden geschikte behandelingen. Als het klinisch beeld niet (overtuigend) sarcoïd is en de PCR is negatief dan is histologie van een biopt de meest aangewezen volgende stap. Het is echter ook mogelijk dat de combinatie van het klinisch beeld en de uitslag van de PCR nog geen duidelijkheid biedt. Denk bijvoorbeeld aan een tumor die klinisch sarcoïd lijkt maar een negatieve PCR-uitslag geeft. Of een huidtumor die er niet als sarcoïd uitziet, maar wel een positieve PCR-uitslag geeft. In die gevallen denken de specialisten van de Universiteitskliniek voor Paarden (UKP) graag



Stappenplan voor de diagnostiek bij een verdenking sarcoïd.

met u mee. Dat gaat het makkelijkste per mail (naar [ukp@uu.nl](mailto:ukp@uu.nl)). In die mail kunt u de uitslag van de PCR en de relevante gegevens van de patiënt (signalement, locatie en ontwikkeling van de sarcoïden, eventuele overige bijzonderheden) opgeven en daarnaast als bijlage één of meer goede kwaliteit digitale foto's van het sarcoïd toevoegen. Verder overleg kan dan per e-mail of telefonisch plaatsvinden.

#### Dankwoord

Wij willen Prof. dr. Ann Martens hartelijk danken voor het beschikbaar stellen van kennis, materialen en uitslagen voor het opzetten van de PCR bij het VMDC. 🍀

#### Literatuur

1. Bogaert L, Martens A, Kast WM, Van Marck E, De Cock H. Bovine Papillomavirus DNA can be Detected in Keratinocytes of Equine Sarcoid Tumors. *Veterinary Microbiology* 2010; 146: 269-275.
2. Bogaert L, Martens A, Van Poucke M, Ducatelle R, De Cock H, Dewulf J, De Baere C, Peelman L,

Gasthuys F. High Prevalence of Bovine Papillomaviral DNA in the Normal Skin of Equine Sarcoid-Affected and Healthy Horses. *Veterinary Microbiology* 2008; 129: 58-68.

3. Jandova V, Klukowska-Rötzler J, Dolf G, Janda J, Roosje P, Marti E, Koch C, Gerber V, Swinburne J. Whole genome scan identifies several chromosomal regions linked to equine sarcoids. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 2012; 154: 19-25.
4. Martens A, De Moor A., Demeulemeester J, Peelman L. Polymerase Chain Reaction Analysis of the Surgical Margins of Equine Sarcoids for Bovine Papilloma Virus DNA. *Veterinary Surgery* 2001; 30: 460-467.
5. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM. *Huidaandoeningen bij het paard*. Uitgeverij Libre, Leeuwarden, 2013. ISBN 978-90-79758-67-8.
6. Stadler S, Kainzbauer C, Haralampus R, Brehm W, Hainisch E, Brandt S. Successful treatment of equine sarcoids by topical aciclovir application. *Veterinary Record* 2011; 168: 187.