

Zur intraoperativen zytologischen Diagnostik bei Hund und Katze

C. Stockhaus¹, B. Taprogge¹, H. A. Schoon², S. Scharvogel¹, Vera Grevel¹, G. Oechtering¹, E. Teske³

Aus der ¹Klinik für Kleintiere (Direktor: Prof. Dr. G. Oechtering), dem ²Institut für Veterinär-Pathologie (Direktor: Prof. Dr. H. A. Schoon) der Universität Leipzig und dem ³Department of Clinical Sciences of Companion Animals, University of Utrecht, Niederlande

Schlüsselwörter:

Zytologie – intraoperative Diagnostik – Hund – Katze

Key words:

Cytology – Intraoperative diagnosis – Dog – Cat

Zusammenfassung:

Gegenstand und Ziel: Überprüfung der diagnostischen Aussagekraft der intraoperativen zytologischen Schnell-diagnostik bei Hunden und Katzen in einer prospektiven Untersuchung (2/2001-5/2002). **Material und Methoden:** Das Patientengut umfasste 129 Hunde und 19 Katzen, bei denen intraoperativ zytologische Abklatschbiopate unterschiedlicher Lokalisationen gewonnen wurden. Es handelte sich um Proben der folgenden Areale: Haut/Unterhaut (n = 55), Bewegungsapparat/Wirbelsäule (n = 29), Gekröse/Gekröse-lymphknoten/Peritoneum/Abdomen (n = 16), Urogenitaltrakt (n = 14), Gastrointestinaltrakt (n = 14), Leber (n = 12), Maulhöhle (n = 12), Milz (n = 7), endokrine Organe (n = 5) und Respirationstrakt (n = 4). Bei allen Exzisionsbiopaten erfolgte eine zytologische und eine histopathologische Untersuchung. **Ergebnisse:** Bei der histologischen Untersuchung wurden 98 Neoplasien sowie 70 nichtneoplastische Veränderungen festgestellt. Bei 13 zytologischen Proben (7,7%) war das Präparat aufgrund einer zu geringen Zellularität nicht beurteilbar. Bei der zytologischen Beurteilung der Dignität ergaben sich eine Sensitivität von 88% (95%-Konfidenzintervall [95%-KI]: 78,4-94,4%), eine Spezifität von 91,3% (95%-KI: 81,9-96,7%) und eine diagnostische Sicherheit von 89,6% (95%-KI: 84,6-94,6%). Wurde als Kriterium zur Überprüfung der Zytologie neben der Dignität zusätzlich die Histogenese (epitheliale/mesenchymale Neoplasie) berücksichtigt, lagen die Werte niedriger: Sensitivität 78,7% (95%-KI: 68,2-87,1%), Spezifität 90,6% (95%-KI: 80,7-96,4%), diagnostische Sicherheit 84% (95%-KI: 78,0-90,0%). Von den auswertbaren Präparaten ließen sich bei den verschiedenen Organregionen mit den folgenden Häufigkeiten korrekte Aussagen zur Dignität treffen: Haut/Unterhaut (43/45), Bewegungsapparat/Wirbelsäule (22/23), Gekröse/Gekröse-lymphknoten/Peritoneum/Abdomen (10/14), Urogenitaltrakt (12/13), Gastrointestinaltrakt (11/12), Leber (11/11), Maulhöhle (9/11), Milz (3/6), endokrine Organe (5/5) und Respirationstrakt (3/4). **Schlussfolgerung und klinische Relevanz:** Bei ausreichender Erfahrung des Untersuchers liefert die intraoperative Abklatschzytologie wertvolle Hinweise hinsichtlich der Dignität und Ausbreitung von Erkrankungen und kann somit eine wesentliche Entscheidungshilfe darstellen. Sie sollte immer mit einer postoperativen histologischen Untersuchung von Gewebebiopaten kombiniert werden.

Summary:

Intraoperative cytology in dogs and cats

Objective: Evaluation of the diagnostic accuracy of intraoperative cytology in a prospective study (2/2001-5/2002). **Material and methods:** Intraoperative cytological touch imprint biopsies of excised tissue material were performed in 129 dogs and 19 cats in the following regions: skin/subcutis (n = 55), musculoskeletal system (n = 29), peritoneum/abdomen/abdominal lymph nodes (n = 16); urogenital system (n = 14), gastrointestinal system (n = 14), liver (n = 12), oral cavity (n = 12), spleen (n = 7), endocrine organs (n = 5), and respiratory system (n = 4). In every patient cytological diagnosis was controlled by histopathology. **Results:** Histological examination revealed 98 neoplastic and 70 non-neoplastic alterations. In 13 (7.7%) cytological preparations a correct examination was not possible due to poor cellularity. Cytology was associated with high sensitivity (88%; 95% confidence interval [95% CI]: 78.4-94.4%), specificity (91.3%; 95% CI: 81.9-96.7%) and diagnostic accuracy (89.6%; 95% CI: 84.6-94.6%) in the determination of malignancy. These values were lower if malignancy and the histological type of tumors (epithelial/mesenchymal neoplasia) had to be assessed by cytological examination: sensitivity: 78.7% (95% CI: 68.2-87.1%), specificity: 90.6% (95% CI: 80.7-96.4%), diagnostic accuracy 84% (95% CI: 78.0-90.0%). The relationship of malignancy correctly diagnosed by cytology with regard to the organs investigated was as follows: skin/subcutis (43/45), musculoskeletal system (22/23), peritoneum/abdomen/abdominal lymph nodes (10/14), urogenital system (12/13), gastrointestinal system (11/12), liver (11/11), oral cavity (9/11), spleen (3/6), endocrine system (5/5), and respiratory system (3/4). **Conclusions and clinical relevance:** Intraoperative touch imprint cytology performed by an experienced cytologist is a reliable method that provides immediate important informations about malignancy and progression of diseases. It should always be combined with a postoperative histological examination of biopsies.

Einleitung

Die Zytologie besitzt in der Human- und Tiermedizin eine große Bedeutung bei der Diagnostik von nichtneoplastischen und neoplastischen Erkrankungen. Vorteile dieser Methode sind die geringe Invasivität bei der Materialgewinnung und die Möglichkeit einer schnellen Befunderhebung (26, 33). Bei Kleintieren wird die Zytologie zumeist für die präoperative Diagnostik eingesetzt. Eine erste Studie von Eich et al. (6) zeigte, dass sich diese Methode möglicherweise auch für die intraoperative Schnelldiagnostik eignet.

Bei operativen Eingriffen lässt sich häufig nicht entscheiden, ob eine makroskopisch feststellbare Gewebeeränderung durch eine neoplastische, inflammatorische oder degenerative Erkrankung verursacht wird. Da die Invasivität des chirurgischen Eingriffs und der Umfang postoperativer Maßnahmen wesentlich von der zugrunde liegenden Erkrankung abhängen, ist eine intraoperative zyto- oder histopathologische Schnelldiagnostik häufig sehr hilfreich. Zu diesem Zweck wurden in der Humanmedizin histopathologische Untersuchungen von Gefrierschnitten etabliert, die auch in der Veterinärmedizin mit einer hohen diagnostischen Sicherheit angewendet werden konnten (35). Aufgrund von praktischen Erwägungen ist diese Schnelldiagnostik jedoch in Kleintierkliniken und -praxen in der Regel nicht verfügbar.

Da mithilfe der Schnellfärbung zytologischer Biopate schon innerhalb von Minuten eine Diagnosestellung möglich ist, scheint sich diese Technik auch als intraoperative Entscheidungshilfe zu eignen, wobei in der Humanmedizin eine diagnostische Sicherheit von über 90% beschrieben wird (1, 2, 4, 7, 12-14, 20, 23, 30, 34). Die zytologische Untersuchungstechnik erlaubt häufig keine Beurteilung der Gewebearchitektur und oft bestehen die Proben nur aus wenig Zellmaterial. So bleibt bisher ungeklärt, ob mit der zytologischen Schnelldiagnostik der Nachweis von neoplastischen Veränderungen in allen Organen gelingt und die verschiedenen neoplastischen und nichtneoplastischen Erkrankungen mit gleicher Sicherheit nachgewiesen werden können. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die diagnostische Sicherheit der intraoperativen zytologischen Schnelldiagnostik bei Proben unterschiedlicher Herkunft und verschiedenen Erkrankungen untersucht.

Material und Methoden

Patienten und Probenmaterial

Die prospektive Studie (2/2001-5/2002) an der Klinik für Kleintiere der Universität Leipzig umfasste 129 Hunde und 19 Katzen, bei denen intraoperativ Biopate unterschiedlicher Lokalisationen für eine zytologische und eine histopathologische Untersuchung gewonnen wurden. Dabei wurden bei einzelnen Patienten auch mehrere Biopsien von verschiedenen Organen entnommen. Die Indikationen für diese Eingriffe waren: Abklärung der Dignität eines Prozesses, Beurteilung der Ausdehnung einer Erkrankung innerhalb eines Organs sowie der potenziellen Ausbreitung auf andere Organe inklusive Lymphknoten.

Die Proben stammten aus folgenden Organbereichen: Haut/Unterhaut (n = 55), Bewegungsapparat/Wirbelsäule (n = 29), Gekröse/Gekröselymphknoten/Peritoneum/Abdomen (n = 16), Urogenitaltrakt (n = 14), Gastrointestinaltrakt (n = 14), Leber (n = 12), Maulhöhle (n = 12), Milz (n = 7), endokrine Organe (n = 5) und Respirationstrakt (n = 4). Aufgrund der methodischen Einschränkungen der zytologischen Untersuchung bei der Beurteilung der Dignität von Mammatumoren (25, 26) blieben diese Neoplasien in der Studie unberücksichtigt.

Zytologische und histologische Untersuchung

Zur Gewinnung der zytologischen Präparate wurden von veränderten Geweberealen kleine Gewebestücke chirurgisch exstirpiert und bei diesen mit einem Skalpell frische Schnittflächen angelegt. Nach vorsichtigem Betupfen der Schnittflächen mit Zellstoff zur Entfernung von Blut wurden diese unter leichtem Druck an verschiedenen Stellen vorsichtig auf einem Objektträger abgetupft. Es folgten eine Fixierung des Zellmaterials durch Lufttrocknung und eine hämatologische Schnellfärbung (Haemacolor®, Firma Lehmann, Berlin).

Die zytologische Untersuchung nahm ein Untersucher vor, der über die anamnestischen, klinischen, radiologischen sowie intraoperativen Befunde informiert wurde. Gewebeeränderungen mesenchymalen Ursprungs, bei denen keine genaue Bestimmung der Dignität möglich war, wurden als »mesenchymale Proliferation« (MP) bezeichnet. Zu den »benignen mesenchymalen Proliferationen« (BMP) gehörten chronische Entzündungen, nichttumöröse mesenchymale Proliferationen sowie benigne mesenchymale Neoplasien. Als Diagnosekriterien für den Nachweis von MP, BMP und Sarkomen wurden die von Stockhaus et al. (28) beschriebenen Merkmale verwendet. Bei epithelialen Veränderungen (33) mit unklarer Einschätzung der Dignität wurde die Diagnose »epitheliale Proliferation« (EP) gestellt.

Alle Organbiopate wurden auch einer histopathologischen Untersuchung (Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig) zugeführt, die als »Golden Standard« für die zytologische Untersuchung galt. Die Proben wurden in 4%igem Formalin fixiert und in Paraplast eingebettet. Bei Knochenbiopsien ging der Einbettung in Paraplast gegebenenfalls eine 24- bis 36-stündige Entkalkung (Ossa Fixona, Fa. Waldeck GmbH) voraus. Die histopathologische Untersuchung erfolgte zunächst am H.E.-gefärbten Präparat. Soweit notwendig wurden zur weiteren histogenetischen Differenzierung von Tumoren verschiedene Spezialverfahren (Azanfärbung, PAS-Reaktion, Sudanrot-Färbung) sowie immunhistologische Techniken (Vimentin, Desmin, Myoglobin, »Faktor VIII related Antigen«, Lysozym- und Intermediärfilamentnachweis mittels PAP-Technik) angewendet.

Statistische Auswertung

Nach Ermittlung der Patienten mit korrekter positiver (a), korrekter negativer (d), falsch positiver (b) und falsch negativer Diagnose (c) eines malignen Tumors wurden die 95%-Konfidenzintervalle und der Median der Sensitivität ($a/a+c$), Spezifität ($d/b+d$) und diagnostischen Genauigkeit ($(a+d)/(a+b+c+d)$) der Zytologie für die Festlegung der Dignität sowie der Dignität und Histogenese (epitheliale/mesenchymale Neoplasie) bestimmt. Für die Beurteilung der Dignität wurden nur Präparate von Tieren einbezogen, bei denen eine konkrete Diagnosestellung möglich war, sodass Patienten mit der Diagnose MP oder EP sowie nicht auswertbare Präparate unberücksichtigt blieben. Die Dignität wurde auch dann als korrekt beurteilt, wenn bei malignen epithelialen Tumoren die Diagnose eines Sarkoms gestellt wurde und umgekehrt. Bei der Überprüfung der Genauigkeit der Zytologie für die Festlegung der Histogenese wurden diese Diagnosen als falsch eingeordnet. Das Gleiche galt für epitheliale Tumoren, die zytologisch als mesenchymale Proliferation eingeordnet wurden und umgekehrt. Zur Überprüfung des Einflusses von Tumorart und Lokalisation einer Gewebeeränderung wurden die Häufigkeiten von korrekten und fehlerhaften zytologischen Diagnosen ermittelt.

Ergebnisse

Die Studie umfasste 129 Hunde (105 Rassehunde und 24 Mischlinge; 72 männlich, 57 weiblich) mit einem Durchschnittsalter von 7,6 Jahren (Bereich: 0,3-14,8 Jahre) und 19 Katzen (18 Europäisch Kurzhaar, eine Türkisch Van; 14 männlich, fünf weiblich) mit einem Durchschnittsalter von 8,2 Jahren (Bereich: 0,5-14,8 Jahre).

Bei der histologischen Untersuchung wurden 98 Neoplasien (Tab. 1) sowie 70 nichtneoplastische Veränderungen festgestellt.

Bei 13 zytologischen Proben (7,7%) aus den folgenden Organen war das zu untersuchende Präparat aufgrund einer zu geringen Zellularität nicht beurteilbar: Haut (n = 5), Knochen (n = 2), Duodenum (n = 1), Gekröse (n = 1), Leber (n = 1), Vagina (n = 1), Muskel (n = 1) und Gelenkkapsel (n = 1) (Tab. 1, 2). Die histologische Untersuchung ergab bei den zytologisch nicht auswertbaren Präparaten in zwei Fällen einen malignen Tumor (Duodenum: Insulinometastase; Knochen: Osteosarkom), während bei den anderen Patienten benigne neoplastische (n = 4) oder entzündliche Veränderungen (n = 7) vorlagen.

Bei 10 Patienten ließ sich mit der zytologischen Untersuchung keine zuverlässige Aussage zur Dignität mesenchymaler

Prozesse treffen (»mesenchymale Proliferation«). Bei diesen Tieren wurden Biopsien aus den Organbereichen Haut (n = 3), Knochen (n = 3) sowie Maulhöhle, Milz, Duodenum und Peritoneum (jeweils n = 1) gewonnen (Tab. 1). Die histologische Untersuchung ergab die folgenden Diagnosen: nicht typisierbares Sarkom (n = 2), Fibrosarkom (n = 1), Lipom (n = 1), chronische Dermatitis (n = 1), chronische Stomatitis (n = 1), chronische Duodenitis (n = 1), chronische Serositis (n = 1), Hämangiosarkom (n = 1) und reparative Knochenproliferation (n = 1).

Bei einem Patienten mit einem Karzinom der hepatoiden Drüsen war bei der zytologischen Untersuchung die Dignität unklar, sodass die Diagnose EP gestellt wurde.

Bei der Überprüfung zytologisch auswertbarer Biopsien zeigte sich, dass die Dignität bei 34/39 Sarkomen (Osteo-, Fibro-, Hämangio-, Riesenzell-, Lipo-, Rhabdomyosarkom, Hämangioperizytom, Epulis sarcomatosa sowie nicht typisierbares Sarkom), 19/20 Karzinomen (Adeno-, solides, skirrhöses, Übergangszell-, Plattenepithelkarzinom und Insulinom), 10/12 »Rundzelltumoren« (malignes Lymphom, Histiocytom, maligne Histiocytose, Mastzelltumor) sowie 3/4 sonstigen malignen Tumoren (malignes Meningeom, Mesotheliom, Ästhesioneuroblastom) mit der zytologischen Untersuchung korrekt beurteilt

Tumor	Biopate (n)	Nicht beurteilbar (n)	„Epitheliale“ oder „mesenchymale Proliferation“ (n)	Korrekte Beurteilung der Dignität (n)	Korrekte Beurteilung der Histogenese (n)
Osteosarkom	17	1	0	16	16
Adenokarzinom	12	0	1	10	10
Fibrosarkom	7	0	1	6	6
Hämangiosarkom	7	0	1	4	4
maligne Histiocytose	5	0	0	3	3
Mastzelltumor	3	0	0	3	3
undifferenziertes Sarkom	3	0	2	0	0
Leiomyosarkom	2	0	0	1	1
Riesenzellsarkom	2	0	0	1	1
Plattenepithelkarzinom	2	0	0	2	2
Übergangszellkarzinom	2	0	0	2	2
malignes Lymphom	2	0	0	2	2
Liposarkom	2	0	0	2	1
Mesotheliom	2	0	0	2	0
Insulinom	2	1	0	1	1
Hämangioperizytom	2	0	0	2	2
solides Karzinom	2	0	0	2	2
skirrhöses Karzinom	1	0	0	1	1
Synovialzellsarkom	1	0	0	1	1
Epulis sarcomatosa	1	0	0	1	0
Ästhesioneuroblastom	1	0	0	0	0
malignes Meningeom	1	0	0	1	1
Epulis acanthomatosa	1	0	0	1	1
Epulis fibromatosa	1	0	0	0	0
Seminom	1	0	0	1	1
Osteom	1	0	0	1	1
Adenom	4	2	0	2	2
Lipom	3	1	1	1	1
Histiocytom	2	0	0	2	1
Leiomyom	3	0	0	3	3
Fibrom	3	1	0	2	2

Tab. 1 Zytologische Untersuchungsergebnisse bei 98 Neoplasien

