

Aktuelles zur Tumordiagnostik in der Veterinärpathologie

Teil 4: Tumorzytologie

Heike Aupperle-Lellbach^{1,2}
Claudia Schadelmaier¹
Kathrin Jäger¹
Marielle Appenzeller¹
Gerhard Loesenbeck¹
Katrin Törner¹

Qualitativ gute und repräsentative Ausstriche mit vorberichtlichen Angaben, die zytologische Befunderhebung und Diagnose sowie die Interpretation im klinischen Kontext stellen die wesentlichen Bausteine der zytologischen Tumordiagnostik dar. Die Methodik ist wenig invasiv und schnell durchzuführen. Mit etwas Übung können die einfacheren Diagnosen bereits in der Praxis gestellt werden.

¹Laboklin GmbH & Co. KG, Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen

²Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, TU München, Trogerstr. 18, 81675 München

Einleitung

Die zytologische Untersuchung dient in erster Linie der Tumordiagnose (Wellman 1990). Sie ist damit eine wertvolle Hilfe bei der Einschätzung der Prognose und ggf. der Planung weiterer diagnostischer (vor allem Histologie) und therapeutischer (z. B. Chirurgie, Chemotherapie, Strahlentherapie) Maßnahmen. Ziel dieses Artikels ist es, die Herangehensweise an die zytologische Diagnostik zu erläutern, dabei auch die Möglichkeiten und Grenzen zu diskutieren sowie auf weiterführende Untersuchungsmöglichkeiten hinzuweisen. Der Fokus des Artikels hier ist die zytologische Tumordiagnostik.

Allgemeines zur Zytologie

Die Zytologie ist die mikroskopische Untersuchung von gefärbten Ausstrichpräparaten, die mittels Feinnadelaspiration, Punktion oder Abklatstsch gewonnen worden sind. Ziel der zytologischen Untersuchung ist es, die Art der pathologischen Veränderungen von Geweben oder Körperflüssigkeiten zu erkennen – speziell, ob es sich um eine tumoröse, entzündliche, degenerative oder reaktive Veränderung handelt. Proben für die Tumorzytologie werden vor allem aus (nodulären oder diffusen) Veränderungen der Haut, Lymphknoten, Knochen oder inneren Organen entnom-

men. Einen besonderen Stellenwert hat die Zytologie bei der Untersuchung von Flüssigkeiten (Körperhöhlenergüsse (Abb. 1), Urin, Liquor, Synovia usw.), da an diesem Material keine histologische Untersuchung möglich ist (Moore 2017). Auf Basis der zytologischen Diagnose können im optimalen Fall dann eine prognostische Bewertung des Falles und/oder die zielgerichtete weitere diagnostische bzw. therapeutische Planung erfolgen. Eine definierte Terminologie und die Verwendung eines einheitlichen Vokabulars zur Angabe der Wahrscheinlichkeit der zytologischen Diagnose tragen zur verbesserten Kommunikation und Qualität der Daten bei (Sharkey und Wellman 2011).

Ein Pathologiebericht, der die Interpretation der Zytopathologinnen (Die weibliche Form in diesem Artikel schließt alle Menschen weiterer Geschlechter mit ein) klar kommuniziert, ist ein wichtiger Bestandteil der evidenzbasierten Zytologie (Sharkey und Wellman 2011). Für die Klinikerinnen ist es wichtig, den Grad der diagnostischen Gewissheit der Zytopathologin zu verstehen, da die zytologische Diagnose oft eine geringere diagnostische Sicherheit hat als eine histologische Untersuchung (Ghisleni et al. 2006, Sharkey und Wellman 2011, Giacomazzo et al. 2024).

In einer vergleichenden Studie waren 83,2 % der zytologischen Präparate von Umfangsvermehrungen der Haut und Unterhaut von Hunden und Katzen auswertbar. Insgesamt stimmte die zytologische Diagnose in 90,9 % (221/243) der Fälle mit der histopathologischen Diagnose überein (Ghisleni et al. 2006). Für die Diagnose von Neoplasien hatte die Zytologie eine Sensitivität von 89,3 %, eine Spezifität von 97,9 %, einen positiven prädiktiven Wert von 99,4 % und einen negativen prädiktiven Wert von 68,7 % (Ghisleni et al. 2006). Die diagnostische Sicherheit ist bei der Zytologie anderer Organsysteme allerdings deutlich schlechter (Sharkey et al. 2007, Sharkey und Wellman 2011, Sharkey et al. 2014b).

Hinweise zur Probenaufbereitung

Für die Entnahme einer zytologischen Probe benötigt man Kanülen, Spritzen, ggf. eine Zentrifuge für Flüssigkeiten, Pipetten, Objekträger, ggf. Deckgläser, Färbelösungen, Zellstoff, Versandboxen und Einsendeformulare sowie ggf. ein Mikroskop und Fachliteratur (Abb. 2A). Als Objekträger sind solche mit mattiertem Rand am besten geeignet, da man sie mit einem weichen Bleistift beschriften kann (Abb. 2B). Dadurch wird die Gefahr, die Kennzeichnung beim Färbevorgang zu verwischen oder abzulösen, deutlich minimiert. Es gibt für die Anfertigung der zytologischen Präparate eine Übersichtsarbeit (Moore 2017).

Für den Versand von Flüssigkeiten sollte das richtige Versandgefäß gewählt werden:



1 Die Makroskopie von Ergüssen lässt keinen Rückschluss auf die Ursache zu. Hier die Thoraxergüsse von zwei Katzen jeweils mit intrathorakalem Lymphom A) klare, wässrige Flüssigkeit, B) trübe, rote Flüssigkeit

- Für die Bestimmung der Zellzahl und der Zytologie aus Ergüssen oder anderen Flüssigkeiten sind EDTA-Röhrchen gut geeignet, da das Verklumpen der Zellen verhindert wird. EDTA-Röhrchen sind aber nicht sinnvoll, wenn noch eine Bakteriologie durchgeführt werden soll, da die Beschichtung bakterizid wirkt.
- Für die Bakteriologie und die biochemischen Analysen sollte die Flüssigkeit in einem einfachen sterilen Röhrchen eingesandt werden.
- An Ausstrichen können molekulargenetische Untersuchungen auf Infektionserreger durchgeführt werden (Marrinhas et al. 2022), für eine mikrobiologische Anzucht werden jedoch Tupfer (mit Medium) oder Flüssigkeit in einem sterilen Röhrchen benötigt.
- Für eine PCR kann das Material aus allen Röhrchen genutzt werden.

Wenn Liquor für eine Zytologie eingeschickt wird, empfiehlt sich die Zugabe einzelner Tropfen autologen (tiereigenen) Serums (entsprechend 11 Vol.% beim Hund und 36 Vol.% beim Pferd), um einen besseren Zellerhalt zu gewährleisten (Bienzle et al. 2000, Quattrini et al. 2023). Wenn allerdings noch andere Werte gemessen werden sollen, muss für diese zudem noch ein nicht-verdünntes Aliquot eingesandt werden.

Die Ausstriche sollten sofort nach der Probenentnahme angefertigt werden, um der Autolyse der Zellen vorzubeugen.

Quetschartefakte können vermieden werden, indem die Zellen mittels Deckgläsern ohne Druck ausgestrichen werden (Abb. 2C). Ein Erhitzen des Objekträgers ist unbedingt zu unterlassen, da dies die Zellen zerstört. Gegen eine Beschleunigung der Verdunstung z. B. mittels eines Ventilators (auf niedriger Stufe) ist jedoch nichts einzuwenden. Bei Flüssigkeiten wird empfohlen, stets einen Ausstrich bereits in der Praxis anzufertigen und diesen zusammen mit der Restflüssigkeit in das Labor einzusenden. Falls es sich um eine wässrige, klare, zellarme Flüssigkeit handelt, sollte diese zuvor zentrifugiert (5 min bei 165-365 G bzw. 1000-1500rpm) und das Sediment ausgestrichen werden. Wichtig ist dann der Hinweis für das Labor, dass es sich um einen Sedimentausstrich handelt, da der Zellgehalt sonst falsch interpretiert wird. Es ist empfehlenswert, sich die gefärbten Präparate in der Praxis selbst kurz anzuschauen, um Erfahrung hinsichtlich der Qualität der Ausstriche zu gewinnen (Moore 2017). Zytologische Basiskenntnisse kann man sich z. B. im Eigenstudium (Ressel 2021, Cian und Monti 2023) oder in den verschiedentlich angebotenen Zytologie-Kursen aneignen. Im besten Fall können mit der Zeit dann auch selbst zytologische Diagnosen gestellt werden.

Auch bereits gefärbte Ausstriche (Abb. 2D) können zur weiteren Beurteilung in ein Diagnostiklabor eingesandt werden, da sie



2) A) Zusammenstellung des Materials für die zytologische Diagnostik; B-D) Anfertigung von Ausstrichen: B) Objektträger mit mattiertem Rand mit Bleistift beschriftet; C) Ausstreichen einer Ergussflüssigkeit; D) gefärbter Ausstrich

bei suboptimaler Färbung nachgefärbt werden können. Das regelmäßige Wechseln der Färbelösungen und die Aufbewahrung bei Raumtemperatur sind ratsam. Andere Spezialfärbungen (z. B. PAS-Reaktion, Kupferfärbung, Berliner-Blau, Ziehl-Neelsen) sowie molekulargenetische Verfahren (*BRAF*-Mutation, Klonalitätsanalyse, *KIT*-Mutation) oder ein ErregerNachweis von verdächtigen Strukturen (z. B. Leishmanien) sind an bereits gefärbten Ausstrichen ebenfalls möglich (Marrinhas et al. 2022). Allerdings sollte kein Deckgläschen aufgeklebt werden, da dieses für das weitere Verfahren aufwändig entfernt werden muss (Marrinhas et al. 2022). Gleiches gilt für Namensschildchen oder Praxis-Barcodes (Hinweise zur Beschriftung der Objektträger s. o.). Das lose Auflegen eines Deckgläschen für einen besseren Brechungsindex bis zum 40er Objektiv ist jedoch kein Problem. Immersionsöl auf dem Objektträger kann die weitere Beurteilung bzw. das Nachfärben im Labor in manchen Fällen einschränken.

Für eine aussagekräftige zytologische Befundung und Interpretation ist neben guten Präparaten vor allem das Vorliegen eines klinischen Vorberichtes mit Angaben zum Signalement, der Entnahmelokalisation und ggf. des klinischen Verlaufs unerlässlich. Die Übermittlung von klinischen Bildern (z. B. CT- oder Röntgenbilder) kann bei der Diagnosefindung hilfreich sein. Die Mitteilung klinischer Verdachts- und Differenzialdiagnosen kann zusätzlich sinnvoll sein (Moore 2017).

Makroskopische Beurteilung

Die Ausstriche sollten bei klinischem Verdacht auf ein Lipom bereits vor dem Färben auf das Vorliegen von Fettröpfchen, die nicht trocknen, geprüft werden (Abb. 3A). Sie werden ansonsten möglicherweise durch die Alkoholfixierung und Färbelösungen teilweise abgeschwemmt. Bei der mikroskopischen Beurteilung findet man die Fettröpfchen nur bei halbgeschlossener Blende (Abb. 3B). Ob es sich bei den Fettröpfchen um eine Aspiration aus einem Lipom oder dem normalen subkutanen Fettgewebe handelt, ist zytologisch allerdings nicht zu unterscheiden (Sharkey et al. 2014a). Daher ist die abschließende Interpretation im klinischen Kontext unabdingbar. Grundsätzlich muss jeder klinisch diagnostizierte Erguss *per se* als pathologisch angesehen werden. Makroskopisch erhält man nach der Punktions (Alleman 2003) schon einen Eindruck vom Zellgehalt (klare oder trübe Flüssigkeit). Ein Chylus ist meist milchig (-rötlich). Eine rote Farbe der Flüssigkeit deutet auf Blutbeimengungen hin, die artifiziell (Gerinnen nach kurzer Zeit), durch Trauma, Gerinnungsstörungen (z. B. Vergiftungen) oder Tumoren (z. B. Hämangiosarkome) bedingt sein können (Aupperle et al. 2011). In der Regel sind physikalisch-chemische Untersuchungen (z. B. Gesamteiweiß, Triglyceride) nötig, um proteinarmes Transsudat, proteinreiches / modifiziertes Transsudat, Exsudat oder Chylus eindeutig zu differenzieren

(Alleman 2003, Aupperle et al. 2011, Bohn 2017). Ein hoher Proteingehalt (>30 g/l), wie er bei der FIP typisch ist, lässt sich auch durch die Rivaltaprobe nachweisen. Die anschließende zytologische Untersuchung (s. unten) dient dann der Identifikation der vorhandenen Zelltypen (Bohn 2017).

Mikroskopische Beurteilung

Der gefärbte Ausstrich wird zunächst bei kleiner Vergrößerung (4er oder 10er Objektiv) durchgemustert und auf die Qualität (Zellerhaltungszustand, Blutgehalt, Färbung) und seinen Zellgehalt (zellarm – zellreich) geprüft. Hierbei wird beurteilt, ob der Gehalt an diagnostisch auswertbaren Zellen ausreichend ist. Anschließend wird der vorherrschende Zelltyp bestimmt (Entzündungs-, Rund-, Spindel- und/oder Epithelzellen) und nach den optimalen Ausschnitten für die weitere Beurteilung mit stärkeren Vergrößerungen gesucht. Das 100er Ölimmersionsobjektiv wird nur verwendet, wenn die zellulären (v. a. nukleären) Details mit 400facher oder 500facher Vergrößerung (40er oder 50er Objektiv) nicht genau genug zu erkennen sind oder wenn in den niedrigeren Vergrößerungen die Abklärung von Mikroorganismen aufgrund der Präparatbeschaffenheit nicht sicher genug erfolgen kann.

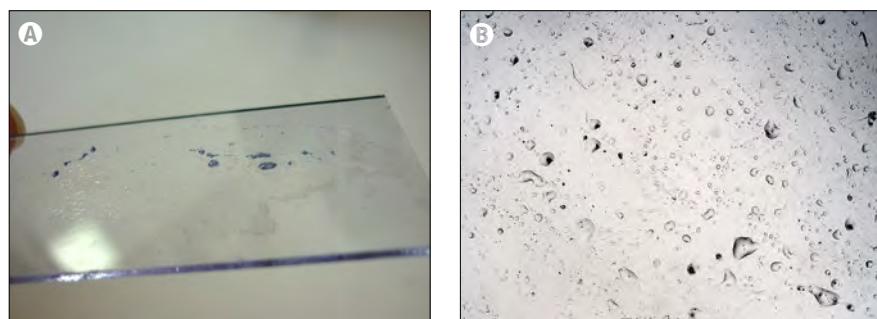
Mit dem *Whole-Slide-Imaging* (WSI) kann man die Glas-Objektträger digitalisieren. Das digitale Bild wird dann mit einem Web-Viewer (Abb. 4) oder direkt

am Scanner ausgewertet (Moore 2017). In der Veterinärmedizin wurde die histopathologische Diagnose von Hauttumoren bei Hunden mittels digitalisierter Bilder validiert (Bertram et al. 2018). Eine Studie von Bonsembiante et al. 2019 hat gezeigt, dass auch die mit dem *whole-slide* Scanner erstellten „digitalen Objektträger“ für die Diagnose von zytologischen Proben geeignet sind (Bonsembiante et al. 2019). Die Einführung der WSI-Technologie kann mehrere Vorteile bieten: (1) vermindertes Risiko von zerbrochenen oder verlorenen Objektträgern während des Transports, wenn die klinische Pathologin aus der Ferne arbeitet; (2) erleichterte Zusammenarbeit, wenn Zweitmeinungen benötigt werden; und (3) flexible Arbeit, da die klinischen Pathologinnen nur einen Computer mit entsprechender Software zur Darstellung der Dateien sowie eine Hochgeschwindigkeits-Internetverbindung, jedoch kein Mikroskop benötigen (Bonsembiante et al. 2019). Eine besondere Rolle spielen die Möglichkeiten der digitalen Zytologie in der Lehre und der fachspezifischen Weiterbildung, da alle Beteiligten individuell und räumlich getrennt auf genau dieselben Bilder zugreifen können (Giacomazzo et al. 2024).

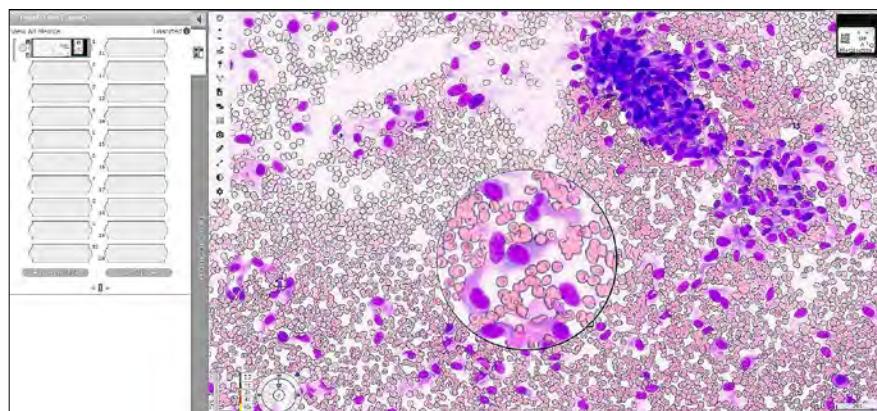
Limitierend für die zytologische Diagnostik am eingescannten Präparat sind jedoch der hohe Preis der Scanner, die Serverkapazitäten und die langen Scanzeiten bei 400facher Vergrößerung. Qualitativ schlechte Objektträger sind für das Scannen nicht geeignet, und feine Mastzell- oder Melaningranula sowie Infektionserreger werden evtl. übersehen. Hier liegt es in der Verantwortung der Diagnostikerinnen, ggf. eine Zweitmeinung am Original Glasobjektträger einzuholen.

Die Zelltypen

Die Identifikation der Zelltypen (Entzündungs-, Rund-, Spindel- und/oder Epithelzellen) in einem Ausstrich ist von Bedeutung, da die Plausibilität des zytologischen Bildes unter Berücksichtigung der vorberichtlich angegebenen Entnahmelokalisation geprüft werden muss. So können epitheloide Zellverbände in Ausstrichen vom Knochen oder vom Lymphknoten auf-



3 Lipom: A) Bereits makroskopisch erscheint der Objektträger fettig, B) Fetttropfen sind bei halbgeschlossener Blende in der Übersicht mikroskopisch erkennbar.



4 Aufnahme eines digitalisierten Ausstrichpräparates im Web Viewer.
In der Vorschau links werden die zum Fall gehörigen Präparate angezeigt (Validierung des Einsendungsmaterials). Die Beurteilung der digitalen Präparate erfolgt mit Hilfe unterschiedlicher Vergrößerungen, wobei Zellen von besonderem Interesse (Regions of Interest, ROI) hervorgehoben werden können, z.B. mit Hilfe einer Lupe, wie im Bild dargestellt. Auf diese Weise können die Malignitätsmerkmale der mesenchymalen Zellen besser beurteilt und im vorliegenden Fall die Diagnose eines Sarkoms gestellt werden.

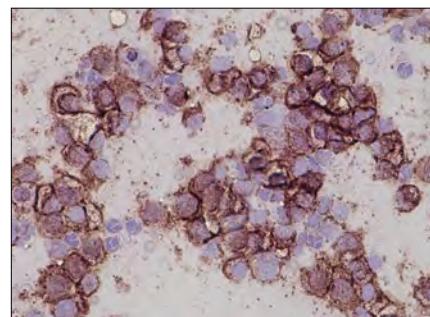
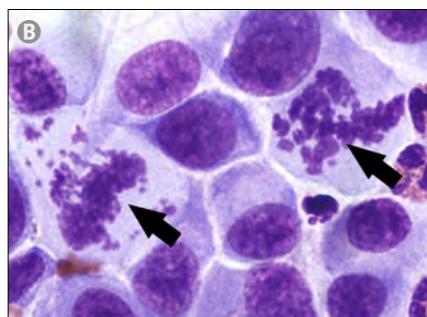
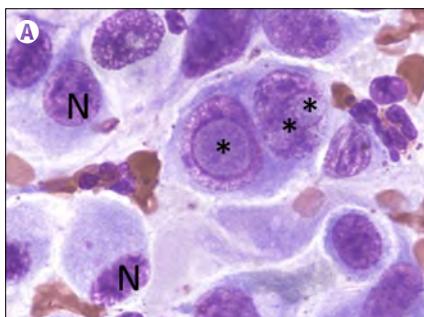
Metastasen eines Karzinoms hinweisen, da sie dort normalerweise nicht vorkommen (Cowell et al. 2003, Sharkey et al. 2014a). Die Aspiration von Speicheldrüsengewebe anstelle von Zellen des Lymphknotens ist hingegen auf eine fehlerhafte Probenentnahme zurückzuführen.

Bei der zytologischen Beschreibung der Zelltypen von Tumoren wird typischerweise zwischen Rundzelltumoren, Spindelzelltumoren, melanozytären, epithelialen und neuroendokrinen Tumoren unterschieden (MacNeill 2011). Allerdings können z. B. auch die Zellen von Osteosarkomen rundzellig oder epithelioid erscheinen, und melanozytäre Tumoren können Zellen jeglicher Form enthalten. Bei der Entdifferenzierung maligner Tumoren kann die primäre charakteristische Morphologie verlorengehen und eine Zuordnung des Zelltyps erschweren. Quetschartefakte erzeugen möglicher-

weise eine vermeintlich spindelige Form von runden oder epithelialen Zellen (s. Spindelzelltumoren, Abb. 12). Daher ist auch diesbezüglich stets die Qualität des Präparates und die Plausibilität der Befunde unter Berücksichtigung des Vorberichtes zu prüfen. Es gibt Fälle, in denen es nicht möglich ist, die Zellen eindeutig einem Typ zuzuordnen. Meistens liegt dann eine schlecht differenzierte Neoplasie vor, die am besten durch eine (immun)histologische Untersuchung (Aupperle-Lellbach et al. 2023) einer Stanzbiopsie oder der gesamten Umfangsvermehrung diagnostiziert wird.

Malignitätskriterien

Ist der Gewebetyp zytologisch identifiziert bzw. bestätigt, bleibt abzuklären, ob es sich um normales Gewebe, eine Hyperplasie, eine benigne oder eine maligne Neoplasie handelt. Die Unterscheidung der



5 Malignitätskriterien: A) Atypische Nukleoli (*) in einer doppelkernigen Zelle und deutliche Variabilität in Form und Größe der Zellkerne (N) sowie B) atypische Mitosefiguren (Pfeile) in den pleomorphen Zellen eines anaplastischen Tumors

6 Immunzytologischer Nachweis der c-Kit Expression (braun) in dem Ausstrich eines kaninen Mastzelltumors.

ersten drei „gutartigen“ Befunde ist zytologisch im Allgemeinen nicht möglich. Zur Diagnose eines bösartigen Tumors wird das Vorliegen von Malignitätskriterien herangezogen (Ressel 2021) (Abb. 5). Allgemeine Malignitätskriterien sind z.B. Anisozytose und Anisokaryose (unterschiedliche Zell- und Kerngröße), Pleomorphie (variable Zellgestalt) und Makrozytose (Riesenzellen). Hinsichtlich der Größenverhältnisse der Zellen orientiert man sich an der Größe der Erythrozyten, die fast immer im Präparat enthalten sind. Die nukleäre Malignitätskriterien umfassen: verändertes Kern:Zytoplasma Verhältnis (im Vergleich zu den normalen Verhältnissen), Anisokaryose (ungleich große Kerne), Karyomegalie (Riesenkerne), Mehrkernigkeit, eine erhöhte Anzahl an Mitosefiguren, atypische Mitosen, grobscholliges Kernchromatin, atypische Nukleoli (große, prominente, irreguläre, multiple, unterschiedlich große Nukleoli) und Kerndeformationen. Es ist aber zu beachten, dass nicht alle Nukleoli ein Ausdruck von Malignität sind. Beispielsweise sind prominente, zentral liegende Nukleoli bei einem Adenom der hepatoiden Drüsen völlig normal – in Lymphozyten aber ein Charakteristikum immunoblastischer Lymphome (Carter et al. 1986).

Zeigt die Mehrzahl der Zellen einer Umfangsvermehrung drei oder mehr zelluläre Malignitätskriterien, wird ein malignes Geschehen diagnostiziert. Für einen Erguss gilt mit fünf nukleären Malignitätskriterien ein höherer Grenzwert. Allerdings sind die nukleären und zellulären Malignitätskriterien vor allem bei

neuroendokrinen Karzinomen häufig nur sehr gering ausgeprägt. Wesentliche Malignitätskriterien, wie infiltratives Wachstum und Gefäßinbrüche sind nur histologisch, aber nicht zytologisch zu erfassen. Weiterhin ist die zytologische Diagnostik bei Tumoren mit ausgeprägter intratumoraler Heterogenität limitiert (z.B. kanine Mammatumoren). Die Repräsentativität gut differenzierter Zellen auf dem Ausstrich muss dann in Frage gestellt werden, denn nur der positive Befund eindeutiger Malignitätskriterien ist beweisend. Andererseits kann es als Reaktion auf eine Entzündung zu ausgeprägten Dysplasien kommen, die nicht von den Malignitätskriterien neoplastischer Zellen unterschieden werden können.

Weiterführende Untersuchungen

Wenn die zytologische Diagnose nicht eindeutig ist, wird nicht immer eine Einsendung von Gewebeproben für die histologische Untersuchung erforderlich. Es können in manchen Fällen weiterführende Untersuchungen an den Präparaten durchgeführt werden (Marrinhas et al. 2022):

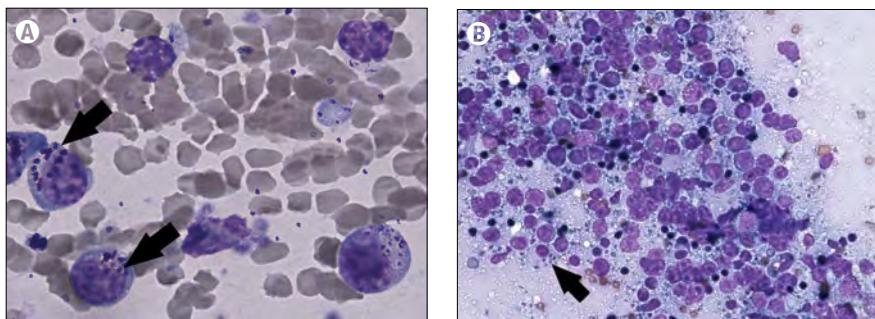
- Immunzytochemische Untersuchungen (Brooks 2012) zur Tumordifferenzierung (Abb. 6) (Marrinhas et al. 2022) werden nur in wenigen Laboren angeboten, da sie sehr aufwändig sind. Für die Immunzytologie ist eine größere Anzahl qualitativ guter Ausstriche nötig, da ansonsten die Objektträger aufwändig geteilt werden müssen (Marrinhas et al. 2022). Für die immunzytologische Ergussdiagnostik werden in der Humanmedizin Zellblöcke aus Zellpellets nach
- Zentrifugation erstellt (Fernandes et al. 2016). Gegebenenfalls müssen jedoch histologische Proben entnommen werden, die immunhistologisch charakterisiert werden können (Sandusky et al. 1987, Aupperle-Lellbach et al. 2023).
- Klonalitätsanalysen (PARR) können helfen, einen Lymphom-Verdacht zu bestätigen. Hierbei sind aber die bekannten Limitationen in Sensitivität und Spezifität bei der Interpretation zu beachten (Burkhard und Bienzle 2013). Die PARR sollte niemals als alleiniges molekulares Diagnoseinstrument verwendet werden – die abschließende Interpretation sollte immer unter Berücksichtigung aller klinischen, morphologischen und immunphänotypischen Informationen erfolgen (Keller und Moore 2012, Langerak et al. 2012, Burkhard und Bienzle 2013, Gress et al. 2016, Keller et al. 2016).
- Eine molekulargenetische Untersuchung von Mastzelltumoren auf das Vorliegen einer *KIT*-Mutation (Tamlan et al. 2017) ist auch an gefärbten (nicht eingedeckelten) Ausstrichen möglich. Der Nachweis der *KIT*-Genmutation hat eine prognostische Relevanz und kann zur individualisierten Therapieplanung beim kaninen Mastzelltumor beitragen (Thamm et al. 2019, Bellamy und Berlato 2022, Nardi et al. 2022). Im Gegensatz zu den kaninen Mastzelltumoren haben die Mutationen des *KIT*-Gens (meist Exons 8 und 9) in feline Mastzelltumoren weder einen gesicherten prognostischen noch einen therapeutischen Wert.
- Die Diagnose eines kaninen urothelialen

Karzinoms (syn. Übergangszellkarzinom) oder eines Prostatakarzinoms ist mittels Zytologie oft eindeutig, da meist erhebliche Malignitätskriterien zu sehen sind (Vap und Shropshire 2017, Wycislo und Piech 2019). In fraglichen Fällen kann die Diagnose eines Karzinoms aber mittels BRAF-Mutationsanalyse abgesichert werden (Aupperle-Lellbach et al. 2024b). Bei Fällen mit Verdacht auf ein urothiales Karzinom, die keine BRAF-Mutation aufweisen, wurde der Nachweis von *Copy Number Alterations* (CNA) etabliert (Mochizuki et al. 2016). Dieser Test wird in den USA als CADET® BRAF-PLUS von Antech (Fountain Valley, CA, USA) und in Europa als BRAF comp. von LABOKLIN GmbH & Co. KG angeboten. Die CNA-Analyse basiert auf dem Nachweis einer veränderten Anzahl spezifischer Gensegmente. In >75 % der Fälle von urothialen Karzinomen (nicht in Prostatakarzinomen!) kommt es zu einer Vermehrung der Kopienzahl auf den Chromosomen 13 und 36 und zu einem Verlust von Genkopien auf Chromosom 19. In >93 % liegen bei urothialen Karzinomen des Hundes zwei oder mehr dieser CN-Veränderungen vor (Mochizuki et al. 2016). In Urinproben von Hunden mit Harnwegsinfektionen, Zystitis oder gutartigen Blasenpolypen waren diese Veränderungen nicht vorhanden (Mochizuki et al. 2016). Diese Tests sind leider nicht für die Diagnostik bei Katzen geeignet.

Spezielle Zytologie

Rundzelltumore

Der Begriff „Rundzelltumor“ ist ein zytologischer Terminus und bezeichnet Neoplasien ganz unterschiedlicher Herkunft: Lymphom, Histiozytom, Plasmozytom, Mastzelltumor und Stickersarkom (syn. transmissibler venerischer Tumor). Der Zellgehalt der Präparate ist meistens hoch. Die Zellen liegen einzeln, haben einen runden Kern und deutliche Zellgrenzen. Zytoplasmatische Charakteristika geben oft Aufschluss über den Zellursprung (z.B. Granula der Mastzellen, juxtanukleäre Aufhellung in Plasmazellen).



7 A) Zellen eines *Large granular Lymphoms* im Aszites einer Katze mit den typischen intrazytoplasmatischen Granula (Pfeile); B) Heterogenes Zellbild bei einem nasalen Lymphom einer Katze: neben einigen kleinen Lymphozyten finden sich multiple Lymphoblasten und einige *lymphoglandular bodies* (Pfeil).

Pleomorphe, rundzellige Tumoren erfordern in manchen Fällen eine histologische Untersuchung oder daran anschließend sogar eine Immunhistologie, um die Diagnose abzusichern.

Lymphome

Bei der Beurteilung von lymphatischem Gewebe kann die Faustregel von drei nukleären Malignitätskriterien nicht angewendet werden. Normale und hyperplastische lymphatische Gewebe zeigen nämlich ein heterogenes Zellbild mit einer gemischten Population aus 75–95 % kleinen Lymphozyten, 5–10 % mittelgroßen Lymphozyten, >5 % Lymphoblasten und ggf. vereinzelten Makrophagen und neutrophilen Granulozyten sowie einem variablen Gehalt an Plasmazellen (Cowell et al. 2003, Sharkey et al. 2014a).

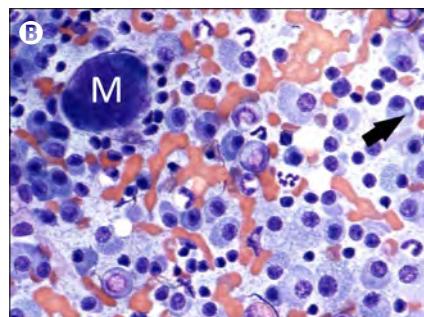
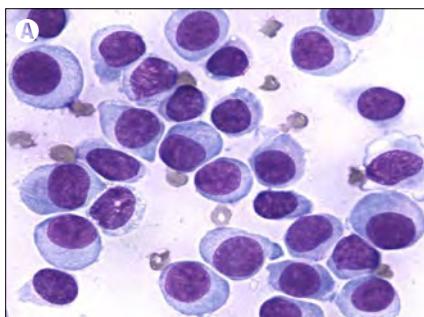
Im Fall eines Lymphoms findet sich hingegen ein homogenes Zellbild gleichartiger lymphoider Zellen (Sapierzyński et al. 2016). Dies bedeutet, dass ein monomorphes Bild auf das Vorliegen eines Lymphoms hinweisen kann, auch wenn es sich um morphologisch unauffällige kleine Lymphozyten handelt (Cowell et al. 2003). Eine hohe Anzahl kleiner Lymphozyten im Liquor oder im Körperhöhlenerguss kann also für ein Lymphom sprechen. Large granular Lymphome (LGL) der Katze (Rocca Bianca et al. 2006, Krick et al. 2008, Finotello et al. 2018) und des Hundes (Yale et al. 2024) lassen sich fast ausschließlich mittels Zytologie identifizieren (Abb. 7A), da ihre Granula in der Histologie kaum erkennbar sind (Finotello et al. 2018).

Lymphoglandular bodies (Abb. 7B) sind

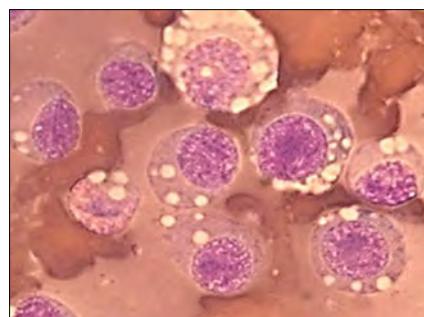
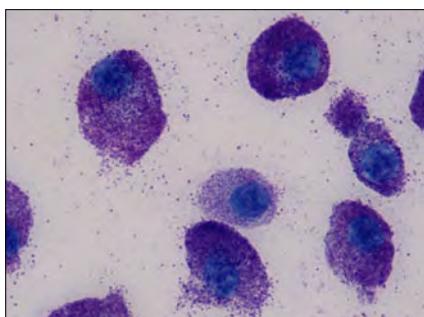
kleine runde oder unregelmäßige basophile Fragmente des Zytoplasmas lymphoider Zellen, insbesondere von Lymphoblasten, Immunoblasten und Zenktroblasten, die im Ausstrich zwischen intakten Lymphozyten verstreut sind. Sie werden als Ausdruck von Destruktionen der neoplastischen Lymphozyten gewertet und können zur Differenzierung von lymphoiden und nicht-lymphoiden Neoplasien herangezogen werden. Sie können auch bei einer Hyperplasie auftreten, sind aber häufiger in Lymphomen zu sehen (Sapierzyński et al. 2016).

Leider haben gerade die Lymphknoten-Ausstriche oft einen relativ schlechten Zellerhaltungszustand (Amores-Fuster et al. 2015), weil Aspirate meist zellreich und von gallertiger Konsistenz sind und die sehr fragilen Lymphozyten beim Ausstreichen leicht kaputtgedrückt werden (daher: zum vorsichtigen Ausstreichen am besten ein Deckgläschchen verwenden!).

Empfohlen ist hier auch, dass die Probenentnahme ggf. ohne Aspiration erfolgt. Aber auch, wenn der gefärbte Ausstrich qualitativ schlecht ist, kann daran noch eine Klonalitätsanalyse durchgeführt werden. Daher ist es empfehlenswert, bereits im Vorfeld mit den Tierhalterinnen zu kommunizieren, das möglicherweise noch die zusätzlichen Kosten einer Klonalitätsanalyse anfallen können. In bestimmten Fällen ist eher eine erneute Probenentnahme für eine Immunphänotypisierung mittels Durchflusszytometrie (Sözmen et al. 2005, Wilkerson 2012, Martini et al. 2018) oder (Immun)histologie (Day 1995) anzuraten. Ihre Partnerinnen im Labor beraten Sie ggf. diesbezüglich je nach Lage des Falles.



8 A) Kanines kutanes Histiozytom mit runden Zellen mit wasserklarem Zytoplasma; B) Kanines multiples Myelom mit neoplastischen Plasmazellen mit juxtanukleärer Aufhellung (Pfeil) und mehrkernigen Zellen (M).



9 Mastzelltumor einer Katze: gut differenzierte, zytoplasmareiche Mastzellen mit deutlicher Granulierung

10 Stickersarkom eines Hundes: Die runden Zellen enthalten charakteristische klare, runde Vakuolen im Zytoplasma.

Histiozytäre Tumoren, Plasmazelltumoren

Die Zellen von Histiozytomen (Abb. 8A) weisen zytologisch runde Kerne auf und weniger die histologisch charakteristischen bohnenförmigen Kerne (MacNeill 2011). Das Zytoplasma ist oft wasserhell und die Zellgrenzen sind deutlich (Johnson und Myers 2017). Aber je nach Färbung und Qualität der Ausstriche können Histiozytome und gut differenzierte Plasmazelltumorene manchmal schwierig von einander zu unterscheiden sein. Bei malignen histiozytären Tumoren ist das Bild pleomorph mit Atypien.

Die Zellen der Plasmazelltumoren (Plasmozytom, multiples Myelom Abb. 8B) können doppel- oder mehrkernig sein und haben typischerweise juxtanukleäre Aufhellungen (MacNeill 2011).

Mastzelltumoren

Gut differenzierte Mastzelltumoren (Abb. 9) sind zytologisch meist einfach zu diagnostizieren, da sie die typischen zytoplasmatischen Granula aufweisen (Sharkey et al. 2014a). Außerdem können

Abklatschpräparate der Resektionsgrenzen *intra operationem* angefertigt und auf Tumorzellen hin untersucht werden (Milovancev et al. 2017). Aber die zytologische Diagnostik der Mastzelltumoren hat ein paar Limitationen (Nardi et al. 2022): Man kann zytologisch nicht unterscheiden, ob es sich um einen kutanen oder einen subkutanen Mastzelltumor handelt. Da subkutane Mastzelltumorene meist eine bessere Prognose haben, wird die Malignität möglicherweise überbewertet. Vergleichende Untersuchungen haben gezeigt, dass zytologisch mehr Mastzelltumorene als *high-grade* eingestuft werden als histologisch (Hergt et al. 2016). Insbesondere Karyomegalie und Anisokaryose werden zytologisch oft überbewertet. Mitosen sind zytologisch oft schwer zu beurteilen und sie können heterogen innerhalb eines Tumors verteilt sein. Dies kann problematisch sein, wenn basierend darauf aggressiver als notwendig operiert wird. Deshalb werden für die Beurteilung stets mehrere Kriterien eingeschlossen wie Mitosefiguren, Mehrkernigkeit, Anisokaryose, Pleomor-

phie und Kollagen/Fibroblasten (Camus et al. 2016, Paes et al. 2022).

Wichtig ist, dass bei schlecht differenzierten Mastzelltumoren eine DiffQuik® Färbung ein schlechteres Ergebnis erzielen kann. Dann ist es gut, wenn es noch ungefärbte Ausstriche gibt, die in der Pathologie mittels Giemsa gefärbt werden können. Insbesondere, um Lymphknotenmetastasen zu identifizieren, sollte man eine Giemsa Färbung machen, weil dies die Sensitivität erhöht. Eine weiterführende Untersuchung auf das Vorliegen einer *KIT*-Mutation (Aupperle-Lellbach et al. 2024a) ist auch an gefärbten (nicht eingedeckten) Ausstrichen möglich.

Transmissibler venerischer Tumor (Sticker-Sarkom)

Die runden Zellen der sog. Stickersarkome (*transmissible venereal tumour*, TVT) haben runde Kerne und reichlich Zytoplasma, das typischerweise kleine klare Vakuolen enthält (Abb. 10). Mitosen sind häufig (Johnson und Myers 2017). Sowohl zytologisch als auch histologisch ist für die Diagnose vor allem die Entnahmeloalisation (z. B. Genitalbereich, Schnauze) von Bedeutung. Eine Abgrenzung von anderen Rundzelltumoren ist dann i. d. R. eine Ausschlussdiagnose, da diese Zellen für alle anderen immunhistologischen Marker (Lymphozyten, Mastzellen, Epithelzellen) negativ sind (Ganguly et al. 2016).

Spindelzelltumoren

Spindelige Zellen liegen normalerweise einzeln oder in lockeren Verbänden vor (Abb. 11A). Es können sich Formationen bilden, die *crown cells* genannt werden (Abb. 11B). Die Zellform ist variabel, sie kann spindelförmig, rundlich-oval bis zu sternförmig sein. Das Zytoplasma kann kleine klare Vakuolen enthalten. Die Zellgrenzen sind undeutlich (MacNeill 2011). Echte spindelige Zellen müssen von artifiziell langgezogenen (gequetschten) epithelialen oder runden Zellen differenziert werden, soweit die Ausstrichqualität dies zulässt (Abb. 12A+B).

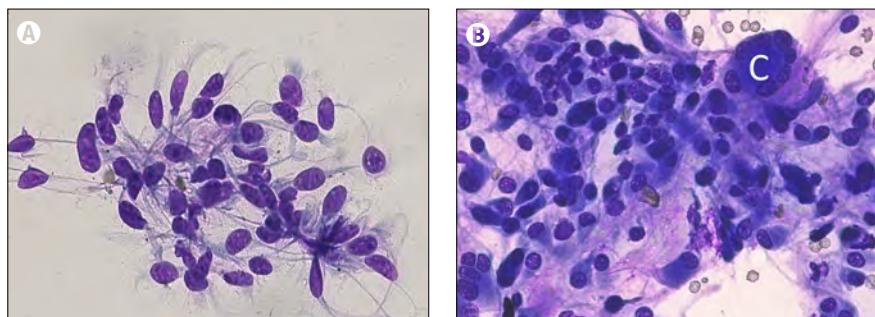
Vor allem bei schlecht differenzierten Spindelzelltumoren sind die Ausstriche oft zellreicher als bei den benignen Formen

wie Fibromen. Das liegt daran, dass die malignen Tumoren meist weniger Kollagen enthalten und sich die Tumorzellen leichter aus dem Gewebeverband lösen und aspirieren lassen. Allerdings können auch die spindeligen Zellen (Fibroblasten) eines Granulationsgewebes gut aspiriert werden und teils eine deutliche Pleomorphie aufweisen. Da auch Sarkome gut differenziert und entzündet sein können, ist in vielen Fällen zytologisch eine sichere Diagnose nicht möglich (Johnson und Myers 2017). Außerdem ist zu beachten, dass es in manchen Fällen (v. a. bei der Katze) zu einer malignen Transformation von einem Granulationsgewebes hin zu einem Fibrosarkom kommen kann, so dass die Übergänge fließend sind.

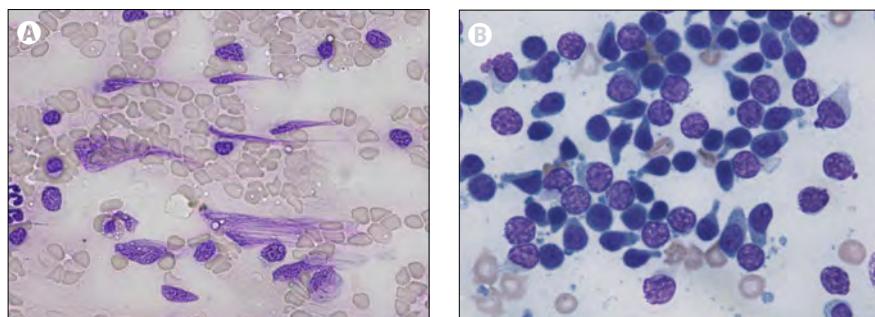
Ein zytologisches Grading von Spindelzelltumoren (Weir et al. 1999) ist mit vielen Unsicherheiten behaftet, da die Kriterien des histologischen Gradings (Dennis et al. 2011, Dobromylskyj et al. 2021) nicht beurteilbar sind. Beispielsweise ist die Bewertung einer Mitosezahl/HPF ohne Relation zum Zellgehalt des Ausstriches sehr fragwürdig. Die Größe von Nekrosearealen ist zytologisch nicht erfassbar. Die Differenzierung zwischen milden, mittel- und hochgradige Kernatypien und die Beurteilung der Pleomorphie erscheinen willkürlich. Dementsprechend wurde in einer Studie an 20 kaninchen Spindelzelltumoren (histologisch nur Grad 1 und 2, kein Grad 3) nur in 60 % der Fälle eine zytologisch und histologisch übereinstimmende Graduierung erzielt. Bei den 13 felineen Sarkomen waren 85 % der Graduierungen korrekt (Millanta et al. 2020).

Melanozytäre Tumoren

Die Malignität melanozytärer Tumoren korreliert bei Hund und Katze vor allem mit der Entnahmelokalisation (Smedley et al. 2022, Polton et al. 2024). Da die Zellen der Melanome nicht immer spindelig, sondern auch rundzellig oder epitheloid und pleomorph sein können, erfordert die Diagnose amelanotischer Melanome eine besondere Expertise (MacNeill 2011). Bei schwach pigmentierten Tumoren (Abb. 13) ist die Kernmorphologie gut zu beurteilen, während sie bei stark pigmentierten Zellen überla-



1.1 A) Spindelzellsarkome sind durch ihre charakteristische Form gekennzeichnet; B) Spindelzellsarkome können mehrkernige Zellen, sog. *crown cells* (C), enthalten.

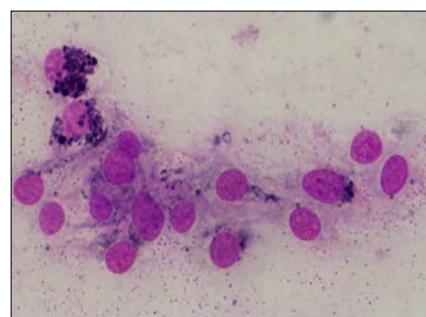


1.2 Quetschartefakte: A) Das Chromatin der Zellen ist spindelförmig ausgezogen, das Zytoplasma ist nicht mehr erkennbar, so dass eine Identifikation des Zelltyps nicht mehr möglich ist. B) Die artifiziell erzeugten „handspiegelartigen“ Ausläufer des Zytoplasmas sind ein typisches Artefakt bei T-Zell Lymphomen des Hundes.

gert wird, so dass evtl. eine Bleichung durchgeführt werden muss. In schlecht differenzierten amelanotischen Melanomen kann das Auffinden der Melaningranula hingegen zytologisch anspruchsvoll sein, da sie evtl. sehr fein sind (Johnson und Myers 2017). Grundsätzlich sind andere Pigmente (z. B. Hämosiderin) von Melanin abzugrenzen. Differenzialdiagnostisch müssen aber stets auch pigmentierte epitheliale Tumoren (z. B. Basalzelltumoren, Talgdrüseneptiheliome) bedacht werden. Die Unterscheidung zwischen amelanotischen Melanomen und anaplastischen Sarkomen kann schwierig sein (Johnson und Myers 2017).

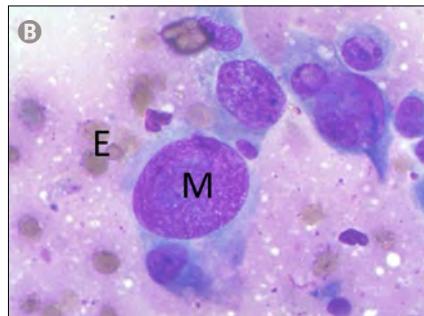
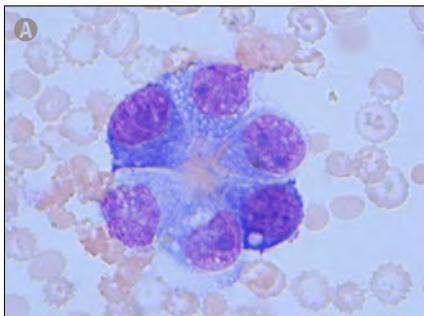
Epithelialie Tumoren

Epithelialie Zellen exfolieren einzeln oder in Zellverbänden. Die Zellen sind polygonal bis abgerundet und weisen deutlich erkennbare Zellgrenzen auf, manchmal sind Desmosomen in Form einer ungefärbten Linie zwischen den einzelnen Zellen erkennbar. Manchmal bilden die Epithelzellen azinäre (Abb. 14A) oder papilliforme Formationen (MacNeill 2011). Die Kerne sind rundlich mit irregu-

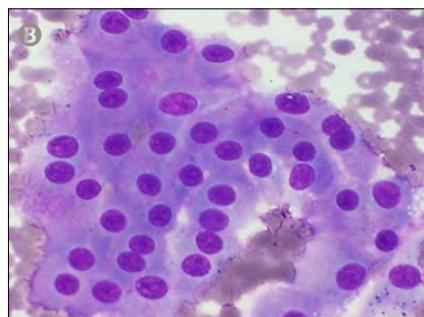
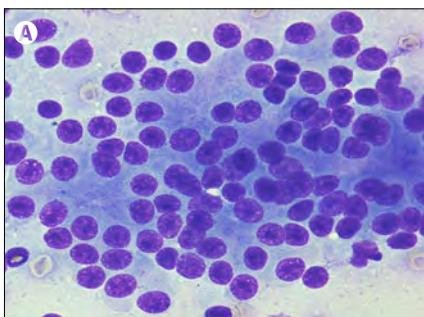


1.3 Rundliche Zellen eines malignen Melanoms eines Hundes mit deutlichen bzw. wenigen intrazytoplasmatischen Melaningranula.

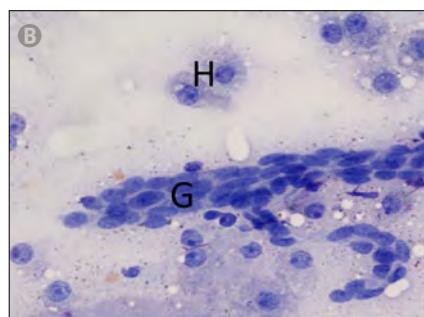
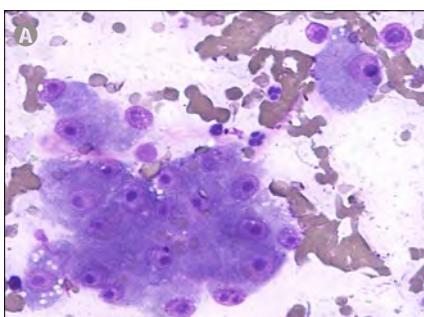
lärem Chromatin und einzelnen bis multiplen Nukleoli. Eine Megakaryose (Abb. 14B) im Rahmen einer ausgeprägten Anisokaryose ist häufig. Ähnlich wie bei den spindeligen Zellen, kann es auch bei den Epithelzellen im Rahmen einer Entzündung zu einer erheblichen Anisozytose und Anisokaryose mit dysplastischen Kernveränderungen kommen. Die Differenzierung von gut- und bösartigen Läsionen ist in solchen Fällen nicht immer sicher möglich.



1|4 A) Die epithelialen Zellen in diesem Perikarderguss eines Hundes zeigen eine azinäre Formation, Anisozytose und Anisokaryose sind nur mild ausgeprägt – hier ist die Entnahmelokalisation für die Diagnose einer Karzinommetastase ausschlaggebend; B) Die Kerne in den Zellen eines kaninen Harnblasenkarzinoms weisen eine hochgradige Anisokaryose und eine Megakaryose (M) auf – man beachte das Größenverhältnis zu den Erythrozyten (E) im Bild.



1|5: Das zytologische Bild von blanken Kernen in „einem See aus Zytoplasma“ ist typisch für A) Analbeutelkarzinome und B) Schilddrüsenkarzinome des Hundes. Die Malignitätskriterien sind bei diesen Tumoren typischerweise nur mild ausgeprägt.



1|6 A) Die Zellen des Leberzellkarzinoms eines Hundes weisen variierend große atypische Nukleoli auf; B) Neben einigen Hepatozyten (H) finden sich gut differenzierte Gallengangsepithelzellverbände, wie sie bei zystischen Gallengangskarzinomen auftreten können.

(Neuro)endokrine Tumoren

Die Tumorzellen der (neuro)endokrinen Gewebe (z. B. Analbeuteldrüsen, Nebenniere, Schilddrüse) liegen meist in lockeren Zellverbänden, die keine Zellgrenzen erkennen lassen. Sie zeigen in den Ausstrichen das typische Bild der blanken Kerne in einem blassen „See aus Zytoplasma“. Die Zellkerne sind rund und können deutliche Nukleoli beinhalten. Ausstriche dieser Gewebe sind manchmal nur schwer

von autolytischen Proben zu unterscheiden, so dass eine vorberichtliche Angabe der Entnahmelokalisation zur korrekten Interpretation beiträgt.

Analbeutelkarzinome (Abb. 15A) sind maligne Neoplasien der apokrinen Drüsen, die endokrin aktiv sein können (Hyperkalzämie). Die zytologische Untersuchung dient der differenzialdiagnostischen Abgrenzung von Adenomen der hepatoiden Drüsen, Mastzelltumoren,

Lymphomen und anderen Karzinomen (Repasy et al. 2022).

Schildrüsentumoren (Abb. 15B) des Hundes sind viel häufiger maligne als die der Katze (Barber 2007). Zytologische Malignitätskriterien sind Anisozytose, Anisokaryose, irreguläres Chromatin und Nukleoli (Thompson et al. 1980). Allerdings sind diese Malignitätskriterien meist viel milder als bei anderen Karzinomen ausgeprägt.

Auch Nebennierentumoren (Phäochromozytome, Nebennierenrindentumoren) können mittels ultraschallgesteuerter Feinnadelaspiration sicher (Sumner et al. 2018) und gut (Bertazzolo et al. 2014) diagnostiziert werden.

Tumorzytologie ausgewählter Organsysteme

Neben der Zytologie von Hauttumoren (Moriello und Rosenthal 1990, Johnson und Myers 2017) und Maulhöhlentumoren (Bonfanti et al. 2015) spielt auch die zytologische Diagnostik der Tumoren der inneren Organe (Burkhard und Meyer 1996, Murgia 2014) eine praktische Rolle. Die primären Tumoren von Harnblase (Walker et al. 1993, Vap und Shropshire 2017, Wycislo und Piech 2019), Niere (Borjesson 2003, McAloney et al. 2018, Wycislo und Piech 2019), Prostata (Palmieri et al. 2022), Lunge (Rakich und Latimer 1989, Rebar et al. 1992, Wood et al. 1998) und Pankreas (Bennett et al. 2001) sind relativ selten. Die Tumoren einiger anderer Organsysteme sollen im Folgenden hinsichtlich ihrer zytologischen diagnostischen Aussagekraft genauer beleuchtet werden.

Tumoren der Leber

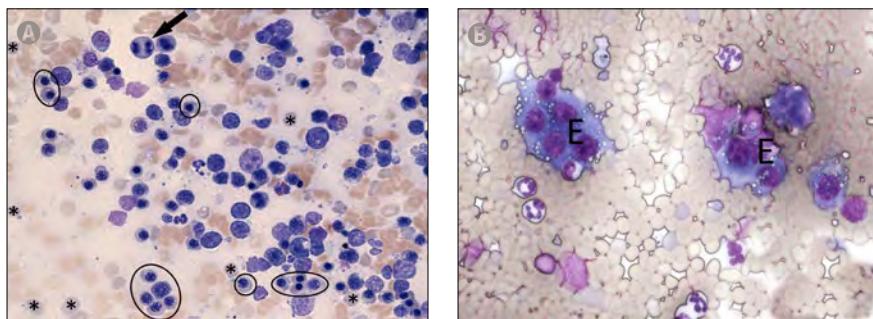
Wenn im Ultraschall Herdveränderungen in der Leber gefunden werden, so kann die zytologische Diagnostik in vielen Fällen hinweisend sein (Burkhard und Meyer 1996). Hepatozelluläre noduläre Hyperplasien, Adenome oder Karzinome und die selteneren Gallengangskarzinome können solitär oder multipel auftreten, durchaus recht groß werden und intratumorale Blutungen aufweisen. Aber auch Lymphome, Hämangiosarkome und die Metastasen von Karzinomen können in der Leber vor-

kommen (Wypij et al. 2006, Balkman 2009, Sumping et al. 2022). Differenzialdiagnostisch sind beispielsweise Leberabszesse und eine Echinokokkose (Gentil 2021) in Betracht zu ziehen.

Die normalen Zellen der Leber sind die Hepatozyten, die meist in kleinen Verbänden liegen. Sie haben runde Kerne mit einem deutlichen Nukleolus und viel Zytoplasma, das feinschaumig sein kann und manchmal Pigment enthält. Seltener sind spindelige Zellen (v. a. bei Vorliegen einer Fibrose) und Gallengangsepithelien zu sehen. Entzündungszellen können aus den Sinusoïden stammen (Leukozytase, Leukozytose) oder Ausdruck einer Hepatitis sein (Stockhaus et al. 2004). Die Repräsentativität der Leberzytologie schwankt je nach Studie und Diagnose erheblich zwischen 30 % und 60 % Übereinstimmung mit dem histologischen Befund (Sumping et al. 2022).

Zytologisch und histologisch ist der sichere Nachweis eines hepatozellulären Karzinoms nur bei entsprechend stark ausgeprägten Malignitätskriterien (Dissoziation von Hepatozyten, azinäre oder palisadenartige Anordnungen, das Vorhandensein von blanken Kernen, Kapillaren, leichte Anisozytose, Anisokaryose, Mehrkernigkeit und erhöhte Kern:Plasma Relation; Abb. 16A) beweisen (Masserdotti und Drigo 2012). Hepatozelluläre Tumoren weisen teils eine deutliche intratumorale Heterogenität auf und es ist häufig ein Kontinuum von gut zu schlecht differenzierten Zellen zu beobachten. Doppelkernige Hepatozyten sieht man nicht nur bei Tumoren, sondern sie sind auch allgemein Ausdruck reaktiver / regenerativer Prozesse in der Leber (Masserdotti und Drigo 2012).

Bei Gallengangskarzinomen zeigen die Zellen eine variable Menge an leicht bläulichem Zytoplasma mit achromatischen Granula, runde bis ovale Zellkerne mit Anisokaryose und häufig Makronuklei. Nekrotische Massen und Entzündungen sind häufig (Masserdotti 2020). Aus zytologischer Sicht ist eine Unterscheidung von anderen Karzinommetastasen aber kaum möglich (Burkhard und Meyer 1996). Bei den gutartigen Gallengangszysten/-Zystadenomen der Katze



1 | 7 A) Bei der extramedullären Hämatopoiese finden sich kernhaltige erythrozytäre Vorläufer, bei denen das Zytoplasma der reiferen Stadien (Kreis) stark dem von polychromatischen Erythrozyten (*) ähnelt, auch Mitosefiguren (Pfeil) können vorkommen; B) In einem Ausstrich von der Milz sind Epithelzellverbände (E) das Zeichen für Karzinommetastasen.

(Abb. 16B) sind keine/kaum Malignitätskriterien ausgebildet, so dass die Diagnose nur bei Kenntnis des sonographischen oder makroskopischen Bildes gelingen kann.

Umfangsvermehrungen der Milz

Die Zytologie ist eine gute Möglichkeit der Diagnostik von diffusen (z. B. Splenitis) oder (multi)nodulären (Hyperplasien, Tumoren, Infarkte, Hämatome) Herdveränderungen der Milz (O'Keefe und Couto 1987, Burkhard und Meyer 1996, Christopher 2003). Beim Hund sind Hämagiosarkome, Lymphome, histiozytäre Neoplasien und Leiomyosarkome die häufigsten Tumoren der Milz (Eberle et al. 2012, Corvera et al. 2024). Bei der Katze überwiegen Lymphome und Mastzelltumoren, während Hämagiosarkome in der Milz selten sind (Christensen et al. 2009). Aber auch Metastasen anderer Tumoren (meist Karzinome) können in der Milz vorkommen. Studien zur Zytologie und korrespondierender Histologie aus der Milz haben insgesamt etwa 60 % Übereinstimmung erbracht (Ballegeer et al. 2007, Christensen et al. 2009, Tecilla et al. 2019). Im Zweifelsfall muss eine histologische Abklärung nach Splenektomie erfolgen.

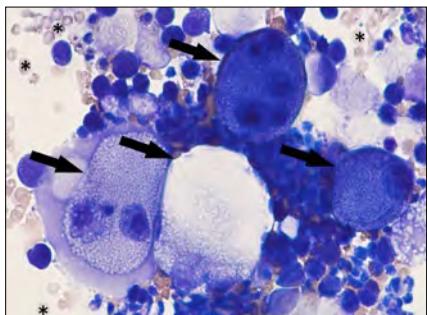
Die zytologischen Ausstriche einer Milz sind häufig sehr blutreich. Zu den normalen Zellpopulationen in der Milz gehören einige kleine Lymphozyten sowie ein paar Spindelzellen aus den Trabekeln und der roten Pulpa sowie Zellen der extramedullären Hämatopoiese mit einzelnen Megakaryozyten. Thrombozyten sollten nicht mit Infektionserregern verwechselt wer-

den. Hämosiderin ist Ausdruck von Blutabbau (Christopher 2003).

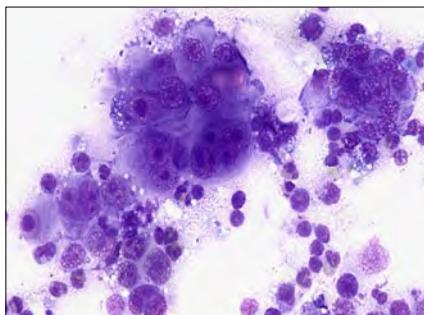
Ausstriche von nodulären lymphozytären Hyperplasien können vermehrt unterschiedlich differenzierte lymphozytäre Zellen, einige Lymphoblasten und einzelne Mitosefiguren enthalten. Das Zellbild ist i. d. R. heterogener als bei einem Lymphom. Allerdings sind die Lymphome der Katze meist weniger eindeutig monomorph (Abb. 7B) als die des Hundes. In Zweifelsfällen ist eine Klonalitätsuntersuchung anzuraten (unter Beachtung der bekannten Limitationen (Burkhard und Bienzle 2013)) oder es muss eine histologische Untersuchung der Milz erfolgen (Sharkey et al. 2014a, Sabattini et al. 2018).

Eine noduläre oder diffuse Hyperplasie (Abb. 17A) der extramedullären Hämatopoiese kann kompensatorisch vor allem bei älteren Hunden auftreten, trotzdem sollte auch immer auf Infektionserreger / Blutparasiten als Ursache einer Anämie mit vermehrter extramedullärer Hämatopoiese geachtet werden (O'Keefe und Couto 1987). Die großen Megakaryozyten können mit ihren großen gelappten Kernen sehr pleomorph aussehen und sollten nicht überinterpretiert werden. Differenzialdiagnostisch kommen auch Myelolipome in Frage (Zimmer und Stair 1983).

Die komplexen nodulären Hyperplasien (ehemals fibrohistiozytäre Knoten) weisen ein gemischtes Zellbild auf, das wegen der teils pleomorphen histiozytären Zellen schlecht von malignen histiozytären Neoplasien abzugrenzen sein kann (Sharkey et al. 2014a). Dies ist histologisch meist



1|8 Darmkarzinome können ausgeprägte Malignitätskriterien aufweisen u. a. mit hochgradiger Anisokaryose und Karyomegalie (Pfeil), was im Größenvergleich mit den Erythrozyten (*) gut erkennbar ist.



1|9 Der Ausstrich von einem Mammakarzinom einer Katze weist Epithelzellen mit hochgradiger Anisokaryose und atypischen Nukleoli auf.

einfacher, da hier die Anordnung der spindeligen, histiozytären und lymphozytären Zellen zueinander erkennbar ist und zur genaueren prognostischen Einschätzung (Sabattini et al. 2022) und zur Abgrenzung von myeloiden Metaplasien (Spangler und Kass 1999) herangezogen werden kann. Hämangiosarkome sind überwiegend kavernös mit ausgedehnten Blutungen, so dass häufig nur Blut aspiriert werden kann. Ein negativer Befund im Hinblick auf diese Tumoren ist daher besonders unsicher. Nur in soliden und kapillär wachsenden Bereichen des Tumors hat man eine Chance, die endothelialen Tumorzellen zu aspirieren (Sharkey et al. 2014a). Es wird empfohlen, die Proben ohne Aspiration zu gewinnen, da sie dann weniger Blut enthalten (Leblanc et al. 2009).

Weder Mastzellen noch epitheliale Zellen gehören zu dem normalen Zellbild der Milz. Daher ist bei entsprechender Anzahl von Mastzellen in einem Ausstrich von der Milz an Metastasen bzw. bei der Katze auch an eine systemische Mastozytose zu denken (Christopher 2003, Kraus et al. 2015). Karzinommetastasen in der Milz (Abb. 17B) weisen atypische Nukleoli und andere Atypien auf und bilden ggf. azinäre Formationen.

Tumoren des Gastrointestinaltraktes

Wenn im Ultraschall Umfangsvermehrungen im Magen-Darm-Trakt auffallen, kommen entzündliche Veränderungen (z.B. Fremdkörper) oder Tumoren (z.B. Lymphom, Mastzelltumor, Karzinom

(Abb. 18), Gastrointestinaler stromaler Tumor GIST, Leiomyom) in Frage (Gaschen 2011, Terragni et al. 2014, Kehl et al. 2022).

Es kann versucht werden, diese mittels ultraschallgesteuerter Feinnadelaspiration zu diagnostizieren. Untersuchungen zur Repräsentativität der Zytologie von gastrointestinalen Tumoren bei Hund und Katze (83 Fälle) ergaben jedoch, dass nur in etwa der Hälfte der Fälle eine korrekte Diagnose gestellt werden konnte (Bonfanti et al. 2006). Viele Fälle blieben zytologisch unklar und einige waren falsch. Die Sensitivität war am besten bei der Diagnose von Karzinomen und Lymphomen. Am schlechtesten war die Diagnostik bei den Spindelzelltumoren, was sicherlich auch damit zu tun hat, dass die Spindelzellen am schlechtesten zu aspirieren sind (Bonfanti et al. 2006).

Das Vorhandensein von Siegelringzellen, Mikrovakuolisierung, zellulärer Pleomorphie und atypischen Mitosefiguren sind die wesentlichen Kriterien bei der zytologischen Diagnose von Adenokarzinomen in Quetschpräparaten aus Magenbiopsien des Hundes (Riondato et al. 2014).

Schon an Biopsien ist die Unterscheidung von entzündlichen und neoplastischen Lymphozyteninfiltrationen oft schwierig (Kiupel et al. 2011) – zytologisch kann dies noch problematischer sein. Zudem sind Klonalitätsuntersuchungen bei den feline Lymphomen mit mehr Limitationen versehen als beim Hund (s. o.). Eine weiterführende immunhistologische Differenzierung eines Lymphoms (möglichst

an transmuralen Biopsien) ist auf jeden Fall sinnvoll, da nicht jedes intestinale Lymphom der Katze ein kleinzelliges T-Zell Lymphom ist (Kehl et al. 2022).

Auch für die Differenzierung von GIST und Leiomyom sind immunhistologische Untersuchungen (c-KIT, alpha-smooth muscle Actin) nötig (Frost et al. 2003). Ein Teil der GIST weist eine Mutation im Exon 11 des *KIT*-Gens auf (Hayes et al. 2013, Takanosu et al. 2016). Allerdings gibt es derzeit keine ausreichenden Daten zu dem prognostischen und/oder therapeutischen Nutzen einer *KIT*-Mutation im kaninen GIST (Aupperle-Lellbach et al. 2024b).

Mastzelltumoren des Darms können bei der Katze sklerosierend sein (Halsey et al. 2010), was die Aspiration der relevanten Zellen möglicherweise erschwert. Wenn eosinophile Granulozyten das Bild überlagern (Howl und Petersen 1995), wird das zytologische Bild möglicherweise als eosinophile sklerosierende Fibroplasie (Craig et al. 2009, Černá et al. 2024) fehlinterpretiert.

Tumoren des Gesäuges

Die zytologische Untersuchung von Umfangsvermehrungen im Bereich der Gesäugeleiste kann dazu beitragen, Mammatumoren von anderen Neoplasien in dieser Region (z. B. Mastzelltumoren, Lipome) abzugrenzen. Während es sich bei der Katze meist um einfache Karzinome der Mamma (Abb. 19) handelt (Morris 2013), finden sich beim Hund einfache und komplexe Adenome / Karzinome oder auch gemischte Tumoren mit Anteilen von Knochen und Knorpel (Sorenmo 2003, Aupperle-Lellbach et al. 2022). In der Zytologie ist bei spindeligen Zellen dann oft nicht sicher, ob sie Teil des Bindegewebes oder Teil des Tumors sind (Allen et al. 1986).

Eine Studie an 50 Mammatumoren des Hundes hat ergeben, dass die zytologischen Präparate nur in 86 % der Fälle auswertbar waren (Simon et al. 2009). Die Anisokaryose, Karyomegalie und andere Kernatypien sind die wichtigsten Malignitätskriterien bei kaninen Mammatumoren (Allen et al. 1986). Dies kommt auch in dem humanmedizinischen zytologi-

schen Gradiingsystem von Robinson zum Ausdruck (Robinson et al. 1994). In einer Studie an 18 gutartigen und 55 bösartigen Mammatumoren des Hundes stimmte die zytologische Einschätzung der Malignität basierend auf dem Robinson Grading in 86 % der Fälle mit der histopathologischen Diagnose überein (Dolka et al. 2018). Bei 50 Mammatumoren des Hundes wurde eine Sicherheit von 93 % bei der Diagnose von gutartigen und 91 % bei den bösartigen Tumoren erreicht. Grundsätzlich wurde die Malignität eher unterschätzt, da die Invasivität als wichtigstes Malignitätskriterium dieser Tumoren zytologisch nicht erkennbar ist (Simon et al. 2009).

In einer anderen Studie lag die Übereinstimmung der zytologischen und histologischen Diagnosen bei 64 felineen Mammatumoren bei ca. 90 % und bei 83 kaninen Mammatumoren bei ca. 50 % (Pakdeesaneha et al. 2024). Die Ungenauigkeit liegt bei den Mammatumoren des Hundes v. a. an dem gemischten Zellbild und der ausgeprägten intratumoralen Heterogenität. Mammatumoren des Hundes sind oft entzündet und können teilweise sehr groß werden. In solchen Fällen muss die Repräsentativität einer Feinnadelaspiration ggf. sehr kritisch hinterfragt werden. Die Probenentnahme aus mehreren Lokalisationen erhöht dementsprechend die diagnostische Sicherheit.

Tumoren von Knochen und Gelenken

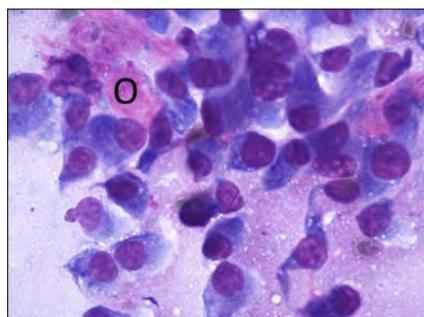
Die zytologische Diagnostik von Tumoren der Knochen (Jongeward 1985, Barger 2017) und Gelenke (MacWilliams und Friedrichs 2003, Martinez und Santangelo 2017) kann mittels Zytologie gelingen, wenn repräsentative Tumorzellen aspiriert werden. Bei Verdacht auf einen Knochentumor ist es durchaus sinnvoll, nicht nur eine Biopsie, sondern zusätzlich noch eine Zytologie aus dem Stanzkanal zu entnehmen (Staudacher et al. 2015). Gerade bei Knochenveränderungen ist es unabdingbar, einen ausführlichen Vorbericht und gerne auch den Röntgenbefund (Dittmer und Pemberton 2021) mitzuschicken.

Die Histomorphologie der Osteosarkome ist bei Hund und Katze weitgehend vergleichbar (Dimopoulou et al. 2008). Zytologisch sind als Zellen aus dem Knochen

zu finden: rundliche bis epitheloide Osteoblasten (Abb. 20), spindelige Zellen, mehrkernige Osteoklasten, Chondroblasten, ggf. Entzündungszellen, hämatopoetische Zellen sowie extrazelluläre Matrix (Osteoid, Abb. 20) (Valli et al. 2009). Die Osteoblasten eines Osteosarkoms können intrazytoplasmatische Vakuolen enthalten. Mitosefiguren sind oft zu finden (Barger 2017). Insbesondere, wenn nur der reaktive periostale Kallus beprobt wird, sind die Ausstriche jedoch oft zellarm und enthalten nur spindelige Bindegewebszellen. Finden sich viele Entzündungszellen im Ausstrich, so ist eine Osteomyelitis in Betracht zu ziehen (Barger 2017).

Eine Studie (Sabattini et al. 2017) zur Vergleichbarkeit zwischen Zytologie und Histologie an Hand von 50 primären bösartigen Knochentumoren (40 Osteosarkome, 5 Chondrosarkome, 2 Fibrosarkome, 3 schlecht differenzierte Sarkome), 6 Karzinommetastasen und 12 nicht-neoplastischen Läsionen ergaben eine mäßige Übereinstimmung: Die Genauigkeit betrug 83 % für die Zytologie (Sensitivität, 83,3 %; Spezifität, 80 %) und 82,1 % für die Histologie (Sensitivität, 72,2 %; Spezifität, 100 %). Der Tumortyp wurde in 50 bzw. 55,5 % der Fälle zytologisch und histologisch korrekt identifiziert. Acht von 48 malignen Tumoren konnten in der Zytologie nicht identifiziert werden. Allerdings war ein Teil der Fälle auch histologisch nicht sicher diagnostizierbar. Aber grundsätzlich erhöht es die diagnostische Sicherheit, wenn man sowohl zytologische als auch histologische Proben einschickt (Staudacher et al. 2015).

Tumoren der Gelenkkapsel sind oft histiozytären Ursprungs (51 %) mit einer RasseDisposition für Rottweiler (Craig et al. 2002). Des Weiteren kommen Myxome (17 %), Synovialzellsarkome (14 %) oder andere Sarkome (17 %) vor (Craig et al. 2002). Die Unterscheidung von histiozytären Sarkomen und Synoviazellsarkomen kann eine immunhistologische Differenzierung erfordern (Craig et al. 2002, Fox et al. 2002).



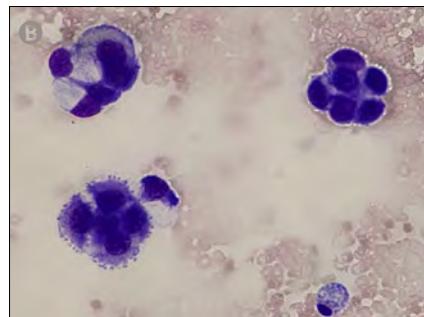
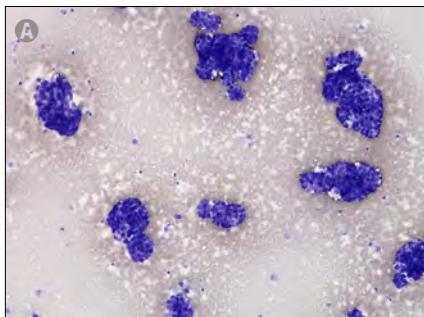
20 Der zellreiche Ausstrich von einem kaninen Osteosarkom enthält spindelige bis polygonale Osteoblasten und extrazelluläres Osteoid (O).

Körperhöhlenergüsse

Körperhöhlenergüsse bei malignen Tumoren entstehen durch die Blockade des Lymphabflusses der Serosa in Folge von Tumorzellemboli und der sekundären Entzündung. In Perikard, Thorax und Abdomen können Zellen von Karzinomen, Sarcomen, Lymphomen oder anderen Metastasen vorkommen (Aupperle et al. 2011). Die Identifikation des Primärtumors ist zytologisch oft schwierig – bei einem Karzinom sogar meist unmöglich. Bei einem Thoraxerguss kann der Primärtumor beispielsweise ein Ovar- oder ein Prostatakarzinom sein, dessen Tumorzellen über das Lymphsystem in den Thorax gelangen. Mediastinale Massen können beispielsweise Karzinommetastasen, Lymphome, Thymome, Chemodektome oder Mesotheliome sein, deren Abgrenzung in Einzelfällen sowohl zytologisch als auch histologisch schwierig sein kann (Pintore et al. 2014) und dann eine (immun)histologische Absicherung erfordern.

Makroskopisch lassen sich neoplastische Ergüsse nicht von denen anderer Genese unterscheiden (Abb. 1). Die Flüssigkeiten können Charakteristika von Transsudaten bis hin zu Exsudaten aufweisen und die biochemischen Parameter sind nicht tumorspezifisch (Aupperle et al. 2011). Der Proteingehalt und die Zellzahl können stark variieren (Alleman 2003, Bohn 2017), wenn eine sekundäre entzündliche Reaktion vorliegt.

Als zytologische Malignitätskriterien gelten in erster Linie veränderte Kernstrukturen, wie eine Entrundung der Zellkerne, granuliert erscheinendes Chromatin, pro-



2 | 1 Ergusszytologie: A) In einem karzinomatösen Perikarderguss eines Hundes finden sich zahlreiche große Epithelzellverbände, B) Nicht-neoplastische Mesothelzellularproliferation mit kleinen Zellverbänden unterschiedlich differenzierter Mesotheliomtypen: typische artifizielle Corona (unten links), aufgetriebenes klares Zytoplasma (oben links) und kleine kompakte Mesothelzellen (oben rechts).

minente Nukleoli und eine Verschiebung der Kern-Plasma-Relation. Vor allem epitheliale Tumorzellen weisen im Punktat meist deutliche nukleäre Malignitätskriterien auf. Als weiteres Malignitätskriterium (Kriterium 2. Ordnung) ist das Auftreten von Zellverbänden (z.B. bei Karzinom und Mesotheliom) zu werten (Abb. 21A). Manchmal sind tubuläre Anordnungen zu erkennen oder es bilden sich große Morula-artige Zellhaufen. Weder Lymphozyten noch Makrophagen oder reaktive Mesothelproliferate bilden üblicherweise größere Zellverbände (Alleman 2003, Bohn 2017).

Trotzdem sind Karzinomzellen manchmal kaum von reaktiven Mesothelzellen zu unterscheiden. Aktivierte Mesothelzellen können einen, zwei oder mehrere rundliche Kerne enthalten. Es finden sich unterschiedliche Mengen an homogenem Zytoplasma. Die häufig zu beobachtende Corona (Abb. 21B) aus Zellausläufern ist artifiziell bedingt (Alleman 2003). Mesothelzellen weisen teils deutliche Dysplasien auf, die Malignität vortäuschen, insbesondere, wenn eine Entzündung vorliegt oder der Erguss chronisch und blutreich ist. Vor allem die Abgrenzung einer reaktiven Mesothelproliferation von Karzinommetastasen kann schwierig bis unmöglich sein (Alleman 2003). Schlueter et al. (2021) berichten, dass die Pleomorphie in reaktiven Mesothelproliferationen der Katzen aber weniger deutlich ist als beim Hund. Grundsätzlich kommen Mesotheliome bei Hund und Katze sehr selten vor und eine Diagnose ist i. d. R. nur unter Berücksichtigung der

klinischen und (immun)histologischen Befunde möglich (Choi 2023).

Makrophagen kommen in den meisten Ergüssen vor. Ihr Zytoplasma ist unterschiedlich stark vakuolisiert und sie enthalten bohnenförmige Kerne. Maligne histiozytäre Neoplasien fallen im Erguss durch ihren hohen Zellgehalt und eine mäßige bis starke Pleomorphie auf. Eine Ziehl-Neelsen-Färbung zum Ausschluss einer exsudativen Tuberkulose kann in manchen Fällen (Herkunft des Tieres?) differenzialdiagnostisch sinnvoll sein.

Die abschließende Interpretation der Ergusszytologie erfordert stets die Kenntnis der klinischen Befunde (Bohn 2017). Nicht in allen Fällen kann eine abschließende Diagnose hinsichtlich der Ursache des Ergusses gestellt werden, dann sind wiederholte Untersuchungen oder andere diagnostische Verfahren (Thorakoskopie, histologische Untersuchung nach Perikardektomie, Biopsie etc.) notwendig. Das Fehlen von neoplastischen Zellen in einem Körperhöhlenausschluss schließt das Vorliegen einer Neoplasie nicht aus, denn nicht alle Tumoren geben auch Tumorzellen in den Erguss ab.

Zusammenfassung

Die Zytologie ist eine schnelle, einfache, kostengünstige und präoperative Methode zur Einschätzung der Krankheitsursache. Für Flüssigkeiten stellt die Zytologie die wesentliche Möglichkeit dar, die beteiligten Zelltypen zu identifizieren. Trotzdem muss man sich stets der Limitationen von Repräsentativität und Aussagekraft

bewusst sein. Nur der positive Tumorbefund ist beweisend. Invasivität und Gefäßeinbrüche sind nur histologisch erkennbar. Für eine gute zytologische Diagnostik ist neben optimalen Präparaten auch ein ausführlicher Vorbericht von großer Wichtigkeit.

Interessenkonflikt

Ein Teil der Autorinnen und Autoren sind zum Zeitpunkt der Drucklegung wissenschaftlich und diagnostisch bei Laboklin GmbH, 97688 Bad Kissingen tätig.

Korrespondenzadresse



PD Dr. med. vet.
Heike Aupperle-Lellbach

Laboklin GmbH & Co KG
Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen
Tel. 0971-7202-0
Institut für Allgemeine Pathologie und
Pathologische Anatomie, TU München,
Trögerstr. 18, 81675 München
aupperle@laboklin.com

Studium an der Tierärztlichen Hochschule Hannover
Promotion und Habilitation am Institut für Veterinär-Pathologie an der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig

Fachtierärztin für Pathologie und
Fachtierärztin für Bienen
seit 2010 Privat-Dozentin an der
Vet.Med. Fakultät Leipzig
seit 2010 Diagnostik und Forschung
bei Laboklin, Bad Kissingen
seit 2023 Gastwissenschaftlerin am

Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, Abt. Vergleichende experimentelle Pathologie, Technische Universität München

Schwerpunkte: Tumorpathologie,
kardiovaskuläre Erkrankungen,
Organpathologie



- Alleman AR (2003): Abdominal, thoracic, and pericardial effusions. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33: 89–118. DOI 10.1016/s0195-5616(02)00057-8.
- Allen SW, Prasse KW, Mahaffey EA (1986): Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Vet Pathol* 23: 649–655. DOI 10.1177/03009858602300601.
- Amores-Fuster I, Cripps P, Graham P, Marrington AM, Blackwood L (2015): The diagnostic utility of lymph node cytology samples in dogs and cats. *J Small Animal Practice* 56: 125–129. DOI 10.1111/jsap.12303.
- Aupperle H, Staudacher M, Heckers K, Frisch T, Loesenbeck G (2011): Die zytologische Untersuchung von Thoraxergüssen. *Der Praktische Tierarzt* 92: 968–977.
- Aupperle-Lellbach H, Brot S de, Weyden L von der, Schwinn J, Hoffmann I, Škor O, Törner K, Kehl A (2024a): Aktuelles zur Tumordiagnostik in der Veterinärpathologie. Teil 3: Molekulargenetische Diagnostik von Tumorerkrankungen. *Kleintiermedizin*: 52–66.
- Aupperle-Lellbach H, Grassinger JM, Floren A, Törner K, Beitzinger C, Loesenbeck G, Müller T (2022): Tumour Incidence in Dogs in Germany: a Retrospective Analysis of 109,616 Histopathological Diagnoses (2014–2019). *J Comp Pathol* 198: 33–55. DOI 10.1016/j.jcpa.2022.07.009.
- Aupperle-Lellbach H, Jungwirth N, Kempfer L, Schandelmaner C, Gruber B, Stadler C, Loesenbeck G (2023): Aktuelles zur Tumordiagnostik in der Veterinärpathologie. Teil 1: Histopathologie: Tumorränder, Mitosen und Immunhistochemie. *Kleintiermedizin*: 56–66.
- Aupperle-Lellbach H, Kehl A, Brot S de, van der Weyden L (2024b): Clinical Use of Molecular Biomarkers in Canine and Feline Oncology: Current and Future. *Vet Sci* 11: 199. DOI 10.3390/vetsci11050199.
- Balkman C (2009): Hepatobiliary neoplasia in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 39: 617–625. DOI 10.1016/j.cvs.2009.01.001.
- Ballegeer EA, Forrest LJ, Dickinson RM, Schutten MM, Delaney FA, Young KM (2007): Correlation of ultrasonographic appearance of lesions and cytologic and histologic diagnoses in splenic aspirates from dogs and cats: 32 cases (2002–2005). *J Am Vet Med Assoc* 230: 690–696. DOI 10.2460/javma.230.5.690.
- Barber LG (2007): Thyroid tumors in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 37: 755–757, vii. DOI 10.1016/j.cvs.2007.03.008.
- Barger AM (2017): Cytology of Bone. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47: 71–84. DOI 10.1016/j.cvs.2016.07.005.
- Bellamy E, Berlat D (2022): Canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumours: a narrative review. *J Small Anim Pract* 63: 497–511. DOI 10.1111/jsap.13444.
- Bennett PF, Hahn KA, Toal RL, Legendre AM (2001): Ultrasonographic and cytopathological diagnosis of exocrine pancreatic carcinoma in the dog and cat. *J Am Anim Hosp Assoc* 37: 466–473. DOI 10.5326/15473317-37-5-466.
- Bertazzolo W, Didier M, Gelain ME, Rossi S, Crippa L, Avallone G, Roccabianca P, Bonfanti U, Giuri L, Fracassi F (2014): Accuracy of cytology in distinguishing adrenocortical tumors from pheochromocytoma in companion animals. *Vet Clin Pathol* 43: 453–459. DOI 10.1111/vcp.12161.
- Bertram CA, Gurtner C, Dettwiler M, Kershaw O, Dietert K, Pieper L, Pischeda H, Gruber AD, Klopferleisch R (2018): Validation of Digital Microscopy Compared With Light Microscopy for the Diagnosis of Canine Cutaneous Tumors. *Vet Pathol* 55: 490–500. DOI 10.1177/0300985818755254.
- Bienzle D, McDonnell JJ, Stanton JB (2000): Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats after 24 and 48 hours of storage. *J Am Vet Med Assoc* 216: 1761–1764. DOI 10.2460/javma.2000.216.1761.
- Bohn AA (2017): Analysis of Canine Peritoneal Fluid Analysis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47: 123–133. DOI 10.1016/j.cvs.2016.07.008.
- Bonfanti U, Bertazzolo W, Bottero E, Lorenzi D de, Marconato L, Masserdotti C, Zatelli A, Zini E (2006): Diagnostic value of cytologic examination of gastrointestinal tract tumors in dogs and cats: 83 cases (2001–2004). *J Am Vet Med Assoc* 229: 1130–1133. DOI 10.2460/javma.229.7.1130.
- Bonfanti U, Bertazzolo W, Graciis M, Roccabianca P, Romanelli G, Palermo G, Zini E (2015): Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: a prospective study on 114 cases. *Vet J* 205: 322–327. DOI 10.1016/j.tvjl.2014.10.022.
- Bonseمبante F, Bonfanti U, Cian F, Cavicchioli L, Zattoni B, Gelain ME (2019): Diagnostic Validation of a Whole-Slide Imaging Scanner in Cytological Samples: Diagnostic Accuracy and Comparison With Light Microscopy. *Vet Pathol* 56: 429–434. DOI 10.1177/0300985818825128.
- Borjesson DL (2003): Renal cytology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33: 119–134. DOI 10.1016/s0195-5616(02)00086-4.
- Brooks SA (2012): Basic immunocytochemistry for light microscopy. 2nd ed. Humana Press; Springer, New York.
- Burkhard MJ, Bienzle D (2013): Making sense of lymphoma diagnostics in small animal patients. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 43: 1331–47, vii. DOI 10.1016/j.cvs.2013.07.004.
- Burkhard MJ, Meyer DJ (1996): Invasive cytology of internal organs. *Cytology of the thorax and abdomen*. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 26: 1203–1222. DOI 10.1016/s0195-5616(96)50062-8.
- Camus MS, Priest HL, Koehler JW, Driskell EA, Rakich PM, Ilha MR, Krimer PM (2016): Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Vet Pathol* 53: 1117–1123.
- Carter RF, Valli VE, Lumsden JH (1986): The cytology, histology and prevalence of cell types in canine lymphoma classified according to the National Cancer Institute Working Formulation. *Can J Vet Res* 50: 154–164.
- Černá P, Lopez-Jimenez C, Fukushima K, Nakashima K, Nakagawa T, Adam F, Groth A, Denning A, Israelantiz N, Gunn-Moore DA (2024): Clinicopathological findings, treatment, and outcome in 60 cats with gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia. *Veterinary Internal Medicine* 38: 1005–1012. DOI 10.1111/jvim.16992.
- Choi EW (2023): Pericardial malignant mesothelioma diagnosed in a dog by immunocytochemistry of the pericardial fluid: a case report. *BMC Vet Res* 19: 89. DOI 10.1186/s12917-023-03655-8.
- Christensen N, Canfield P, Martin P, Krockenberger M, Spielman D, Bosward K (2009): Cytopathological and histopathological diagnosis of canine splenic disorders. *Aust Vet J* 87: 175–181. DOI 10.1111/j.1751-0813.2009.00421.x.
- Christopher MM (2003): Cytology of the spleen. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33: 135–152. DOI 10.1016/s0195-5616(02)00082-7.
- Cian F, Monti P (2023): Zytologie der Haut und Unterhaut: Differentialdiagnosen beim Kleintier. 1. Aufl. LABOKLIN, Bad Kissingen.
- Corvera G, Alegria-Morán R, Cifuentes FF, Torres CG (2024): Pathological Characterization and Risk Factors of Splenic Nodular Lesions in Dogs (*Canis lupus familiaris*). *Animals* 14. DOI 10.3390/ani14050802.
- Cowell RL, Dorsey KE, Meinkoth JH (2003): Lymph node cytology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33: 47–67, v. DOI 10.1016/s0195-5616(02)00055-4.
- Craig LE, Hardam EE, Hertzke DM, Flatland B, Rohrbach BW, Moore RR (2009): Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia. *Vet Pathol* 46: 63–70. DOI 10.1354/vp.46-1-63.
- Craig LE, Julian ME, Ferracane JD (2002): The diagnosis and prognosis of synovial tumors in dogs: 35 cases. *Vet Pathol* 39: 66–73. DOI 10.1354/vp.39-1-66.
- Day MJ (1995): Immunophenotypic characterization of cutaneous lymphoid neoplasia in the dog and cat. *J Comp Pathol* 112: 79–96. DOI 10.1016/s0021-9975(05)80091-x.
- Dennis MM, McSparran KD, Bacon NJ, Schulman FY, Foster RA, Powers BE (2011): Prognostic factors for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in dogs. *Vet Pathol* 48: 73–84. DOI 10.1177/0300985810388820.
- Dimopoulos L, Kirpenstein J, Moens H, Kik M (2008): Histologic prognosticators in feline osteosarcoma: a comparison with phenotypically similar canine osteosarcoma. *Vet Surg* 37: 466–471. DOI 10.1111/j.1532-950X.2008.00409.x.
- Dittmer KE, Pemberton S (2021): A Holistic Approach to Bone Tumors in Dogs and Cats: Radiographic and Histologic Correlation. *Vet Pathol* 58: 841–857. DOI 10.1177/0300985821999832.
- Dobromylskyj MJ, Richards V, Smith KC (2021): Prognostic factors and proposed grading system for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in cats, based on a retrospective study. *J Feline Med Surg* 23: 168–174. DOI 10.1177/1098612X20942393.
- Dolka I, Czopowicz M, Gruk-Jurka A, Wojtkowska A, Sapiezyński R, Jurka P (2018): Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. *PLoS One* 13: e0191595. DOI 10.1371/journal.pone.0191595.
- Eberle N, Babo V von, Nolte I, Baumgärtner W, Betz D (2012): Splenic masses in dogs. Part 1: Epidemiologic, clinical characteristics as well as histopathologic diagnosis in 249 cases (2000–2011). *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 40: 250–260.
- Fernandes NCCA, Guerra JM, Réssio RA, Wasques DG, Etlinger-Colonelli D, Lorente S, Nogueira E, Dagli MLZ (2016): Liquid-based cytology and cell block immunocytochemistry in veterinary medicine: comparison with standard cytology for the evaluation of canine lymphoid samples. *Vet Comp Oncol* 14 Suppl 1: 107–116. DOI 10.1111/vco.12137.
- Finotello R, Vasconi ME, Sabattini S, Agnoli C, Giacoboni C, Annoni M, Dentini A, Bettini G, Guazzi P, Stefanello D, Botttero E, Mesto P, Marinelli R, Feo C de, Marconato L (2018): Feline large granular lymphocyte lymphoma: An Italian Society of Veterinary Oncology (SIONCOV) retrospective study. *Vet Comp Oncol* 16: 159–166. DOI 10.1111/vco.12325.
- Fox DB, Cook JL, Kreeger JM, Beissenherz M, Henry CJ (2002): Canine synovial sarcoma: a retrospective assessment of described prognostic criteria in 16 cases (1994–1999). *J Am Anim Hosp Assoc* 38: 347–355. DOI 10.5326/0380347.
- Frost D, Lasota J, Miettinen M (2003): Gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas in the dog: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. *Vet Pathol* 40: 42–54. DOI 10.1354/vp.40-1-42.
- Ganguly B, Das U, Das AK (2016): Canine transmissible venereal tumour: a review. *Vet Comp Oncol* 14: 1–12. DOI 10.1111/vco.12060.
- Gaschen L (2011): Ultrasonography of small intestinal inflammatory and neoplastic diseases in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41: 329–344. DOI 10.1016/j.cvs.2011.01.002.
- Gentil M (2021): Echinokokken-Infektionen bei Hunden in Deutschland. *Kleintiermedizin*: 30–34.
- Ghisleni G, Roccabianca P, Ceruti R, Stefanella D, Bertazzolo W, Bonfanti U, Caniatti M (2006): Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 35: 24–30. DOI 10.1111/j.1939-165x.2006.tb00084.x.
- Giacomazzo M, Cian F, Castagnaro M, Gelain ME, Bonseمبante F (2024): Digital Cytology in Veterinary Education: A Comprehensive Survey of Its Application and Perception among Undergraduate and Postgraduate Students. *Animals* 14. DOI 10.3390/ani1411561.
- Gress V, Wolfesberger B, Fuchs-Baumgartinger A, Nedost N, Saalmüller A, Schwendenwein I, Rütgen BC, Hammer SE (2016): Characterization of the T-cell receptor gamma chain gene rearrangements as an adjunct tool in the diagnosis of T-cell lymphomas in the gastrointestinal tract of cats. *Res Vet Sci* 107: 261–266. DOI 10.1016/j.rvsc.2016.07.004.
- Halsey CHC, Powers BE, Kamstock DA (2010): Feline intestinal sclerosing mast cell tumour: 50 cases (1997–2008). *Vet Comp Oncol* 8: 72–79. DOI 10.1111/j.1476-5829.2009.00206.x.
- Hayes S, Yuzbasıyan-Gurkan V, Gregory-Bryson E, Kiupel M (2013): Classification of canine nonangiogenic, nonlymphogenic, gastrointestinal sarcomas based on microscopic, immunohistochemical, and molecular characteristics. *Vet Pathol* 50: 779–788. DOI 10.1177/0300985813478211.
- Hergt F, Bomhard W von, Kent MS, Hirschberger J (2016): Use

- of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. *Vet Clin Pathol* 45: 477–483. DOI 10.1111/vcp.12387.
- Howl JH, Petersen MG (1995): Intestinal mast cell tumor in a cat: presentation as eosinophilic enteritis. *J Am Anim Hosp Assoc* 31: 457–461. DOI 10.5326/15473317-31-6-457.
- Johnson MC, Myers AN (2017): Cytology of Skin Neoplasms. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47: 85–110. DOI 10.1016/j.cvs.2016.07.006.
- Jongeward SJ (1985): Primary bone tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 15: 609–641. DOI 10.1016/s0195-5616(85)50061-3.
- Kehl A, Törner K, Jordan A, Lorenz M, Schwittlick U, Conrad D, Steiger K, Schusser B, Aupperle-Lellbach H (2022): Pathological Findings in Gastrointestinal Neoplasms and Polyps in 860 Cats and a Pilot Study on miRNA Analyses. *Vet Sci* 9. DOI 10.3390/vetsci9090477.
- Keller SM, Moore PF (2012): A novel clonality assay for the assessment of canine T cell proliferations. *Vet Immunol Immunopathol* 145: 410–419. DOI 10.1016/j.vitim.2011.12.019.
- Keller SM, Vernau W, Moore PF (2016): Clonality Testing in Veterinary Medicine: A Review With Diagnostic Guidelines. *Vet Pathol* 53: 711–725. DOI 10.1177/0300985815626576.
- Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, Xie Y, Xue Y, Wise AG, DeVaul JM, Maes RK (2011): Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. *Vet Pathol* 48: 212–222. DOI 10.1177/0300985810389479.
- Kraus KA, Clifford CA, Davis GJ, Kiefer KM, Drobatz KJ (2015): Outcome and Prognostic Indicators in Cats Undergoing Splenectomy for Splenic Mast Cell Tumors. *J Am Anim Hosp Assoc* 51: 231–238. DOI 10.5326/JAAHA-MS-6280.
- Krich EL, Little L, Patel R, Shofer FS, Sorenmo K, Clifford CA, Baez JL (2008): Description of clinical and pathological findings, treatment and outcome of feline large granular lymphocyte lymphoma (1996–2004). *Vet Comp Oncol* 6: 102–110. DOI 10.1111/j.1476-5829.2007.00146.x.
- Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, Boone E, Carter GL, Catherwood M, Davi F, Delfau-Larue MH, Diss T, Evans PA, Gameiro P, Garcia Sanz R, Gonzalez D, Grand D, Håkansson A, Hummel M, Liu H, Lombardia L, Macintyre EA, Milner BJ, Montes-Moreno S, Schuurings E, Spaargaren M, Hodges E, van Dongen JJ (2012): EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia* 26: 2159–2171. DOI 10.1038/leu.2012.246.
- Leblanc CJ, Head LL, Fry MM (2009): Comparison of aspiration and nonaspiration techniques for obtaining cytologic samples from the canine and feline spleen. *Vet Clin Pathol* 38: 242–246. DOI 10.1111/j.1939-165X.2009.00115.x.
- MacNeill AL (2011): Cytology of canine and feline cutaneous and subcutaneous lesions and lymph nodes. *Top Companion Anim Med* 26: 62–76. DOI 10.1053/j.tcam.2011.02.004.
- MacWilliams PS, Friedrichs KR (2003): Laboratory evaluation and interpretation of synovial fluid. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33: 153–178. DOI 10.1016/s0195-5616(02)00083-9.
- Marrinhas C, Malhão F, Lopes C, Sampaio F, Moreira R, Caniatti M, Santos M, Marcos R (2022): Doing more with less: multiple uses of a single slide in veterinary cytology. A practical approach. *Vet Res Commun* 46: 641–654. DOI 10.1007/s11259-022-09953-0.
- Martinez CR, Santangelo KS (2017): Preanalytical Considerations for Joint Fluid Evaluation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47: 111–122. DOI 10.1016/j.cvs.2016.07.007.
- Martini V, Bernardi S, Marelli P, Cozzi M, Comazzi S (2018): Flow cytometry for feline lymphoma: a retrospective study regarding pre-analytical factors possibly affecting the quality of samples. *J Feline Med Surg* 20: 494–501. DOI 10.1177/1098612X17717175.
- Masserdotti C (2020): The cytologic features of biliary diseases: A retrospective study. *Vet Clin Pathol* 49: 440–450. DOI 10.1111/vcp.12880.
- Masserdotti C, Drigo M (2012): Retrospective study of cytologic features of well-differentiated hepatocellular carcinoma in dogs. *Vet Clin Pathol* 41: 382–390. DOI 10.1111/j.1939-165X.2012.00436.x.
- McAloney CA, Sharkey LC, Feeney DA, Seelig DM (2018): Diagnostic utility of renal fine-needle aspirate cytology and ultrasound in the cat. *J Feline Med Surg* 20: 544–553. DOI 10.1177/1098612X17720041.
- Millanta F, Asproni P, Aquino G, Poli A (2020): Cytologic grading of canine and feline spindle-cell sarcomas of soft tissues and its correlation with histologic grading. *Top Companion Anim Med* 41: 100458. DOI 10.1016/j.tcam.2020.100458.
- Milovancev M, Townsend KL, Gorman E, Bracha S, Curran K, Russell DS (2017): Shaved margin histopathology and imprint cytology for assessment of excision in canine mast cell tumors and soft tissue sarcomas. *Vet Surg* 46: 879–885. DOI 10.1111/vsu.12668.
- Mochizuki H, Shapiro SG, Breen M (2016): Detection of Copy Number Imbalance in Canine Urothelial Carcinoma With Droplet Digital Polymerase Chain Reaction. *Vet Pathol* 53: 764–772. DOI 10.1177/0300985815614975.
- Moore AR (2017): Preparation of Cytology Samples: Tricks of the Trade. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47: 1–16. DOI 10.1016/j.cvs.2016.07.001.
- Moriello KA, Rosenthal RC (1990): Clinical approach to tumors of the skin and subcutaneous tissues. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 20: 1163–1190. DOI 10.1016/s0195-5616(90)50090-x.
- Morris J (2013): Mammary tumours in the cat: size matters, so early intervention saves lives. *J Feline Med Surg* 15: 391–400. DOI 10.1177/1098612X13483237.
- Murgia D (2014): Investigation of parenchymal abdominal organ disease in cats: aiming for the ideal biopsy. *J Feline Med Surg* 16: 216–230. DOI 10.1177/1098612X14523184.
- Nardi AB de, Dos Santos Horta R, Fonseca-Alves CE, Paiva FN de, Linhares LCM, Firmino BF, Ruiz Sueiro FA, Oliveira KD de, Lourenço SV, Francisco Strefezzi R de, Brunner CHM, Rangel MMM, Jark PC, Castro JLC, Ubukata R, Batschinski K, Sobral RA, da Cruz NO, Nishiya AT, Fernandes SC, Dos Santos Cunha SC, Gerardi DG, Challoub GSG, Biondi LR, Laufer-Amorim R, Oliveira Paes PR de, Lavalle GE, Huppens RR, Grandi F, Carvalho Vasconcellos CH de, Dos Anjos DS, Luzo ACM, Matera JM, Vozdova M, Dagli MLZ (2022): Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells* 11. DOI 10.3390/cells11040618.
- O'Keefe DA, Catto CG (1987): Fine-needle aspiration of the spleen as an aid in the diagnosis of splenomegaly. *J Vet Intern Med* 1: 102–109. DOI 10.1111/j.1939-1676.1987.tb01997.x.
- Paes PRO, Horta RS, Luza LC, Pierezan F, Costa MP, Lavalle GE (2022): Inclusion of fibroblasts and collagen fibrils in the cytologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Clin Pathol* 51: 339–348. DOI 10.1111/vcp.13098.
- Pakdeesaneha T, Chankow K, Techarungchaikul S, Thongsima T, Kongtia M, Tharasanan T (2024): Comparison of Fine-Needle Aspiration and Core Needle Biopsy for the Pre-Operative Diagnosis of Canine and Feline Mammary Gland Tumours. *Vet Comp Oncol*. DOI 10.1111/vco.13006.
- Palmieri C, Fonseca-Alves CE, Laufer-Amorim R (2022): A Review on Canine and Feline Prostate Pathology. *Front Vet Sci* 9: 881232. DOI 10.3389/fvets.2022.881232.
- Pintore L, Bertazzolo W, Bonfanti U, Gelain ME, Bottero E (2014): Cytological and histological correlation in diagnosing feline and canine mediastinal masses. *J Small Animal Practice* 55: 28–32. DOI 10.1111/jsap.12161.
- Polton G, Borrego JF, Clemente-Vicario F, Clifford CA, Jagielski D, Kessler M, Kobayashi T, Lanore D, Queiroga FL, Rowe AT, Vajdovich P, Bergman PJ (2024): Melanoma of the dog and cat: consensus and guidelines. *Front Vet Sci* 11: 1359426. DOI 10.3389/fvets.2024.1359426.
- Quattrini C, Scalco R, Vernau W, Dini P, Aleman M (2023): Effect of time and autologous serum addition on the analysis of cerebrospinal fluid in horses. *Veterinary Internal Medicine* 37: 713–717. DOI 10.1111/jvim.16637.
- Rakich PM, Latimer KS (1989): Cytology of the respiratory tract. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 19: 823–850. DOI 10.1016/s0195-5616(89)50101-3.
- Rebar AH, Hawkins EC, Denicola DB (1992): Cytologic evaluation of the respiratory tract. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 22: 1065–1085. DOI 10.1016/s0195-5616(92)50301-1.
- Repasy AB, Selmic LE, Kisselberth WC (2022): Canine Apocrine Gland Anal Sac Adenocarcinoma: A Review. *Top Companion Anim Med* 50: 100682. DOI 10.1016/j.tcam.2022.100682.
- Ressel L (2021): Zytologie bei Hund und Katze: Atlas der morphologischen Zellbestimmung. 1. Aufl. LABOKLIN, Bad Kissingen.
- Riondato F, Miniscalco B, Berio E, Lepri E, Rossi S, Bottero E (2014): Diagnosis of canine gastric adenocarcinoma using squash preparation cytology. *Vet J* 201: 390–394. DOI 10.1016/j.tvjl.2014.04.021.
- Robinson IA, McKee G, Nicholson A, D'Arcy J, Jackson PA, Cook MG, Kissin MW (1994): Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas. *Lancet* 343: 947–949. DOI 10.1016/S0140-6736(94)90066-3.
- Roccabianca P, Vernau W, Caniatti M, Moore PF (2006): Feline large granular lymphocytic (LGL) lymphoma with secondary leukemia: primary intestinal origin with predominance of a CD3/CD8(α/α) phenotype. *Vet Pathol* 43: 15–28. DOI 10.1354/vp.43-1-15.
- Sabattini S, Lopparelli RM, Rigillo A, Giantin M, Renzi A, Matteo C, Capitani O, Dacasto M, Mengoli M, Bettini G (2018): Canine Splenic Nodular Lymphoid Lesions: Immunophenotyping, Proliferative Activity, and Clonality Assessment. *Vet Pathol* 55: 645–653. DOI 10.1177/0300985818770035.
- Sabattini S, Renzi A, Buracco P, Defourny S, Garnier-Moiroux M, Capitani O, Bettini G (2017): Comparative Assessment of the Accuracy of Cytological and Histologic Biopsies in the Diagnosis of Canine Bone Lesions. *Veterinary Internal Medicine* 31: 864–871. DOI 10.1111/jvim.14696.
- Sabattini S, Rigillo A, Foiani G, Marconato L, Vascellari M, Greco A, Agnoli C, Annini M, Melchiotti E, Campigli M, Benali SL, Bettini G (2022): Clinicopathologic features and biologic behavior of canine splenic nodules with stromal, histiocytic and lymphoid components. *Front Vet Sci* 9: 962685. DOI 10.3389/fvets.2022.962685.
- Sandusky GE, Carlton WW, Wightman KA (1987): Diagnostic immunohistochemistry of canine round cell tumors. *Vet Pathol* 24: 495–499. DOI 10.1177/03009858870240604.
- Sapierniński R, Kliczkowska-Klarowicz K, Jankowska U, Jagielski D (2016): Cytodiagnosis of canine lymphomas - possibilities and limitations. *Pol J Vet Sci* 19: 433–439. DOI 10.1515/pjvs-2016-0055.
- Schlüter AH, Dehghanir SD, Boudreux B, Robinson C, Menk P Lima JC, Langohr IM (2021): Feline mesothelioma: case report and review of cytologic, immunocytochemical, histopathologic, and immunohistochemical findings. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 33: 753–757. DOI 10.1177/10406387211017489.
- Sharkey LC, Dial SM, Matz MF (2007): Maximizing the diagnostic value of cytology in small animal practice. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 37: 351–72, vii. DOI 10.1016/j.cvs.2006.11.004.
- Sharkey LC, Seelig DM, Overmann J (2014a): All lesions great and small, part 1: diagnostic cytology in veterinary medicine. *Diagn. Cytopathol.* 42: 535–543. DOI 10.1002/dc.23097.
- Sharkey LC, Seelig DM, Overmann J (2014b): All lesions great and small, part 2. Diagnostic cytology in veterinary medicine. *Diagn. Cytopathol.* 42: 544–552. DOI 10.1002/dc.23090.
- Sharkey LC, Wellman ML (2011): Diagnostic cytology in veterinary medicine: a comparative and evidence-based approach. *Clin Lab Med* 31: 1–19. DOI 10.1016/j.cll.2010.10.005.
- Simon D, Schoenrock D, Nolte I, Baumgärtner W, Barron R, Mischke R (2009): Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. *Vet Clin Pathol* 38: 521–528. DOI 10.1111/j.1939-165X.2009.00150.x.
- Smedley RC, Sebastian K, Kiupel M (2022): Diagnosis and Prognosis of Canine Melanocytic Neoplasms. *Vet Sci* 9. DOI 10.3390/vetsci9040175.
- Sorenmo K (2003): Canine mammary gland tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33: 573–596. DOI 10.1016/S0195-5616(03)00020-2.
- Sözmen M, Tasca S, Carli E, Lorenzi D de, Furlanello T, Caldin

- M (2005): Use of fine needle aspirates and flow cytometry for the diagnosis, classification, and immunophenotyping of canine lymphomas. *J Vet Diagn Invest* 17: 323–330. DOI 10.1177/104063870501700404.
- Spangler WL, Kass PH (1999): Splenic myeloid metaplasia, histiocytosis, and hypersplenism in the dog (65 cases). *Vet Pathol* 36: 583–593. DOI 10.1354/vp.36-6-583.
- Staudacher M, Dietz J, Aupperle H (2015): Die Interpretation von Knochenbiopsien in klinisch-pathologischem Kontext. *Kleintiermedizin*: 130–136.
- Stockhaus C, van den Ingh T, Rothuizen J, Teske E (2004): A multistep approach in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic diseases. *Vet Pathol* 41: 461–470. DOI 10.1354/vp.41-5-461.
- Sumner JA, Lacorcia L, Rose AM, Woodward AP, Carter JE (2018): Clinical safety of percutaneous ultrasound-guided fine-needle aspiration of adrenal gland lesions in 19 dogs. *J Small Animal Practice* 59: 357–363. DOI 10.1111/jsap.12829.
- Sumping JC, Maddox TW, Killick D, Mortier JR (2022): Diagnostic accuracy of ultrasonography to detect hepatic and splenic lymphomatous infiltration in dogs and cats. *J Small Animal Practice* 63: 113–119. DOI 10.1111/jsap.13438.
- Takanosu M, Amano S, Kagawa Y (2016): Analysis of c-KIT exon 11 mutations in canine gastrointestinal stromal tumours. *Vet J* 207: 118–123. DOI 10.1016/j.tvjl.2015.10.051.
- Tamlin VS, Kessell AE, McCoy RJ, Dobson EC, Smith TS, Hebart M, Brown L, Mitrović D, Peaston AE (2017): Prevalence of exon 11 internal tandem duplications in the C-KIT proto-oncogene in Australian canine mast cell tumours. *Australian Vet J* 95: 386–391. DOI 10.1111/avj.12636.
- Tecilla M, Gambini M, Forlani A, Cianiatti M, Ghisleni G, Roccabianca P (2019): Evaluation of cytological diagnostic accuracy for canine splenic neoplasms: An investigation in 78 cases using STARD guidelines. *PLoS One* 14: e0224945. DOI 10.1371/journal.pone.0224945.
- Terragni R, Vignoli M, van Bree HJ, Gaschen L, Saunders JH (2014): Diagnostic imaging and endoscopic finding in dogs and cats with gastric tumors: a review. *Schweiz Arch Tierheilkd* 156: 569–576. DOI 10.1024/0036-7281/a000652.
- Thamm DH, Avery AC, Berlato D, Bulman-Fleming J, Clifford CA, Hershey AE, Intile JL, Jones PD, Kamstock DA, Liptak JM, Pavuk A, Peauroi J, Powell R, Rissetto K, Valli VEO, Webster JD (2019): Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and c-kit gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working Group. *Vet Comp Oncol* 17: 451–455. DOI 10.1111/vco.12518.
- Thompson EJ, Stirtzinger T, Lumsden JH, Little PB (1980): Fine needle aspiration cytology in the diagnosis of canine thyroid carcinoma. *Can Vet J* 21: 186–188.
- Valli V, Peters E, Williams C, Shipp L, Barger A, Chladny J, Hoffmann W (2009): Optimizing methods in immunocytochemistry: one laboratory's experience. *Vet Clin Pathol* 38: 261–269. DOI 10.1111/j.1939-165X.2009.00119.x.
- Vap LM, Shropshire SB (2017): Urine Cytology: Collection, Film Preparation, and Evaluation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47: 135–149. DOI 10.1016/j.cvsmp.2016.07.009.
- Walker DB, Cowell RL, Clinkenbeard KD, Turgai J (1993): Carcinoma in the urinary bladder of a cat: cytologic findings and a review of the literature. *Vet Clin Pathol* 22: 103–108. DOI 10.1111/j.1939-165x.1993.tb00661.x.
- Weir MM, Rosenberg AE, Bell DA (1999): Grading of spindle cell sarcomas in fine-needle aspiration biopsy specimens. *American Journal of Clinical Pathology* 112: 784–790. DOI 10.1093/ajcp/112.6.784.
- Wellman ML (1990): The cytologic diagnosis of neoplasia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 20: 919–938. DOI 10.1016/s0195-5616(90)50078-9.
- Wilkerson MJ (2012): Principles and applications of flow cytometry and cell sorting in companion animal medicine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 42: 53–71. DOI 10.1016/j.cvsmp.2011.09.012.
- Wood EF, O'Brien RT, Young KM (1998): Ultrasound-guided fine-needle aspiration of focal parenchymal lesions of the lung in dogs and cats. *J Vet Int Med* 12: 338–342. DOI 10.1111/j.1939-1676.1998.tb02132.x.
- Wycislo KL, Piech TL (2019): Urinary Tract Cytology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 49: 247–260. DOI 10.1016/j.cvsmp.2018.11.002.
- Wypij J, Fan MT, Lorimier L-P de (2006): Primary hepatic and biliary tract tumors in dogs and cats: An overview. *Veterinary Medicine*: 384–394.
- Yale AD, Crawford AL, Gramer I, Guillén A, Desmas I, Holmes EJ (2024): Large granular lymphocyte lymphoma in 65 dogs (2005–2023). *Vet Comp Oncol* 22: 115–124. DOI 10.1111/vco.12959.
- Zimmer MA, Stair EL (1983): Splenic myelolipomas in two dogs. *Vet Pathol* 20: 637–638. DOI 10.1177/030098588302000517.