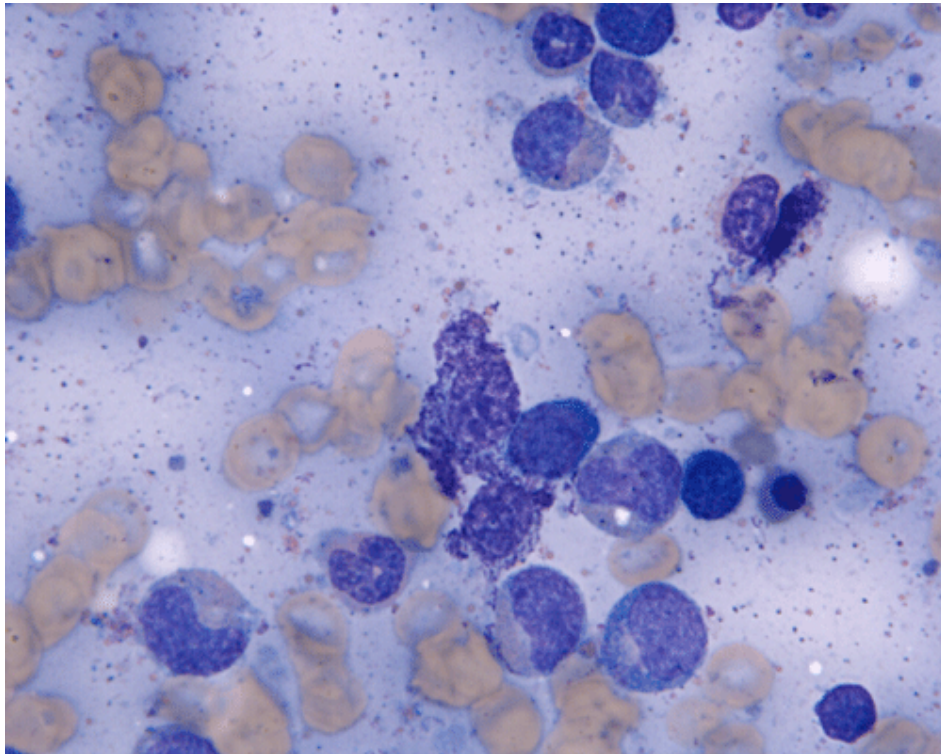


Evaluering af diagnostisk værdi og reproducerbarhed af cytologi i veterinær smådyrspraksis.



**Hovedopgave FDHK 2004
Britt Toft Ingvertsen
Marts 2007**

Sammendrag

Cytologi anvendes rutinemæssigt i diagnostisk øjemed i veterinær praksis. Adskillige studier beskæftiger sig med validering af cytologi, men kun få undersøgelser evaluerer reproducerbarheden og dermed variabiliteten blandt dyrlæger, der benytter cytologi som diagnostisk metode.

Formålet med dette studium var at evaluere reproducerbarhed og diagnostisk værdi af cytologi ud fra et interobservatør studium. Ligeledes var det et mål at undersøge betydningen af efteruddannelse indenfor onkologi.

Fire dyrlæger indgik i undersøgelsen. To dyrlæger besad kun sparsom erfaring, mens de øvrige to havde gennemgået en efteruddannelse indenfor onkologisk diagnostik og terapi. Hver dyrlæge evaluerede samme 29 cytologiske præparater, som skulle klassificeres efter et skema. Ved tildeling af den overordnede diagnose neoplasi skulle præparatet videredifferentieres efter cellulær oprindelse og gængse malignitetskriterier. En histopatolog fra Vet Med Lab fungerede som imperfekt golden standard ved den efterfølgende databehandling.

Deskriptiv statistik blev udført i form af beregnede kappaværdier, som er et mål for graden af overensstemmelse ud over den ved tilfældighed forventede. Resultaterne viste moderat korrelation de fire observatører imellem. Ved evaluering af betydningen af efteruddannelse indenfor veterinær onkologi blev opnået en målbar forskel mellem de to grupper i relation til bestemmelse af cellulær oprindelse for en korrekt klassificeret neoplasi.

SAMMENDRAG	1
1. INDLEDNING	3
2. MATERIALER OG METODER	4
2.1 STATISTIK	5
3. RESULTATER	6
4. DISKUSSION	9
5. KONKLUSION	12
6. LITTERATURLISTE	13
7. BILAG	17
7.1 BILAG 1	17
PATIENTOPLYSNINGER OG MATERIALEBESKRIVELSE	17
7.2 BILAG 2	18
DIAGNOSTISK SKEMA	18

1. Indledning

Human anvendelse af cytologisk evaluering af patologiske processer ud fra aspirater daterer tilbage til 1847¹, mens teknikken først blev introduceret veterinært i 1960'erne². I dag benyttes cytologi rutinemæssigt indenfor veterinær praksis. Cytologi er en hurtig, simpel og billig måde at opnå en tentativ diagnose. Metoden kræver ikke specielt udstyr, er minimal invasiv, og finnålsaspiration tillader adgang til væv, som kan være svært tilgængelige for en kirurgisk biopsi^{3,4}. Cytologi er dog også behæftet med væsentlige begrænsninger. Det er således ikke muligt at evaluere den dimensionelle struktur i det pågældende væv, ligesom det er vanskeligt at udtage tilstrækkeligt diagnostisk materiale fra væv, som exfolierer dårligt, som for eksempel mesenchymalt væv^{1,5,6}.

Metodens kvalitet afhænger af flere faktorer, herunder korrekt udtagning og håndtering af væv, samt fremstilling af det cytologiske præparat. Essentielt for at opnå et pålideligt resultat er også klinikerens evne til at indhente relevant anamnese sammenholdt med dygtighed og erfaring i systematisk evaluering af cytologiske præparater⁷.

Der er publiceret adskillige veterinære undersøgelser, der validerer cytologi som en brugbar diagnostisk metode i klinisk praksis^{2,4,6,8-16}. Komparative studier angiver varierende sensitivitet og specificitet afhængig af læsionens lokalisation^{2,4}, patologisk proces^{2,6,9} og type af neoplasi^{6,10,13}. Generelt angives metoden at have en høj specificitet men moderat sensitivitet vurderet i forhold til histopatologi^{2,4,6,10,11,14,15}. Der er kun udført enkelte veterinære studier, som evaluerer reproducerbarheden af cytologi. Disse undersøgelser beskæftiger sig udelukkende med en specifik neoplastisk diagnose¹⁷, eller et specifikt væv¹⁸.

Formålet med denne undersøgelse var at evaluere reproducerbarhed og diagnostisk værdi af cytologi ud fra et interobservatør studium. Ligeledes var det et mål, at undersøge betydningen af efteruddannelse indenfor onkologi.

2. Materialer og metoder

29 cytologiske præparater fra hunde og katte indgik i undersøgelsen. Præparaterne stammer fra patientmateriale indsendt til Vet Med Lab i perioden 2001 – 2006. De er selekteret til dette studium af en histopatolog tilknyttet laboratoriet. Gældende kriterier for udvælgelsen var, at præparaterne så vidt muligt skulle repræsentere et bredt materiale lettilgængeligt for den almene kliniker i smådyrspraksis, således at situationen afspejler de aktuelle forhold. Der foreligger ikke oplysninger omkring opsamlingsmetode, kanylestørrelse eller teknik anvendt under fiksering og farvning af de enkelte præparater. Præparaterne gennemgik kvalitetstjek i henhold til laboratoriets standarder, inden de blev inkluderet i studiet. Der er i udvælgelsen ikke taget højde for patientens race, alder, eller køn. Uddybende oplysninger omkring det cytologiske materiale er vedlagt i bilag 1. Oplysningerne er en direkte udskrift af de data, som laboratoriet modtog med de enkelte præparater.

Fire dyrlæger fra klinisk smådyrspraksis deltog i undersøgelsen, kategoriseret i henhold til efteruddannelse. Således deltog to dyrlæger uden efteruddannelse indenfor onkologi og to som havde gennemgået en 3årig efteruddannelse indenfor onkologi. Hver observatør fik udleveret samme 29 præparater med tilhørende patientoplysninger og et diagnostisk skema, vedlagt i bilag 2. Observatørerne blev indledningsvis bedt om at evaluere hvorvidt det enkelte præparat afspejlede en neoplastisk tilstand eller ej. Såfremt der blev svaret ja, skulle præparatet videreklassificeres i følgende simple kategorier: ”epithelceller”, ”rundceller” eller ”tenformede celler”. Endvidere skulle observatøren tage stilling til, hvorvidt præparatet afspejlede benign eller malign neoplasi. Endeligt blev observatørerne bedt om at stille en tentativ diagnose i de tilfælde, det var muligt. Der var i undersøgelsen afsat tre minutter til evaluering af hvert præparat.

Samme histopatolog, som varetog udvælgelsen af de 29 præparater, gav ligeledes sin evaluering af materialet ud fra det diagnostiske skema. Vedkommende foretog endvidere en grundig gennemgang af det enkelte præparat efter laboratoriets standarder. En deskriptiv evaluering af celletype, baggrundsmateriale og strukturelle mønstre, samt en cytologisk diagnose blev angivet for alle 29 præparater. Resultaterne blev anvendt til bestemmelse af graden af overensstemmelse ved den efterfølgende databehandling.

2.1 Statistik

Stikprøvestørrelsen blev bestemt ud fra en forventet korrelationskoefficient på 0,6, et konfidensniveau på 95% og en styrke på 90%. Disse antagelser er valgt på baggrund af gængse anbefalinger for bestemmelse af stikprøvestørrelse^{19,20}. Beregning af stikprøvestørrelse blev foretaget via et online program (SISA® – Simple Interactive Statistical Analysis)²¹, og blev angivet til $n \geq 27$ ud fra de ovennævnte værdier.

Til evaluering af interobservatør korrelation blev anvendt Cohen's kappakoefficient (κ)²². I tilfælde med flere end to variable blev anvendt varianten Fleiss' kappakoefficient²³. Kappakoefficienten er et statistisk mål for interobservatør overensstemmelse. Koefficienten evaluerer graden af overensstemmelse udover den, som kan forventes ved tilfældighed. Målet kan endvidere anvendes i sammenligningen af diagnostiske metoder, selvom der ikke foreligger en sand golden standard²⁴. Værdien angiver ikke hvilken test eller person, der er bedst, men indikerer hvor ofte to tests eller personer opnår samme resultat indenfor samme område²⁵. Kappaværdier rangerer fra +1 (perfekt overensstemmelse) via 0 (ingen overensstemmelse udover hvad kan tilskrives tilfældighed) til -1 (komplet uoverensstemmelse). Diskussionen af interobservatør overensstemmelse i dette studium tager udgangspunkt i følgende fortolkning af kappaværdier (tabel 1)²²:

Tabel 1. Fortolkning af kappakoefficienter

Kappa koefficient	Fortolkning
$\kappa < 0$	dårlig overensstemmelse
$0 < \kappa < 0,20$	svag overensstemmelse
$0,21 < \kappa < 0,40$	rimelig overensstemmelse
$0,41 < \kappa < 0,6$	moderat overensstemmelse
$0,61 < \kappa < 0,8$	substantiel overensstemmelse
$\kappa > 0,81$	næsten perfekt overensstemmelse

Der blev ikke foretaget deskriptiv statistisk på observatørernes tentative diagnoser.

Alle deskriptive statistiske analyser blev udført ved hjælp af SPSS®. Kappakoefficienten blev defineret som $\kappa = (P_o - P_e) / (1 - P_e)$, hvor P_o udgjorde den observerede overensstemmelse og P_e den forventede tilfældige overensstemmelse.

3. Resultater

Fire dyrlæger deltog i evalueringen af 29 cytologiske præparater fra henholdsvis 7 katte, 21 hunde og en ukendt art. Cytologisk materiale var opsamlet fra varierende væv og lokalisationer som angivet i bilag 1. I sammenligningen af resultaterne blev en imperfekt golden standard anvendt i form af histopatologens evaluering (figur 1).

Case	Neoplasi ja	Neoplasi nej	Epithel-celler	Rund-celler	Tenform-de celler	Malign	Benign	Diagnose
1		X						Modificeret transudat, FIP
2		X						Septisk inflammation
3		X						Veldifferentieret lymfocytær effusion
4	X		X			X		Modificeret transudat, adenocarcinom
5		X						Eosinofile og dysplastisk epithel
6	X		X			X		Overgangsepithelcellecarcinom
7	X			X		X		Malignt lymfom
8		X						Granulomatøs lymfadenitis (leishmania)
9		X						Follikulær hyperplasi af lymfeknude
10		X						Normal spytkirtel, ikke lymfeknude
11		X						Regenerativ hyperplasi af lever
12		X						Mild prostatahyperplasi
13	X				X	X		Sarkom
14		X						Septisk pyogranulomatøs inflammation
15	X				X	X		Sarkom
16	X		X				X	Perianaladenom m. sek. Inflammation
17		X						Keratino- + sebocyter, dermoid cyste?
18	X		X			X		Pladecellecarcinom
19	X				X		X	Veldifferentieret melanocytom
20	X			X		X		Mastcelletumor grad II
21		X						Veldifferentierede sebo- + adipocyter
22	X				X		X	Lipom
23	X			X		X	X	Epithelial mammatumor
24	X				X	X		Lavgradigt sarkom
25	X			X			X	Mistanke om histiocytom
26		X						Kronisk degenerativ arthropati
27		X						Monocytær pleomorfi
28		X						Hæmorrhagi og inflammation
29		X						Mixed hyperplasi af lymfeknude

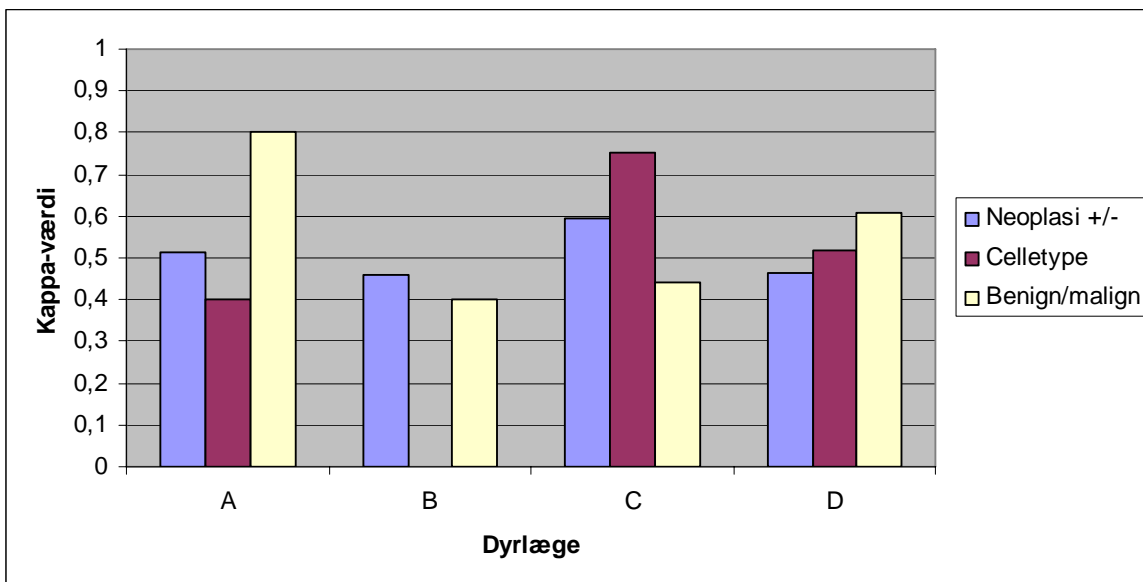
Figur 1. Resultater anvendt som imperfekt golden standard i studiet.

Variablen neoplasi ja/nej blev undersøgt, hvoraf 13 præparater var klassificeret som neoplasi og 16 præparater som ikke neoplasi, angivet i figur 1. Ved overordnet bestemmelse af korrelationen mellem histopatologens og observatørernes observationer som samlet gruppe, blev en kappa værdi på 0,5079 opnået. Ved differentiering mellem observatørerne opnåede dyrlæge A $\kappa = 0,5155$, dyrlæge B $\kappa = 0,4579$, dyrlæge C $\kappa = 0,5935$ og dyrlæge D $\kappa = 0,4654$. Under hensyntagen til

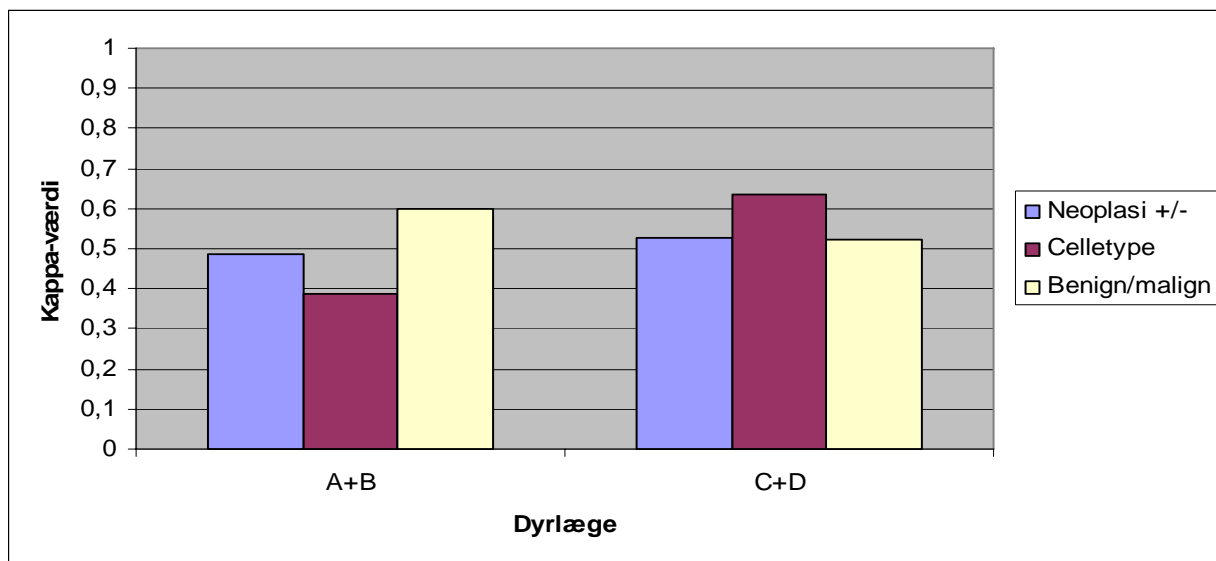
efteruddannelse opnåede de ikke-efteruddannede dyrlæger sammenlagt kappa værdien $\kappa = 0,4864$, mens de efteruddannede dyrlæger opnåede værdien $\kappa = 0,5290$.

For de korrekt klassificerede neoplastiske præparater blev variabelen celletype (epithelceller, rundceller eller tenformede celler) undersøgt. Samlet opnåede gruppen $\kappa = 0,5117$. Graden af overensstemmelse for den enkelte observatør fordelte sig således: Dyrlæge A $\kappa = 0,4030$, dyrlæge C $\kappa = 0,7526$ og dyrlæge D $\kappa = 0,5200$. Kappaværdien for dyrlæge B kunne ikke beregnes via SPSS®, da vedkommende ikke havde anvendt alle kolonner i det diagnostiske skema. Dyrlæge B ekskluderes derfor fra denne delundersøgelse, hvilket ikke har betydning for de øvrige resultater. Korrelationen blev bestemt på baggrund af henholdsvis 10, 12 og 12 præparater korrekt klassificerede som neoplasie. Ved gruppering af dyrlæger efter uddannelse opnåede de ikke-efteruddannede (dyrlæge A+B) værdien $\kappa = 0,3863$ og de efteruddannede dyrlæger (dyrlæge C+D) $\kappa = 0,6345$.

Endelig blev variabelen benign/malign analyseret. Observatørerne skulle differentiere ud fra gængse malignitetskriterier, og korrelationen blev angivet ud fra korrekt diagnosticerede neoplastiske præparater, henholdsvis 10, 11, 12 og 12. Samlet for de fire dyrlæger blev kappaværdien bestemt til 0,5615. De enkelte observatører opnåede individuelt følgende værdier: Dyrlæge A $\kappa = 0,8000$, dyrlæge B $\kappa = 0,4000$, dyrlæge C $\kappa = 0,4407$ og dyrlæge D $\kappa = 0,6071$. De to ikke-efteruddannede dyrlæger opnåede samlet $\kappa = 0,6000$, mens de to dyrlæger med efteruddannelse indenfor onkologi opnåede $\kappa = 0,5217$. Figur 3 og 4 angiver de opnåede kappaværdier.



Figur 3. Fire observatørers klassificering af 29 præparater indenfor tre variable.



Figur 4. Fire observatørers klassificering af 29 præparater indenfor tre variable efter gruppering efter uddannelse.

Ved direkte sammenligning af de fremkomne resultater for hvert enkelt cytologisk præparat sås følgende: Komplet overensstemmelse blandt alle observatører i overordnet klassificering af nonneoplastiske præparater nr. 12, 26 og 27, henholdsvis prostatahyperplasi, kronisk degenerativ arthropati og monocytær pleomorfi. Alle fire dyrlæger var ligeledes enige om, at præparat nr. 10 afspejlede en nonneoplastisk tilstand, men ingen havde i den tentative diagnose angivet, at præparatet reelt afspejlede normalt spytkirtelvæv og ikke, som angivet i anamnesen, den retromandibulære lymfeknude. Der blev opnået komplet overensstemmelse i klassificering af neoplastiske præparater nr. 13, 16, 19, 20, 22, 24 og 25, henholdsvis sarkom, perianaladenom, veldifferentieret melanocytom, mastcelletumor, lipom, lavgradigt sarkom og mistanke om histiocytom. I 11 ud af 29 tilfælde (38%) var alle observatører således enige med histopatologens kategorisering i, hvorvidt det enkelte præparat afspejlede en neoplastisk tilstand eller ej. Komplet enighed blandt observatørerne indenfor alle variable inklusiv tentative diagnose blev opnået for præparat nr. 16 (perianaladenom), 20 (mastcelletumor), 22 (lipom) og 25 (histiocytom). Sammenlignet med histopatologens diagnoser blev heraf udledt en komplet overensstemmelse blandt fire dyrlæger på 14%. De to efteruddannede dyrlæger opnåede komplet overensstemmelse med hinanden og med histopatologen i 8 ud af 29 tilfælde (28%), mens de ikke-efteruddannede var enige i 7 ud af 29 tilfælde (24%). Komplet overensstemmelse blev kun opnået i situationer, hvor alle variable inklusiv tentative diagnose var sammenfaldende.

4. Diskussion

Formålet med dette studium var at evaluere reproducerbarhed og diagnostisk værdi af cytologi ud fra et interobservatør studium. Det var ligeledes et mål at bestemme betydningen af efteruddannelse indenfor onkologi. De opnåede resultater demonstrerer moderat korrelation observatørerne imellem, sammenholdt med en imperfekt golden standard. Stærkest korrelation blandt fire dyrlæger blev opnået i bestemmelse af malignitet/benignitet for en korrekt klassificeret neoplastisk tilstand ($\kappa = 0,5615$). Største afvigelse faldt i variabelen klassificering neoplasi/non-neoplasi ($\kappa = 0,5079$). Som disse resultater afspejler, eksisterer der en betydelig variabilitet blandt de involverede observatører i diagnosticering af 29 cytologiske præparater.

Ved differentiering i forhold til efteruddannelse blandt de fire observatører sås følgende resultater. Begge grupper opnåede moderat korrelation ved bestemmelse af neoplasi eller ej, således de ikke-efteruddannede dyrlæger A+B $\kappa = 0,4864$ og de efteruddannede dyrlæger C+D $\kappa = 0,5290$. Betydelig forskel blandt de to grupper kunne demonstreres i differentiering efter cellulær oprindelse. De to dyrlæger med efteruddannelse indenfor onkologi opnåede her en kappaværdi på $\kappa = 0,6345$ repræsenterende substantiel overensstemmelse, mens de øvrige to opnåede $\kappa = 0,3864$ og således rimelig korrelation. Af disse resultater kan udledes en målbar forskel i bestemmelse af celletype. For variabelen malignitet/ benignitet korrelerede de ikke-efteruddannede observatører bedst udtrykt ved $\kappa = 0,6000$ mod $\kappa = 0,5217$. Set på individniveau er der dog stor spredning på korrelationskoefficienterne på tværs af grupperingen for de fire observatører.

Der er ikke udført deskriptiv statistik på de tentative diagnoser i dette studium. En stringent analyse af disse resultater ville kræve subjektiv inddeling i kategorier afhængig af graden af overensstemmelse, hvilket behæfter resultaterne med væsentlige bias.

En vigtig faktor i relation til fortolkning af korrelationskoefficienter i studier som dette er definitionen af graden af overensstemmelse. Ved evaluering af diagnostiske metoder ønskes at påvise en høj reproducerbarhed, idet der ofte arbejdes med potentielt livstruende tilstande. Fejl-diagnosticering er således hyppigt efterfulgt af en klinisk konsekvens. Den gængse fortolkning af

kappa værdier, som benævner $\kappa \geq 0,75$ som værende repræsentativ for god korrelation²⁶, kan således diskuteres i denne type undersøgelse. De opnåede resultater i nærværende studium demonstrerer moderat korrelation. Dette stemmer overens med resultaterne fra et interobservatør studium af cytologi involverende 2 personer¹⁷. Initialt blev opnået en ringe korrelation, som blev styrket ved anvendelse af en standardiseret, systematisk gennemgang af præparaterne. Dette var muligt, idet studiet kun evaluerede én bestemt type af neoplasi.

En anden veterinær undersøgelse beskæftiger sig med betydningen af erfaring hos observatørerne i relation til at fortolke finnålsaspirater fra lymfeknuder. 11 veterinærstuderende fra et tysk universitet gennemgik en teoretisk og en praktisk lektion i lymfeknudecytologi og skulle efterfølgende evaluere 20 præparater. En gennemsnitlig korrekt svarrate på 18 ud af 20 præparater blev opnået med en spredning på 16 til 20¹⁸. Der blev i databehandlingen ikke taget højde for tilfældighed, idet der tolkes direkte på de fremkomne resultater og ikke på en beregnet kappaværdi. Forfatteren forholder sig kritisk til den opnåede fejlrate på 10-20%, idet fejldiagnosticering er behæftet med en klinisk konsekvens. Der konkluderes, at erfaring er essentiel i evaluering af lymfeknudecytologi, om end der ikke er foretaget en komparativ undersøgelse. Betydningen af erfaring i nærværende studium understreges kun i differentiering af neoplastiske præparater efter cellulær oprindelse.

Nærværende undersøgelse er behæftet med flere usikkerheder, som muligvis påvirker de opnåede resultater. De inkluderede cytologiske præparater er udvalgt som en såkaldt formålsbestemt stikprøve, hvilket ikke tillader antagelse af, at stikprøven er repræsentativ for normalpopulationen. Det kan derfor diskuteres, hvorvidt det evaluerede materiale udgør et realistisk udsnit af dagligdagens situationer for den almene kliniker i smådyrspraksis, som det var hensigten. Omvendt ville opnåelsen af en simpel, randomiseret stikprøve have givet anledning til andre problematikker. Flere af præparaterne ville sandsynligvis ekskluderes ved kvalitetstjek, hvilket ville kræve en større stikprøve for at opnå samme materiale. Ydermere ville det relativt lille udsnit af cytologiske præparater udtaget, sandsynligvis indeholde overrepræsentation af de hyppigst forekommende tumores, herunder lipomer, mastocytomer, histiocytomer og abscesser. Som det ses i den direkte sammenligning af resultaterne i denne undersøgelse, er overensstemmelsen blandt de fire observatører indenfor netop disse typer af tumores meget høj. De opnåede resultater i denne

undersøgelse giver et realistisk billede af den sande interobservatør variabilitet på et bredt udsnit af cytologiske præparater.

Standardiseret udtagning og fremstilling af cytologiske præparater kunne desværre ikke imødekommes i dette studium. Materialet stammer fra Vet Med Labs arkiver, og der foreligger derfor ingen oplysninger om disse parametre. Humant er foretaget undersøgelser, som dokumenterer større diagnostisk sikkerhed, når samme person udtager, fremstiller og evaluerer cytologisk materiale^{27,28}. Veterinært lærebogsmateriale fokuserer på vigtigheden af rutine og ensartet metodik under udtagning og behandling af cytologisk materiale^{7,29}. En optimal situation ville være opnået, hvis materialet var indsamlet og fremstillet af samme erfarne person efter en standardiseret protokol. For at skabe en systematisk fejlkilde, skulle vedkommende ikke indgå i den efterfølgende interobservatør undersøgelse.

Den angivne tidsramme på tre minutter per præparat blev sat, dels for at standardisere undersøgelsen, dels for at mimere situationen i praksis. Ved gennemgang af præparaterne syntes tre minutter dog ikke af meget, og i flere tilfælde ville længere tid måske have gjort en forskel. Tidsrammen udgør dog en systematisk usikkerhed, som berører alle observatører. Det havde ligeledes været ønskeligt, at de patient-oplysninger, der fulgte præparaterne, havde været mere ensartede og fyldestgørende.

Fire observatører indgik i undersøgelsen. Samme antal indgik i et veterinært studium, som evaluerede intra- og interpatolog variabilitet i histologisk diagnosticering af plasmacytoid leukæmi³⁰. Teske og van Heerde udførte i 1996 en undersøgelse af reproducerbarheden af cytologi ud fra finnålsaspiration i diagnostik af malignt lymfom hos hund¹⁷. Dette studium inkluderede to observatører, hvor kappaværdier blev bestemt for både intra- og interobservatør overensstemmelse. En human artikel omhandlende opstilling af forsøgsdesign i studier af reproducerbarhed indenfor patologi forholder sig kritisk til et så lavt observatørantal. Der kan ifølge forfatterne ikke drages konklusion for en bredere gruppe end de involverede observatører, med mindre observatørerne er randomiseret udvalgt og udgøres af minimum 10 personer. Endvidere bør studiet indeholde gentagne evalueringer af samme uidentificerbare præparater flere gange over et længere interval for at imødekomme intraobservatør variation³¹.

Der eksisterer nogle overordnede problemer i de mange veterinære studier^{2,4,6,8-16}, som validerer

cytologi. Disse usikkerheder er vigtige at medtage i en perspektivering over dette studium, idet fejlkilder i validitetsstudierne indirekte påvirker egne resultater. Således bestemmes i ovennævnte undersøgelser sensitivitet, specificitet og prædiktiv værdi for cytologi. I henhold til at beregne disse parametre for en diagnostisk metode, kræves der kendskab til den korrekte diagnose¹⁹. I validitetsstudierne er anvendt histopatologi som golden standard. Denne antagelse er behæftet med usikkerheder. Dels er histopatologi en subjektiv metode, om end standardiseret ved systematiske fremgangsmetoder, dels viser adskillige veterinære studier en meget dårlig reproducerbarhed^{30,32-34}. Set fra et epidemiologisk synspunkt er det ikke korrekt at bestemme sensitivitet, specificitet og prædiktiv værdi ud fra en imperfekt golden standard^{19,35}. Metoder, som sammenlignes med en imperfekt golden standard, adopterer de bias, som denne er behæftet med^{36,37}. Der er udviklet statistiske analyser, som imødekommer de usikkerheder, der må forventes ved sammenligning af en diagnostisk metode med en imperfekt golden standard^{35,38-40}.

5. Konklusion

Dette studium demonstrerer en moderat korrelation mellem fire observatørers evaluering af 29 cytologiske præparater udtrykt ved en kappaværdi. Erfaring og efteruddannelse indenfor onkologi har betydning for differentiering mellem cellulær oprindelse for en given neoplastisk tilstand. Yderligere fordele af erfaring og efteruddannelse versus mindre erfaring kunne ikke påvises i denne undersøgelse.

6. Litteraturliste

- (1) Zakowski, M.F. Fine-needle aspiration cytology of tumors: Diagnostic accuracy and potential pitfalls. *Cancer investigation* **1994**, 12 (5): 505-515.
- (2) Cohen M., Bohling, M.W., Wright, J.C., Welles, E.A., Spano, J.S. Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association* **2003**, 222 (7): 964-967.
- (3) Morrison, W.B., DeNicola, D.B. Advantages and disadvantages of cytology and histopathology for the diagnosis of cancer. *Seminars of Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)* **1993**, 8: 222-227.
- (4) Eich, C.S., Whitehair, J.G., Moroff, S.D., Heeb, L.A. The accuracy of intraoperative cytopathological diagnosis compared with conventional histopathological diagnosis. *Journal of American Animal Hospital Association* **2000**, 36:16-18.
- (5) Masserdotti, C. Architectural patterns in cytology: Correlation with histology. *Veterinary Clinical Pathology* **2006**, 35 (4): 388-396.
- (6) Ghisleni, G., Roccabianca, P., Ceruti, R., Stefanello, D., Bertazzolo, W., Bonfanti, U., Caniatti, M. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology* **2006**, 35 (1): 24-30.
- (7) Meyer, D.J. The acquisition and management of cytology specimens. *In Atlas of canine and feline cytology*; Raskin, R.E., Meyer, D.J. WB Saunders Company **2001**: 1-35.
- (8) Langenbach, A., McManus, P.M., Hendrick, M.J., Shofer, F.S., Sorenmo, K.U. Sensitivity and specificity of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **2001**, 218 (9): 1424-1428.
- (9) Wang, K.Y., Panciera, D.L., Al-Rukibat, R.K., Radi, Z.A. Accuracy of ultrasound-guided fine needle aspiration of the liver and cytologic findings in dogs and cats: 97 cases (1990-2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association* **2004**, 224 (1): 75-78.
- (10) Hellmén, E., Lindgren, A. The accuracy of cytology in diagnosis of canine mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology* **1989**, 101: 443-450.
- (11) Hirschberger, J. DeNicola, D.B., Hermanns, W., Kraft, W. Sensitivity and specificity of cytologic evaluation in the diagnosis of neoplasia in body fluids from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology* **1999**, 28 (4): 142-146.
- (12) Roth, L. Comparison of liver cytology and biopsy diagnoses in dogs and cats: 56 cases. *Veterinary Clinical Pathology* **2001**, 30 (1): 35-38.

- (13) Griffiths, G.L., Lumsden, J.H., Valli, V.E.O. Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. *Veterinary Clinical Pathology* **1984**, 13 (1): 13-17.
- (14) Teske, E. et Nickel, R.F. Zur aussagekraft der zytologie bei der diagnostic des prostatakarzinoms beim hund. *Kleintierpraxis* **1996**, 41 (4): 239-247.
- (15) Chalita, M.C.C., Matera, J.M., Alves, M.T.S., Filho, A.L. Nonaspiration fine needle cytology and its histologic correlation in canine skin and soft tissue tumors. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology* **2001**, 23: 395-399.
- (16) Vos, J.H., Van den Ingh, T.S., Van Mil, F.N. Non-exfoliative canine cytology: The value of fine needle aspiration and scraping cytology. *Veterinary Quarterly* **1989**, 11:222-236.
- (17) Teske, E., van Heerde, P. Diagnostic value and reproducibility of fine-needle aspiration cytology in canine malignant lymphoma. *Veterinary Quarterly* **1996**, 18 (3): 112-115.
- (18) Mischke, R. Zuverlässigkeit der beurteilung von lymphknotenzytologien durch untersucher mit geringer zytologischer erfahrung – eine studie mit studenten der veterinärmedizin. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* **2000**, 113 (10): 384-387.
- (19) Pfeiffer, D.U. Veterinary Epidemiology – An introduction. Royal Veterinary College, University of London, UK **2002**: 1-61.
- (20) Daniel, W.W. Some important sampling distributions In Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences. 6th ed. John Wiley and sons. 119-147.
- (21) <http://home.clara.net/sisa.htm>
- (22) Landis, R.J., Koch, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* **1977**, 35: 159-174.
- (23) Fleiss, J.L. Statistical methods for rates and proportions. 2nd edition, New York, John Wiley and Sons **1981**: 38-46.
- (24) Maclure, M., Willett, W.C. Misinterpretation and misuse of the kappa statistic. *American Journal of Epidemiology* **1987**, 126: 161-169.
- (25) Checkley, S.L., Waldner, C.L., Appleyard, G.D., Campbell, J.R., Forsythe, L., Janzen, E.D. The comparison of 5 diagnostic tests for diagnosis of Johne's disease in Western Canada. *The International Journal of Applied Research in Veterinary medicine* **2003**, 1 (3): 196-205.
- (26) Fleiss, J.L. Statistical methods for rates and proportions. 2nd edition, New York, John Wiley and Sons **1981**: 212-236.
- (27) Suhrland, M.J., Wiczorek, R. Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of lymphoma. *Cancer* **1991**, 9: 61-68.

- (28) Frable, W.J. Needle aspiration biopsy: Past, present and future. *Human pathology* **1989**, 20: 504-517.
- (29) Ogilvie, G.K., Moore, A.S. Clinical cytology and neoplasia. In *Managing the veterinary cancer patient*. Ogilvie, G.K., Moore, Veterinary Learning Systems Co., Inc. Trenton, New Jersey, **1995**: 37-47.
- (30) Stephen, C.R., Ribble, C.S., Kent, M.L. Observer variation in the histological diagnosis of plasmacytoid leukaemia (marine anemia). *Canadian Journal of Veterinary Research* **1995**, 59: 15-19.
- (31) Freedman, L.S., Machin, D. Pathology review in cancer research. *British Journal of Cancer* **1993**, 68 (5): 827-830.
- (32) Northrup, N.C., Harmon, B.G., Gieger, T.L., Brown, C.A., Carmichael, K.P., Garcia, A.P., Latimer, K.S., Munday, J.S., Rakich, P.M., Richey, L.J., Stedman, N.L., Cheng, A.L., Howerth, E.W. Variation among pathologists in the histologic grading of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **2005**, 17: 245-248.
- (33) Northrup, N.C., Howerth, E.W., Harmon, B.G., Brown, C.A., Carmichael, K.P., Garcia, A.P., Latimer, K.S., Munday, J.S., Rakich, P.M., Richey, L.J., Stedman, N.L., Gieger, T.L. Variation among pathologists in the histologic grading of canine mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **2005**, 17: 561-564.
- (34) Willard, M.D., Jergens, A.E., Duncan, R.B., Leib, M.S., McCracken, M.D., DeNovo, R.C., Helman, R.G., Slater, M.R., Harbison, J.L. Interobserver variation among histopathologic evaluations of intestinal tissues from dogs and cats. *Journal of American Veterinary Medical Association* **2002**, 220 (8): 1177-1182.
- (35) Enøe, C., Georgiadis, M.P., Johnson, W.O. Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease state is unknown. *Preventive Veterinary Medicine* **2000**, 45: 61-81.
- (36) Valenstein, P.N. Evaluating diagnostic tests with imperfect standards. *American Journal of Clinical Pathology* **1990**, 93 (2): 252-258.
- (37) Hawkins, D.M., Garrett, J.A., Stephenson, B. Some issues in resolution of diagnostic tests using an imperfect golden standard. *Statistics in Medicine* **2001**, 20 (13): 1987-2001.
- (38) Garrett, E.S., Eaton, W.W., Zeger, S. Methods for evaluating the performance of diagnostic tests in the absence of a gold standard: A latent class model approach. *Statistics in medicine* **2002**, 21 (9): 1289-1307.
- (39) Toft, N.; Jørgensen, E., Højsgaard, S. Diagnosing diagnostic tests: Evaluating the assumptions underlying the estimation of sensitivity and specificity in the absence of a gold standard. *Preventive Veterinary Medicine* **2005**, 68 (1): 19-33.
-

- (40) Hui, S.L.; Zhou, X.H. Evaluation of diagnostic tests without gold standards. *Statistical Methods of Medical Research* **1998**, 7 (4): 354-370.

7. Bilag

7.1 Bilag 1

Patientoplysninger og materialebeskrivelse

Case nr	Patientoplysninger	Materialebeskrivelse
1	Kat, han, 7 måneder.	Thorax effusion, densitet 1036, TP 49 g/L
2	Kat, han, 6 år	Effusion (ikke videre beskrevet)
3	Kat, han, 12 år	Effusion, densitet 1036, TP 31 g/L
4	Kat, hun, 12 år	Pleural effusion
5	Hund, han, 13 år	Tracheobronchials skyl
6	Hund, tæve, 10 år	Urin udtaget ved cystocentese
7	Hund, boxer, 6 år	Finnålsaspirat (Fnasp) ln. poplitea
8	Hund, han	Fnasp ln. poplitea
9	Kat, han, 6 år	Multifokal lymfeknudehypeplasi
10	Hund, tæve, yorkshire terrier, 1 år	Fnasp ln. retromandibularis
11	Hund, han, beagle, 12 år	Nodulær leverlæsion
12	Hund, han, 13 år	Prostata
13	Kat, hund	Tumor højre forben
14	Ingen oplysninger	Ingen oplysninger
15	Hund, tæve, boxer, 5 år	Cutan tumor dorsum
16	Hund, han, 14 år	Perianaltumor
17	Hund, tæve, 3 år	Tumor dorsum
18	Kat, han	Tumor bagben
19	Hund, han, 10 år	Cutan nodule højre skulder
20	Hund, tæve, 10 år	Nodus venstre axil
21	Hund, han, 14 år	Nodus forben
22	Hund, tæve, 12 år	Nodus thorax
23	Hund, tæve, boxer	Tumor mammae
24	Hund, han	Tumor thorax
25	Hund, tæve, beagle, 8 måneder	Nodus højre bagben
26	Hund, han	Synovia fra tarsalled
27	Hund, han, berner sennen	Cerebrospinalvæske
28	Hund, han, boxer, 6½ år	Urinsediment
29	Hund, han, berner sennen, 6 år	Fnasp ln. mandibularis sinister

7.2 Bilag 2

Diagnostisk skema

Case nr.	neoplasi ja	neoplasi nej	epithel celler	rund celler	tenformede celler	malign	benign	tentativ diagnose
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								

