

Performance dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx per la stima piastrinica e la conta leucocitaria differenziale a 6 popolazioni nei gatti

Kim Yore, DVM, MS, DACVIM; Corie Drake MS, MBA; e Helen Michael, DVM, PhD, DACVP

Introduzione

La valutazione morfologica ematologica fornisce informazioni fondamentali che non sempre sono ottenibili con la sola conta cellulare automatizzata, soprattutto nei gatti, i cui parametri ematologici presentano sfide diagnostiche peculiari per gli analizzatori automatizzati. La morfologia ematologica integra l'esame emocromocitometrico completo, confermando o correggendo le conte cellulari ottenute dagli analizzatori automatici e fornendo informazioni essenziali su struttura e caratteristiche cellulari. Nel gatto, le piastrine tendono ad aggregarsi, rendendo necessaria una valutazione morfologica ematologica per distinguere una vera piastrinopenia da una pseudotrombocitopenia causata da aggregazione. Inoltre, i gatti sono inclini a sviluppare leucocitosi fisiologica che deve essere distinta da un leucogramma infiammatorio e dalla presenza di cellule neoplastiche circolanti.¹

L'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx™ esegue in automatico la morfologia ematologica e supera molti dei limiti intrinseci degli strisci ematici tradizionali eseguiti in clinica. L'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx utilizza lunghezze d'onda di luce multiple e colorazioni fluorescenti per visualizzare le cellule in un ambiente fluido tridimensionale, all'interno di una cartuccia. L'analizzatore valuta molteplici campi visivi e utilizza caratteristici sistemi ottici e il posizionamento degli elementi all'interno della cartuccia per identificare ed eseguire la conta di migliaia di cellule, incluse le piastrine in aggregati. Nell'ambito dell'analisi ematologica, l'analizzatore IDEXX inVue Dx conferma o aggiorna (se indicato) la conta leucocitaria differenziale dell'esame emocromocitometrico completo, riportando i risultati in un referto dedicato. A differenza della formula leucocitaria tradizionale su 100 cellule, l'analizzatore esegue una conta differenziale a 6 popolazioni su 500-2.000 leucociti presenti nel campione, fornendo così una conta cellulare più accurata. Inoltre, l'analizzatore IDEXX inVue Dx fornisce una stima piastrinica semiquantitativa, per garantire l'affidabilità del conteggio anche in presenza di aggregati piastrinici.

Metodi, risultati e discussione

Precisione

La precisione (deviazione standard [SD]) dell'analizzatore IDEXX inVue Dx è stata valutata grazie all'analisi ripetuta di campioni di sangue felino per 10 volte su ciascuno dei 4 analizzatori IDEXX inVue Dx. Nove campioni di sangue fresco felino sono stati selezionati in base all'adeguatezza del volume e al range delle conte piastriniche e dei neutrofili. In base ai dati riportati nella Tabella 1, la precisione dell'analizzatore IDEXX inVue Dx nella conta delle piastrine e dei neutrofili è stata considerata adeguata per l'impiego clinico nel gatto.

Parametro	Intervallo (K/μl)	Numero di campioni (9 totali)	SD (K/μl)
Neutrofili			
Neutropenia	<5	3	0,15
Neutrofili nell'intervallo di riferimento	5-10	3	0,46
Neutrofilia	>10	3	0,18
Piastrine			
Piastrinopenia marcata	<50	2	34,52
Piastrinopenia moderata	50-100	3	26,31
Piastrinopenia lieve	100-150	2	55,49
Stima piastrinica adeguata	>150	2	26,30

Tabella 1. Precisione dell'analizzatore IDEXX inVue Dx per conta piastrinica e dei neutrofili maturi, in 9 campioni con conte di neutrofili e piastrine sia normali che alterate, misurate dall'analizzatore ematologico IDEXX ProCyte Dx. Per il test di precisione, ogni campione è stato analizzato 10 volte su ciascuno dei 4 analizzatori IDEXX inVue Dx.

Performance della conta leucocitaria differenziale a 6 popolazioni e delle piastrine a confronto con l'analizzatore ematologico IDEXX ProCyte Dx

Campioni di sangue felino intero in EDTA (n = 303) sono stati prelevati da 16 diversi sedi e analizzati entro 4 ore dal prelievo su un analizzatore ematologico IDEXX ProCyte Dx™ (validato per l'esame emocromocitometrico completo e con prestazioni comparabili a quelle degli analizzatori dei laboratori di riferimento), e su IDEXX inVue Dx.² Ogni campione è stato valutato macroscopicamente per l'eventuale presenza di coaguli nella provetta, prima dell'analisi sugli analizzatori ProCyte Dx e IDEXX inVue Dx. I campioni con presenza evidente di coaguli sono stati esclusi dall'analisi. La correlazione di Pearson (valori r) è stata utilizzata per valutare il rapporto tra i metodi laddove fossero disponibili valori numerici. È stato invece utilizzato il coefficiente tau-b di Kendall, una misura non parametrica di correlazione, per descrivere il rapporto tra le categorie semiquantitative. Per entrambi i test statistici, un valore 0 indica un'assenza di correlazione e un valore 1 indica una correlazione perfettamente positiva.

L'analizzatore IDEXX inVue Dx ha mostrato un'eccellente correlazione con l'analizzatore ProCyte Dx nella conta di neutrofili, linfociti,

monociti ed eosinofili, con o senza aiuti interpretativi nei risultati dell'esame emocromocitometrico completo dell'analizzatore ProCyte Dx ($r = 0,80-0,99$, figure 1a–1e). L'aggregazione piastrinica è comune nei gatti e può comportare una sovrastima di basofili da parte dell'analizzatore ProCyte Dx (figura 1e).² Dopo aver escluso i campioni in cui gli aiuti interpretativi di ProCyte Dx indicavano una possibile interferenza dell'aggregazione piastrinica sulla conta leucocitaria differenziale, anche la conta dei basofili ha mostrato un'eccellente correlazione ($r = 0,8$) tra l'analizzatore IDEXX inVue Dx e l'analizzatore ProCyte Dx. È stata invece riscontrata una moderata correlazione positiva per i basofili ($r = 0,5$) quando sono stati inclusi anche i campioni con aiuti interpretativi di ProCyte Dx. Si può quindi affermare che i campioni che presentano aiuti interpretativi o alterazioni caratteristiche nei diagrammi a punti dei risultati dell'analizzatore ProCyte Dx potrebbero beneficiare della conferma della conta dei basofili tramite l'analisi con IDEXX inVue Dx.

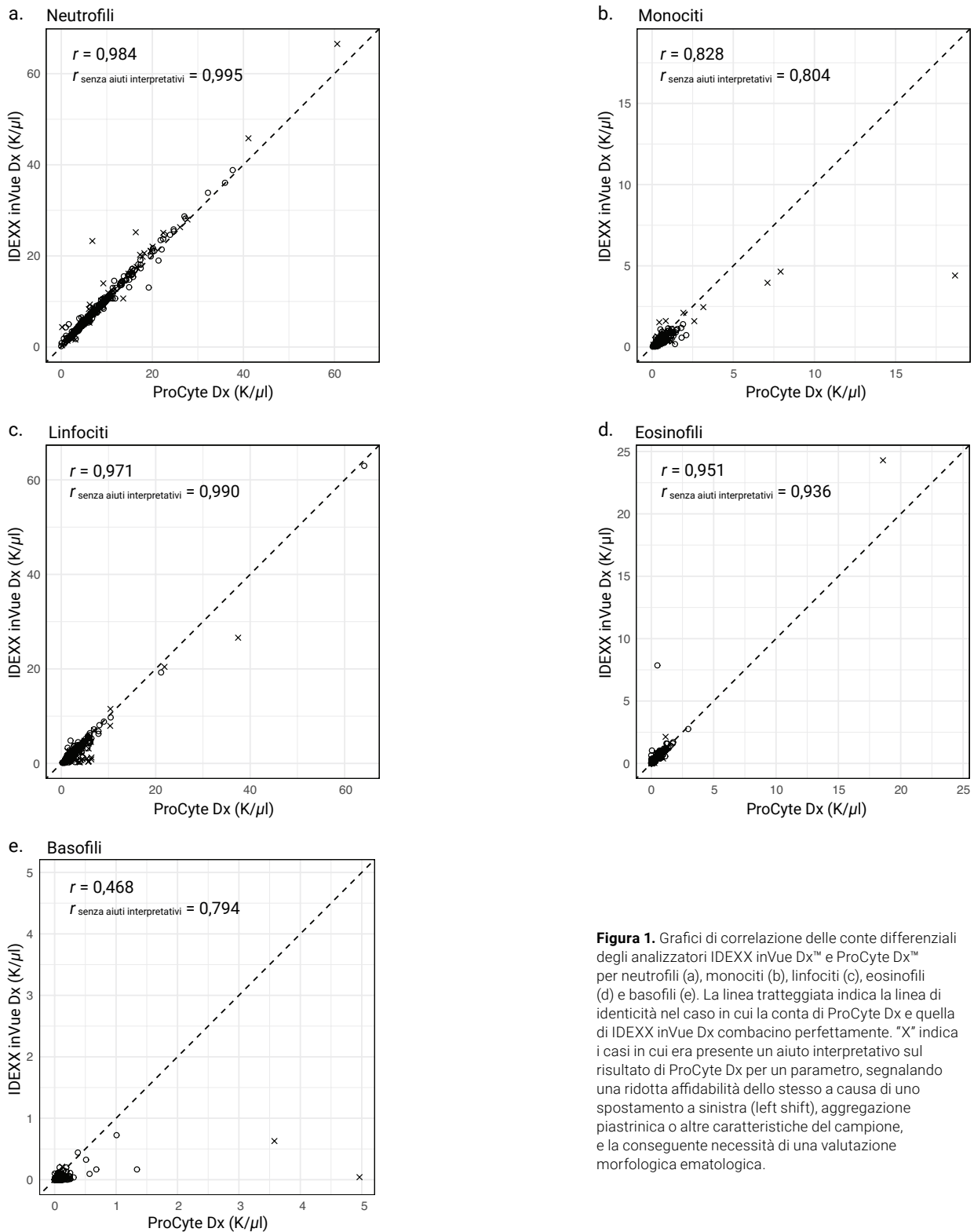
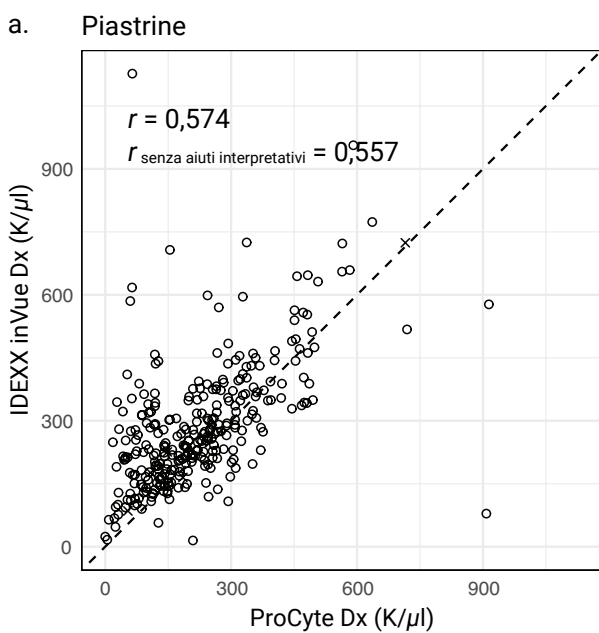


Figura 1. Grafici di correlazione delle conte differenziali degli analizzatori IDEXX inVue Dx™ e ProCyte Dx™ per neutrofili (a), monociti (b), linfociti (c), eosinofili (d) e basofili (e). La linea tratteggiata indica la linea di identità nel caso in cui la conta di ProCyte Dx e quella di IDEXX inVue Dx combacino perfettamente. "X" indica i casi in cui era presente un aiuto interpretativo sul risultato di ProCyte Dx per un parametro, segnalando una ridotta affidabilità dello stesso a causa di uno spostamento a sinistra (left shift), aggregazione piastrinica o altre caratteristiche del campione, e la conseguente necessità di una valutazione morfologica ematologica.

L'analisi IDEXX inVue Dx fornisce una stima piastrinica semiquantitativa sebbene, ai fini del presente studio, è stato preso in considerazione il numero preciso delle piastrine, ottenuto dai dati grezzi dall'analizzatore. È stata rilevata una moderata correlazione positiva tra le conte piastriniche ottenute dai due analizzatori, indipendentemente dalla presenza di aiuti interpretativi che indicavano 'aggregazione piastrinica' nell'analisi con ProCyte Dx (figura 2a). La valutazione semiquantitativa delle piastrine ha mostrato anch'essa un'eccellente correlazione tra i metodi (tau-b di Kendall = 0,43, figure 2b). Le stime piastriniche ottenute tramite la valutazione degli strisci ematici erano disponibili per 263 campioni, come indicato nella Figura 2b. Nei casi di discordanza con l'esame emocromocitometrico completo di ProCyte Dx, le

stime piastriniche di IDEXX inVue Dx sono state correttamente aggiornate a un livello semiquantitativo superiore sulla base della valutazione dello striscio ematico, ad eccezione di sei campioni, tra cui due per i quali i patologi clinici hanno dichiarato di essere 'completamente incerti' sulla stima piastrinica. Quindi, nei casi in cui l'esame emocromocitometrico completo di ProCyte Dx rilevava conte piastriniche basse, l'analisi con IDEXX inVue Dx ha tenuto conto dell'effetto dell'aggregazione piastrinica e aggiornato il numero delle piastrine. La conferma o l'aggiornamento di una conta piastrinica bassa rilevata da un analizzatore ematologico per l'esame emocromocitometrico completo rappresenta una delle motivazioni più comuni per la valutazione dello striscio ematico, oggi resa automatica dall'analizzatore IDEXX inVue Dx.



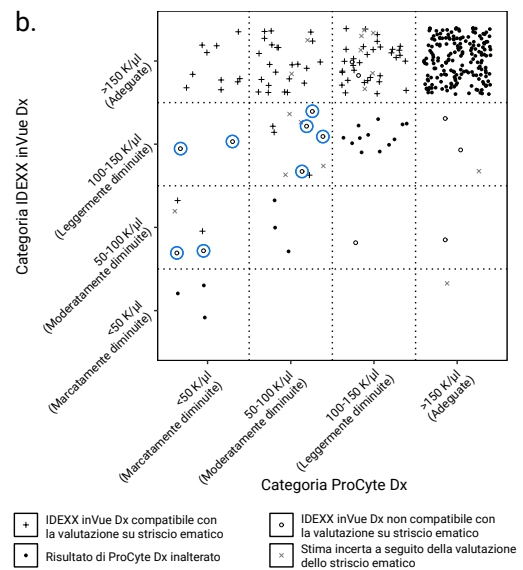
Gli esami dell'analizzatore ProCyte Dx con aiuti interpretativi che indicano aggregati piastrinici sono contrassegnati con "X".

Figura 2. Correlazione tra gli analizzatori IDEXX inVue Dx™ e ProCyte Dx™ per la refertazione quantitativa (a) e semiquantitativa (b) delle piastrine.

La performance dell'analizzatore IDEXX inVue Dx a confronto con la conta leucocitaria differenziale eseguita manualmente da patologi clinici

Conta leucocitaria differenziale a 6 popolazioni

L'analizzatore IDEXX inVue Dx fornisce conte leucocitarie differenziali aggiornate nel caso in cui rilevi differenze, che potrebbero essere clinicamente significative, rispetto alle conte cellulari dell'esame emocromocitometrico completo, ad esempio in presenza di neutrofili immaturi e aggregazione piastrinica. Per valutare la capacità dell'analizzatore IDEXX inVue Dx di aggiornare le conte leucocitarie differenziali, sono stati eseguiti strisci ematici su 263 dei 303 campioni precedentemente descritti, successivamente esaminati da patologi clinici. I campioni sono stati colorati con colorazione Wright-Giemsa modificata (Aerospray™ 7120 Coloratore vetrini per ematologia/Citocentrifuga, ELITechGroup Inc.) e scansionati con uno scanner digitale per vetrini (MoticEasyScan™ One, versione software 1.0.7.50 o 1.0.6.49, Motic Digital Pathology). È stato fatto un confronto tra l'analizzatore



In 263 casi in cui erano disponibili le analisi IDEXX inVue Dx, ProCyte Dx e la valutazione dello striscio ematico, le stime piastriniche dell'IDEXX inVue Dx sono state correttamente aggiornate a un livello semiquantitativo superiore, ad eccezione di sei campioni, tra cui due con stima piastrinica incerta a seguito della valutazione dello striscio ematico. Nei casi cerchiati, il patologo clinico ha rilevato 'probabili piastrine adeguate con presenza di aggregati' nella valutazione dello striscio ematico, generando incertezza nella quantificazione manuale a causa dell'aggregazione.

IDEXX inVue Dx e lo striscio ematico tradizionale, calcolando la media delle conte leucocitarie differenziali a 6 popolazioni, su 200 cellule, eseguite manualmente da tre patologi clinici diplomati.

La correlazione tra i risultati di IDEXX inVue Dx e delle conte leucocitarie differenziali medie su 200 cellule, eseguite manualmente, è indicata nelle figure 3a-3d. La correlazione per neutrofili maturi, linfociti ed eosinofili è rimasta eccellente ($r > 0,9$); è risultata forte per i monociti ($r = 0,6$) e moderata per i basofili ($r = 0,4$). La correlazione della conta manuale e di quella di IDEXX inVue Dx per i neutrofili immaturi si è rivelata soddisfacente ($r = 0,3$) (figura 3d). Le cellule anomale, come i neutrofili immaturi, presentano una variabilità soggettiva nelle conte manuali, anche quando eseguite da osservatori esperti. Inoltre, per i tipi cellulari presenti in quantità ridotte, come i neutrofili immaturi e i basofili, un numero più elevato di cellule valutate nella conta differenziale di IDEXX inVue Dx può garantire una maggiore affidabilità dei risultati. Infine, l'analizzatore IDEXX inVue Dx ha dimostrato buone prestazioni nell'identificazione di altre cellule nucleate. ($r = 0,95$).

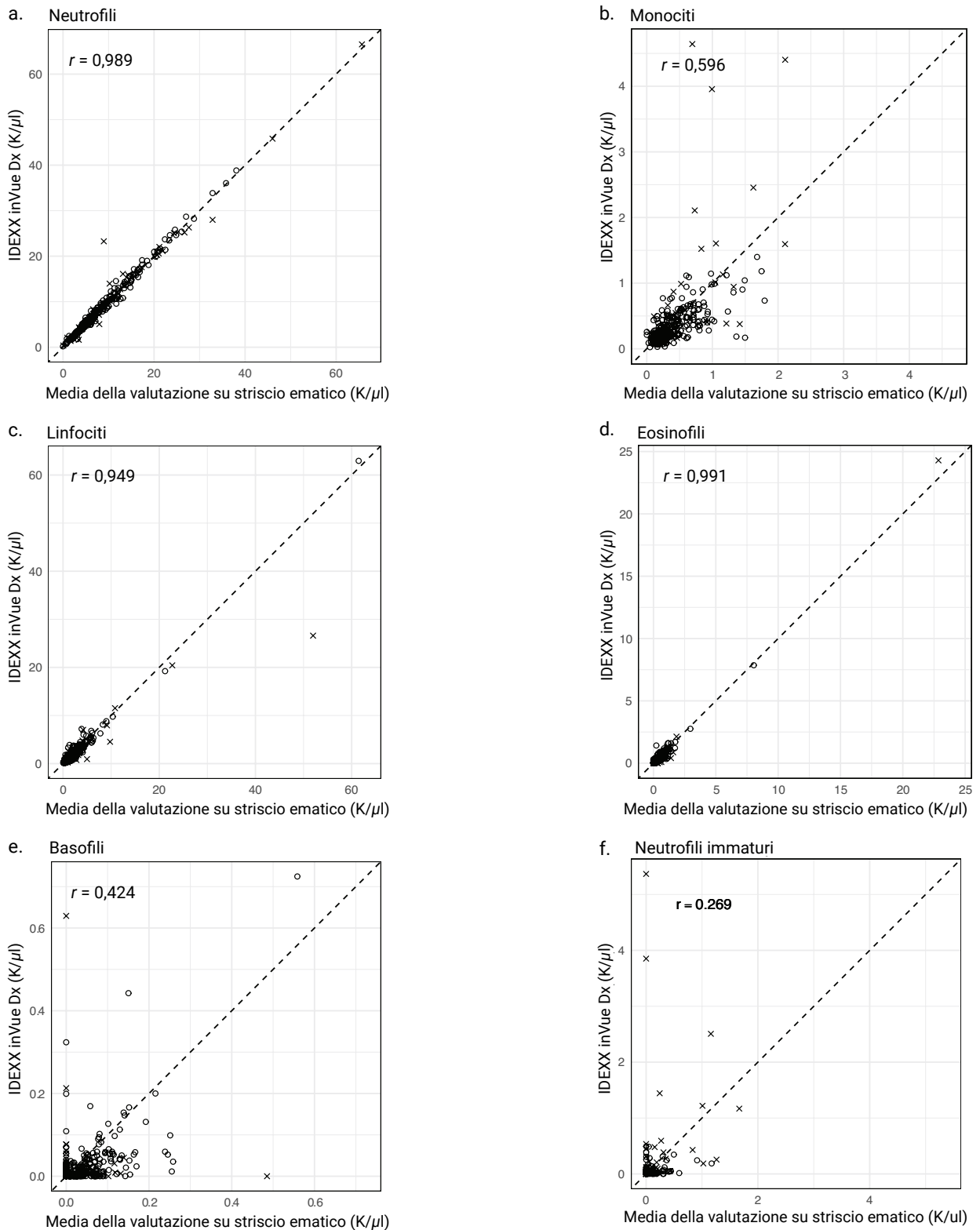


Figura 3. Grafici di correlazione tra le conte differenziali dell'analizzatore IDEXX inVue Dx™ e le conte differenziali manuali eseguite da parte di patologi clinici per neutrofili (a), monociti (b), linfociti (c), eosinofili (d), basofili (e) e neutrofili immaturi (f). È stata calcolata la media delle conte manuali eseguite da 3 patologi clinici diplomati, consistenti in conte differenziali su 200 cellule e a 6 popolazioni. La linea tratteggiata indica la linea di identità nel caso in cui la conta differenziale manuale e quella di IDEXX inVue Dx combaciavano perfettamente. "X" indica i casi con aiuti interpretativi sul referto di ProCyte Dx™, che richiedevano una valutazione della morfologia ematologica.

Conclusioni

L'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx™ esegue l'analisi della morfologia ematologica nei gatti, utilizzando modelli di autoapprendimento e algoritmi, ed è in grado di produrre risultati accurati. L'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx™ mostra un'eccellente correlazione sia con i risultati ematologici automatizzati di ProCyte Dx, sia con l'interpretazione dello striscio ematico da parte di patologi clinici, quando quest'ultima è necessaria per valutare le alterazioni morfologiche di un

campione ematico. In pazienti che mostrano segni clinici di malessere, e in quelli i cui risultati dell'esame emocromocitometrico completo ottenuti con gli analizzatori ProCyte Dx™ o ProCyte One™ suggeriscono la necessità di una valutazione morfologica – come nel caso di conte di cellule anomale, diagrammi a punti atipici o messaggi dell'analizzatore che indicano alterazioni morfologiche – l'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx fornisce informazioni affidabili che integrano l'esame emocromocitometrico completo e supportano le decisioni diagnostiche e terapeutiche.

Riferimenti bibliografici

1. Schaefer D. Hematology of cats. In: *Schalm's Veterinary Hematology*. 7th ed. John Wiley & Sons, 2022:983–992.
2. Goldmann F, Bauer N, Moritz A. Evaluation of the IDEXX ProCyte Dx analyzer for dogs and cats compared to the Siemens ADVIA 2120 and manual differential. *Comp Clin Pathol*. 2014;23(2):283–296. doi:10.1007/s00580-012-1608-1