

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

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

Introduzione

Gli analizzatori ematologici hanno di gran lunga sostituito la conta manuale delle cellule ematiche,^{1,2} tuttavia è spesso ancora necessaria la valutazione morfologica di leucociti ed eritrociti e della presenza di aggregati piastrinici. L'evidenza di conte cellulari automatizzate e diagrammi a punti anormali e di aiuti interpretativi (ad esempio, un asterisco sul referto dell'analizzatore ematologico IDEXX ProCyte One* o ProCyte Dx*) indica la necessità di una valutazione della morfologia ematologica.³⁻⁶ In uno studio su oltre 400.000 esami emocromocitometrici eseguiti con ProCyte One e ProCyte Dx, due terzi presentavano conte cellulari anormali o aiuti interpretativi che indicavano la necessità di una valutazione della morfologia ematologica.⁶ Inoltre, in un altro studio su esami emocromocitometrici eseguiti in clinica e seguiti da un'analisi dello striscio ematico presso i laboratori di riferimento IDEXX, tre quarti riportavano informazioni preziose da un punto di vista clinico. Le alterazioni più comuni sono risultate essere la presenza di aggregati piastrinici e di alterazione tossiche a carico dei neutrofili.⁵ Fino ad ora, la morfologia ematologica ha richiesto una valutazione manuale al microscopio da parte di personale esperto in clinica o l'invio di sangue ad un laboratorio per l'analisi da parte di un patologo. L'analisi tradizionale della morfologia ematologica su vetrino comporta tuttavia alcune limitazioni intrinseche. Uno striscio ematico di elevata qualità è fondamentale per un'analisi ematologica corretta; l'interpretazione è soggettiva e il basso numero di leucociti contati può essere alla base di un errore interpretativo.^{1,3,7-10} Gli aggregati piastrinici possono inoltre interferire con la stima piastrinica effettuata su vetrino.⁷ L'automazione, come nel caso dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx*, crea un'opportunità per ridurre al minimo un errore legato all'operatore, migliorare l'efficienza e perfezionare la riproducibilità della valutazione morfologica ematologica. Gli strumenti supportati dall'intelligenza artificiale (IA) sono stati utilizzati efficacemente a scopo diagnostico in ematologia umana.⁸⁻¹⁴

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 multidimensionale, all'interno di una cartuccia. L'analizzatore IDEXX inVue Dx 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. L'analizzatore IDEXX inVue Dx esegue una conta differenziale a 6 popolazioni su 500-2.000 leucociti presenti nel campione. Inoltre, l'analizzatore IDEXX inVue riporta 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.

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 canino per 10 volte su ciascuno dei quattro analizzatori IDEXX inVue Dx. Campioni di sangue fresco canino, provenienti da ospedali veterinari e destinati al Laboratorio di ricerca e sviluppo IDEXX in Westbrook, Maine, sono stati valutati per adeguatezza del volume e del range delle conte cellulari all'esame emocromocitometrico, per un numero totale di 11 campioni disponibili per il test di precisione. L'analizzatore IDEXX inVue Dx ha riscontrato buona precisione su campioni con un ampio range di conte di neutrofili e piastrine (tabella 1).

Parametro	Intervallo (K/ μ l)	Numero di campioni	SD (K/ μ l)
Precisione dei neutrofili			
Neutropenia	<5	6	0,09
Neutrofili nell'intervallo di riferimento	5-10	3	0,18
Neutrofilia	>10	2	0,37
Precisione delle piastrine			
Piastrinopenia marcata	<50	2	8,9
Piastrinopenia moderata	50-100	3	15,1
Piastrinopenia lieve	100-150	2	15,6
Stima piastrinica adeguata	>150	4	19,0

Tabella 1. Precisione dell'analizzatore IDEXX inVue Dx per conta piastrinica e neutrofili maturi, in campioni con conte di neutrofili e piastrine sia normali che anormali 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 ProCyte Dx

Campioni di sangue canino intero in EDTA (n = 348) sono stati prelevati in un unico ospedale e analizzati entro 4 ore dal prelievo per il confronto con l'analizzatore ProCyte Dx. Ogni campione è stato valutato macroscopicamente per l'eventuale presenza di coaguli nella provetta, prima dell'analisi su uno dei due analizzatori ProCyte Dx e uno dei due analizzatori IDEXX inVue Dx.

Tutti i 348 campioni sono stati utilizzati per la valutazione della conta leucocitaria differenziale e 322 sono stati utilizzati per la valutazione piastrinica. 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 di 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 rilevato una correlazione molto forte con l'analizzatore ProCyte Dx* per neutrofili, monociti ed eosinofili in campioni con e senza aiuti interpretativi dell'analizzatore ProCyte Dx (figura 1). Nei campioni senza aiuti interpretativi, la conta linfocitaria ha anch'essa presentato una correlazione molto forte tra gli analizzatori IDEXX inVue Dx e ProCyte Dx. Quando sono stati inclusi campioni con aiuti interpretativi che indicano un probabile left shift, le conte linfocitarie dell'analizzatore IDEXX inVue Dx hanno presentato una correlazione solo moderatamente buona a causa della sovrastima del numero dei linfociti da parte dell'analizzatore ProCyte Dx in presenza di neutrofili immaturi (figura 1C).¹⁵ Oltre all'aiuto interpretativo, anche le alterazioni caratteristiche dei dotplots dell'analizzatore ProCyte Dx, per i campioni con left shift, possono essere utilizzate per identificare casi che trarrebbero vantaggio dalla conferma della conta linfocitaria con l'analizzatore IDEXX inVue Dx.

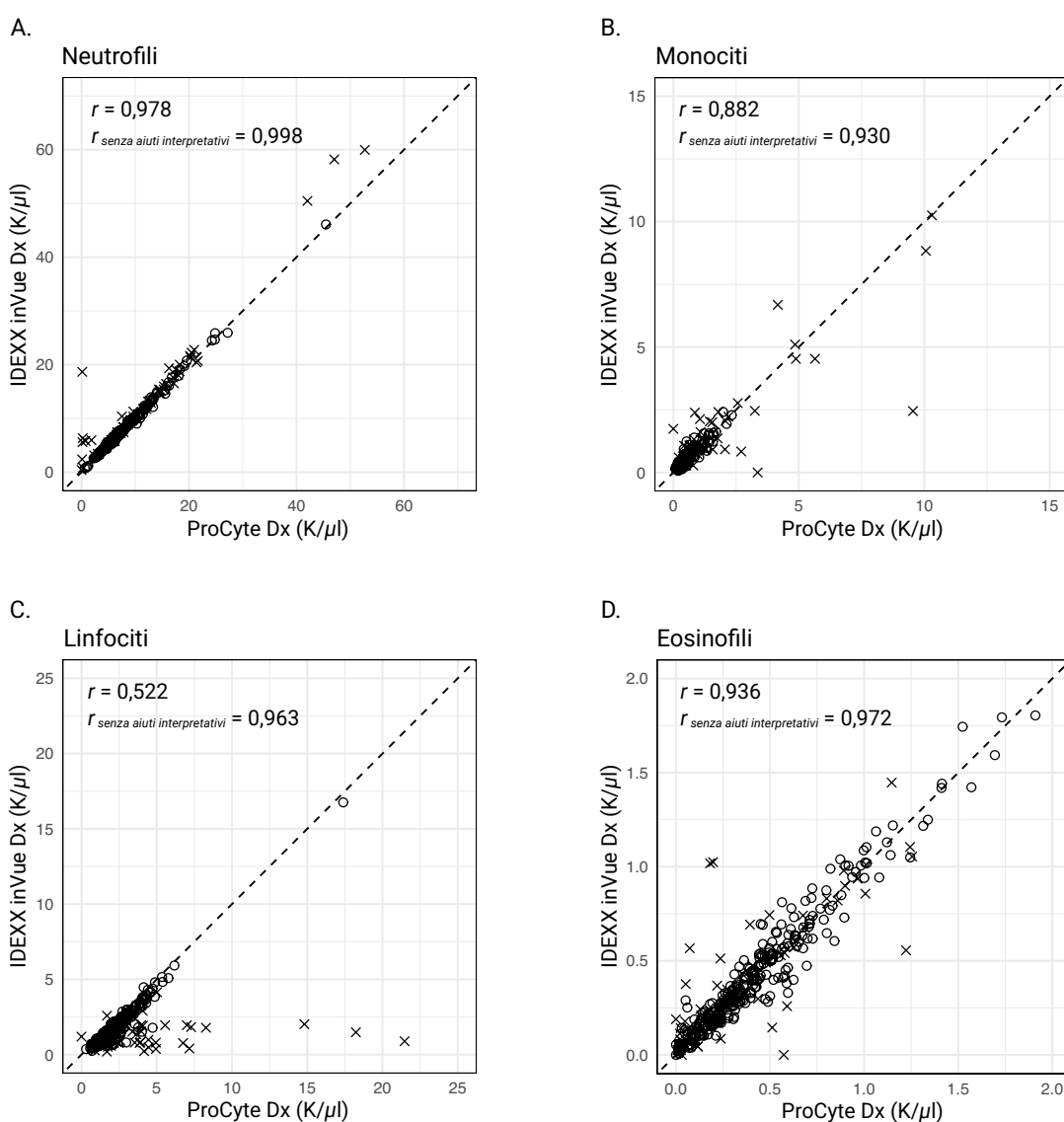


Figura 1. Grafici di correlazione delle conte differenziali degli analizzatori IDEXX inVue Dx e ProCyte Dx per neutrofili (A), monociti (B), linfociti (C) ed eosinofili (D). La linea tratteggiata indica la linea di identità nel caso in cui la conta ProCyte Dx e quella IDEXX inVue Dx combacino perfettamente. "X" indica i casi in cui era presente un aiuto interpretativo sul risultato del ProCyte Dx per un parametro, a indicare una ridotta affidabilità del risultato del ProCyte Dx a causa di un left shift o di altre caratteristiche del campione e la necessità di una valutazione della morfologia ematologica.

È stata rilevata un'eccellente correlazione delle conte piastriniche tra i metodi automatici in caso di inclusione ($r = 0,940$) o non ($r = 0,937$) dei campioni con aiuti interpretativi di "aggregazione piastrinica" sull'analizzatore ProCyte Dx* (figura 2A). La valutazione semiquantitativa delle piastrine ha mostrato anch'essa un'eccellente correlazione tra i metodi (Kendall tau-b = 0,720, figure 2B).

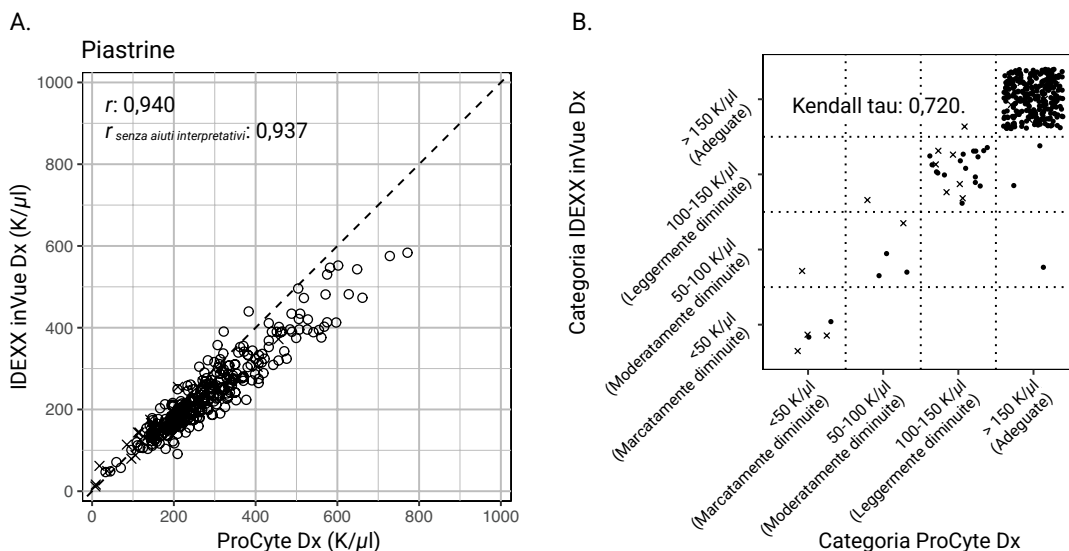


Figura 2. Correlazione tra gli analizzatori IDEXX inVue Dx e ProCyte Dx per la refertazione quantitativa (A) e semiquantitativa (B) delle piastrine. Gli esami dell'analizzatore ProCyte Dx con aiuti interpretativi che indicano aggregati piastrinici sono contrassegnati con "X."

La performance dell'analizzatore IDEXX inVue Dx a confronto con la conta leucocitaria differenziale eseguita manualmente da un patologo clinico

Conta leucocitaria differenziale a 6 popolazioni

L'analizzatore IDEXX inVue Dx* fornisce conte leucocitarie differenziali aggiornate nel caso in cui l'analizzatore rilevi differenze, che potrebbero essere clinicamente significative, rispetto alle conte cellulari dell'esame emocromocitometrico (per esempio, in presenza di neutrofilii immaturi). Per valutare la capacità dell'analizzatore IDEXX inVue Dx di aggiornare le conte leucocitarie differenziali, dai 348 campioni sopra descritti sono stati eseguiti strisci ematici che sono stati esaminati da parte di un patologo clinico e, di questi, 75 campioni presentavano neutrofilii immaturi. I campioni sono stati colorati con la colorazione di Wright-Giemsa modificata (Aerospray* 7120 Coloratore per vetrini per ematologia/Citocentrifuga) e scansionati con uno scanner digitale per vetrini (MoticEasyScan* One, versione software 1.0.7.50 o 1.0.6.49). È stato fatto un confronto tra l'analizzatore 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 nella figura 3. La correlazione di neutrofilii maturi, monociti, linfociti ed eosinofili è rimasta molto forte ($r > 0,90$).

La correlazione della conta manuale e di quella di IDEXX inVue Dx per i neutrofilii immaturi è risultata essere forte (figura 3E), convalidando il fatto che l'analisi automatizzata della morfologia ematologica con l'analizzatore IDEXX inVue Dx dimostra di essere un valido metodo di aggiornamento della conta leucocitaria differenziale nei casi di left shift.

Conclusioni

L'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx esegue l'analisi della morfologia ematologica nei cani senza la necessità di allestire un vetrino, utilizzando modelli di autoapprendimento e algoritmi, ed è in grado di produrre risultati accurati. La piattaforma apporta valore aggiunto grazie all'interpretazione automatizzata della morfologia ematologica e mostra un'eccellente correlazione con i risultati dell'esame emocromocitometrico del ProCyte Dx o con l'analisi dello striscio ematico da parte di un patologo clinico, quando necessaria per valutare i cambiamenti morfologici di un campione ematico.

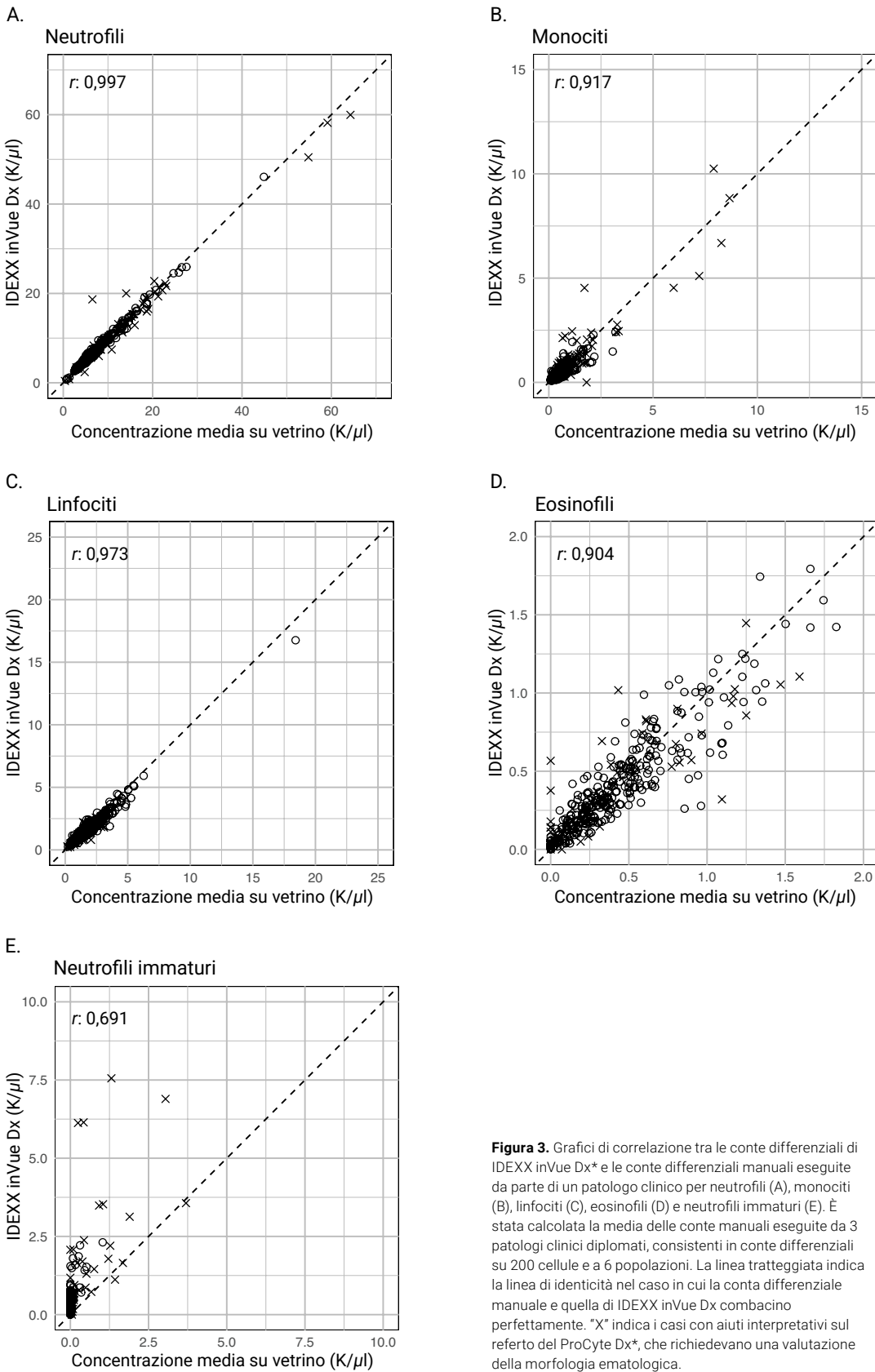


Figura 3. Grafici di correlazione tra le conte differenziali di IDEXX inVue Dx* e le conte differenziali manuali eseguite da parte di un patologo clinico per neutrofilii (A), monociti (B), linfociti (C), eosinofili (D) e neutrofilii immaturi (E). È stata calcolata la media delle conte manuali eseguite 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 combacino perfettamente. "X" indica i casi con aiuti interpretativi sul referto del ProCyte Dx*, che richiedevano una valutazione della morfologia ematologica.

Riferimenti bibliografici

1. Bentley SA. Automated differential white cell counts: a critical appraisal. *Baillieres Clin Haematol.* 1990;3(4):851–869. doi:10.1016/s0950-3536(05)80138-6
2. Rümke CL. Imprecision of ratio-derived differential leukocyte counts. *Blood Cells.* 1985;11(2):311–315.
3. Garden OA, Kidd L, Mexas AM, et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *J Vet Intern Med.* 2019;33(2):313–334. doi:10.1111/jvim.15441
4. Zitzer NC. The greatness of glass: importance of blood smear evaluation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2023;53(1):29–52. doi:10.1016/j.cvsm.2022.07.005
5. Michael H, Drake C, Yore K. Clinically valuable comments were common on veterinarian-ordered blood smear review following in-clinic complete blood count. Presentato in occasione del 2023 ACVP-ASVCP Annual Meeting; 28-31 ottobre; Chicago, IL. Accesso del 10 marzo 2025. cdn.ymaws.com/www.acvp.org/resource/resmgr/2023_annual_meeting/2023_accepted_abstracts.pdf
6. Michael H, Drake C, Yore K. In-clinic CBCs commonly contain information indicating the need for blood morphology assessment. Presentato in occasione del XXI International Society for Animal Clinical Pathology Congress, 14-18 maggio 2024; Heraklion, Grecia. Accesso del 10 marzo 2025. www.isacp2024.org/book-of-abstracts
7. Paltrinieri S, Pacietti V, Zambarbieri J. Analytical variability of estimated platelet counts on canine blood smears. *Vet Clin Pathol.* 2018;47(2):197–204. doi:10.1111/vcp.12604
8. Chung J, Ou X, Kulkarni RP, Yang C. Counting white blood cells from a blood smear using Fourier ptychographic microscopy. *PLoS One.* 2015;10(7):e0133489. doi:10.1371/journal.pone.0133489
9. Gulati G, Uppal G, Florea AD, Gong J. Detection of platelet clumps on peripheral blood smears by CellaVision DM96 system and microscopic review. *Lab Med.* 2014;45(4):368–371. doi:10.1309/LM604RQVKVLRFXOR
10. Bachar N, Benbassat D, Brailovsky D, et al. An artificial intelligence-assisted diagnostic platform for rapid near-patient hematology. *Am J Hematol.* 2021;96(10):1264–1274. doi:10.1002/ajh.26295
11. de Almeida JG, Gudgin E, Besser M, et al. Computational analysis of peripheral blood smears detects disease-associated cytomorphologies. *Nat Commun.* 2023;14(1):4378. doi:10.1038/s41467-023-39676-y
12. Riedl JA, Stouten K, Ceelie H, Boonstra J, Levin MD, van Gelder W. Interlaboratory reproducibility of blood morphology using the digital microscope. *J Lab Autom.* 2015;20(6):670–675. doi:10.1177/2211068215584278
13. Rosetti M, De La Salle B, Farneti G, Clementoni A, Poletti G, Dorizzi RM. The added value of digital morphological analysis in the evaluation of peripheral blood films: the report of an UKNEQAS external quality assessment sample. *Ann Hematol.* 2022;101(3):729–730. doi:10.1007/s00277-021-04595-9
14. Hutchinson C, Brereton M, Adams J, et al. The use and effectiveness of an online diagnostic support system for blood film interpretation: comparative observational study. *J Med Internet Res.* 2021;23(8):e20815. doi:10.2196/20815
15. 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