

# Performance dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx in cani e in gatti con otite esterna clinicamente manifesta

Kim Yore, DVM, MS, DACVIM; Corie Drake MS, MBA; Matt Furtney, MA; Caroline Leeth, DVM, PhD

## Informazioni di base

La malattia dell'orecchio esterno (otite esterna) è una patologia comune nel cane e nel gatto e può essere associata a una crescita eccessiva di batteri o lieviti (disbiosi), infezione o otoparassiti (acari dell'orecchio).<sup>1-4</sup> La diagnosi delle patologie auricolari nei cani e nei gatti richiede la valutazione del quadro clinico completo, che include l'anamnesi del paziente, un esame otoscopico e la citologia auricolare.<sup>4,6</sup> La citologia aiuta a determinare la presenza e la rilevanza delle popolazioni batteriche o di lieviti nell'orecchio, che spesso rappresentano una disbiosi o un'infezione che perpetua l'infiammazione e la malattia auricolare del paziente. Pertanto, la citologia auricolare è fondamentale per la corretta gestione dell'otite nei cani e nei gatti.

Tuttavia, la citologia auricolare tradizionale continua a essere un metodo soggettivo, privo di procedure standardizzate per la preparazione dei vetrini o per la valutazione semiquantitativa, e mancano criteri chiari per distinguere una vera infezione dalla semplice proliferazione batterica. Inoltre, poiché il condotto uditivo è un ambiente non sterile, i reperti devono essere sempre interpretati alla luce dei segni clinici.

Le limitazioni intrinseche della citologia auricolare tradizionale sono ampiamente descritte in dermatologia veterinaria. Uno studio recente, basato su due tamponi auricolari prelevati dallo stesso orecchio, ha evidenziato solo una correlazione moderata tra i campioni nella semiquantificazione dei lieviti e un'elevata discordanza (42%) nella valutazione della presenza di batteri bastoncellari.<sup>7</sup> Un altro studio ha valutato l'interpretazione dei preparati citologici auricolari e cutanei, rilevando che l'accordo inter-osservatore tra dermatologi diplomati e specializzandi nell'identificazione dei batteri coccoidei era solo del 64,6%, anche considerando accettabile una differenza di un grado su una scala da 0 a 4+.<sup>8</sup> Uno ulteriore studio sulla follicolite batterica in dermatologia veterinaria ha evidenziato che tre esperti con competenze simili mostravano una correlazione da bassa a moderata nella semiquantificazione dei cocchi e una correlazione bassa nel conteggio dei bastoncelli utilizzando due diversi metodi di citologia cutanea. Gli osservatori hanno inoltre dimostrato una frequente variabilità intra-osservatore nel riesame dei vetrini dopo un periodo di wash-out non specificato.<sup>9</sup>

Sebbene gli studi condotti da esperti di citologia cutanea e auricolare evidenzino una marcata soggettività nella microscopia convenzionale su vetrino, l'accuratezza della valutazione citologica auricolare può essere ulteriormente condizionata da fattori aggiuntivi. Un campionamento non adeguato di cerume dal condotto uditivo, la presenza di precipitati di colorante o contaminanti nei vasetti Coplin durante la preparazione dei vetrini, oppure una fissazione impropria del materiale cellulare possono compromettere l'accuratezza della valutazione di routine dei campioni di citologia auricolare. Considerata

la variabilità sia nella valutazione dello stesso vetrino sia tra vetrini diversi, unita al tempo necessario per preparare, colorare, asciugare e leggere i vetrini, disporre di un sistema automatizzato capace di analizzare i campioni auricolari in modo uniforme e riproducibile rappresenta un vantaggio significativo.

Un esempio è l'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx™, che consente di ottenere una citologia auricolare automatizzata direttamente in clinica. L'analizzatore IDEXX inVue Dx™ rappresenta una svolta nella valutazione della citologia auricolare, offrendo una soluzione semplice e load-and-go per l'analisi dei campioni. I reagenti e coloranti dell'analizzatore sono forniti in confezioni sterili, preassemblate quindi e prive di contaminazioni. I tamponi auricolari vengono miscelati in una provetta contenente un diluente liquido con reagenti in grado di separare il cerume dagli altri elementi nel campione. Le colorazioni fluorescenti presenti nei reagenti si legano a lieviti, batteri e globuli bianchi. Successivamente, il campione liquido viene trasferito in una cartuccia dedicata e caricato nell'analizzatore. La preparazione richiede circa un minuto; in soli 8 minuti, la piattaforma analizza migliaia di immagini in campo chiaro e a fluorescenza per identificare e classificare gli elementi nel campione. L'analizzatore IDEXX inVue Dx esamina numerosi campi visivi a diverse profondità per identificare globuli bianchi, batteri coccoidei e bastoncellari, lieviti e acari. Questo permette di analizzare una quantità di materiale fino a 10 volte superiore rispetto alla citologia auricolare tradizionale. Diversamente da quest'ultima, che analizza un numero limitato di cellule sul vetrino ed è soggetta a errori di campionamento, l'analizzatore valuta una porzione significativamente più ampia del campione, riducendo la variabilità e aumentando l'accuratezza diagnostica grazie a una valutazione più completa. In questo modo, l'analizzatore IDEXX inVue Dx offre una semiquantificazione obiettiva e standardizzata di batteri e lieviti, facilitando l'interpretazione clinica e il monitoraggio del paziente. L'analizzatore IDEXX inVue Dx rileva la presenza o l'assenza di globuli bianchi e acari del genere *Otodectes*. Grazie all'automazione offerta dall'analizzatore IDEXX inVue Dx, il team clinico può dedicarsi ad altre attività importanti durante l'analisi del campione, evitando di impiegare tempo nella preparazione, colorazione e lettura dei vetrini.

## Studio 1: Performance dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx nella valutazione automatizzata della citologia auricolare in cani e gatti con otite esterna diagnosticata da dermatologi

### Metodi

Valutazione delle performance dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx rispetto alle diagnosi di otite effettuate da dermatologi diplomati in un unico centro di riferimento. Nel corso delle visite dermatologiche sono stati prelevati 140 campioni auricolari da cani e 17 da gatti. Le diagnosi di otite batterica, da lieviti o infiammatoria sono state

formulate dai dermatologi sulla base di anamnesi, segni clinici e citologia auricolare, e i risultati sono stati registrati nelle cartelle cliniche dei pazienti e resi disponibili per lo studio.

Per minimizzare la variabilità dovuta al sito di campionamento e alla quantità di materiale raccolto, da ciascun orecchio è stato prelevato un tampone auricolare nella zona di giunzione tra il condotto uditivo verticale e quello orizzontale. I campioni provenienti dall'orecchio sinistro e destro sono stati trattati come distinti. Il tampone è stato inizialmente utilizzato per preparare uno striscio, lasciato poi asciugare all'aria, fissato con metanolo e colorato con la colorazione Romanowsky (RAL DIFF-QUIK™). La valutazione soggettiva dei vetrini è stata effettuata dal personale del servizio di dermatologia (da uno dei due dermatologi diplomati oppure da un tecnico qualificato operante sotto la supervisione di un dermatologo). I risultati relativi a lieviti, bastoncelli, cocchi e globuli bianchi sono stati annotati insieme alla diagnosi del paziente. Un singolo operatore ha utilizzato lo stesso tampone auricolare per l'analisi mediante l'analizzatore IDEXX inVue Dx (software versione 5.4.5), entro un'ora dal prelievo. Il personale del servizio di dermatologia non era a conoscenza dei risultati dell'analizzatore IDEXX inVue Dx e ha effettuato la valutazione clinica e citologica utilizzando il metodo convenzionale su vetrino. I dati clinici comprendevano segni di otite (prurito, secrezioni, eritema), le cause sottostanti (ad esempio masse auricolari, allergie, malattie autoimmuni), i risultati soggettivi della citologia auricolare semiquantitativa su vetrino e la relativa interpretazione clinica. Su 157 campioni auricolari, 146 provenivano da orecchie con otite esterna e 11 da orecchie clinicamente normali.

I risultati della citologia auricolare sono stati annotati utilizzando una scala semiquantitativa (ad esempio 0, 1+, 2+) o con termini descrittivi (ad esempio occasionali, rari, TNTC ovvero troppi per essere contati), successivamente convertiti in una scala semiquantitativa e confrontati con quelli forniti dall'analizzatore per cocchi, bastoncelli, lieviti e presenza/assenza di globuli bianchi. Per valutare la correlazione tra i due metodi è stato utilizzato il coefficiente tau-b di Kendall, scelto perché robusto nelle relazioni non lineari e adatto all'analisi di variabili ordinali e/o continue. I valori del tau-b di Kendall oscillano tra -1 e 1: 0 indica assenza di correlazione, mentre 1 rappresenta una correlazione positiva perfetta, in cui l'aumento di una variabile è associato all'aumento dell'altra.

## Risultati e discussione

L'analizzatore IDEXX inVue Dx ha mostrato una correlazione positiva discreta con le otiti associate a lieviti, cocchi e bastoncelli diagnosticate dai dermatologi, e una correlazione positiva moderata con la presenza di globuli bianchi (tabella 1). Una delle limitazioni dello studio consiste nel fatto che le diagnosi dei dermatologi si basavano su una singola lettura del vetrino, senza tenere conto della variabilità nota nelle valutazioni citologiche auricolari e cutanee, anche tra dermatologi esperti, come già evidenziato. Tale variabilità ha verosimilmente influito sulle discrepanze osservate nell'accuratezza diagnostica e interpretativa. Inoltre, l'uso di un unico tampone per preparare il vetrino e alimentare l'analizzatore limiterebbe una valutazione ottimale, poiché parte del materiale resta sul vetrino e non è disponibile per l'analisi automatizzata. Ciononostante, una correlazione positiva da discreta a moderata è paragonabile alle prestazioni ottenute da due lettori diversi o dallo stesso lettore che interpreta due volte lo stesso vetrino auricolare o cutaneo, come evidenziato nella parte introduttiva, e indica una buona performance alla luce della soggettività e della variabilità intrinseche della citologia auricolare tradizionale.

**Tabella 1.** Concordezza tra l'analizzatore IDEXX inVue Dx e i casi di otite esterna diagnosticati da dermatologi, misurata mediante il coefficiente tau-b di Kendall

| Parametro       | Tau-b di Kendall |
|-----------------|------------------|
| Cocchi          | 0,4              |
| Bastoncelli     | 0,4              |
| Lieviti         | 0,4              |
| Globuli bianchi | 0,5              |

La citologia auricolare convenzionale, caratterizzata da soggettività e variabilità intrinseche, non dispone di metriche di performance standardizzate, rendendo il confronto difficile e suscettibile di errori. Pertanto, il vantaggio di un analizzatore automatizzato basato sull'intelligenza artificiale non è la replica esatta della citologia tradizionale, bensì la capacità di generare informazioni clinicamente rilevanti.

## Studio 2: Performance dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx nella valutazione di campioni prelevati da orecchie con otite esterna clinicamente manifesta

### Metodi

È stata valutata la correlazione tra i risultati dell'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx e le diagnosi cliniche di otite esterna. I cani visitati in una delle sei cliniche con segni di otite esterna in una o entrambe le orecchie sono stati valutati dal veterinario curante; ogni orecchio ha ricevuto un punteggio clinico secondo il sistema Otitis Index Score (OTIS-3), noto per la sua elevata affidabilità inter- e intra-osservatore nella valutazione clinica dell'otite esterna.<sup>10</sup> Successivamente, sono stati prelevati tamponi auricolari e analizzati con l'analizzatore IDEXX inVue Dx (software versione 5.4.5). La capacità dell'analizzatore di rilevare infezioni (lieviti, bastoncelli o cocchi  $\geq 1$ ) è stata valutata in campioni prelevati da orecchie con otite esterna diagnosticata clinicamente mediante il sistema OTIS-3.<sup>10</sup> I criteri di inclusione prevedevano orecchie con punteggio OTIS-3 pari a 0 oppure  $\geq 6$ , assegnato dal veterinario curante in base ai parametri di eritema, essudato, edema e ulcerazione, utilizzando come indicatori surrogati orecchie normali e orecchie moderatamente o gravemente affette. Le orecchie con un punteggio OTIS-3 compreso tra 1 e 5 sono state considerate ambigue per la diagnosi di otite esterna ed escluse, per ridurre la variabilità di punteggio tra veterinari e prevenire l'inclusione di patologie non infettive. Ciascun orecchio è stato valutato singolarmente e sono stati esclusi i risultati contrassegnati da errori. Per le orecchie con punteggio OTIS-3  $\geq 6$ , i risultati indicanti "pochi" microrganismi sono stati considerati clinicamente significativi, in linea con le raccomandazioni attuali, poiché indicativi di possibile disbiosi. Nelle orecchie con punteggio OTIS-3 pari a 0, i risultati dell'analizzatore IDEXX inVue Dx indicanti pochi cocchi o pochi lieviti sono stati considerati rappresentativi della flora normale, poiché, dal punto di vista clinico, le orecchie erano nella norma.<sup>4</sup>

### Risultati e discussione

Nell'analisi sono stati inclusi 57 campioni di citologia auricolare prelevati da 32 cani. Le orecchie con un punteggio OTIS-3  $\geq 9$  (fino a 12) sono state considerate marcatamente anormali. Delle 13 orecchie gravemente anormali incluse nello studio, l'analizzatore IDEXX inVue Dx ha riportato risultati indicativi di infezione/disbiosi in 12 campioni. Le orecchie con punteggio OTIS-3 tra 6 e 8 sono

state classificate come moderatamente anormali. Tra le 38 orecchie moderatamente anormali incluse nello studio, l'analizzatore ha riportato risultati indicativi di infezione in 37 campioni. Complessivamente, nelle 51 orecchie classificate clinicamente come moderatamente o gravemente anormali, l'analizzatore IDEXX inVue Dx ha rilevato infezioni in 49 casi, pari a una sensibilità del 96% (tabella 2). Tra le orecchie considerate clinicamente normali (punteggio OTIS-3 = 0), 4 su 6 non mostravano risultati anomali secondo l'analizzatore. Un campione presentava pochi cocchi e pochi lieviti, interpretati come flora normale in orecchie sane.<sup>4</sup> Un altro campione mostrava pochi cocchi e una quantità moderata di lieviti. Pertanto, 5 delle 6 orecchie clinicamente normali non presentavano segni di infezione secondo l'analizzatore IDEXX inVue Dx, pari a una specificità dell'83% (tabella 2).

**Tabella 2.** Risultati dell'analizzatore IDEXX inVue Dx in orecchie clinicamente normali e anormali.

| Numero di orecchie (N = 57) | Punteggio OTIS-3 | Risultati dell'analizzatore    | Sensibilità | Specificità |
|-----------------------------|------------------|--------------------------------|-------------|-------------|
| 12                          | 9-12             | Risultati positivi             | 96%         |             |
| 1                           | 9-12             | Nessun rilevamento             |             |             |
| 37                          | 6-8              | Risultati positivi             |             |             |
| 1                           | 6-8              | Nessun rilevamento             |             |             |
| 4                           | 0                | Nessun rilevamento             | 83%         |             |
| 1                           | 0                | Pochi cocchi, pochi lieviti    |             |             |
| 1                           | 0                | Pochi cocchi, lieviti moderati |             |             |

**Nota:** Le celle evidenziate in grigio rappresentano risultati discordanti ai fini del calcolo di specificità e sensibilità.

Questi risultati dimostrano quindi una forte correlazione tra la valutazione citologica e la gravità clinica come definita dal sistema Otitis Index Score (OTIS-3). L'analizzatore IDEXX inVue Dx ha quindi mostrato un'elevata sensibilità (96%) come strumento diagnostico per confermare l'otite esterna e indicare il trattamento appropriato. Inoltre, nelle orecchie con punteggi clinici negativi, l'analizzatore IDEXX inVue Dx ha evidenziato una specificità dell'83%, confermandone il suo valore come test diagnostico complementare ad anamnesi e segni clinici per identificare la malattia e guidare la gestione clinica.

#### Riferimenti bibliografici

1. Tyler S, Swales N, Foster AP, Knowles TG, Barnard N. Otoscopy and aural cytological findings in a population of rescue cats and cases in a referral small animal hospital in England and Wales. *J Feline Med Surg.* 2020;22(2):161-167. doi:10.1177/1098612X19834969
2. Perego R, Proverbio D, Bagnagatti De Giorgi G, Della Pepa A, Spada E. Prevalence of otitis externa in stray cats in northern Italy. *J of Feline Med Surg.* 2014;16(6):483-490. doi:10.1177/1098612X13512119
3. Korbelik J, Singh A, Rousseau J, Weese JS. Analysis of the otic mycobiota in dogs with otitis externa compared to healthy individuals. *Vet Dermatol.* 2018;29(5):417-e138. doi:10.1111/vde.12665
4. Angus JC. Otic cytology in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34(2):411-424. doi:10.1016/j.cvs.2003.10.005
5. Murphy KM. A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2001;16(4):236-241. doi:10.1053/svms.2001.27601
6. Ginel PJ, Lucena R, Rodriguez JC, Ortega J. A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Vet Dermatol.* 2002;13(3):151-156. doi:10.1046/j.1365-3164.2002.00288.x
7. Lehner G, Sauter Louis C, Mueller RS. Reproducibility of ear cytology in dogs with otitis externa. *Vet Rec.* 2010;167(1):23-26. doi:10.1136/vr.c3523
8. Budach SC, Mueller RS. Reproducibility of a semiquantitative method to assess cutaneous cytology. *Vet Dermatol.* 2012;23(5):426-e80. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01075.x
9. Tully M, Milley C, Bourgeois A, Bidot W. Comparison of cytological findings between direct impression smears and adhesive slides in canine superficial bacterial folliculitis. *Vet Dermatol.* 2024;35(5):492-499. doi:10.1111/vde.13279
10. Nuttall T, Bensignor E. A pilot study to develop an objective clinical score for canine otitis externa. *Vet Dermatol.* 2014;25(6):530-e92. doi:10.1111/vde.12163

## Conclusioni

L'analizzatore cellulare IDEXX inVue Dx è in grado di individuare elementi chiave nei campioni auricolari di cani e gatti. Grazie alla sua avanzata potenza di calcolo e all'impiego di modelli di intelligenza artificiale, offre una classificazione automatizzata e un'interpretazione dei campioni citologici, supportata da algoritmi diagnostici di ultima generazione. Per ogni analisi, il referto generato da IDEXX inVue Dx include considerazioni diagnostiche che mettono in evidenza il possibile significato clinico dei risultati e le loro implicazioni nell'otite esterna. Inoltre, fornisce uno standard oggettivo per monitorare l'evoluzione del paziente durante le visite di follow-up. Oltre ad automatizzare il processo di esecuzione, l'analizzatore IDEXX inVue Dx introduce un approccio oggettivo e standardizzato alla citologia auricolare, consolidandosi come strumento diagnostico chiave per la diagnosi e la gestione dell'otite esterna in cani e gatti.