

Citologia nasale per l'endotipizzazione della rinite allergica e non allergica e novità sulla lettura automatizzata

Nasal cytology for endotyping allergic and nonallergic rhinitis and news on automated reading

Velia Malizia¹, Massimo Landi², Stefano Pattini³, Alessandro Travaglini⁴, Maria Antonia Brighetti⁴, Auro Della Giustina⁵, Ifigenia Sfika⁶, Alessandro Di Menno Di Bucchianico⁷, Matteo Gelardi⁸, Salvatore Tripodi⁹

¹ Institute of Translational Pharmacology, National Research Council (CNR), Palermo, Italy; ² Sistema Sanitario Nazionale Pediatrico, Torino; ³ Pediatric Unit, Department of Medical and Surgical Sciences of the Mother, Children and Adults, University of Modena and Reggio Emilia, Modena; ⁴ Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome; ⁵ Private Practice, Parma; ⁶ Private Practice, Rome; ⁷ Italian National Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA), Rome; ⁸ Clinica Otorinolaringoiatrica, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Foggia; ⁹ Allergology Service Policlinico Casilino, Rome

RIASSUNTO

La rinite allergica (AR) è un problema sanitario globale che colpisce dal 5 al 35% della popolazione. L'infiammazione allergica è caratterizzata dall'attivazione di una rete cellulare complessa. La citologia nasale (NC) è uno strumento diagnostico molto utile per aiutare a suddividere la AR in endotipi infiammatori, cercando di caratterizzare la AR sulla base di reperti immuno-istologici nella mucosa nasale. Nell'iter diagnostico della AR è importante disporre di strumentazioni vicine al punto di assistenza, semplici da usare e che diano risultati disponibili istantaneamente, idonei ad aiutare il medico nella pratica clinica. I progressi tecnologici della citologia nasale hanno cambiato radicalmente l'approccio clinico alla diagnosi e al trattamento della rinite. Lo scopo di questo lavoro è riportare i progressi tecnologici della citologia nasale come metodo diagnostico di facile applicazione per caratterizzare l'eterogeneità della rinite.

PAROLE CHIAVE: rinite allergica, citologia nasale, endotipizzare, lettura automatizzata, *deep learning*

ABSTRACT

Allergic rhinitis (AR) is a global health problem affecting 5 to 35% of the population. Allergic inflammation is characterized by the activation of a complex cellular network. Nasal cytology (NC) is a very useful diagnostic tool to help divide AR into inflammatory endotypes, attempting to characterize AR based on immuno-histologic findings in the nasal mucosa. In the diagnostic process of AR, it is important to have instrumentation that is close to the point of care, easy to use, and gives results that are available instantly, suitable to help the physician in clinical

Review

CORRISPONDENZA

Velia Malizia
velia.malizia@ift.cnr.it

Conflitto di interessi: gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi rispetto agli argomenti trattati nell'articolo.

Come citare questo articolo: Malizia V, Landi M, Pattini S, et al. Citologia nasale per l'endotipizzazione della rinite allergica e non allergica e novità sulla lettura automatizzata. Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica 2022;36(04):8-12. <https://doi.org/10.53151/2531-3916/2022-17>

© Copyright by Società Italiana di Allergologia e Immunologia Pediatrica



OPEN ACCESS

L'articolo è OPEN ACCESS e divulgato sulla base della licenza CC-BY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione – Non commerciale – Non opere derivate 4.0 Internazionale). L'articolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>

practice. Technological advances in nasal cytology have radically changed the clinical approach to the diagnosis and treatment of rhinitis. The purpose of this paper is to report the technological advances in nasal cytology as an easily applied diagnostic method to characterize the heterogeneity of rhinitis.

KEY WORDS: allergic rhinitis, nasal cytology, endotyping, automated reading, deep learning

INTRODUZIONE

La rinite allergica (AR) è un problema sanitario globale che colpisce dal 5 al 35% della popolazione.

La prevalenza europea di AR è del 23%, di questo almeno il 45% non è diagnosticato.

Nel mondo 500 milioni di persone soffrono di RA, la sua prevalenza è tendenzialmente in aumento¹⁻³.

L'infiammazione allergica è caratterizzata dall'attivazione di una rete cellulare complessa. La citologia nasale (NC) è uno strumento diagnostico molto utile per identificare e quantificare l'infiammazione nasale⁴.

La complessità e la variabilità dei fenotipi della AR sono particolarmente evidenti e da ciò scaturisce la necessità di analizzare e identificare nuovi approcci per cogliere l'eterogeneità clinica della AR⁵.

La AR è caratterizzata da congestione/ostruzione nasale, rinorrea, starnuti e prurito nasale⁵.

La diagnosi di AR viene posta sui sintomi riferiti dal paziente, ma per formulare la diagnosi è necessario che siano presenti almeno due dei suddetti sintomi⁶. A oggi il percorso diagnostico della AR si basa sulla storia clinica supportata dalla rinoscopia anteriore, che ispeziona le parti anteriori delle cavità nasali, e sui test in vitro (dosaggio IgE specifiche) e in vivo (*skin prick test*, SPT) da test di sensibilizzazione IgE (SPT o IgE specifiche), e, nell'ottica di un'allergologia di precisione che utilizzi anche la *mobile-Health*, la correlazione tra curve polliniche e sintomi registrati dal paziente con app tipo AllergyMonitor[®]; infine, nel caso di dubbi sulla diagnosi, è possibile utilizzare il test di provocazione nasale difficilmente praticabile nella pratica clinica^{7,8}.

I sintomi della AR possono essere simili a quelli causati dalla rinite non allergica o a quelli dovuti ad alterazioni anatomiche come l'ipertrofia adenoidea. Per indirizzare le scelte terapeutiche e migliorare la gestione dei costi è importante determinare correttamente l'eziologia della RA e avere una valutazione obiettiva dello stato infiammatorio e dell'entità dell'ostruzione^{9,10}. La NC permette di rilevare e quantificare le popolazioni cellulari all'interno della mucosa nasale in un dato momento istantaneo, per discriminare meglio le diverse condizioni patologiche e anche per valutare gli effetti di vari stimoli (allergeni, infettivi, irritanti, chimico-fisici) o l'effetto di trattamenti (Fig. 1).

Negli ultimi 20 anni, i progressi tecnologici e la ricerca scientifica hanno cambiato radicalmente l'approccio clinico alla diagnosi e al trattamento della rinite. Tra le procedure, la NC può essere un'aggiunta interessante e promettente da associare alla diagnostica standard. Lo scopo di questo lavoro è riportare i progressi tecnologici della citologia nasale come metodo diagnostico di facile applicazione per caratterizzare l'eterogeneità della rinite.

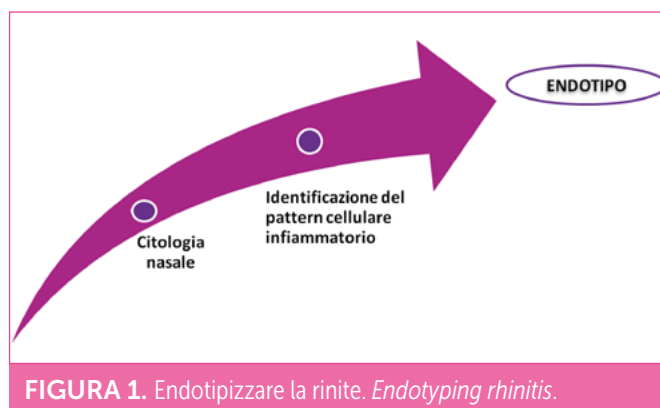


FIGURA 1. Endotipizzare la rinite. *Endotyping rhinitis.*

CITOLOGIA NASALE ED ENDOTIPIZZAZIONE

Nell'iter diagnostico della AR e in quelle NA è importante disporre di strumentazioni vicine al punto di assistenza, semplici da usare e che diano risultati disponibili istantaneamente, idonei ad aiutare il medico nell'inquadramento diagnostico e nella valutazione obiettiva dello stato infiammatorio, al fine di indirizzare le opportune scelte terapeutiche, migliorare la gestione e razionalizzare i costi. Nella diagnostica e nella gestione clinica di pazienti adulti con disturbi nasali Gelardi ha identificato nella NC una metodica diagnostica strumentale che presenta tali caratteristiche. Nel lavoro di Gelardi i pazienti sono stati suddivisi in base ai risultati del prick test cutaneo e della NC in soggetti con AR o rinite non allergica (NAR)¹⁰. Le forme cellulari sono state ulteriormente suddivise in base al loro citotipo: NARNE (> 50% dei neutrofili con assenza di spore e batteri); NARES (> 20% di eosinofili); NARMA (> 10% dei mastociti); e NARESMA (> 20% degli eosinofili e > 10% dei mastociti)⁹. I risultati dello studio hanno evidenziato come la NC ha aiutato a fornire informazioni rapide sul fenotipo e l'endotipo del paziente rinitico e hanno dimostrato che la NC può essere utilizzata nella diagnosi differenziale della AR/NAR e nel follow-up della valutazione dello stato infiammatorio della mucosa nasale, essendo un esame affidabile, di rapida e semplice esecuzione e di basso costo (Fig. 2). Un altro studio condotto da Gelardi in soggetti adulti in cui è stata utilizzata la citologia nasale ha dimostrato che i pazienti con AR moderata/severa, secondo la classificazione ARIA, mostrano un numero maggiore di neutrofili, mastociti/linfociti rispetto a quelli con AR lieve, secondo la classificazione ARIA¹¹. I risultati di questo studio hanno inoltre evidenziato che la natura intermittente/persistente della malattia non influenza il pattern citologico e che vi è una stretta relazione tra la gravità della AR e l'infiammazione della mucosa nasa-

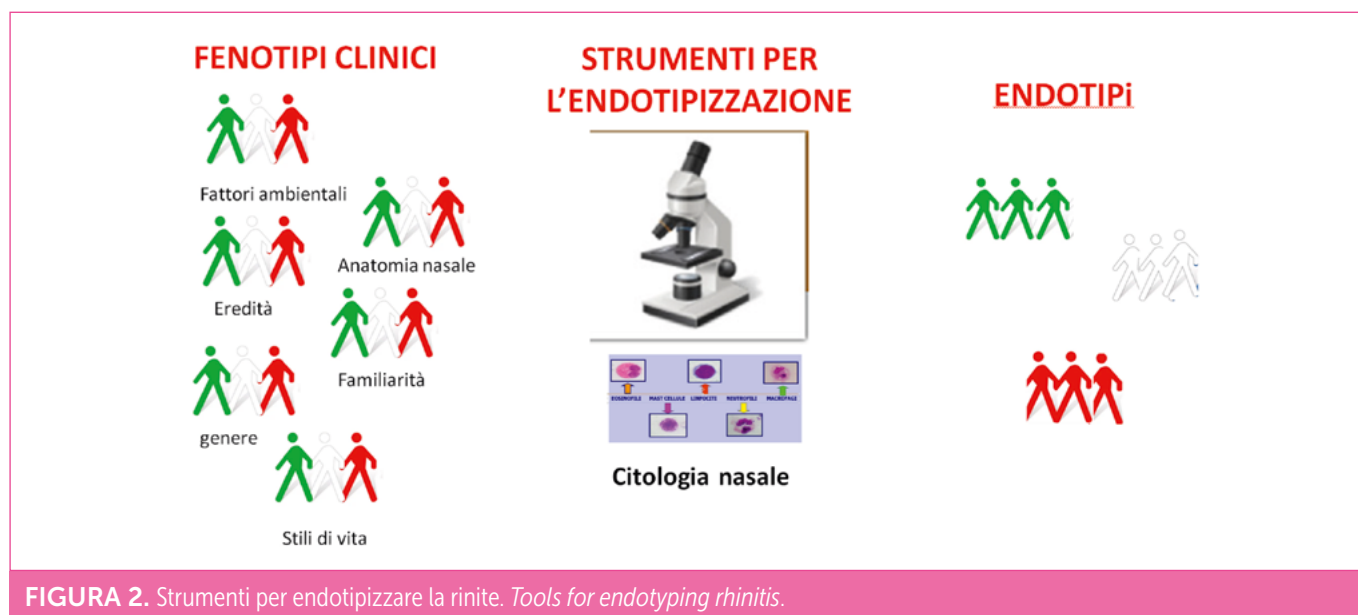


FIGURA 2. Strumenti per endotipizzare la rinite. *Tools for endotyping rhinitis.*

le. La NC risulta dunque un esame utile nell'identificare e quantificare l'infiammazione nasale e nel categorizzare l'eterogeneità clinica della AR¹¹. Ciprandi et al. hanno eseguito uno studio in 52 pazienti (di età media 32 anni) con presenza di sintomi di AR non trattati confrontati con 52 soggetti sani (di età media 27 anni) e hanno, in base alla conta cellulare, discriminato l'endotipo infiammatorio tra i pazienti con AR e i controlli¹². La conta nasale degli eosinofili pari o superiore a 2, la conta dei neutrofili pari o superiore a 5 e la conta dei mastociti pari o superiore a 1 è risultata discriminante tra i pazienti con AR e i controlli. Inoltre, i risultati hanno dimostrato che anche valutare la sola conta degli eosinofili nasali è risultata sufficiente per discriminare tra i pazienti con AR e i controlli¹². Lo studio ha dimostrato che il test della NC è una tecnica standardizzata di supporto nella pratica clinica¹². Recenti studi hanno utilizzato, nei bambini, la NC come strumento per aiutare a suddividere la AR in endotipi infiammatori, cercando di caratterizzare la AR sulla base di reperti immuno-istologici nella mucosa nasale. Nello studio di Malizia et al. in 168 bambini di età 6-14 anni con AR è stata applicata una *latent class analysis* (LCA) basata sulla NC, valutando la conta delle cellule neutrofili, eosinofili e mastociti per identificare gli endotipi di AR¹³. La LCA ha identificato due classi: Classe 1 (n = 126, 75%) con una prevalenza moderata di neutrofili (31,45%) in assenza di infiltrato di mastociti; Classe 2 (n = 42, 25%) con compresenza di un moderato infiltrato di eosinofili (45,24%) e moderato numero di infiltrato di mastociti (50%). Nei bambini della Classe 1 si è riscontrata una condizione di infiammazione persistente minima con presenza di ostruzione nasale. I bambini della Classe 2 con età maggiore rispetto ai bambini della Classe 1 hanno presentato un numero maggiore di SPT positivi, indipendentemente dal tipo di sensibilizzazione (indoor vs outdoor)¹³. Un altro studio eseguito sui bambini di età 6-12 anni con AR stagionale (SAR) suggerisce che il me-

todo di clustering, basato sul lavaggio nasale con valutazione delle citochine e sulla NC con valutazione della conta delle cellule neutrofili, eosinofili, mastociti, è utile per identificare i diversi endotipi di rinite¹⁴. Il rilevamento dei parametri infiammatori nel compartimento nasale ha permesso di identificare nei bambini con SAR tre distinti cluster di SAR. Il Cluster 1 ha mostrato livelli più bassi di IL-5 e IL-17 e livelli intermedi di IL-23 e IFN- γ ; il Cluster 2 ha presentato livelli più elevati di IL-5 e livelli intermedi di IL-17, IL-23 e IFN- γ ; il Cluster 3 ha mostrato livelli più elevati di IL-17, IL-23 e IFN- γ e livelli intermedi di IL-5. Il Cluster 1 ha mostrato una percentuale inferiore della conta cellulare di neutrofili rispetto ai Cluster 2 e 3. Il Cluster 3 ha mostrato una percentuale più alta della conta cellulare dei neutrofili rispetto ai Cluster 1 e 2. Seguendo i criteri delle linee guida ARIA il Cluster 1 comprendeva 40 (50%) bambini, prevalentemente con SAR intermittente e persistente, con livello di gravità moderato/severo, il Cluster 2 comprendeva 25 (31,2%) bambini, prevalentemente con SAR persistente e livello di gravità moderato/severo, il Cluster 3 comprendeva 15 (18,8%) bambini con SAR intermittente principalmente con un livello di gravità lieve. L'utilizzo di questi strumenti ha permesso di endotipizzare l'eterogeneità infiammatoria della SAR¹⁴.

I PROGRESSI DELLA TECNOLOGIA SULL'USO DELLA CITOLOGIA NASALE: PROCESSAZIONE E LETTURA AUTOMATIZZATA

La NC è stata inizialmente utilizzata nella pratica clinica all'inizio del XX secolo, quando Eyer mann era riuscito a identificare alcuni eosinofili nella mucosa nasale di pazienti con sospetta diatesi allergica¹⁵,

per essere poi sostanzialmente "abbandonata" per un lungo periodo; solo recentemente, dai primi anni 2000, grazie alla semplicità della tecnica nonché alla sua bassa invasività, tale metodica è stata progressivamente "riscoperta", acquisendo una maggiore rilevanza nell'algoritmo diagnostico rinologico. Nonostante questo, la NC è usata tutto sommato ancora raramente (per lo più in centri di ricerca universitaria) nella valutazione e gestione dei pazienti con affezioni delle vie aeree superiori, a causa sia della procedura dispendiosa in termini di tempo che della non ottimale riproducibilità dei risultati¹⁶. La tecnica citologica comprende i seguenti passaggi: il campionamento (raccolta delle cellule dalla mucosa nasale), la processazione (che include colorazione e fissazione) e l'osservazione microscopica (lettura)¹⁷. A ogni modo in letteratura non c'è consenso sulla standardizzazione della procedura di elaborazione dei campioni ottenuti attraverso lo scraping nasale (che risulta essere, tra tutte le tecniche di campionamento disponibili, quella più frequentemente utilizzata), sia per quanto riguarda la loro "processazione" sia per ciò che concerne la successiva "lettura"¹⁶. Per quanto riguarda la fase di processazione, uno studio ha confrontato, in termini di contenuto di cellule infiammatorie, qualità dei vetrini e appropriatezza del giudizio clinico, due diversi metodi di elaborazione dello scraping nasale, quello "classico" mediante striscio immediato sul vetrino in contrapposizione a una metodica di citocentrifugazione [previa diluizione del campione con soluzione tamponata con fosfato (PBS) o diotretitolo (DTT)]¹⁸⁻²⁰; la valutazione è stata eseguita su 105 soggetti sintomatici, ciascuno dei quali sottoposto a doppio campionamento della mucosa del turbinato inferiore. L'analisi ha evidenziato una buona correlazione tra le due tecniche per quanto riguarda le percentuali di neutrofili ed eosinofili; inoltre entrambe restituivano cellule ben conservate (anche se con migliore "distribuzione" attraverso la metodica di centrifugazione, mentre nei vetrini strisciati si repertavano più "grumi" di cellule nonché aree coperte da muco) e mostravano una maggiore percentuale di neutrofili nei maschi e nei fumatori così come una maggiore percentuale di eosinofili nei pazienti con poliposi, con una buona concordanza con la sintomatologia clinica, misurata da uno specifico questionario (*Sino-Nasal Outcome Test-22*)¹⁶. Gli autori concludono che vi è una sostanziale sovrapposizione dei risultati ottenuti dai vetrini strisciati rispetto a quelli centrifugati, in termini di affidabilità e ripetibilità; infatti, sebbene la citocentrifugazione consenta di ottenere vetrini di maggiore "qualità", facilitando la successiva procedura di lettura, questo vantaggio è controbilanciato da una procedura di preparazione più complessa e dispendiosa in termini di tempo. A ogni modo, si ritiene che la disponibilità di diversi metodi di processazione possa verosimilmente contribuire a implementare la diffusione della NC come tool nella valutazione delle malattie delle vie aeree superiori¹⁶. Per ciò che concerne la fase di lettura, è noto che l'osservazione al microscopio richiede allo specialista un periodo di tempo oltremodo prolungato. Tuttavia, oggi i moderni sistemi di scansione per preparazioni citologiche (come Optika Optiscan 10, lo scanner Pathoscan, la piattaforma Metafer o quella D-SIGHT) e i nuovi microscopi digitali ad alta qualità consentono di progettare un sistema di supporto software, basato su tecniche di "deep learning", per aiutare lo spe-

cialista in questa fase del proprio lavoro. In effetti quasi tutti gli studi sulla classificazione automatica di elementi cellulari appartengono al campo dell'ematologia. Nell'ambito degli strumenti di Intelligenza artificiale, in pediatria l'applicazione di strumenti di *deep learning* ha permesso da un'enorme quantità di dati di apprendere informazioni che supportano i medici nel caratterizzare l'eterogeneità clinica delle malattie croniche come la rinite e supportare il medico nel percorso diagnostico e delle cure²¹. Dimauro et al. hanno recentemente presentato un sistema grazie al quale è possibile identificare e classificare automaticamente le cellule presenti su un preparato citologico nasale, sulla base di un'immagine digitale del preparato stesso¹⁷. In questo lavoro, il primo step di identificazione cellulare (ottenuta grazie a tecniche di processazione e segmentazione delle immagini; nello specifico l'estrazione cellulare si realizza essenzialmente sulle caratteristiche cromatiche delle cellule, in particolare dei nuclei) ha mostrato una sensibilità maggiore al 97%, mentre il secondo step di classificazione cellulare (su sette citotipi), che si basa su una rete neurale convoluzionale composta da tre blocchi di strati principali, ha raggiunto un'accuratezza di circa il 99% nel set di test e del 94% nel set di validazione. Il rinocitologo può poi rapidamente verificare che la classificazione eseguita dal software sia stata idonea, correggendo eventuali poche cellule non classificate o classificate in modo errato; in questo modo la diagnosi può essere suggerita dal sistema stesso, prendendo in considerazione anche l'anamnesi di ogni paziente, e poi definita in ultima analisi dallo specialista (riferendosi anche ai dati ottenuti dall'esame obiettivo clinico e dagli altri test)¹⁷. Gli autori concludono che tale sistema di lettura si è dimostrato particolarmente efficace, specialmente quando è necessario eseguire diverse valutazioni in contemporanea; permette infatti di fotografare un numero adeguato di campi microscopici selezionati, lasciando che il software esegua una prima classificazione automatica delle cellule ivi riconosciute, che eventualmente lo specialista può successivamente correggere, ove lo ritenga necessario. In conclusione, il conteggio automatico delle cellule comporta da una parte una riduzione del tempo impiegato, dall'altra il passaggio dall'attuale valutazione semi-quantitativa a una più precisa e standardizzata valutazione quantitativa; tutto questo può sicuramente contribuire a un maggiore utilizzo della NC nella pratica clinica quotidiana, a tutti i livelli¹⁷.

CONCLUSIONE

Il ruolo della NC ha evidenziato un approccio non invasivo alla valutazione obiettiva dell'infiammazione nasale, che potrebbe portare a una migliore comprensione della fisiopatologia delle malattie delle vie aeree superiori e avere implicazioni per la diagnosi, il follow-up dei pazienti con rinite. Nonostante la sua semplicità e l'utilità come metodo diagnostico nel campo della rinologia, la NC paradossalmente rimane ancora sotto utilizzata in quanto non ancora standardizzata e quindi non riproducibile²². La NC ha cambiato, a nostro avviso, l'approccio diagnostico e clinico del paziente rinitico, evidenziando la fondamentale importanza di raccogliere dati obiettivi sulla infiammazione. È importante investire maggiormente nella ricerca e nei sistemi di suppor-

to software di lettura per sviluppare maggiormente l'utilizzo della NC come strumento nella pratica clinica. Riteniamo che la NC rappresenti un passo rilevante e affidabile nel lavoro diagnostico e nella prognosi dei pazienti con disturbi nasali, ottenere una diagnosi più accurata con strumenti non invasivi come NC, si traduce in migliori risultati clinici e in una migliore gestione del paziente affetto da rinite.

Contribuito degli autori

Velia Malizia ideazione, ricerca bibliografica, stesura del testo e revisione finale; Massimo Landi ricerca bibliografica e revisione del testo, Stefano Pattini ricerca bibliografica, stesura del testo e revisione finale. Alessandro Travaglini, Maria Antonia Brighetti, Auro Della Giustina, Ifigenia Sfika, Alessandro Di Menno Di Buccianico, Matteo Gelardi, Salvatore Tripodi (coordinatore): ricerca bibliografica e sugli store e revisione del testo e approvazione.

Bibliografia

- Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J* 2004;24:758-764. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00013904>
- Bachert C, van Cauwenberge P, Olbrecht J, et al. Prevalence, classification and perception of allergic and nonallergic rhinitis in Belgium. *Allergy* 2006;61:693-698. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01054.x>
- Brhel P. Occupational respiratory diseases in the Czech Republic. *Ind Health* 2003;41:121-123. <https://doi.org/10.2486/indhealth.41.121>
- Heffler E, Landi M, Caruso C, et al. Nasal cytology: methodology with application to clinical practice and research. *Clin Exp Allergy* 2018;48:1092-1106. <https://doi.org/10.1111/cea.13207>
- Papadopoulos NG, Aggelides X, Stamataki S, et al. New concepts in pediatric rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2021;32:635-646. <https://doi.org/10.1111/pai.13454>
- Roberts G, Xatzipsalti M, Borrego LM, et al. E. Paediatric rhinitis: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 2013;68:1102-1116. <https://doi.org/10.1111/all.12235>
- Tripodi S, Giannone A, Sfika I, et al. Digital technologies for an improved management of respiratory allergic diseases: 10 years of clinical studies using an online platform for patients and physicians. *Ital J Pediatr* 2020;46:105. <https://doi.org/10.1186/s13052-020-00870-z>
- Hellings PW, Fokkens WJ, Bachert C, et al. ARIA and EPOS working groups. Positioning the principles of precision medicine in care pathways for allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis - A EUFOREA-ARIA-EPOS-AIRWAYS ICP statement. *Allergy* 2017;72:1297-1305. <https://doi.org/10.1111/all.13162>
- Chawes BL, Kreiner-Møller E, Bisgaard H. Upper and lower airway patency are associated in young children. *Chest* 2010;137:1332-1337. <https://doi.org/10.1378/chest.09-2601>
- Gelardi M, Landi M, Ciprandi G. The pragmatic role of nasal cytology: A point-of-care testing to implement precision medicine in clinical practice. *Rev Alerg Mex* 2018;65:259-263. <https://doi.org/10.29262/ram.v65i3.373>
- Gelardi M, Incorvaia C, Fiorella ML, et al. Italian academy of nasal cytology. The clinical stage of allergic rhinitis is correlated to inflammation as detected by nasal cytology. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2011;10:472-476. <https://doi.org/10.2174/187152811798104917>
- Ciprandi G, Silvestri M. Standardization of nasal cytologic testing in the workup of allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019;123:213-216. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.05.006>
- Malizia V, Cilluffo G, Fasola S, et al. Endotyping allergic rhinitis in children: A machine learning approach. *Pediatr Allergy Immunol* 2022;33(Suppl 27):18-21. <https://doi.org/10.1111/pai.13620>
- Malizia V, Ferrante G, Cilluffo G, et al. Endotyping seasonal allergic rhinitis in children: a cluster analysis. *Front Med (Lausanne)* 2022;8:806911. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.806911>
- Eyermann CH. LXXIII. Nasal manifestations of allergy. *Ann Otol Rhinol* 1927;36:808-815. <https://doi.org/10.1177/000348942703600323>
- Bartoli ML, Cristofani-Mencacci L, Scarano M, et al. Nasal Cytology: a comparative study of two different techniques of processing-smear versus cytocentrifuged slides. *Mediators Inflamm* 2018;2018:1640180. <https://doi.org/10.1155/2018/1640180>
- Dimauro G, Ciprandi G, Deperte F, et al. Nasal cytology with deep learning techniques. *Int J Med Inform* 2019;122:13-19. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2018.11.010>
- Gelardi M, Iannuzzi L, Quaranta N, et al. Nasal cytology: practical aspects and clinical relevance. *Clin Exp Allergy* 2016;46:785-792. <https://doi.org/10.1111/cea.12730>
- Raulf-Heimsoth M, Wirtz C, Papenfuss F, et al. Nasal lavage mediator profile and cellular composition of nasal brushing material during latex challenge tests. *Clin Exp Allergy* 2000;30:110-121. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2000.00690.x>
- Piacentini GL, Kaulbach H, Scott T, et al. Evaluation of nasal cytology: a comparison between methods. *Allergy* 1998;53:326-328. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1998.tb03898.x>
- Ferrante G, Licari A, Fasola S, et al. Artificial intelligence in the diagnosis of pediatric allergic diseases. *Pediatr Allergy Immunol* 2021;32:405-413. <https://doi.org/10.1111/pai.13419>
- Giancaspro R, Landi M, Gelardi M, et al. The nose: the silent zone of scientific research. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2022;129:646. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2022.07.031>