



Université de Montréal

VALIDATION DE L'ÉCHOGRAPHIE DES BULLES TYMPANIQUES POUR LE  
DIAGNOSTIC D'OTITE MOYENNE CHEZ LE VEAU

par VÉRONIQUE BERNIER GOSSELIN

Département de Sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire en vue de l'obtention du grade de  
maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences vétérinaires, option sciences cliniques

Décembre 2013

©Véronique Bernier Gosselin, 2013

## Résumé en français

L'otite moyenne est une condition fréquente chez le veau et peut parfois être subclinique, rendant difficile son diagnostic à la ferme. L'objectif de cette étude est d'estimer la sensibilité et la spécificité de l'échographie des bulles tympaniques pour le diagnostic d'otite moyenne clinique et subclinique et de déterminer sa répétabilité. Quarante veaux âgés entre 19 et 50 jours ont été sélectionnés dans une ferme de veaux de grain, en fonction des résultats de l'échographie réalisée à la ferme (A). L'échographie a été réalisée une seconde fois par le même échographiste (A') et par un second échographiste (B), et le diagnostic noté pour chaque bulle tympanique comme étant négatif, suspect ou positif. Les images ont été enregistrées pour relecture et le diagnostic noté. Les veaux ont été euthanasiés, soumis en nécropsie et l'histologie a été utilisée comme méthode de référence. À l'histologie, 45 bulles tympaniques étaient atteintes d'otite moyenne et 35 bulles tympaniques étaient saines. Selon l'échographiste et la classification des bulles tympaniques suspectes, la sensibilité de l'échographie variait de 32% à 63% et la spécificité variait de 84% à 100%. La répétabilité était modérée, avec des valeurs de kappa de 0,53 entre A' et B, de 0,48 entre A et A', et de 0,58 et 0,75 pour la relecture de leurs images par A' et B respectivement.

Mots-clés: veau, otite moyenne, échographie, bulle tympanique, histopathologie

## Résumé en anglais

Otitis media is a common disease in calves but can remain subclinical, making diagnosis challenging on the farm. The objective of this study is to estimate the sensitivity and specificity of the ultrasound imaging technique of tympanic bulla for the diagnosis of clinical and subclinical otitis media, and to determine its repeatability. Forty calves 19-50 days of age were selected from a veal calf farm, on the basis of results of ultrasound examination performed on the farm (A). Ultrasound examination was performed a second time by the same ultrasonographer (A') and by another ultrasonographer (B), and diagnosis was recorded for both tympanic bulla as negative, suspicious or positive. Images were recorded for further re-reading. Calves were euthanized and submitted for necropsy, and histopathologic diagnosis was used as gold standard. Based upon histology, 45 bullae were affected with otitis media and 35 bullae were unaffected. Depending on ultrasonographer and on classification of suspicious bullae, sensitivity varies from 32% to 63% and specificity varies from 84% to 100%. Repeatability is moderate, with kappa values of 0.53 for A'-B, 0.48 for A-A', and 0.58 and 0.75 for re-reading of A' and B, respectively.

Mots-clés: calf, otitis media, ultrasonography, tympanic bulla, histopathology

# Table des matières

Résumé en français .....	i
Résumé en anglais.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures .....	ix
Liste des abréviations .....	x
Remerciements.....	xi
I – Introduction .....	1
II – Recension de la littérature.....	2
1. L’oreille des bovins .....	2
1.1 Anatomie.....	2
1.1.1 Oreille externe .....	3
1.1.2 Oreille moyenne.....	3
1.1.3 Oreille interne .....	3
1.2 Neuroanatomie .....	4
1.2.1 Nerf facial.....	4
1.2.2 Nerf vestibulo-cochléaire .....	4
1.2.3 Nerfs glossopharyngien, vague et accessoire .....	4
1.2.4 Fibres du système nerveux autonome .....	4
2. L’otite moyenne/interne chez les bovins .....	6
2.1 Définition.....	6
2.2 Épidémiologie .....	6
2.2.1 Âge.....	6

2.2.2 Type de production .....	6
2.2.3 Sexe .....	6
2.2.4 Facteurs de risque .....	7
2.2.5 Prévalence .....	7
2.3 Étiologie.....	8
2.3.1 Bactéries .....	8
2.3.2 Virus.....	8
2.3.3 Parasites.....	8
2.4 Pathogénie.....	9
2.5 Signes cliniques.....	9
2.5.1 Signes généraux .....	9
2.5.2 Signes neurologiques .....	10
2.5.2.1 Nerf facial .....	10
2.5.2.2 Nerf vestibulo-cochléaire.....	11
2.5.2.3 Nerfs glossopharyngien, vague et accessoire.....	11
2.5.2.4 Fibres du système nerveux autonome.....	11
2.5.3 Maladies concomitantes .....	12
2.5.4 Validité diagnostique de l'examen clinique.....	12
2.6 Diagnostic différentiel.....	13
2.7 Examens complémentaires .....	13
2.7.1 Examen de l'exsudat.....	13
2.7.2 Culture.....	13
2.7.3 Potentiels auditifs évoqués .....	14
2.7.4 Analyse du liquide céphalo-rachidien.....	14
2.7.5 Imagerie médicale.....	14

2.8 Nécropsie .....	14
2.8.1 Examen macroscopique .....	14
2.8.2 Examen microscopique .....	15
2.9 Traitement .....	16
2.9.1 Antibiothérapie systémique .....	16
2.9.2 Traitement local .....	16
2.9.3 Traitement chirurgical .....	17
2.9.4 Traitements de support .....	17
2.10 Pronostic .....	17
3. Imagerie médicale des otites moyennes .....	19
3.1 Radiographie .....	19
3.1.1 Technique .....	19
3.1.2 Images normales .....	19
3.1.3 Images anormales .....	20
3.1.4 Validité .....	21
3.2 Tomodensitométrie .....	22
3.2.1 Technique .....	22
3.2.2 Images normales .....	22
3.2.3 Images anormales .....	22
3.2.4 Validité .....	23
3.3 Échographie .....	24
3.3.1 Technique .....	24
3.3.2 Images normales .....	25
3.3.3 Images anormales .....	27
3.3.4 Validité .....	29

3.4 Combinaison de techniques d'imagerie médicale.....	30
Résumé de la revue de littérature.....	31
III – Article.....	32
Abstract.....	33
Introduction.....	34
Materials and methods.....	35
Results.....	39
Discussion.....	41
Endnotes.....	46
References.....	47
Tables.....	50
Figures.....	53
IV – Discussion générale.....	58
1. Changements échographiques.....	58
1.1 Description des anomalies.....	58
1.2 Validation des anomalies.....	58
2. Validation de l'échographie.....	59
2.1 Sensibilité.....	59
2.1.1 Résultats de l'étude.....	59
2.1.2 Comparaison à d'autres études.....	60
2.2 Spécificité.....	61
2.2.1 Résultats de l'étude.....	61
2.2.2 Comparaison à d'autres études.....	61
2.3 Variabilité.....	62
3. Sensibilité de l'examen neurologique.....	62



4. Histologie.....	63
4.1 Comparaison à l'examen macroscopique .....	63
4.2 Méthode d'évaluation.....	63
4.3 Interprétation .....	64
4.4 Importance clinique .....	64
5. Défis et solutions du projet.....	65
5.1 Sélection des sujets .....	65
5.2 Bulles tympaniques suspectes .....	66
5.3 Appareil et sonde à échographie.....	66
V – Conclusion .....	68
Bibliographie .....	xii

## Liste des tableaux

### Article

Table 1. Distribution of 80 TB according to otitis media histopathological, ultrasonographic and clinical status.....	50
Table 2. Distribution of the 80 TB according to age of calves and histopathological lesions grade.....	51
Table 3. Sensitivity and specificity of three ultrasound examinations alone and in combination with NE for the diagnosis of otitis media in calves .....	52

## Liste des figures

Figure 1 – Schéma anatomique et microphotographie de l'oreille moyenne et interne .....	2
Figure 2 – Photographie d'un veau atteint d'otite moyenne.....	10
Figure 3 – Photographies de bulles tympaniques atteintes d'otite moyenne.....	15
Figure 4 – Radiographie latérale oblique d'une bulle tympanique saine chez le veau .....	20
Figure 5 – Tomodensitométrie d'un veau atteint d'otite moyenne unilatérale.....	23
Figure 6 – Dessin anatomique de la bulle tympanique et des structures adjacentes.....	25
Figure 7 – Échographie de la bulle tympanique, position 1 .....	26
Figure 8 – Échographie de la bulle tympanique, position 2 .....	27
Figure 9 – Échographie de la bulle tympanique, position 3 .....	27
Figure 10 – Échographie de bulles tympaniques atteintes d'otite .....	29

## Article

Figure 1 - Photomicrograph of the TB from a calf, lesion grade 2.....	53
Figure 2 - Photomicrograph of the TB from a calf, lesion grade 4.....	54
Figure 3 - Ultrasound images of a TB negative and positive for otitis media in position 2 .....	55
Figure 4 - Ultrasound images of a TB negative and positive for otitis media in position 3 .....	56
Figure 5 - Ultrasound image of a TB affected with otitis media in position 1 .....	57

## Liste des abréviations

*BAER: Brainstem Auditory Evoked Response*

CHUV : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire

LCR: Liquide céphalo-rachidien

PAE: Potentiels auditifs évoqués

## Article

CHUV : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire

CT: Computed Tomography

NE: Neurological Examination

TB: Tympanic Bulla

US: Ultrasonography

## Remerciements

Merci à Dr David Francoz d'avoir accepté la direction de ce projet, d'avoir cru en mes capacités, de m'avoir guidée, conseillée, soutenue.

Merci à Dre Marie Babkine d'avoir semé dans mon esprit l'intérêt pour la recherche et de m'avoir encouragée à poursuivre dans cette voie.

Merci aux collaborateurs, Dr Sylvain Nichols, Dr Malcolm Gains et Dre Julie Arsenault pour leur précieux apport tout au long du projet, et à David Gosselin pour son aide technique lors de la manipulation des veaux.

Merci à la compagnie DGF Inc. pour le prêt de l'échographe et à M. Jean Dulmaine pour sa collaboration lors de la sélection des veaux à la ferme.

Merci au Fonds Zoetis pour la recherche clinique qui a rendu possible la réalisation de ce projet.

Merci au Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada pour le soutien financier qui m'a été accordé.

## I – Introduction

L'otite moyenne chez les veaux est responsable de pertes économiques en raison des coûts de traitement, du travail additionnel du personnel soignant et d'une augmentation de la mortalité (1-2). La prévalence d'otite moyenne clinique chez les veaux non sevrés varie de 3% à 78% (3-8). Toutefois, parce que l'infection peut être subclinique, la prévalence réelle est probablement sous-estimée (9). Les signes cliniques les plus fréquents sont une oreille tombante, une ptose et une tête penchée (9-11). Lorsque la détection des otites est basée sur la présence de déficits neurologiques, seulement 61,1% des cas sont identifiés (12). Les cas chroniques pouvant être réfractaires au traitement (9, 13), le diagnostic en phase précoce ou subclinique est souhaitable. Les techniques d'imagerie médicale ont le potentiel de détecter les otites moyennes cliniques et subcliniques (14). Entre la radiographie, la tomographie et l'échographie, seule l'échographie est accessible aux vétérinaires en pratique ambulatoire. La technique a récemment été décrite mais elle reste à être validée sur des veaux sains et atteints de façon clinique ou subclinique.

## II – Recension de la littérature

### 1. L'oreille des bovins

#### 1.1 Anatomie

L'oreille est séparée en trois régions anatomiques: l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne, dont les fonctions sont respectivement la captation, la conduction et la transmission sous forme d'influx nerveux des vibrations sonores.

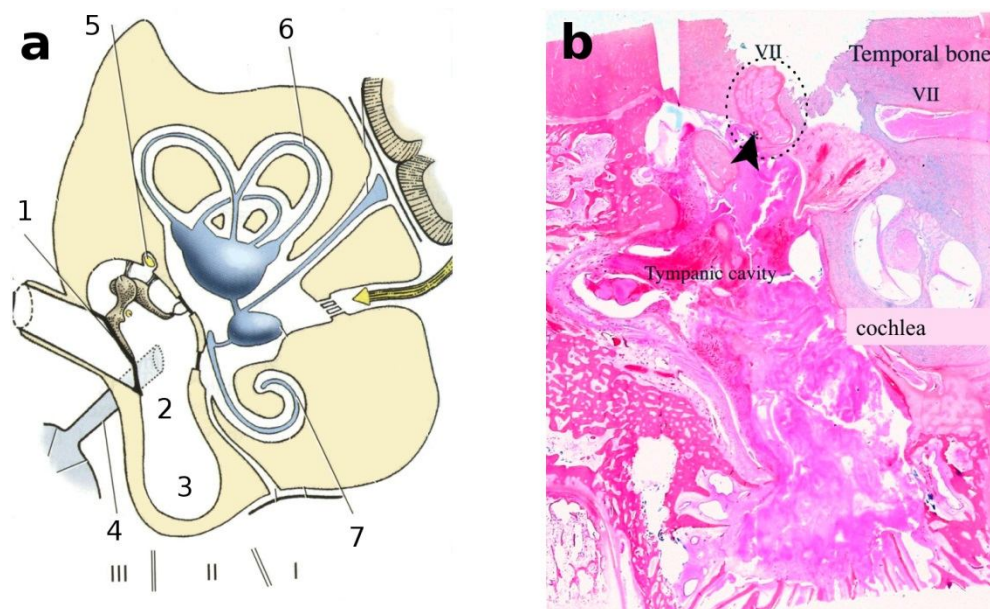


Figure 1 – (a) Schéma anatomique de l'oreille interne (I), moyenne (II) et externe (III); 1 = membrane tympanique; 2 = cavité tympanique; 3 = bulle tympanique; 4 = trompe d'Eustache; 5 = nerf facial; 6 = canal semi-circulaire; 7 = cochlée. (Modifiée de : Textbook of Veterinary Anatomy, 4e éd., Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Figure 9-24 B, p. 347. Copyright Saunders/Elsevier (2010). Reproduit avec permission) (b) Microphotographie de l'oreille moyenne et interne; le nerf facial (encerclé) est séparé de la cavité tympanique par du tissu conjonctif (flèche). (Avec l'aimable autorisation de Dr Malcolm Gains, Université de Montréal)

### 1.1.1 Oreille externe

L'oreille externe est composée du pavillon de l'oreille et du conduit auditif externe. Elle est séparée de l'oreille moyenne par la membrane tympanique (15-16).

### 1.1.2 Oreille moyenne

L'oreille moyenne est composée du récessus épitympanique dorsalement, de la cavité tympanique et de la bulle tympanique en portion ventrale. Les osselets auditifs, situés en partie dans le récessus épitympanique et en partie dans la cavité tympanique, servent de transmetteurs mécaniques pour les vibrations sonores, de la membrane tympanique vers la fenêtre vestibulaire. La cavité tympanique inclut la membrane tympanique, la fenêtre vestibulaire, la fenêtre cochléaire et en portion rostro-médiale l'ouverture de la trompe d'Eustache reliant la cavité tympanique au nasopharynx (15-17). Chez le bovin, la bulle tympanique est divisée en multiples alvéoles par de fines trabécules osseuses perpendiculaires à sa paroi (1, 18).

### 1.1.3 Oreille interne

L'oreille interne est située dans la portion pétreuse de l'os temporal. Le vestibule, la cochlée et les canaux semi-circulaires forment le labyrinthe. Il est constitué d'une partie osseuse et, à l'intérieur de celle-ci, d'une partie membraneuse, lesquelles sont remplies respectivement de périlymphe et d'endolymphe (15-16). Les vibrations sonores sont transmises, *via* la périlymphe du vestibule, de la fenêtre vestibulaire à la cochlée dans laquelle sont situées les cellules auditives qui font synapse avec les neurones du nerf cochléaire (19). Les canaux semi-circulaires, avec le saccule et l'utricule situés dans le vestibule, font partie du système vestibulaire responsable du sens de l'équilibre, deuxième fonction de l'oreille interne. Les cellules ciliées situées dans ces structures captent les mouvements et la position de la tête et font synapse avec les neurones du nerf vestibulaire (19).



## 1.2 Neuroanatomie

### 1.2.1 Nerf facial

Les corps des neurones du nerf facial (nerf crânien VII) se situent dans le noyau facial en région ventrolatérale de la médulla rostrale. Les axones quittent la médulla au niveau du corps trapézoïde et passent dans le méat acoustique interne dans la partie pétreuse de l'os temporal. Ils cheminent ensuite dans le canal facial de l'os temporal, dont une portion longe la cavité tympanique caudalement et de laquelle il est séparé uniquement par du tissu conjonctif (Figure 1b). Le nerf facial émerge du foramen stylomastoïdien et se divise en branches qui vont innover l'oreille, les paupières, le nez, les joues et les lèvres (15-17, 19).

### 1.2.2 Nerf vestibulo-cochléaire

Les nerfs cochléaire et vestibulaire sont formés de neurones bipolaires dont les corps forment, respectivement, le ganglion spiral situé au centre de la cochlée osseuse et le ganglion vestibulaire dans l'os temporal. Leurs axones se rejoignent pour former le nerf vestibulo-cochléaire (nerf crânien VIII) dans le méat acoustique interne, où il chemine avec le nerf facial (19).

### 1.2.3 Nerfs glossopharyngien, vague et accessoire

Les nerfs glossopharyngien, vague et accessoire (nerfs crâniens IX, X et XI) traversent ensemble le foramen jugulaire, situé à proximité du méat acoustique interne. Ces trois nerfs cheminent ensuite en direction ventrale contre la paroi de la bulle tympanique, en partie médiale, caudale et caudo-latérale respectivement (16). Au bord ventral de la bulle tympanique, la branche interne du nerf crânien XI se joint au nerf crânien X et ses fibres vont innover, *via* le nerf laryngé récurrent, les muscles du larynx et l'œsophage cervical et thoracique crânial (15-16, 19).

### 1.2.4 Fibres du système nerveux autonome

Des fibres parasympathiques cheminent avec le nerf facial dans le méat acoustique interne. Dans le canal facial, elles bifurquent pour rejoindre le nerf grand pétreux ou la corde du tympan, et innoveront les glandes lacrymales, nasales, palatines et les glandes sublinguale et

mandibulaire (15-16, 19). Chez le bovin, les fibres parasympathiques quittent le canal facial avant son passage à proximité de la cavité tympanique (20).

## 2. L'otite moyenne/interne chez les bovins

### 2.1 Définition

L'otite se définit par l'inflammation de l'oreille et est classifiée comme externe, moyenne et/ou interne en fonction de la région de l'oreille qui est affectée. Chez les ruminants, on réfère souvent à cette condition par les termes d'otite moyenne/interne.

### 2.2 Épidémiologie

#### 2.2.1 Âge

Chez plusieurs espèces animales et chez l'humain, l'otite moyenne affecte principalement les individus en bas âge. Les veaux sont affectés majoritairement vers l'âge de 2 à 8 semaines, les agneaux le sont en période pré-sevrage et les porcelets entre 1 et 4 mois d'âge. L'otite peut également se manifester chez les veaux à une semaine d'âge et chez les veaux et agneaux sevrés (9-11, 13, 21-24). Chez l'espèce humaine, plus de 80% des enfants ont au moins un épisode d'otite moyenne avant l'âge de 3 ans (25) et l'incidence est plus élevée entre 6 et 12 mois d'âge (26).

#### 2.2.2 Type de production

L'otite est rapportée dans les élevages laitiers, de veaux lourds et dans les parcs d'engraissement. La prévalence serait toutefois moins élevée chez les veaux en finition, atteints de façon chronique, que chez les veaux en semi-finition présentant une forme aiguë de la condition (1). L'otite moyenne est observée chez les races de boucherie et leurs croisements ainsi que chez les races laitières.

#### 2.2.3 Sexe

Les mâles et les femelles sont susceptibles (9). Certains auteurs rapportent une plus grande proportion de mâles atteints, expliquée par l'hypothèse d'une plus faible valeur économique sur les élevages laitiers, entraînant l'absence de repas de colostrum et l'alimentation par du lait de moins bonne qualité (21). D'autres auteurs rapportent une plus grande proportion de femelles

en centre de référence, ce qui peut encore s'expliquer par une plus grande valeur économique de celles-ci et par conséquent une plus grande probabilité de référence (10-11). Chez l'humain, le sexe masculin constitue un facteur de risque (27).

#### 2.2.4 Facteurs de risque

Plusieurs des principaux facteurs de risque sont communs parmi différentes espèces, notamment 1) une infection respiratoire, chez le veau, l'agneau et l'enfant; 2) l'alimentation au biberon, chez l'agneau et l'enfant; et 3) le contact direct ou indirect avec des individus excréteurs chez le veau ou chez l'enfant la présence de frères et sœurs et le type de garderie fréquenté. Chez le veau, l'alimentation avec du lait contaminé par *Mycoplasma bovis* constitue également un facteur de risque, tandis que la densité animale, les conditions ambiantes et l'immunité peuvent jouer un rôle dans l'incidence de la maladie (1-2, 5, 9, 13, 22, 26-27).

#### 2.2.5 Prévalence

Les otites moyennes peuvent se présenter de façon sporadique ou sous forme d'épidémie. Chez les veaux, la prévalence clinique peut ainsi varier de moins de 10% à 80% lors d'épidémie. Toutefois, la prévalence réelle est probablement sous-estimée (9). Parmi les agneaux et porcelets soumis en nécropsie, la prévalence varie de 2,97% à 39% (22-23) et de 68,8% à 76% (24, 28-29), respectivement.

Une variation saisonnière significative a été rapportée, la prévalence étant plus élevée en hiver (1, 3, 5, 10-11, 21). Cela pourrait s'expliquer par l'observation, lors de températures froides, d'une augmentation de l'excrétion nasale par les animaux porteurs ainsi qu'une meilleure survie de *Mycoplasma spp.* dans l'environnement, favorisant la transmission directe et indirecte (13). Par ailleurs, cette variation peut mimer celles des infections respiratoires en parc d'engraissement (1) et des mammites à *Mycoplasma spp.* (21). Une variation annuelle significative a également été rapportée, associée selon les auteurs à des hivers plus rigoureux, à une variation de prévalence de mammites à *Mycoplasma spp.* ou à l'émergence d'une souche plus pathogène de *Mycoplasma spp.* (1, 10-11, 21).

## 2.3 Étiologie

### 2.3.1 Bactéries

Chez les veaux, tout comme chez les agneaux, les porcelets, les lapins et les enfants, les principaux agents pathogènes isolés lors d'otite moyenne sont des pathogènes respiratoires, tandis que chez les chiens et chats, les pathogènes isolés sont ceux associés à l'otite externe. Chez l'espèce bovine, *Mycoplasma bovis* est l'agent le plus souvent isolé (plus de 80% des cas), en culture pure ou en association avec les autres principaux agents impliqués (10-11, 13, 21). Parmi ces derniers, on compte *Pasteurella multocida*, également fréquemment isolé chez les agneaux, les porcelets et les lapins, ainsi que *Mannheimia hemolytica* et *Trueperella pyogenes* (anciennement *Arcanobacterium pyogenes*), également fréquemment isolés respectivement chez les agneaux et les porcelets (9, 22-23, 30, 31). Les autres agents rapportés incluent *Histophilus somni*, *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, des levures ainsi que des *Mycoplasma spp.* autres que *M. bovis*, tels que *M. bovirhinis*, *M. alkalescens* et *M. arginini*. *Trueperella pyogenes*, *M. bovirhinis* et *M. arginini* sont considérés par certains auteurs comme agents opportunistes (6, 21). Chez le porc, les *Mycoplasma spp.* isolés sont *M. hyorhinis* et *M. arginini*, mais l'isolement de ce dernier n'est pas corrélé à la présence de lésions histologiques (24, 29).

### 2.3.2 Virus

Chez l'enfant, des virus ont été identifiés dans l'effusion d'otite moyenne, parfois en l'absence de bactéries (27). Le rôle des virus dans la pathogénie de l'otite moyenne chez le bovin n'a pas été démontré jusqu'ici (4).

### 2.3.3 Parasites

Des parasites peuvent engendrer une otite moyenne et interne secondairement à une otite externe. Le nématode *Rhabditis bovis* est une importante cause d'otite externe chez les bovins adultes principalement, dans les pays à climat tropical ou subtropical. Les mites *Raillietia spp.*, principalement *R. auris*, infestent les oreilles des bovins mondialement, tandis que *Psoroptes spp.* ont été rapportées chez la chèvre, le mouton et le cerf de Virginie (9, 30, 32).

## 2.4 Pathogénie

L'otite moyenne peut se développer par voie hématogène ou secondairement à une otite externe, notamment chez les carnivores domestiques, les lapins, de même que les ruminants lors d'infestation parasitaire entraînant la rupture du tympan. Toutefois, la voie la plus fréquente chez le veau, ainsi que chez le porcelet, le lapin, l'enfant et à un moindre degré chez le chat, serait la migration *via* la trompe d'Eustache de pathogènes suite à la colonisation du nasopharynx (9, 24, 26, 33). Chez l'enfant, les infections virales des voies respiratoires supérieures précèdent souvent les otites moyennes (26). Ces infections, avec et parfois sans la colonisation du nasopharynx par les bactéries responsables d'otites, constituent un facteur de risque du dysfonctionnement de la trompe d'Eustache et de l'otite moyenne (26). Une infection de la trompe d'Eustache avec ou sans otite moyenne a été induite chez des veaux par l'administration orale de lait contaminé par *M. bovis* (2). L'otite moyenne n'a pas été observée sans infection de la trompe d'Eustache. Une forte corrélation positive a été observée entre le degré de colonisation de la trompe d'Eustache et celui de la bulle tympanique ( $R^2 = 0,99$ ,  $p \leq 0,001$ ), supportant l'hypothèse de l'infection par voie ascendante. De façon similaire chez le porc, l'inflammation de la trompe d'Eustache précède celle de la cavité tympanique. La gravité et l'étendue des lésions augmentent avec l'âge (24).

Chez l'enfant, l'otite moyenne est considérée comme progressant sur un *continuum* allant de l'otite moyenne aiguë à l'otite moyenne aiguë récurrente puis à l'otite moyenne chronique avec effusion (26).

## 2.5 Signes cliniques

### 2.5.1 Signes généraux

Les signes cliniques les plus fréquents sont une ptôse auriculaire et palpébrale et une tête penchée (9-11). L'atteinte clinique est unilatérale dans 35% à 85% (5, 11), toutefois les lésions peuvent être bilatérales malgré une manifestation clinique unilatérale (1, 9).

Un exsudat purulent est parfois observé dans le canal auditif externe lors de rupture du tympan (1, 4, 10), rapportée comme se produisant 2 à 3 jours après l'apparition des signes cliniques

(5). D'autres signes cliniques non-spécifiques rapportés incluent de la fièvre, de l'abattement, de l'anorexie et de l'émaciation (3-5, 20, 34). L'otite moyenne peut également être subclinique et diagnostiquée en nécropsie ou par imagerie médicale (9, 11-12, 19, 22, 33).

## 2.5.2 Signes neurologiques

### 2.5.2.1 Nerf facial

De façon plus spécifique, l'atteinte du nerf facial varie d'une légère parésie à une paralysie complète de l'oreille, des lèvres, des paupières et des narines (Figure 2). Outre l'oreille tombante et la ptôse palpébrale, elle peut se manifester par un léger ptyalisme, une fermeture incomplète des paupières, une diminution de l'angle des cils de la paupière supérieure, un réflexe palpébral et une réponse à la menace absents, et une mobilité de l'oreille diminuée ou absente en réponse à la stimulation de la peau du canal auditif externe. Contrairement au cheval et aux petits ruminants, la déviation du nez et de la lèvre vers le côté opposé à l'atteinte n'est pas observée chez le veau (9, 12, 19-20).

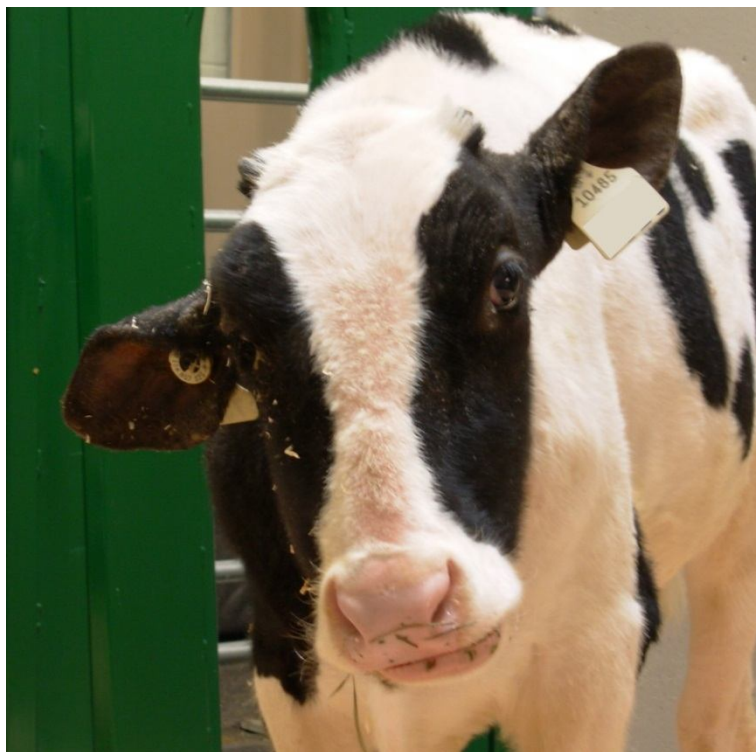


Figure 2 – Photographie d'un veau atteint d'otite moyenne, présentant une ptôse de l'oreille. (Offert par l'Hôpital des animaux de la ferme, CHUV, Université de Montréal)

#### 2.5.2.2 Nerf vestibulo-cochléaire

L'atteinte des récepteurs et/ou du nerf vestibulaires est associée à l'extension de l'otite vers l'oreille interne. Cette atteinte est toujours accompagnée d'une atteinte du nerf facial (12), ce qui pourrait s'expliquer par la proximité du nerf vestibulo-cochléaire et du nerf facial dans le méat acoustique interne (19). De plus, chez des porcs présentant une otite chronique avec atteinte du tronc cérébral, le nerf vestibulo-cochléaire est toujours atteint, suggérant que l'extension de l'infection de l'oreille interne vers le cerveau se produit en longeant le nerf vestibulo-cochléaire (24). Outre la tête penchée, l'atteinte vestibulaire périphérique peut se manifester par une légère ataxie, une tendance à tourner et à tomber vers le côté atteint, l'absence de nystagmus physiologique, la présence d'un nystagmus pathologique et un strabisme.

#### 2.5.2.3 Nerfs glossopharyngien, vague et accessoire

Chez des bovins atteints d'otite moyenne, des signes cliniques et anomalies lors d'examen endoscopique des voies respiratoires supérieures et de l'œsophage, associés à une possible atteinte des nerfs crâniens IX, X et XI, ont également été rapportés. Ceux-ci incluent de la dysphagie, des régurgitations, un collapsus du nasopharynx, un déplacement dorsal du voile du palais, une hémiparésie laryngée, une hypomotilité et hypotonicité de l'œsophage (11, 20). Tel que mentionné précédemment, le méat acoustique interne, abritant les nerfs facial et vestibulo-cochléaire, pourrait être le foyer de l'extension de l'infection de l'oreille interne vers le cerveau. Les nerfs crâniens IX, X et XI pourraient être affectés alors qu'ils traversent le foramen jugulaire situé à proximité du méat acoustique interne. L'hypothèse d'atteinte des nerfs crâniens IX et X sur leur passage en périphérie de la bulle tympanique a également été émise (20). L'atteinte du nerf crânien XI a été suspectée en raison de l'hémiparésie laryngée observée chez deux sujets (11). La branche interne pourrait donc être affectée soit dans le foramen jugulaire, soit en périphérie de la bulle tympanique conjointement au nerf vague. L'atteinte de ces nerfs n'a pas été rapportée chez d'autres espèces.

#### 2.5.2.4 Fibres du système nerveux autonome

Il n'y a pas de diminution de sécrétion lacrymale telle qu'observée chez les carnivores domestiques en raison du cheminement différent des fibres parasympathiques chez les bovins.



À l'inverse, un épiphora est communément rapporté. Chez les carnivores domestiques, l'atteinte des fibres sympathiques sur leur trajet entre le ganglion cervical crânial et les muscles lisses des structures oculaires donne lieu à un syndrome de Horner, caractérisé par un myosis, un rétrécissement de la fente palpébrale, une protrusion de la troisième paupière et une énophtalmie. Cette atteinte n'est pas observée chez les ruminants atteints d'otite moyenne (19).

Les signes cliniques observés moins fréquemment incluent de l'hyperesthésie faciale, une difficulté dans la préhension et la mastication de nourriture, une raideur du cou, de l'opisthotonos et des convulsions (9, 11, 20).

### 2.5.3 Maladies concomitantes

L'otite moyenne est souvent observée en association avec une bronchopneumonie, et moins fréquemment avec une arthrite septique (1, 9-11, 13, 21). Les mêmes pathogènes sont parfois isolés de l'oreille moyenne et des poumons ou du liquide synovial (4, 10-11, 21). Cette association est également observée chez le porc (24).

### 2.5.4 Validité diagnostique de l'examen clinique

Le diagnostic clinique d'otite moyenne est basé sur la mise en évidence de parésie ou de paralysie faciale. L'examen neurologique, lorsque comparé à la tomodensitométrie, aurait une sensibilité de 61,1% et une spécificité de 93,8% (12). L'examen otoscopique est jugé utile, bien que difficile à réaliser en raison de la longueur et de l'incurvation du canal; la vidéo-otoscopie facilite la visualisation du tympan (9, 12). La visualisation de la rupture du tympan, de matériel purulent dans le canal ou de déformation ou effet de masse dans la région du tympan est considérée diagnostique (12). Un rapport fait état d'anomalies observées dans la cavité tympanique, telles que l'œdème de la muqueuse en phase aiguë, de même que l'accumulation d'exsudat fibrino-purulent et la fibrose recouvrant la cavité en stade chronique, toutefois la technique utilisée pour l'examen otoscopique n'est pas décrite (5). L'examen otoscopique aurait une sensibilité de 55,6% et une spécificité de 68,8%. La combinaison de l'examen neurologique et de l'examen otoscopique a une sensibilité de 72,2% et une spécificité de 62,5% (12).

## 2.6 Diagnostic différentiel

Chez les ruminants, le principal diagnostic différentiel lors d'atteinte du nerf facial est la listériose. La paralysie du cornadis peut également entraîner une parésie ou paralysie de la paupière et/ou de l'oreille. Elle résulte d'un trauma aux branches palpébrale et/ou auriculaire du nerf auriculo-palpébral, qui se produit lorsque l'animal se débat pour se libérer du cornadis. Le signalement, le caractère des lésions neurologiques (atteinte uni- ou bilatérale, atteinte d'autres nerfs crâniens) et le résultat de l'examen otoscopique et d'examens complémentaires peuvent orienter le diagnostic (9, 12, 19).

Chez l'enfant, on distingue l'otite moyenne aiguë de l'otite moyenne avec effusion. La première se caractérise par l'apparition aiguë de signes d'inflammation de l'oreille moyenne et de symptômes tels qu'une douleur à l'oreille et de la fièvre. La seconde est généralement asymptomatique (26, 35).

## 2.7 Examens complémentaires

### 2.7.1 Examen de l'exsudat

Un écouvillon de l'oreille externe peut être examiné pour cytologie ou identification de parasites, toutefois la détection de mites est limitée puisqu'elles se logent en profondeur du canal, à proximité du tympan (9, 30, 36).

### 2.7.2 Culture

La culture bactériologique peut contribuer à confirmer le diagnostic et orienter le choix d'antibiothérapie. De nombreux agents peuvent toutefois être isolés du canal auditif externe d'animaux cliniquement sains (5, 9). La culture spécifique pour *Mycoplasma spp.* est recommandée en plus de la culture bactériologique de routine (9). L'écouvillon est généralement prélevé dans le canal auditif externe lors de rupture du tympan, mais la tympanocentèse a également été rapportée (37).

### 2.7.3 Potentiels auditifs évoqués

Le test des potentiels auditifs évoqués (PAE) ou *brainstem auditory evoked response (BAER)* permet de localiser une lésion sur le trajet de transmission auditive entre l'oreille et le tronc cérébral. Lors d'otite moyenne chez le veau, les anomalies observées sont compatibles avec une diminution de conduction due à la présence d'exsudat dans la cavité tympanique ou à un dommage au tympan ou à la chaîne d'osselets. Une surdité associée à un dommage aux récepteurs auditifs de l'oreille interne ou au nerf cochléaire peut également être observée. Lorsque comparé à la tomodensitométrie, le test des PAE a une sensibilité de 100% et une spécificité de 93,8%. En raison de l'expertise et de l'équipement requis, son utilisation est toutefois limitée aux centres de référence (12).

### 2.7.4 Analyse du liquide céphalo-rachidien

L'otite moyenne/interne peut évoluer en méningite et l'analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) aide au diagnostic de cette complication. Le prélèvement est réalisé le plus souvent au site lombo-sacré (10-11, 38). Lors d'otite moyenne, une variation des résultats du LCR selon le site de prélèvement a été rapportée sur quelques cas (20, 39), tandis que dans une étude récente, le nombre moyen de cellules nucléées (*total nucleated cell count*) n'était pas significativement différent entre les sites lombo-sacré et atlanto-occipital (n = 29) (40). Lorsque le LCR est anormal, les changements observés sont une pléocytose mononucléaire ou mixte (10-11, 20, 39).

### 2.7.5 Imagerie médicale

L'utilisation de l'imagerie médicale pour la confirmation du diagnostic clinique d'otite moyenne est discutée plus loin.

## 2.8 Nécropsie

### 2.8.1 Examen macroscopique

En phase aiguë d'otite moyenne, l'examen macroscopique révèle une accumulation d'exsudat séreux et un épaississement de la muqueuse (1). En phase plus avancée, la bulle tympanique est partiellement ou complètement remplie d'exsudat purulent ou caséux. Elle présente des

changements osseux tels que l'augmentation de taille, l'épaississement, le ramollissement, la déformation ou la rupture de sa paroi, et la nécrose des trabécules et de l'os temporal adjacent (1, 3-4, 21).

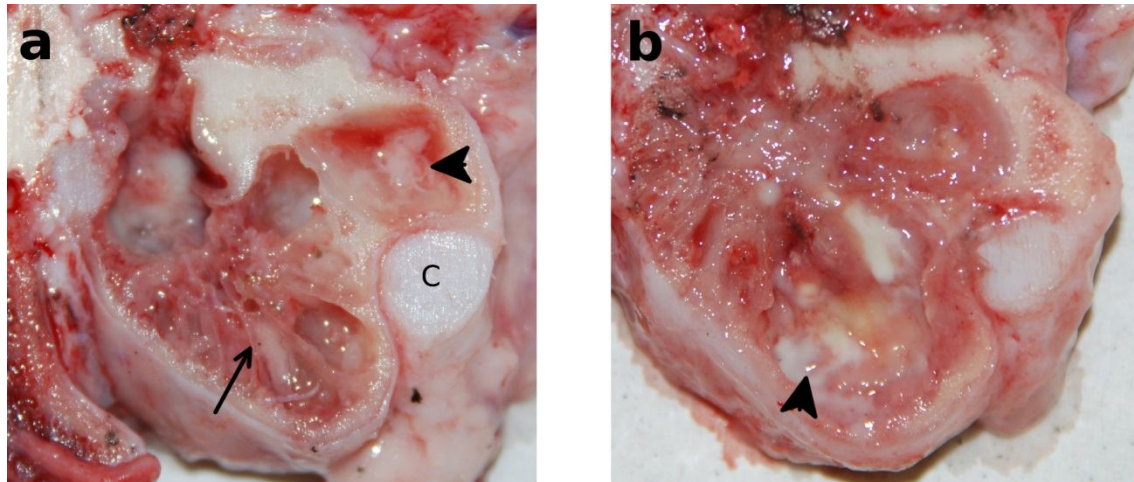


Figure 3 – Photographies de bulles tympaniques atteintes d'otite moyenne; les trabécules (petite flèche) sont visibles (a) ou lysées (b) et la bulle contient un exsudat séreux à purulent (pointe de flèche). C = cartilage stylohyoïde. (Avec l'aimable autorisation de Dr Malcolm Gains, Université de Montréal)

### 2.8.2 Examen microscopique

L'histopathologie est caractérisée par l'accumulation dans la lumière de l'oreille moyenne d'un exsudat inflammatoire composé principalement de neutrophiles, de macrophages, de débris nécrotiques et de fibrine. La muqueuse est épaissie par de la fibrose ou du tissu de granulation avec infiltration lymphoplasmocytaire, et présente par endroits des ulcérations ou de la métaplasie squameuse. La sous-muqueuse est également œdématiée et infiltrée de neutrophiles, macrophages et plasmocytes. Les cas plus sévères présentent de la nécrose de la muqueuse et des trabécules, de la fibrose sur la surface externe de la bulle tympanique, et de la résorption ou du remodelage osseux de la paroi et de la partie adjacente de la portion pétreuse de l'os temporal (2-4, 21). Dans l'os temporal, le nerf facial peut également être infiltré d'un exsudat purulent et de micro-organismes ressemblant à des mycoplasmes (4).

La trompe d'Eustache peut également présenter des lésions telles que l'accumulation d'exsudat inflammatoire et de débris nécrotiques dans sa lumière et l'infiltration de sa muqueuse et de sa sous-muqueuse par des cellules inflammatoires (2-3, 21).

## 2.9 Traitement

### 2.9.1 Antibiothérapie systémique

Les antibiotiques les plus fréquemment utilisés chez le veau sont l'enrofloxacin (5, 10-11), la pénicilline (1, 3, 10-11, 20, 41), l'oxytétracycline (1, 3, 7, 11, 20), la spectinomycine (10-11) et plus récemment la tulathromycine (7, 11, 42). La tulathromycine, la gamithromycine, le florfenicol et nouvellement l'enrofloxacin sont homologués en Amérique du Nord pour le traitement et la prévention chez les animaux à risque du complexe respiratoire bovin associé à *M. bovis*. L'oxytétracycline, la spectinomycine et le tilmicosin, bien que théoriquement efficaces contre *M. bovis*, ne seraient plus des traitements de choix en raison des résistances rapportées (13). L'usage des bêta-lactamines serait également à éviter (9), à moins de les combiner à un antibiotique dont le spectre d'action inclut *M. bovis* (11).

Certains auteurs rapportent une durée de traitement de 2 à 5 jours avec une bonne réponse au traitement sur des cas aigus (1, 5, 41). De façon similaire, chez l'enfant la durée du traitement est généralement de 10 jours et pourrait être de 5 à 7 jours chez les enfants âgés de plus de 6 ans dont l'otite est légère à modérée (27). Plus récemment, d'autres auteurs rapportent chez le veau un traitement de plus longue durée, en moyenne d'environ 3 semaines, pour les animaux atteints de façon chronique (10-11, 20). Un traitement prolongé, d'une durée de 4 à 6 semaines, est également recommandé chez le chat, le chien et le lapin (31, 43).

### 2.9.2 Traitement local

L'oreille moyenne peut être irriguée avec une solution saline, antiseptique ou vinaigrée, lors de rupture du tympan ou par ponction du tympan (9, 20, 36-37, 41). L'application *via* l'oreille externe d'une combinaison à usage topique d'antibiotiques, antifongiques et anti-inflammatoires a également été rapportée (20), tandis que des analgésiques topiques peuvent être utilisés chez l'enfant pour le contrôle de la douleur (27).

### 2.9.3 Traitement chirurgical

Un traitement chirurgical peut être envisagé pour les cas réfractaires au traitement médical. Chez les carnivores domestiques et le lapin, l'ostéotomie latérale de la bulle tympanique avec ablation totale du canal auditif et l'ostéotomie ventrale de la bulle tympanique sont décrites (31, 43). L'ostéotomie ventrale a été rapportée chez un veau, avec curettage, mise en place d'un drain suivie de lavages quotidiens de la bulle tympanique à l'aide de saline, et a mené à la guérison (20). La résection totale ou subtotale du canal de l'oreille avec ostéotomie latérale de la bulle tympanique ont été rapportées chez deux alpagas et un lama présentant une otite moyenne et externe. La procédure a été un succès chez les alpagas, tandis que chez le lama elle a résulté en hémorragie et n'a pas permis le drainage de la bulle tympanique (36, 44-45).

Chez l'enfant, la mise en place d'un drain trans-tympanique est indiquée lors d'otite moyenne aiguë, avec effusion récurrente ou persistante, associée à une diminution persistante de l'ouïe ou à un dommage au tympan ou autre structure de l'oreille moyenne (26, 35). La conformation du canal auditif externe chez le bovin ne permet pas la réalisation de cette chirurgie et rendrait le drain inefficace.

### 2.9.4 Traitements de support

Les traitements complémentaires incluent les anti-inflammatoires stéroïdiens chez le veau, les anti-inflammatoires non-stéroïdiens chez le veau et l'enfant, et les analgésiques topiques ou analgésiques narcotiques chez l'enfant (6, 9, 20, 27, 38, 42).

## 2.10 Pronostic

Le pronostic d'otite moyenne est très variable. Certains auteurs rapportent une mortalité élevée allant de 50 à 100% (3-4). D'autres rapportent un pronostic pour une guérison clinique de 100% pour des cas aigus (1, 5). Les cas chroniques sont généralement plus réfractaires au traitement (9, 13) et leur pronostic clinique varie de moins de 50% à 75% (1, 10-11). Une certaine proportion de ces cas présente un retard de croissance ou une persistance de déficits neurologiques (6, 10-11, 42).

Les pertes économiques engendrées par les otites moyennes sont associées aux coûts de traitement et de travail additionnel, à la diminution du gain de poids et de la valeur de la carcasse, et à l'augmentation de la mortalité et de la réforme prématurée (1, 2).

## 3. Imagerie médicale des otites moyennes

### 3.1 Radiographie

#### 3.1.1 Technique

La radiographie des bulles tympaniques a été décrite chez le veau, le chien, le chat et le lapin. Les projections latérales obliques sont utilisées chez toutes ces espèces, complétées par une projection dorsoventrale chez le veau et le lapin ou rostrocaudale oblique chez le chat, le chien et le lapin (10, 14, 18, 43, 46-48). Cette dernière projection n'est pas réalisable chez le veau en raison de l'ouverture limitée de la gueule. La technique peut être réalisée à l'aide d'un appareil portatif, bien qu'un tel appareil ne soit pas accessible à tous les vétérinaires praticiens et que les radiographies du crâne sont peu communes en pratique bovine, ce qui peut rendre difficile leur réalisation. Au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV), les radiographies des bulles tympaniques du veau sont réalisées sans sédation au coût d'environ 120 dollars pour l'ensemble des vues.

#### 3.1.2 Images normales

Chez le chat et le chien, la bulle tympanique normale apparaît à la radiographie comme une structure osseuse ronde remplie d'air à la base du crâne, à la paroi mince, lisse, bien définie et d'épaisseur uniforme (46, 49). La bulle tympanique est également décrite chez le veau comme remplie d'air, avec la présence de trabécules (Figure 4) (14).





Figure 4 – Radiographie latérale oblique d’une bulle tympanique saine chez le veau. (Avec l’aimable autorisation de Dre Andrea Finnen, Université de Montréal)

### 3.1.3 Images anormales

Les anomalies radiographiques observées lors d’otite moyenne sont une augmentation de l’opacité dans la bulle tympanique, une augmentation de la taille de la bulle tympanique, un épaissement de la paroi, une altération de son contour et la présence de prolifération et/ou de lyse osseuses de la paroi et des trabécules chez le veau (10-11, 14, 46, 49-50). Dans les cas avancés, l’ostéolyse peut aussi affecter l’os temporal adjacent, l’articulation temporo-mandibulaire ou l’os hyoïde (11, 47).

Chez le veau, les anomalies radiographiques les plus fréquemment associées à un diagnostic adéquat d’otite moyenne sont une augmentation d’opacité dans la bulle tympanique et l’ostéolyse des trabécules. La pertinence de ce critère doit toutefois être jugée avec précaution puisque l’augmentation d’opacité peut créer une fausse impression de lyse des trabécules (14). De plus, la présence de trabécules dans la bulle tympanique diminue le contraste entre l’air et l’os (14, 20), ce qui nuit à l’évaluation de l’opacité dans la bulle tympanique. Chez le chien et le chat, les projections jugées les plus utiles sont la rostrocaudale oblique et les latérales obliques, puisqu’elles permettent, respectivement, la comparaison des bulles tympaniques et l’évaluation de chaque bulle tympanique avec un minimum de superposition (43, 46-47). Chez

le veau, tel que déjà mentionné, la projection rostrocaudale oblique ne peut être réalisée, et l'impossibilité de comparer les deux bulles tympaniques sur une même projection nuit à l'évaluation des bulles tympaniques. De plus, malgré la réalisation des projections latérales obliques, l'évaluation est rendue difficile par la superposition des structures (14).

#### 3.1.4 Validité

La radiographie des bulles tympaniques du veau a été évaluée récemment avec comme méthode de référence l'examen macroscopique des bulles tympaniques en nécropsie (14). La sensibilité et la spécificité étaient de 68,8% (n = 16 bulles) et 50% (n = 16), respectivement. Des faux-négatifs avaient déjà été rapportés (20). Chez le chien, la radiographie a une sensibilité similaire et une spécificité supérieure, avec des valeurs de 55% (n = 29) à 67% (n = 17) et de 83% (n = 18) à 100% (n = 9) respectivement lorsque comparée au diagnostic chirurgical (50-51). Lorsque comparée à l'histologie évaluée sur des échelles visuelles analogiques pour la certitude et la gravité, la sensibilité et la spécificité de la radiographie sont de 54% (n = 28) et 100% (n = 4) respectivement (51). Lorsque le test de référence est la tomodensitométrie, la sensibilité est de 85% (n = 27) et la spécificité de 68% (n = 31) (52).

La radiographie a également été évaluée pour la détection de liquide introduit dans la bulle tympanique de cadavres chez le chien, le chat et le lapin (53-56). La sensibilité varie selon l'étude et l'observateur, de 80% (n = 20) et 57% à 60% (n = 31) chez le chien, de 83% à 97% (n = 36) chez le chat et de 77,8% à 79% (n = 47) chez le lapin. La spécificité varie selon l'étude et l'observateur, de 65% (n = 20) et 52% à 55% (n = 30) chez le chien, de 90% à 92% (n = 39) chez le chat et de 80% à 85% (n = 33) chez le lapin.

La concordance est évaluée par la valeur de  $\kappa$ , interprétée de la façon suivante : 0-0,2, faible; 0,21-0,4, acceptable; 0,41-0,6, modérée; 0,61-0,8, très bonne; 0,81-1,0, excellente (57). Sur les cadavres, la concordance est donc modérée ( $\kappa = 0,6$ ), très bonne ( $\kappa = 0,73$ ) et excellente ( $\kappa = 0,82$ ) chez le chien, le chat et le lapin respectivement (54-56).

En somme, la radiographie chez le veau comporte l'avantage d'être réalisable sans sédation, toutefois la technique est coûteuse et sa sensibilité et spécificité sont faibles.

## 3.2 Tomodensitométrie

### 3.2.1 Technique

La tomodensitométrie des bulles tympaniques a été décrite chez le veau, le chien, le chat et le lapin. La tomodensitométrie permet notamment l'évaluation des structures sans superposition et offre un meilleur contraste que la radiographie (50). Elle est toutefois coûteuse et limitée aux centres de référence. De plus, elle nécessite une anesthésie générale chez le chat, le chien et le lapin, mais peut être réalisée sous sédation chez le veau (14). Chez le veau, son coût au CHUV est d'environ 410 dollars, excluant la sédation ou l'anesthésie.

### 3.2.2 Images normales

La description de la bulle tympanique normale à la tomodensitométrie est semblable à celle de la radiographie, soit d'opacité gazeuse dans sa lumière, avec des trabécules chez le veau, et à la paroi est mince et définie (Figure 5) (14, 49).

### 3.2.3 Images anormales

Les anomalies observées sont similaires à celles observées à la radiographie : une accumulation d'un matériel homogène de densité de tissu mou dans la bulle tympanique et le canal auditif, avec ou sans changements osseux tels que l'augmentation de taille de la bulle tympanique et l'épaississement, l'irrégularité ou la lyse des trabécules, de la paroi et de l'os temporal (11, 14, 20, 33, 37-38, 49-50, 58). L'épaississement de la paroi observé pourrait toutefois être un artéfact créé lorsque la bulle tympanique est remplie de liquide plutôt que d'air (20, 59). Chez le veau, l'anomalie la plus fréquemment associée à un diagnostic adéquat d'otite moyenne était une augmentation de densité de tissu mou dans la bulle tympanique (Figure 5). L'augmentation de taille de la bulle tympanique n'est pas considérée comme un critère diagnostique fiable puisqu'aucune différence significative de hauteur ni largeur n'a été observée entre les bulles tympaniques saines et atteintes (14).

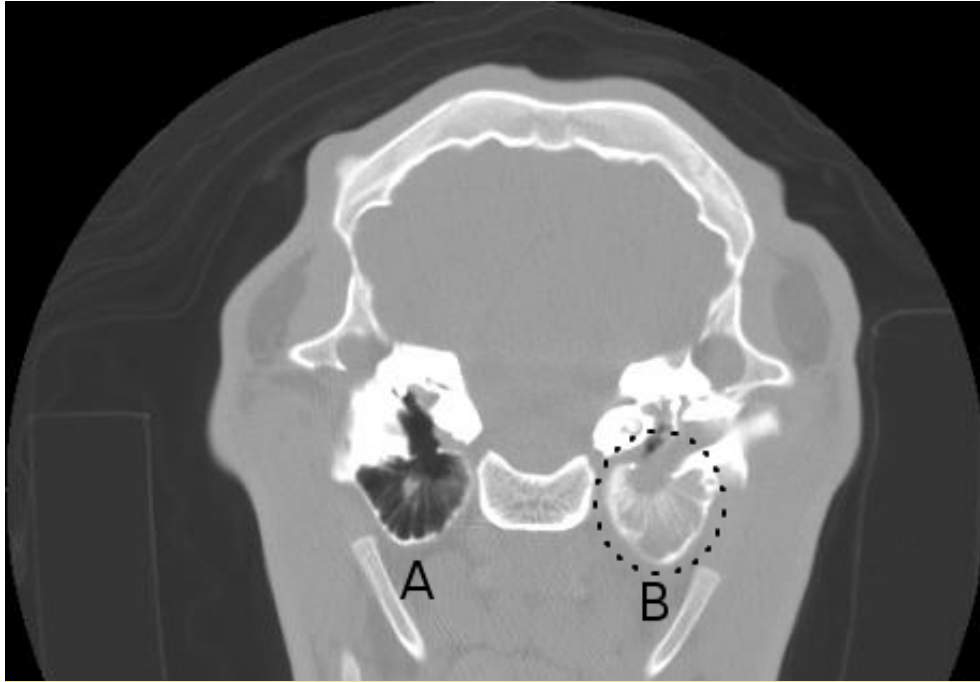


Figure 5 – Tomodensitométrie d'un veau atteint d'otite moyenne unilatérale : bulle tympanique saine (A) et bulle tympanique atteinte (B), présentant une augmentation de densité de tissu mou. (Avec l'aimable autorisation de Dre Andrea Finnen, Université de Montréal)

#### 3.2.4 Validité

La tomodensitométrie a été suggérée comme méthode de référence chez le chien, le chat, le lapin et le veau (14, 52, 55-56). Considérée supérieure à la radiographie, elle permettrait la détection plus précoce d'une atteinte subclinique et d'anomalies subtiles (12, 49). D'autres auteurs considèrent toutefois qu'elle sous-diagnostique les cas légers tout comme la radiographie (50-51).

Chez le veau, avec comme méthode de référence l'examen macroscopique des bulles tympaniques en nécropsie, la tomodensitométrie a une sensibilité et une spécificité de 93,8% (n = 16) et 100% (n = 16), respectivement (14). Chez le chien, lorsque comparée au diagnostic chirurgical, la sensibilité et la spécificité de la tomodensitométrie sont de 83% (n = 17) à 86% (n = 29) et de 89% (n = 9; n = 18) respectivement (50-51), tandis qu'elles sont de 64% (n = 28) et 100% (n = 4) respectivement lorsque comparée à l'histologie (51). Pour la détection de

liquide introduit dans la bulle tympanique de cadavres, la sensibilité est de 67% (n = 31) et la spécificité de 100% (n = 30) chez le chien, tandis que chez le chat et le lapin, la sensibilité (n = 36; n = 47) et la spécificité (n = 39; n = 33) sont toutes deux de 100% (54-56). La concordance entre observateurs est parfaite ( $\kappa=1$ ) pour les 3 études sur les cadavres.

En somme, la tomодensitométrie est la méthode diagnostique de référence sur les veaux vivants, mais est également coûteuse et limitée aux centres de référence, en plus de nécessiter une sédation ou une anesthésie générale.

### 3.3 Échographie

#### 3.3.1 Technique

L'échographie des bulles tympaniques a été décrite chez le chat, le chien, le lapin et le veau (11, 18, 55, 60-61). Chez le veau, la technique a été développée sur des cadavres de fœtus matures, par approche latérale (18). Elle a également été décrite sur des veaux de 2 à 10 semaines et était bien tolérée sans sédation (11). L'approche décrite chez le chien est latérale et ventrale (52, 60), toutefois l'approche ventrale est considérée moins répétable puisque le positionnement adéquat de la sonde et l'obtention d'une image sont plus difficiles (53). L'approche est ventrale chez le chat puisque la portion horizontale du canal auditif externe masque la bulle tympanique par l'approche latérale (55). Chez le lapin, l'approche est ventrale puisque l'épaisseur de la surface latérale de la bulle tympanique nuit à l'obtention d'une image adéquate par approche latérale (61).

Chez le veau, la paroi latérale de la bulle tympanique est recouverte par le muscle digastrique en superficie et par le muscle occipito-hyoïdien. La partie rostrale de la paroi latérale forme une dépression dans laquelle est situé le cartilage stylohyoïdien. La partie ventrale de la bulle tympanique est recouverte par l'os stylohyoïde. Les repères à l'échographie sont le cartilage stylohyoïde, le processus jugulaire caudo-dorsalement, l'os stylohyoïde ventralement et la crête vaginale rostralement (Figure 6).

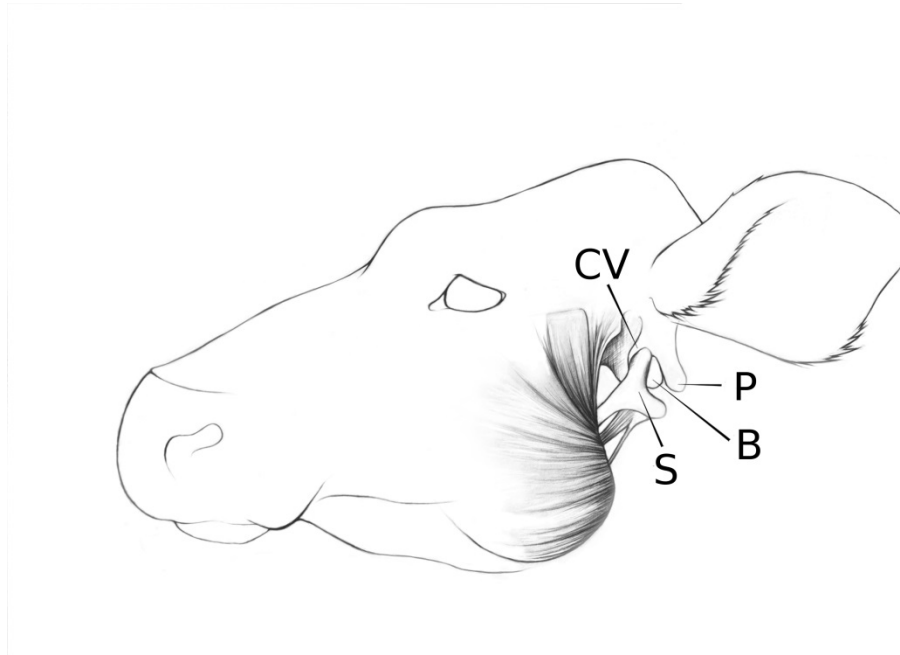


Figure 6 – Dessin anatomique (vue latérale) de la bulle tympanique et des structures adjacentes. CV = crête vaginale; S = os stylohyoïde; B = bulle tympanique; P = processus jugulaire. (Modifiée de : Bernier Gosselin V, Babkine M, Nichols S, Desrochers A. Ultrasound evaluation of tympanic bulla in calves. *Can Vet J.* vol. 53(8). Figure 1, p. 850. Copyright Canadian Veterinary Medical Association (2012). Reproduit avec permission)

Trois positions de sonde ont été décrites. La sonde est placée ventralement à la base de l'oreille et caudalement à la mandibule. En position 1, la sonde est parallèle au rameau vertical de la mandibule et perpendiculaire à la peau (Figure 7). La position 2 est similaire à la position 1, avec une orientation du faisceau plus rostrale (Figure 8). En position 3, la sonde est perpendiculaire au rameau vertical de la mandibule (Figure 9).

Le coût de l'échographie des bulles tympaniques du veau au CHUV est d'environ 80 dollars.

### 3.3.2 Images normales

La bulle tympanique saine est remplie d'air et sa paroi, chez le veau en position 1 (Figure 7) de même que chez le chat, le chien et le lapin, apparaît comme une surface osseuse convexe

échogène, sous laquelle une combinaison de réverbération et d'ombre est formée par l'interface gazeuse dans la bulle tympanique (18, 55, 60-61). Chez le veau en position 2, le cartilage stylohyoïde apparaît comme une structure hypoéchogène en superficie de la bulle tympanique sur toute sa longueur (Figure 8). En position 3, la surface de la bulle tympanique est convexe dans sa portion caudale et concave sous le cartilage stylohyoïde qui apparaît comme une structure ronde hypoéchogène (Figure 9).

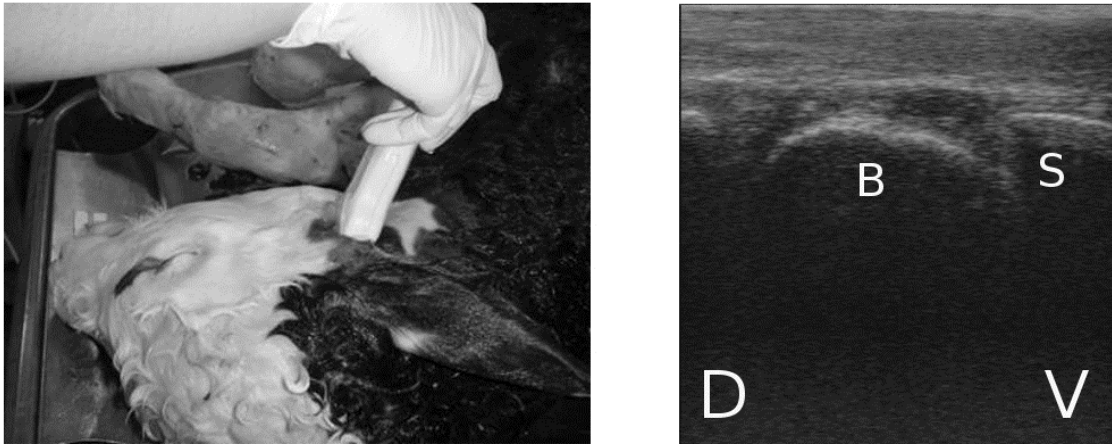


Figure 7 – Photographie de la position 1 de la sonde et image correspondante obtenue à l'échographie sur une bulle tympanique normale. D = dorsal; V = ventral; B = bulle tympanique; S = os stylohyoïde. (Offert par Véronique Bernier Gosselin, Université de Montréal)

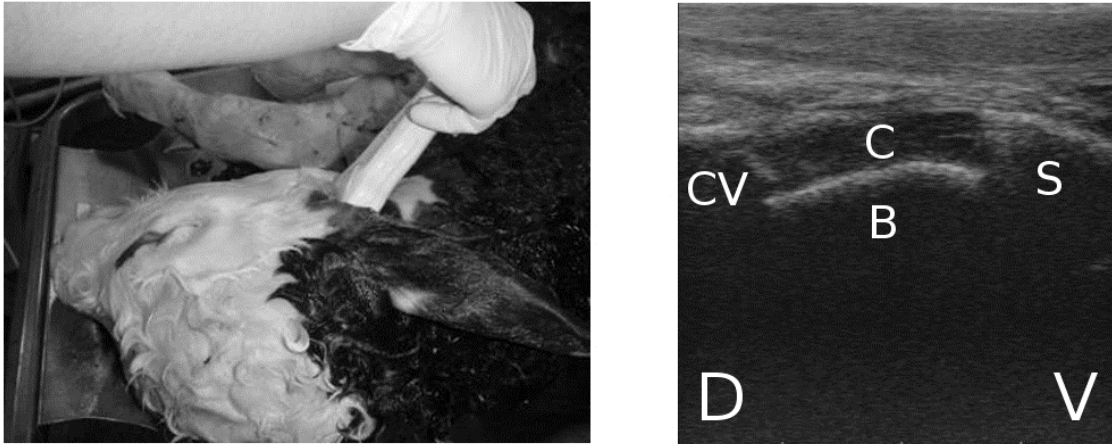


Figure 8 – Photographie de la position 2 de la sonde et image correspondante obtenue à l'échographie sur une bulle tympanique normale. D = dorsal; V = ventral; CV = crête vaginale; B = bulle tympanique; C = cartilage stylohyoïde; S = os stylohyoïde. (Offert par Véronique Bernier Gosselin, Université de Montréal)

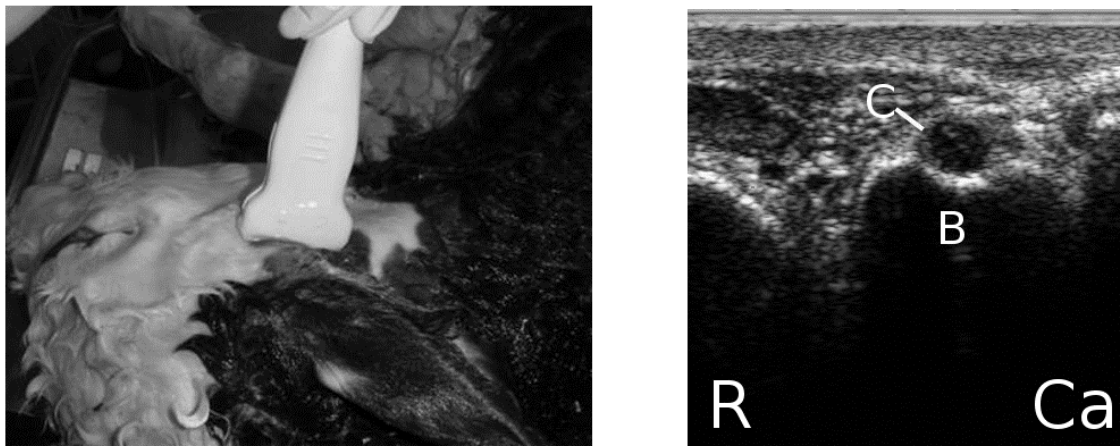


Figure 9 – Photographie de la position 3 de la sonde et image correspondante obtenue à l'échographie sur une bulle tympanique normale. R = rostral; Ca = caudal; B = bulle tympanique; C = cartilage stylohyoïde. (Offert par Véronique Bernier Gosselin, Université de Montréal)

### 3.3.3 Images anormales

Lorsque la bulle tympanique est remplie de liquide, de façon naturelle chez les fœtus bovins ou de façon expérimentale chez le chat, le chien et le lapin, ce dernier propage les ondes au-



delà de la paroi et le contenu de la bulle tympanique est visible, anéchogène. Chez le veau, les trabécules apparaissent comme de minces traits hyperéchogènes perpendiculaires à la paroi (18). Chez le chien et le lapin, la paroi opposée de la bulle tympanique apparaît comme une surface concave hyperéchogène (60-61). La visualisation des osselets, comme des foyers échogènes dans la lumière de la bulle tympanique, a été rapportée chez le chien (53). Chez le chat, le septum osseux séparant la bulle tympanique en deux compartiments est visible comme une surface convexe hyperéchogène, et les structures plus profondes sont obscurcies. La visualisation du septum facilite la distinction entre l'air et le liquide dans la bulle tympanique (55).

L'échographie des bulles tympaniques lors d'otite moyenne a également été décrite chez le veau et le chien (11, 52). Les anomalies observées chez les deux espèces incluent un contenu anéchogène à hétérogène hyperéchogène et un contour irrégulier. Chez le veau, la lyse des trabécules, l'œdème de la muqueuse, l'amincissement, la déformation et la rupture de la paroi, et la fuite d'exsudat dans les tissus sous-cutanés sont également décrits (11). Chez le chien, les autres anomalies incluent une réduction de pénétration du faisceau et la visualisation de la paroi opposée lorsque la bulle tympanique est pleine, tandis que lorsqu'elle est partiellement remplie, une zone irrégulière est visible entre la paroi et l'interface gazeuse, au-delà de laquelle la paroi opposée est obscurcie (52).

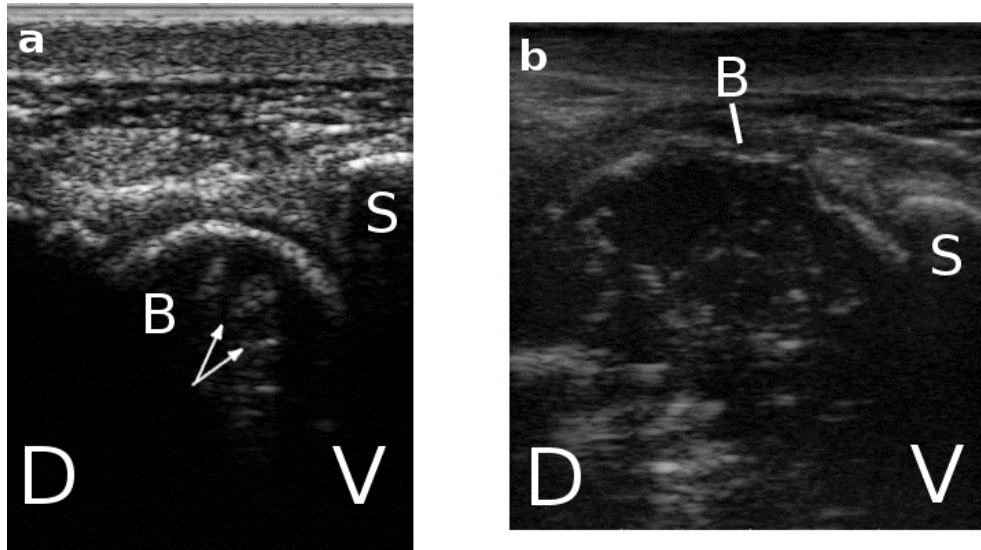


Figure 10 – Échographie de bulles tympaniques atteintes d’otite; les trabécules (flèches) peuvent être visibles (a) ou lysées et remplacées par un contenu hétérogène (b); la paroi de la bulle peut présenter une épaisseur et un contour irréguliers (b). D = dorsal; V = ventral; B = bulle tympanique; S = os stylohyoïde. (Offert par (Offert par Véronique Bernier Gosselin (gauche) et l’Hôpital des animaux de la ferme, CHUV (droite), Université de Montréal)

### 3.3.4 Validité

Chez le veau, l’échographie a été considérée utile pour le diagnostic, de même que pour détailler les anomalies et suivre leur évolution en réponse au traitement (11). La technique d’échographie n’a pas été validée à l’aide d’une méthode de référence jusqu’à maintenant.

Chez les autres espèces, l’échographie a été évaluée pour le diagnostic d’otite moyenne chez le chien seulement, avec comme méthode de référence la tomодensitométrie (52). La sensibilité varie selon l’observateur de 37% à 74% (n = 27) et la spécificité de 55% à 74% (n = 31). La concordance entre l’échographie réalisée et enregistrée par un observateur et la lecture des images par le second observateur est faible ( $\kappa = 0,16$ ). Une association significative a été démontrée entre l’échographie et la tomодensitométrie sur l’évaluation de la paroi de la bulle tympanique, mais pas sur son contenu. Toutefois, la détection d’anomalie du contenu augmente avec l’augmentation de grade à la tomодensitométrie.

L'échographie a été évaluée pour la détection de liquide introduit dans la bulle tympanique de cadavres chez le chien, le chat et le lapin (53-56). La sensibilité varie selon l'étude et l'observateur, de 100% (n = 20) et 80% à 90% (n = 31) chez le chien, de 85% à 100% (n = 36) chez le chat et de 95% à 100% (n = 47) chez le lapin. La spécificité varie selon l'étude et l'observateur, de 74% (n = 30) à 100% (n = 20) chez le chien, de 92% à 100% (n = 39) chez le chat et de 95% à 100% (n = 33) chez le lapin. Selon ces quatre études, l'échographie a une sensibilité et une spécificité supérieures à celles de la radiographie. La concordance est modérée ( $\kappa = 0,5$ ) et inférieure à celle de la radiographie chez le chien (54), tandis qu'elle est excellente ( $\kappa = 0,89$ ) et supérieure à celle de la radiographie chez le chat et le lapin. La concordance supérieure chez le chat et le lapin mais non chez le chien pourrait être expliquée par une différence plus nette entre l'air et le liquide dans la bulle tympanique chez ces espèces. La visualisation du septum chez le chat et de la paroi opposée chez le lapin est facilitée par la paroi plus mince de même que par la plus faible distance parcourue par le faisceau dans la bulle tympanique, comparativement au chien (55-56).

### 3.4 Combinaison de techniques d'imagerie médicale

La sensibilité et la spécificité de techniques d'imagerie médicale combinées pour le diagnostic d'otite moyenne n'ont pas été rapportées. Seule une étude chez le chien a démontré que la combinaison des diagnostics radiographique et échographique était un meilleur prédicteur du diagnostic à la tomодensitométrie que la radiographie ou l'échographie seuls (52).

## Résumé de la revue de littérature

L'oreille moyenne est un site d'infection fréquent chez le bovin ainsi que plusieurs autres espèces, particulièrement en bas âge. De nombreux nerfs cheminent à proximité de l'oreille moyenne et l'infection de celle-ci se traduit souvent par des déficits neurologiques secondaires à l'atteinte de ces nerfs. La condition répond généralement favorablement à une antibiothérapie systémique lorsque celle-ci est initiée en phase aiguë. L'examen clinique étant peu sensible, le diagnostic de cette phase, et de la condition en général chez l'animal vivant, peut représenter un défi. Il peut toutefois être posé à l'aide de l'imagerie médicale. Les techniques d'imagerie disponibles ont chacune leurs avantages et inconvénients, cependant l'échographie se démarque par plusieurs avantages sur la radiographie et la tomodensitométrie. Elle est réalisable sur le veau debout sans sédation, peut facilement être répétée pour le suivi d'un cas, est peu coûteuse et a le potentiel d'être réalisée à la ferme. En revanche, bien que la sensibilité et la spécificité de la technique soient intéressantes chez d'autres espèces, elles ne sont pas connues chez le veau pour le moment. L'objectif de l'étude est de valider la technique d'échographie des bulles tympaniques en estimant sa sensibilité et sa spécificité pour le diagnostic d'otite moyenne clinique et subclinique et de déterminer sa répétabilité.

### III – Article

Validation of an ultrasound imaging technique of the tympanic bulla for the diagnosis of otitis media in calves

Véronique Bernier Gosselin, Marie Babkine, Malcolm J. Gains, Sylvain Nichols, Julie Arsenault, and David Francoz

From the Département des sciences cliniques (Bernier Gosselin, Babkine, Nichols and Francoz) and Département de pathologie et microbiologie (Arsenault), Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, Saint-Hyacinthe, C.P. 5000 (Québec) J2S 7C6, and the University of Nottingham, School of Veterinary Medicine and Science, Sutton Bonington, Leicestershire, UK (Gains)

Short title: Ultrasound diagnosis of otitis in calves

Keywords: ultrasonography; cattle; middle ear; prevalence

List of abbreviations: Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire – CHUV; Computed tomography – CT; tympanic bulla – TB; ultrasonography – US; neurological examination – NE;

Corresponding author: Dr. Bernier Gosselin

The study was conducted at the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec.

Funded by the Pfizer Fund for clinical research and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada.

This study was presented as a research abstract at the 2013 ACVIM Forum. This manuscript was included in the master's thesis submitted by Dr. Bernier Gosselin to the Université de Montréal.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank Jean Dulmaine for providing the calves used in this study and DGF Inc. for providing the ultrasound unit used in this study.

## Abstract

**Background:** Otitis media is a common disease in calves that can remain subclinical, making antemortem on-farm diagnosis challenging.

**Objectives:** To evaluate the sensitivity and specificity of ultrasonography of tympanic bullae for the diagnosis of clinical and subclinical otitis media and to evaluate the reproducibility of the technique.

**Design:** Prospective study.

**Animals:** Forty calves 19-50 days of age were selected from a veal calf farm.

**Methods:** Ultrasonography was first performed on the farm by ultrasonographer A (US A). Ultrasonography was repeated by ultrasonographer A (US A') as well as another ultrasonographer (US B) at the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire. Images taken were later re-read by both examiners and a diagnosis was recorded. The calves were euthanized and submitted for necropsy, and histopathologic diagnosis was used as the gold standard.

**Results:** Forty-five bullae were affected by otitis media and 35 bullae were normal. Sensitivity and specificity of the ultrasound technique ranged from 32 % to 63 % and 84 % to 100 %, respectively, depending on the examiner and classification of suspicious ultrasonography results. Kappa analysis to evaluate interobserver agreement between A' and B yielded a  $\kappa$  value of 0.53. Similarly, agreement within the same examiner (A versus A') yielded a  $\kappa$  value of 0.48, and real-time ultrasound versus re-reading of recorded images for A' and B yielded  $\kappa$  values of 0.58 and 0.75, respectively.

Conclusions: Sensitivity and specificity of the ultrasound imaging technique are respectively low and high for diagnosis of clinical and subclinical otitis media in calves, with moderate reproducibility.

## Introduction

Otitis media is a common disease affecting 1 to 2 month old calves.<sup>1,2</sup> Morbidity ranges from less than 10 % to 80 % during outbreaks, but prevalence of diseased animals may be underestimated since otitis can remain subclinical.<sup>1,3</sup> Common clinical signs include a drooping ear, ptosis and head tilt.<sup>1,4,5</sup> However, when the diagnosis of otitis is based on findings from neurological examination (NE), using computed tomography (CT) as the gold standard, only 61.1 % of cases are detected.<sup>3</sup> Furthermore, most cases are chronic by the time neurological deficits become obvious.<sup>2,4,5</sup> Chronic cases usually require extended treatment or are refractory to treatment.<sup>1,2</sup> Consequently, to prevent economic losses associated with treatment costs and decreased growth, there is a need for detection of otitis media in early or subclinical stages of the disease.<sup>6,7</sup>

Medical imaging techniques have the potential to accurately identify clinical and subclinical otitis.<sup>8</sup> Computed tomography is considered the gold standard on live animals. It can detect otitis media in calves showing no neurological signs, consistent with early stages of infection.<sup>3</sup> However, CT is limited to referral centers. Ultrasonography (US) is an imaging technique available to most bovine practitioners. Ultrasound evaluation of tympanic bullae (TB) has been described in dogs, cats and rabbits.<sup>9-11</sup> When compared to CT for the diagnosis of canine otitis media, US has a sensitivity of 37 % to 74 % and a specificity of 55 % to 74 %, depending on the observer.<sup>12</sup> An approach for ultrasound evaluation of the TB has been described in neonatal bovine cadavers and healthy calves.<sup>13</sup> Abnormalities have also been reported in some clinical cases of otitis media, including anechoic to hyperechoic heterogeneous content, lysis of trabeculae, mucosal edema, as well as irregularities, thinning, deformation and rupture of the bulla wall.<sup>5</sup> Internal structures of the bulla could be observed in

calves up to 10 weeks of age, supporting the potential use of US to detect early stages of otitis.<sup>13</sup>

The purpose of the current study was to validate the use of US as a diagnostic tool to detect otitis media in calves. The first objective was to describe abnormalities on clinical and subclinical cases. The second objective was to estimate the sensitivity of the technique, among clinical and subclinical cases, and its specificity using histology as the gold standard, and to evaluate the reproducibility of results between and within ultrasonographers. The third objective was to estimate the positive and negative predictive value of ultrasonography based on prevalence in the study population.

## Materials and methods

This study was approved by the Committee for ethical use of animals of the Faculté de médecine vétérinaire of the Université de Montréal.

### *Calf selection*

Forty dairy-breed calves were purchased from a veal calf producer. To obtain sensitivity and specificity estimates with a 95 % confidence interval and precision of 10 %, 40 of each otitis-affected and unaffected bullae were determined to be necessary, based on expected estimates of approximately 88 %, as obtained in other studies.<sup>10,14</sup> From May to June 2012, the farm was visited four times to select calves from the same cohort at different ages (19-22 days, 26-29 days, 40-43 days and 47-50 days). The cohort was divided in 19 pens, with four to six calves per pen. During each visit, four to five pens were randomly selected and US was performed on all calves from each selected pens. Selected pens were then removed from the randomization process, so that pens were only selected once. During each visit, 10 calves were selected to obtain a similar number of otitis positive and negative bullae based on US as described below. All calves with positive bullae were selected, and remaining calves were randomly selected using a random number table, among calves with negative bullae to make up a final sample size of 10 calves per visit.



Upon arrival at the farm at 3-5 days of age, the calves were treated with enrofloxacin in their milk replacer for 7 days. Any other treatments received by the selected calves were retrieved.

### *Ultrasound examination*

On Day 0, an initial US was performed on the farm by ultrasonographer A (US A). After the farm visit, selected calves were brought to the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) of the Université de Montréal. On Day 1, US was performed a second time by ultrasonographer A (US A') and by another ultrasonographer (US B). Both ultrasonographers were blinded to each other's findings and to NE findings. Both ultrasonographers had been involved in a previous research project for developing an approach for US of TB on calf cadavers. In addition, ultrasonographer B has many years of experience in bovine US at a referral center. Calves were restrained in a standing position and coupling gel was applied ventral to the base of the ear without clipping on Day 0 and after clipping on Day 1. A portable ultrasound unit<sup>a</sup> was used with a linear probe<sup>b</sup> at a fixed focus and frequency of 7.5 MHz. Ultrasonography was performed on both TB with three probe positions as previously described.<sup>13</sup> Briefly, the probe was positioned ventral to the base of the ear and caudal to the mandible, in a dorso-ventral axis for position 1 and 2, and rostro-caudal axis for position 3. One image from each position was recorded by both ultrasonographers, including when possible the landmarks respective to each of the three probe positions.<sup>13</sup>

Ultrasonographic diagnosis was recorded as positive, suspicious or negative. A positive bulla on US was defined as a reproducible observation, in more than 25 % of the visible portion of the bulla, of one abnormality in more than one position, or more than one abnormality in one or more positions. A bulla was considered suspicious when one abnormality was observed in only one position and in less than 25 % of the visible portion of the bulla. Evaluated abnormalities were divided based on wall abnormalities, such as thinning, thickening, irregular thickness, irregular contour, deformation and rupture, and content abnormalities, such as anechoic content (mucosal edema, serous exudate), hyperechoic, heterogeneous content (fibrino-suppurative exudate), and partial or complete osteolysis of trabeculae. Recorded

images were later re-read by both ultrasonographers, blinded to their previous diagnosis, and ultrasonographic diagnosis was recorded as positive, suspicious or negative.

### *Clinical status*

General examination and NE was performed by ultrasonographer A and diagnosis was recorded for each bulla as positive, suspicious or negative. Facial symmetry, ptosis, ear droop, palpebral reflex, menace response, palpebral closure and response to stimulation of the internal aspect of the pinna were evaluated. A positive NE diagnosis was defined based on evidence of facial nerve paresis or paralysis. A suspicious NE diagnosis was defined by abnormal response (weak or delayed) to one of the tests used to evaluate the facial nerve, while other tests responses were normal.

A TB was considered clinically affected, i.e. otitis associated with clinical signs, when positive on histology and positive or suspicious on NE. A TB was considered subclinically affected when positive on histology and negative on NE.

### *Necropsy*

On Day 2, the calves were euthanized and a post mortem examination of the TB was performed within 2 hours. The bullae were cut in transverse sections approximately 1 cm thick using a bandsaw and examined macroscopically by a board-certified pathologist (MJG) blinded to the US and NE results. A positive diagnosis, by gross examination, was defined as a TB containing an exudate (serous or purulent), thickening of the mucosa and/or lysis of the bony trabeculae. The TB sections were fixed for 2 days in 10 % neutral buffered formalin, decalcified<sup>c</sup> and then trimmed to approximately 3 mm thickness and embedded in paraffin, submitted for routine histological processing and stained with hematoxylin, phloxine and saffron stain. The slides were examined to evaluate the following changes: inflammatory exudate and necrotic debris in the bulla, epithelial erosion and/or hyperplasia, inflammatory cells in the submucosa, submucosal edema, granulation tissue, and lysis of the bony trabeculae. All slides were blindly examined three times by a board-certified pathologist (MJG). A semi-quantitative histological grading system was developed for this study using the following criteria: 0, normal bulla; 1, up to 25 % of the bulla had one or more of the changes

described above; 2, 25 % to 50 % of the bulla had multiple changes as described above (Figure 1); 3, 50 % to 75 % of the bulla had multiple changes as described above; 4, greater than 75 % of the bulla had multiple changes as described above (Figure 2). A positive diagnosis of otitis by histological examination was made if grade  $\geq 2$ .

### *Statistical analysis*

Sensitivity and specificity of ultrasound technique for A, A' and B were estimated (95 % confidence interval (CI)) against the gold standard histologic result. Sampling weights were used in the analysis to take into account the sampling design. Sampling weights were calculated for each calf as the inverse of the probability of calf selection following US results on the farm at each visit. Estimation of sensitivity and specificity was performed for three classifications of suspicious bullae upon ultrasound examination: excluded, grouped with positive bullae or grouped with negative bullae. Sensitivities were also estimated separately for clinically and subclinically affected bullae as defined above, for the three classifications of suspicious bullae upon ultrasound examination. Sensitivity and specificity of combined NE and ultrasound examination were estimated. The final diagnosis was considered positive if at least one of the two tests was positive or if both were suspicious. Sensitivities of US A' and US B were compared using a McNemar's test with a continuity correction. A weighted kappa analysis, with a diagnosis of suspicious being considered at equal distance of positive and negative, was performed without sampling weights to evaluate the agreement between examiners and within the same examiner (A versus A', and real-time ultrasound versus re-reading of recorded images, for A' and B). Kappa values were interpreted as previously described.<sup>15</sup> Apparent prevalence for all calves tested on the farm was estimated for two classifications of suspicious bullae: grouped with positive and grouped with negative. True prevalence was estimated using sensitivity and specificity of US A at the calf level for each scenario. Based on this prevalence estimate, positive and negative predictive values were estimated as previously described.<sup>15</sup> Analysis was performed using statistical software.<sup>d,e</sup>

## Results

### *Ultrasound examination*

Ultrasonography on the farm was performed on a total of 102 calves. Of 204 TB, 27 were positive, 10 were suspicious and 167 were negative. All calves with at least one positive or suspicious bullae (n = 29) and 11 calves with negative bullae were selected for the study, to yield a study population of 40 calves.

Based on US performed at the CHUV, the number of positive, suspicious and negative bullae was 19, 18 and 43, respectively, for US A', and 38, 9 and 33, respectively, for US B (Table 1). Ultrasonographic abnormalities included observation of complete trabeculae spread like a fan in anechoic content, similar to that described in newborn calves;<sup>13</sup> a combination of anechoic content against the wall and hyperechoic content in the middle of the bulla, described in positions 1, 2 and 3, or anechoic content cranially and hyperechoic content caudally observed in position 3; suspicion of abscess against the wall; interrupted and irregular trabeculae, with lysis particularly observed against the wall (Figure 3); and suspected observation of the medial wall of the bulla (Figure 4). Observation of abnormalities was often restricted to a portion of the TB (Figure 5). Differentiation between acoustic shadow and anechoic content was based on observation of trabeculae and a well-defined internal contour of the bulla wall. Among specific wall abnormalities observed in at least one position by US A' and/or US B, 3 bullae had irregular thickness, 5 had irregular contour, 5 had deformation, and no bulla had thinning, thickening or rupture of the wall. Among content abnormalities, 51 bullae had anechoic content, 13 had hyperechoic content and 12 had lysis of trabeculae. Among unaffected bullae, anechoic content was noted in 14 bullae, hyperechoic content in one bulla and lysis of trabeculae was not observed. Among bullae in which edema (n = 42), exudate (n = 39) and lysis (n = 26) were observed on histology, 33, 32 and 20 bullae, respectively, were classified as positive by at least one ultrasonographer.

### *Clinical status and necropsy*

All 80 bullae from the 40 calves were evaluated macroscopically and histologically. Based on necropsy findings, 13 calves were affected with left ( $n = 6$ ) or right ( $n = 7$ ) otitis media, 16 were affected bilaterally and 11 were unaffected. Among the 45 affected bullae, according to NE, 16 bullae were considered clinically affected and 29 bullae were considered subclinical. Among unaffected bullae, 2 were considered positive by NE and 4 were considered suspicious. At the calf level, 12 calves were affected with clinical otitis media (one or both TB) and 17 calves were affected with subclinical otitis media. Upon macroscopic examination, 39 bullae were negative and 41 were positive for otitis media. On histologic examination, 35 bullae were negative, of which 16 were grade 0 and 19 were grade 1, and 45 were positive, of which 8 were grade 2, 9 were grade 3 and 28 were grade 4 (Table 2). Five bullae were negative by macroscopic examination, but grade 2 ( $n = 4$ ) or 3 ( $n = 1$ ) based on histology. One bulla was positive on macroscopic examination but negative (grade 1) on histology. Among specific changes observed on histology, 42 bullae had edema, 39 had exudate (of which 2 had focal exudate), and 26 had lysis (of which 7 had focal lysis).

Among selected calves, six were treated, on the farm, with florfenicol for suspected bronchopneumonia. All those calves were affected with otitis media based on histology. Five of them had been selected as positive or suspicious upon ultrasonography on the farm. The other one was only declared positive on ultrasonography at the CHUV.

### *Sensitivity and specificity of the ultrasound examination*

Table 3 provides sensitivity and specificity results of the three ultrasound examinations alone and in combination with NE, as well as sensitivity among clinically affected and subclinically affected bullae after adjustment for sampling probabilities.

### *Reproducibility of the ultrasound examination*

Interobserver agreement between A' and B yielded a  $\kappa$  value of 0.53, which is considered moderate agreement. Intraobserver agreement ranged from moderate to substantial, with  $\kappa$  value of 0.48 for A versus A', and  $\kappa$  values of 0.58 and 0.75 after re-reading images by A' and B, respectively.

### *Prevalence and predictive values of ultrasound examination on the farm*

On the farm, apparent prevalence of calves with otitis media based on US was 20.6 % or 28.4 %, depending on whether a suspicious result was considered negative or positive, respectively. True prevalence was estimated to be 49.7 %. For US A at the calf level, when suspicious results were grouped with negative, sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were 37.5 %, 96.1 %, 90.5 % and 60.9 %, respectively. When suspicious results were grouped with positive, sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were 49.3 %, 92.2 %, 86.2 % and 64.8 %, respectively.

## Discussion

Ultrasonography of the TB is accessible to practitioners, unlike radiography and CT. Most practitioners have access to a portable ultrasound unit and are familiar with ultrasound technique. However, a short linear probe must be available, as low quality image is obtained with the linear rectal probe<sup>13</sup>. Furthermore, the ease of mastering the technique for the TB has not been evaluated. Similar sensitivities between US A and US A', which differed mainly by the restricted time allowed for examination on the farm and by calves not being clipped, suggest that US can be performed rapidly under field conditions to screen a group of calves. These attributes make it the best diagnostic tool for practitioners attempting to confirm a clinical suspicion of otitis media or to detect a subclinical infection.

One objective of the current study was to describe abnormalities observed on US in calves affected by clinical and subclinical otitis media. Three positions of the probe were used, with position 3 being the most helpful for identification of the bulla.<sup>13</sup> Observation of all landmarks was occasionally difficult from either positions 1 or 2, but abnormalities could still be observed without perfect positioning. Abnormalities previously reported included anechoic to hyperechoic content, lysis of trabeculae, and thinning, deformation and rupture of the bulla wall.<sup>5</sup> Abnormalities observed in this study were of low severity. Subjectively, only few bullae had mild wall changes. Abnormal content was more often anechoic than hyperechoic, and

lysis of trabeculae was observed in a minority of bullae. Observation of the medial wall of the bulla, which had not been reported in clinical cases but had been reported in bovine fetus cadavers and dogs,<sup>12,13</sup> was suspected in a few cases in the current study. Taken together, the observed changes suggest a less advanced stage of disease compared to calves from the previous study. Findings from the current study suggest that wall abnormalities are uncommon. In the early stages, content abnormalities, especially observation of trabeculae due to the presence of fluid, would be more indicative of otitis than wall abnormalities. Although observed in fewer bullae, osteolysis of trabeculae was not observed in otitis negative bullae and would be more specific of a pathological condition than anechoic content with intact trabeculae. A bulla may have been noted as having anechoic content if an artifact, such as a short hyperechoic line, was misinterpreted as a part of a trabecula. On the other hand, lysis of trabeculae would usually have been noted if more than one trabecula were visible on a longer part and presented irregularity or discontinuation. Despite previous experience using the technique, many cases were classified as suspicious due to low confidence of the ultrasonographers in the face of subtle changes. In a previous study in dogs, the lack of a previously known correlation between abnormalities detected by imaging techniques and histopathology was hypothesized to affect the confidence in the diagnosis of early changes.<sup>16</sup> Mild histologic changes may result in subtle abnormalities on US, which can be misinterpreted as artifacts, consequently having a negative effect on sensitivity.

Overall sensitivity ranged from low to moderate, which may be partly attributed to the generally low severity cases. Nevertheless, this study was able to demonstrate that a medical imaging technique, such as US, could be used to detect subclinical otitis. Sensitivity for subclinically affected bullae was lower than in clinically affected bullae, but this may be simply due to the difficulty encountered to obtain ideal positioning for evaluation of the bulla and landmarks, preventing observation of subtle changes. Bones in the area caudal to the mandible restrict the space available for manipulation of the probe, as well as the acoustic window. With a lateral ultrasonographic approach, the ventral portion of the bulla is covered by the stylohyoid bone, therefore mild changes in this region are obscured.<sup>13</sup> Moreover, the most dorsal part near the opening of the eustachian tube, and likely the first part to show histological changes, is not visible. Finally, if changes do not occur against the lateral wall,

they may be obscured by the acoustic shadow normally created by the bone-air interface.<sup>13</sup> This has been previously reported in dogs and supposedly attributed to poorer results in mild cases with partially filled bullae.<sup>12</sup> It has been suggested that positioning the animal in lateral recumbency and performing ultrasound by lateral approach from beneath may overcome this problem,<sup>9</sup> but this was not specifically tested in the present study. Among calves selected, previous antimicrobial therapy did not prevent detection of affected bullae by ultrasonographers. However, among unselected calves, antimicrobial treatment may have affected their classification as negative on the farm, and therefore their probability to be selected.

Specificity of the ultrasound technique ranged from good to excellent in the present study. A previous study in calves used macroscopic post-mortem examination as the gold standard,<sup>8</sup> which, if used in this study, may have underestimated the specificity of ultrasound examination. In fact, our study suggests that histopathology should be favored as the gold standard. On the other hand, non-pathologic accumulation of fluid in the bulla, i.e. accumulation of fluid without inflammatory changes, may have affected the specificity of the technique by increasing false positive results. Liquid in the bulla has been observed in newborn calves,<sup>13</sup> and the time period in which fluid is present after birth possibly overlaps with the time period at risk for otitis media. In cats, middle ear effusion can result from auditory tube obstruction.<sup>17</sup> Eustachitis in calves has been described<sup>7,18,19</sup> and may similarly result in fluid accumulation in the TB of calves.

Comparison of our results to those of studies assessing the use of ultrasound in other species must be done with caution since case selection differed significantly, three of the previous studies used cadavers,<sup>10,14,20</sup> and the study on live dogs used CT as a gold standard.<sup>12</sup> Ultrasonography for diagnosis of canine otitis media is reported to have a sensitivity ranging from 37 % to 74 % and a specificity ranging from 55 % to 75 %.<sup>12</sup> Comparing these results to those of our study, the technique in calves has a similar sensitivity but a superior specificity. One explanation for this difference may be that in dogs, reverberation artifact may be misinterpreted as the opposite wall, resulting in a false positive.<sup>14</sup> In calves, radially-oriented trabeculae are less likely to be confounded by such an artifact.



Based on interobserver and intraobserver agreement, reproducibility of US was moderate. Moderate interobserver agreement could be attributed to the fact that ultrasonographer B was more experienced than ultrasonographer A. Ultrasonographer B obtained a superior sensitivity compared to ultrasonographer A. The moderate agreement between real-time ultrasound versus re-reading of US images may be explained by the fact that the 2<sup>nd</sup> reading was performed on static recorded images. The dynamic evaluation performed for the 1<sup>st</sup> reading allowed better observation and identification of subtle changes. Recording of a video of the complete ultrasound examination instead of images of each position may allow better interpretation upon review.

Very few studies have estimated the prevalence of otitis media in veal calves, being reportedly of 1.6 %.<sup>21</sup> In pre-weaned calf studies, the prevalence greatly varies, ranging from 3 % to 78 %.<sup>19,22-26</sup> All reported prevalence estimates were based on clinical signs and do not include subclinical cases. To the best of our knowledge, this is the first study to report prevalence of clinical and subclinical cases of otitis media. True prevalence estimate on the farm was 49.7 %, indicating that approximately half the calves of this cohort were affected by clinical or subclinical otitis. Additionally, this study took place from May to June, therefore true prevalence estimate could have been higher if the study was conducted during winter months since prevalence of otitis is reportedly higher during that season.<sup>4-6,18,19,25</sup>

Although it has been reported in dogs,<sup>12</sup> to the best of our knowledge, this study is also the first to report the use of histology as a gold standard for the diagnostic assessment of otitis media in calves. Specifically, the results of the current study show that macroscopic examination alone is not sensitive enough and will miss a significant number of cases. Also, few mild cases showed only mild multifocal epithelial and submucosal changes without exudate accumulation in the ventral aspect of the TB. Therefore, to avoid false negative, a section spanning the entire bulla should be evaluated. Mild cases detected by histological examination raise the question about clinical significance of these cases. Subclinical otitis has been described in calves, but was associated with more severe lesions.<sup>18</sup> It is unknown if low-grade histological lesions, if left untreated, develop into higher grade lesions. Mild cases were evenly distributed among groups in our study, which suggests that otitis of increasing severity

is not related to age. Clinical significance and the effects of subclinical otitis media on calf growth need to be further studied.

In summary, when performing US for the diagnosis of otitis media in calves, position 3 is critical for identification of the bulla due to the readily recognizable stylohyoid cartilage as previously reported.<sup>13</sup> Additional imaging should be performed using either position 1 or 2 for examination of the longer axis of the acoustic window. Abnormalities researched are trabeculae, seen as hyperechoic lines spread like a fan, and hyperechoic, heterogeneous content. Interpretation of mild abnormalities can be challenging and the authors propose that suspicious ultrasound results be repeated later or complemented by NE. The US technique may be used in further studies to estimate the prevalence of otitis media, including subclinical cases, as well as to determine the impact of subclinical otitis on well-being and growth of the animals. It may also provide a useful aid for understanding the kinetics of the disease in a calf group and determining an ideal time to initiate therapy, reducing the cost associated with chronic and refractory cases.

## Endnotes

a - A6V, SonoScape, Shenzhen, China

b - L745 (46 mm), SonoScape, Shenzhen, China

c - RDO Rapid Decalcifier, Apex Engineering Products Corporation, Aurora, IL

d - SAS version 9.3 (surveyfreq procedure), SAS Institute Inc., Cary, NC

e - R version 2.15.2

## References

1. Morin DE. Brainstem and cranial nerves abnormalities: listeriosis, otitis media/interna, and pituitary abscess syndrome. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2004 Jul;20(2):243-73.
2. Maunsell FP, Donovan GA. *Mycoplasma bovis* infections in young calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2009 Mar;25(1):139-77.
3. Finnen A. Predictive values of neurological examination, otoscopic examination and brainstem auditory evoked response (BAER) in calves with otitis media-interna [master's thesis]. Montréal (QC): Université de Montréal; 2011.
4. Francoz D, Fecteau G, Desrochers A, Fortin M. Otitis media in dairy calves: A retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). *Can Vet J.* 2004 Aug;45(8):661-6.
5. Bernier Gosselin V, Francoz D, Babkine M, et al. A retrospective study of 29 cases of otitis media/interna in dairy calves. *Can Vet J.* 2012 Sep;53(9):957-62.
6. Jensen R, Maki LR, Lauerman LH, et al. Cause and pathogenesis of middle ear infection in young feedlot cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1983 May 1;182(9):967-72.
7. Maunsell F, Brown MB, Powe J, et al. Oral inoculation of young dairy calves with *Mycoplasma bovis* results in colonization of tonsils, development of otitis media and local immunity. *PLoS ONE.* 2012;7(9): e44523.
8. Finnen A, Blond L, Francoz D, Parent J. Comparison of computed tomography and routine radiography of the tympanic bullae in the diagnosis of otitis media in the calf. *J Vet Intern Med.* 2011 Jan-Feb;25(1):143-7.
9. Dickie AM, Doust R, Cromarty L, et al. Ultrasound imaging of the canine tympanic bulla. *Res Vet Sci.* 2003 Oct;75(2):121-6.
10. King AM, Weinrauch SA, Doust R, et al. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for fluid identification within the feline tympanic bulla. *Vet J.* 2007 May;173(3):638-44.
11. King AM, Hall J, Cranfield F, Sullivan M. Anatomy and ultrasonographic appearance of the tympanic bulla and associated structures in the rabbit. *Vet J.* 2007 May;173(3):512-21.
12. Doust R, King A, Hammond G, et al. Assessment of middle ear disease in the dog: a comparison of diagnostic imaging modalities. *J Small Anim Pract.* 2007 Apr;48(4):188-92.

13. Bernier Gosselin V, Babkine M, Nichols S, Desrochers A. Ultrasound evaluation of tympanic bulla in calves. *Can Vet J.* 2012 Aug;53(8):849-54.
14. Dickie AM, Doust R, Cromarty L, et al. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for the identification of fluid within the canine tympanic bulla. *Res Vet Sci.* 2003 Dec;75(3):209-16.
15. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research.* 2nd ed. Charlottetown: VER Inc.; 2009.
16. Rohleder JJ, Jones JC, Duncan RB, et al. Comparative performance of radiography and computed tomography in the diagnosis of middle ear disease in 31 dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2006 Jan-Feb;47(1):45-52.
17. Shanaman M, Seiler G, Holt DE. Prevalence of clinical and subclinical middle ear disease in cats undergoing computed tomographic scans of the head. *Vet Radiol Ultrasound.* 2012 Jan-Feb;53(1):76-9.
18. Lamm CG, Munson L, Thurmond MC, et al. *Mycoplasma* otitis in California calves. *J Vet Diagn Invest.* 2004 Sep;16(5):397-402.
19. Walz PH, Mullaney TP, Render JA, et al. Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to *Mycoplasma bovis*. *J Vet Diagn Invest.* 1997 Jul;9(3):250-4.
20. King AM, Posthumus J, Hammond G, Sullivan M. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for the identification of fluid within the tympanic bulla of rabbit cadavers. *Vet J.* 2012 Aug;193(2):493-7.
21. Pardon B, Hostens M, Duchateau L, et al. Impact of respiratory disease, diarrhea, otitis and arthritis on mortality and carcass traits in white veal calves. *BMC Vet Res.* 2013 Apr;9(1):79.
22. Sockett DC, Jicinsky SA, Earleywine TJ, et al. Efficacy of tulathromycin and oxytetracycline on reducing the incidence of otitis media caused by *Mycoplasma bovis* in preweaned Holstein dairy calves. *The AABP Proceedings.* 2008;41:214.
23. Maeda T, Shibahara T, Kimura K, et al. *Mycoplasma bovis*-associated suppurative otitis media and pneumonia in bull calves. *J Comp Path.* 2003 Aug-Oct;129(2-3):100-10.
24. Foster AP, Naylor RD, Howie NM, et al. *Mycoplasma bovis* and otitis in dairy calves in the United Kingdom. *Vet J.* 2009 Mar;179(3):455-7.
25. Yeruham I, Elad D, Liberboim M. Clinical and microbiological study of an otitis media outbreak in calves in a dairy herd. *J Vet Met B.* 1999 Apr;46(3):145-50.

26. Stanton AL, Kelton DF, LeBlanc SJ, et al. Effects of tulathromycin on incidence of various diseases and growth of young heifers. *J Am Vet Med Assoc.* 2013 Jul 15;243(2):267-76.

## Tables

Table 1. Distribution of 80 TB according to otitis media histopathological, ultrasonographic and clinical status, by ultrasonographer.

Ultrasonographic results		Histopathological results		
		Positive		Negative
		Clinical	Subclinical	
US A'	Positive	9	10	0
	Suspicious	2	9	7
	Negative	5	10	28
US B	Positive	13	22	3
	Suspicious	2	1	6
	Negative	1	6	26

US A' : ultrasonographer A at the CHUV; US B : ultrasonographer B.

Table 2. Distribution of the 80 TB according to age of calves and histopathological lesions grade.

Grades	Age in days			
	19-22	26-29	40-43	47-50
Grade 0-1	10	9	8	8
Grade 2	2	3	1	2
Grade 3	2	1	3	3
Grade 4	6	7	8	7



Table 3. Sensitivity and specificity of three ultrasound examinations alone and in combination with NE for the diagnosis of otitis media in calves, using histology as the gold standard and adjusted for sampling probabilities (95 % CI).

Test	Sensitivity (95 % CI)			Specificity (95 % CI) (n = 35)
	All bullae (n = 45)	Clinical bullae (n = 16)	Subclinical bullae (n = 29)	
<b>Ultrasound examination only</b>				
<i>Suspicious by ultrasound examination excluded</i>				
US A	0.36 (0.16-0.56)	0.79 (0.54-1.00)	0.25 (0.06-0.44)	0.98 (0.96-1.00)
US A'	0.39 <sup>a</sup> (0.14-0.63)	0.64 (0.36-0.93)	0.32 (0.02-0.61)	1.00 (0.88-1.00)*
US B	0.61 <sup>b</sup> (0.36-0.86)	0.93 (0.74-1.00)	0.54 (0.24-0.84)	0.97 (0.94-1.00)
<i>Suspicious by ultrasound examination with negatives</i>				
US A	0.32 (0.16-0.49)	0.69 (0.43-0.94)	0.23 (0.07-0.39)	0.98 (0.96-1.00)
US A'	0.33 <sup>a</sup> (0.13-0.53)	0.56 (0.29-0.84)	0.27 (0.03-0.51)	1.00 (0.90-1.00)*
US B	0.59 <sup>b</sup> (0.35-0.83)	0.81 (0.60-1.00)	0.53 (0.24-0.82)	0.98 (0.95-1.00)
<i>Suspicious by ultrasound examination with positives</i>				
US A	0.42 (0.22-0.63)	0.81 (0.60-1.00)	0.32 (0.12-0.53)	0.97 (0.93-1.00)
US A'	0.47 <sup>a</sup> (0.25-0.69)	0.69 (0.43-0.94)	0.42 (0.15-0.68)	0.84 (0.67-1.00)
US B	0.63 <sup>b</sup> (0.38-0.87)	0.94 (0.80-1.00)	0.55 (0.25-0.84)	0.84 (0.70-0.99)
<b>Ultrasound and neurological examinations combined**</b>				
US A	0.37 (0.19-0.56)	Not applicable.		0.98 (0.95-1.00)
US A'	0.40 (0.19-0.60)			0.98 (0.96-1.00)
US B	0.63 (0.38-0.87)			0.96 (0.92-1.00)

\*Exact confidence interval

\*\* Diagnosis was considered positive if at least one of the two tests was positive or if both were suspicious.

<sup>a-b</sup> For each scenario, sensitivity on all bullae is significantly different between US A' and US B ( $p \leq 0.005$ ).

## Figures

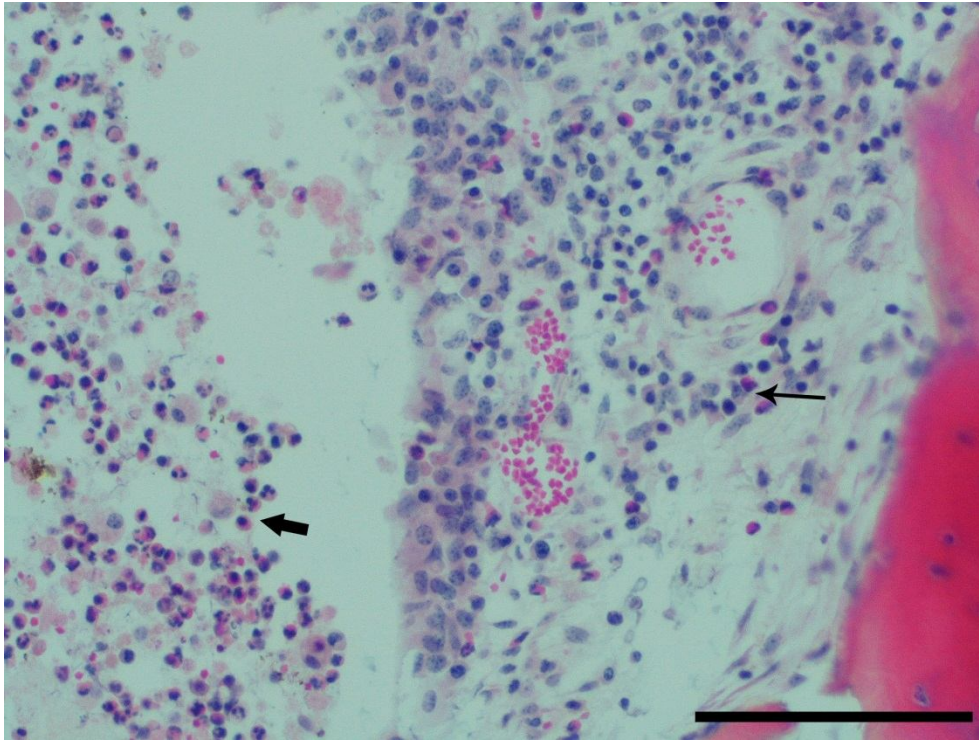


Figure 1 - Photomicrograph of the lining of the TB from a calf. An inflammatory infiltrate of neutrophils and macrophages with edema is expanding the submucosa (small arrow) and forming an exudate in the lumen of the bulla (large arrow). This bulla was considered to be a grade 2 lesion. Hematoxylin, phloxine and saffron stain, bar = 150  $\mu$ m.

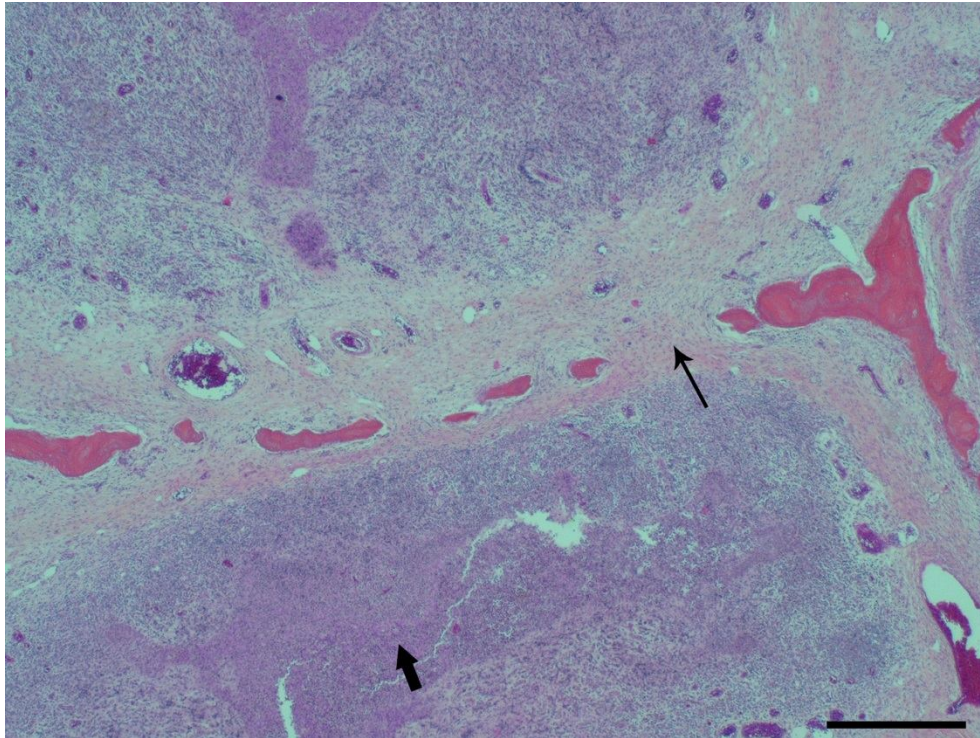


Figure 2 - Photomicrograph of the TB from a calf. The architecture of the bulla has been effaced by an intense inflammatory exudate filling the lumen of the bulla (large arrow) and mature granulation tissue replacing part of the bony trabeculae in the bulla (small arrow). This bulla was considered to be a grade 4 lesion. Hematoxylin, phloxine and saffron stain, bar = 300  $\mu\text{m}$ .

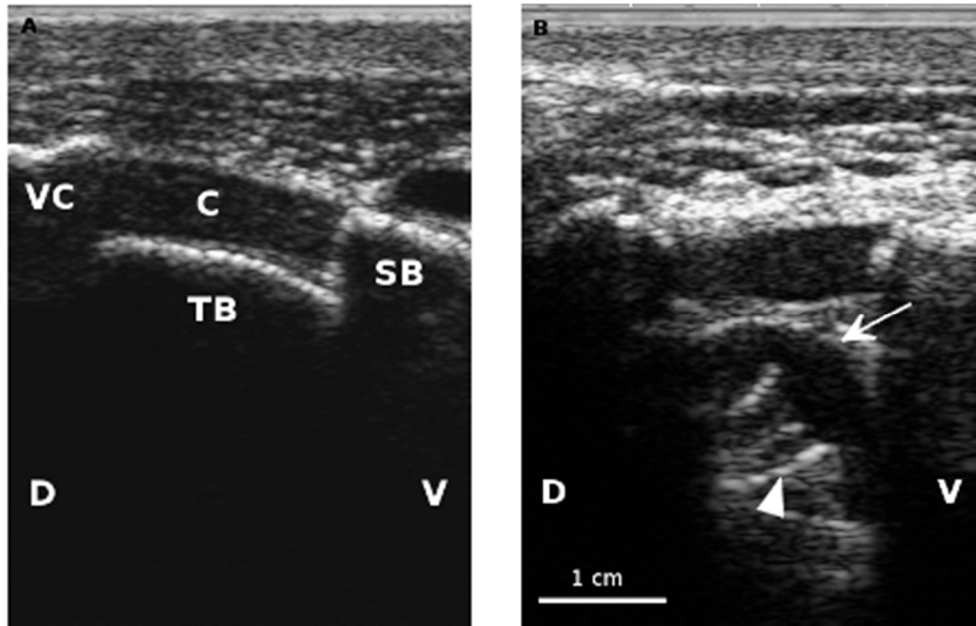


Figure 3 - Ultrasound images of a TB negative (a) and positive (b) for otitis media in position 2. D = dorsal; V = ventral; VC = vaginal crest; TB = tympanic bulla; C = stylohyoid cartilage; SB = stylohyoid bone. In the affected TB, content is mostly anechoic against the bulla wall (small arrow). Trabeculae (arrow head) are interrupted and irregular, and lysis appears concentrated against the wall.

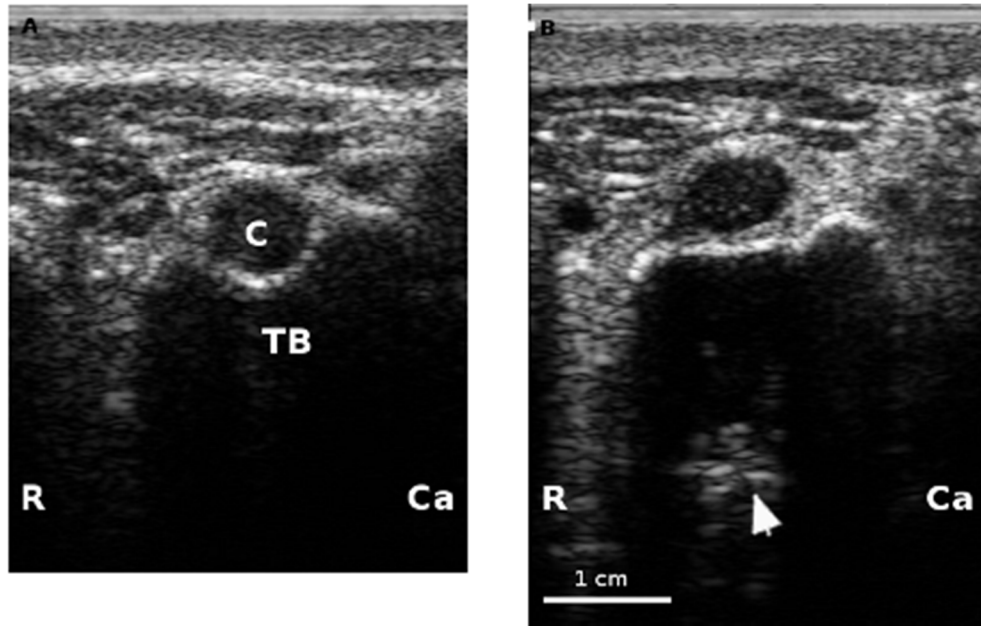


Figure 4 - Ultrasound images of a TB negative (a) and positive (b) for otitis media in position 3. R = rostral; Ca = caudal; TB = tympanic bulla; C = stylohyoid cartilage. In the affected TB, content is anechoic to echogenic, trabeculae have disappeared in most of the TB, and a hyperechoic line is visible at the bottom (white arrow head), suspected to be the medial wall of the bulla.

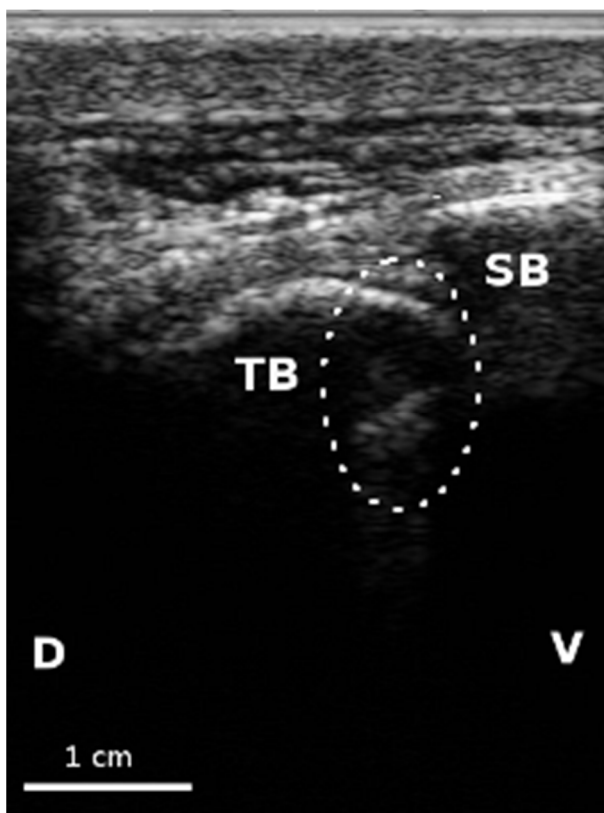


Figure 5 - Ultrasound image of a TB affected with otitis media in position 1. D = dorsal; V = ventral; TB = tympanic bulla; SB = stylohyoid bone. The most ventral part is obscured by the stylohyoid bone, while the TB content in the most dorsal part is obscured by an acoustic shadow. The visible portion (circled) shows anechoic to echogenic content and one trabecula.

## IV – Discussion générale

### 1. Changements échographiques

#### 1.1 Description des anomalies

Cette étude a permis l'évaluation et la description échographique d'un grand nombre de bulles tympaniques atteintes à différents degrés de gravité. Les anomalies rapportées dans la littérature avaient été observées sur des cas cliniques et étaient graves dans une majorité de cas. En revanche, les anomalies observées dans cette étude étaient plus légères. Les bulles tympaniques étaient évaluées selon la présence ou l'absence d'anomalies rapportées précédemment, notamment des anomalies de paroi telles que l'amincissement, l'épaississement, l'irrégularité d'épaisseur ou de contour, la déformation et la rupture. Des mesures de distance ont été notées dans le but d'objectiver de tels changements. Toutefois, en raison du faible degré de gravité des otites, peu de bulles tympaniques présentaient ces anomalies. Une valeur seuil permettant de mesurer objectivement la présence d'une anomalie n'a pas pu être établie à partir de ces données. De même, le degré de fiabilité des différentes anomalies évaluées en corrélation avec un diagnostic positif n'a pas pu être établi pour plusieurs d'entre elles. En revanche, il est probable que des bulles tympaniques présentant des anomalies de paroi soient atteintes de façon suffisamment marquée pour présenter à la fois d'autres anomalies de paroi et de contenu, tel que déjà rapporté (11), permettant de confirmer le diagnostic.

#### 1.2 Validation des anomalies

Des anomalies échographiques observées sur quatre veaux atteints d'otite clinique ont déjà été rapportées (11), mais les veaux n'ont pas été soumis en nécropsie. Dans la présente étude, le diagnostic a été confirmé à l'histologie et le degré d'atteinte établi de façon qualitative et surtout quantitative, soit sur la présence de certains changements et sur la proportion de la bulle tympanique présentant ces changements. Toutefois, la présence et la localisation spécifiques d'anomalies décrites à l'échographie, telles que des abcès ou de la lyse des trabécules en portion adjacente à la paroi, n'a pas pu être confirmée. Également, s'il donnerait à penser que la visualisation à l'échographie d'un contenu anéchogène est associée à une

atteinte moins sévère que lors de visualisation d'un contenu hyperéchogène et hétérogène, une telle corrélation n'a pas été établie avec l'histologie. Outre la validation de la technique, la validation des images échographiques aurait été intéressante à réaliser, en permettant aux échographistes de comparer les images aux lésions macroscopiques et microscopiques. Cela n'a pas été fait afin que les échographies soient réalisées à l'aveugle des autres tests tout au long de l'étude.

## 2. Validation de l'échographie

### 2.1 Sensibilité

#### 2.1.1 Résultats de l'étude

Selon les résultats de cette étude, l'échographie a une sensibilité variant selon l'échographiste et selon le scénario de classification des bulles tympaniques suspectes de 32% à 63%. La distribution des anomalies et leur contact avec la paroi sont des éléments qui peuvent avoir contribué à ce résultat, particulièrement lors d'otites peu sévères. Dans ces cas, en presumant que l'accumulation d'exsudat se produit d'abord en portion déclive de la bulle tympanique, elle ne serait alors pas visible à l'échographie puisque par approche latérale, la partie plus ventrale de la bulle tympanique est couverte par l'os stylohyoïde (18). La portion plus dorsale, adjacente à l'ouverture de la trompe d'Eustache et possiblement la première portion de la cavité tympanique présentant des changements histologiques lors d'otite, est également non-visible à l'échographie. De plus, la visualisation d'anomalie de contenu est dépendante de l'absence d'air contre la paroi en raison de l'ombre acoustique créée par l'interface os-air, tel que décrit chez le chien (18, 52). La présence d'air ne pouvait pas être déterminée par l'histologie et il est possible qu'elle ait empêché la détection à l'échographie de bulles tympaniques positives. Finalement, indépendamment du degré de gravité de l'otite, l'épaisseur de la paroi et la distance parcourue par le faisceau avant et au-delà la paroi peuvent influencer la qualité de la visualisation des structures et la facilité du diagnostic (55-56). Les sensibilités obtenues à la ferme et au CHUV par l'échographiste A' étaient similaires, indiquant que les conditions d'examen et la présence ou l'absence de rasage n'affectent pas la sensibilité de façon significative. En contrepartie, la sensibilité peut avoir été surestimée en raison de la présence de signes cliniques chez les veaux. Afin de prévenir ce biais, les échographistes ont



tenté de réaliser leur examen à l'aveugle, mais un déficit nerveux évident pourrait avoir influencé leur diagnostic. Toutefois, aucun veau ne présentait de tête penchée et une paralysie faciale complète n'a été notée que sur 6 bulles tympaniques, ce qui restreint l'ampleur de ce possible biais.

### 2.1.2 Comparaison à d'autres études

La sensibilité est légèrement inférieure à celle rapportée pour le diagnostic échographique d'otite moyenne chez le chien, laquelle varie selon l'observateur de 37% à 74% (n = 27) (52). Il faut toutefois tenir compte du fait que dans l'étude menée chez le chien, en plus de la différence dans le test de référence utilisé (tomodensitométrie versus histologie), aucun ajustement n'est réalisé suivant la sélection des cas et le nombre de bulles tympaniques sur lequel est calculée la sensibilité est inférieur. La sensibilité de la présente étude est également nettement inférieure aux sensibilités rapportées pour la détection de fluide dans la bulle tympanique de cadavres de chats, de chiens et de lapins (53-56). Cette dernière comparaison n'est pas étonnante puisque les bulles tympaniques des cadavres étaient expérimentalement remplies de gel ou de saline et le remplissage complet était confirmé à la fin de l'étude. De plus, les critères diagnostiques diffèrent selon les espèces. La visualisation du septum chez le chat ou de la paroi opposée chez le lapin et le chien, sur les cadavres ainsi que chez le chien vivant lorsque la bulle tympanique est remplie de liquide, facilite la distinction entre l'air et le liquide dans la bulle tympanique. Chez le veau, cette facilité n'existe pas puisque la visualisation de la paroi opposée est décrite seulement dans quelques bulles tympaniques (18) de même que dans la présente étude. Chez les veaux nouveau-nés et les fœtus bovins prélevés à l'abattoir, l'identification de la bulle tympanique est facilitée par la visualisation des trabécules. Bien que celle-ci pourrait, chez le veau atteint d'otite, faciliter l'identification de liquide dans la bulle tympanique dans certains cas, notamment en phase précoce, dans d'autres cas les trabécules peuvent être lysées et ne plus être visibles aussi distinctement. Ainsi, les critères diagnostiques varient également selon la gravité de l'atteinte. Contrairement aux autres espèces, aucun critère diagnostique constant n'est donc encore déterminé chez le veau.

## 2.2 Spécificité

### 2.2.1 Résultats de l'étude

La spécificité de l'échographie varie selon l'échographiste et selon le scénario de classification des bulles tympaniques suspectes de 84% à 100%. Indépendamment des échographistes, la principale condition pouvant mener à un faux-positif est l'accumulation non-pathologique de liquide dans la bulle tympanique, qui peut se produire dans deux situations. Tout d'abord, une telle accumulation a été décrite chez les veaux nouveau-nés (18). L'étendue de la période durant laquelle du liquide est présent dans la bulle tympanique après la naissance n'est pas encore connue, et il est possible que cette période chevauche la période à risque d'otite moyenne. Ensuite, chez l'enfant, l'otite moyenne avec effusion est définie comme une accumulation de liquide dans l'oreille moyenne, sans apparition aiguë de signes ou symptômes d'infection, et serait causée par une dysfonction de la trompe d'Eustache ou par une réponse inflammatoire suivant un épisode d'otite moyenne aiguë (35). Chez le chat, l'obstruction expérimentale de la trompe d'Eustache entraîne une effusion dans l'oreille moyenne, reproduisant possiblement le mécanisme d'apparition d'effusion secondaire à l'inflammation de la trompe d'Eustache lors d'infection du système respiratoire supérieur (33). L'inflammation de la trompe d'Eustache a été décrite chez le veau (2-3, 21) et pourrait entraîner une obstruction et une effusion dans la bulle tympanique de façon similaire. Cette inflammation de la trompe d'Eustache est parfois associée à une otite moyenne et semble la précéder (2). Seule une cytologie de l'effusion permettrait de faire la distinction entre une effusion secondaire à l'obstruction et une effusion d'otite précoce, ce qui est difficilement réalisable chez le veau vivant. Dans la présente étude, les bulles tympaniques ont été ouvertes à l'aide d'une scie à ruban. Si une effusion était présente, elle s'est écoulée au moment de l'ouverture et a pu être manquée. La congélation des têtes aurait pu prévenir la fuite de l'effusion au moment de la coupe. La tomodensitométrie aurait également pu détecter une telle effusion, sans toutefois déterminer sa nature, comme décrit chez le chat. Il n'a donc pas été possible de déterminer si une effusion non-pathologique est à l'origine des faux-positifs dans cette étude.

### 2.2.2 Comparaison à d'autres études

La spécificité est supérieure à la spécificité rapportée pour le diagnostic échographique d'otite moyenne chez le chien, laquelle varie selon l'observateur de 55% à 74% (n = 31) (52) et à

celle d'une étude sur des cadavres de chiens (54). Elle est similaire aux spécificités rapportées pour la détection de fluide dans la bulle tympanique de cadavres de chats, de lapins et de chiens d'une autre étude (53, 55-56). Chez les cadavres de chiens, il a été suggéré que la paroi opposée puisse être confondue avec un artéfact de réverbération, menant à des faux positifs (54). Chez le veau, l'utilisation, comme critère, des trabécules en éventail plutôt que de la paroi opposée limite ce risque.

### 2.3 Variabilité

La répétabilité se définit comme la variabilité des résultats d'un test répété sur un même échantillon dans les mêmes conditions (57). Dans cette étude, la répétabilité d'un même échographiste dans les mêmes conditions n'a pas été évaluée. La reproductibilité intra-observateur dans des conditions différentes, à la ferme et à l'hôpital, est modérée ( $\kappa = 0,48$ ), tandis qu'elle est modérée à substantielle entre le diagnostic en temps réel et la relecture d'images ( $\kappa = 0,58$  et  $0,75$ ). La concordance entre deux échographistes est également modérée ( $\kappa = 0,53$ ). La concordance inter-observateur observée chez les cadavres de chats et de lapins était supérieure à celle de la présente étude (55-56). Toutefois, les bulles tympaniques de ces études étaient remplies expérimentalement, ce qui peut avoir facilité l'obtention d'une image anormale même sans positionnement parfait de la sonde et sans longue expérience avec la technique. Une étude chez le chien vivant avait obtenu une valeur de kappa de  $0,16$  pour la concordance entre le diagnostic d'un échographiste et la lecture par un autre observateur d'un enregistrement vidéo de l'examen échographique (52). Dans la présente étude, les valeurs de kappa pour une situation similaire, avec la lecture d'images plutôt que de vidéos, étaient de  $0,46$  et  $0,56$ . Cela peut résulter d'un meilleur accord entre les échographistes sur les éléments sur lesquels repose le diagnostic chez le veau.

## 3. Sensibilité de l'examen neurologique

L'examen neurologique dans cette étude avait une sensibilité de 13%, 12% et 21%, selon que les bulles tympaniques suspectes soient exclues, groupées avec les négatives ou groupées avec les positives, respectivement. Pour les trois scénarios de classification des suspects, cette sensibilité est inférieure à celle de chacune des échographies. La sensibilité de l'examen

neurologique rapportée dans une autre étude était de 61,1% (n = 18) (12). Plusieurs éléments peuvent expliquer la différence entre ce résultat et ceux obtenus dans la présente étude. D'abord, le test de référence utilisé dans l'étude de Finnen *et al.* était la tomodensitométrie, elle-même validée en utilisant comme test de référence l'examen macroscopique (14). Selon les résultats de la présente étude, l'histologie est plus sensible que l'examen macroscopique et donc que la tomodensitométrie, ce qui peut avoir surestimé la sensibilité de l'examen neurologique dans l'étude de Finnen *et al.* Deuxièmement, en plus d'une certaine variabilité attendue entre deux observateurs, l'examen dans la présente étude était réalisé par un clinicien, tandis que dans l'étude de Finnen *et al.*, il était réalisé par un médecin vétérinaire spécialiste en neurologie, de qui on s'attend à une sensibilité supérieure. Finalement, tel que déjà discuté, dans la présente étude plusieurs bulles tympaniques étaient atteintes de façon plus légère et présentaient des changements histologiques légers. L'atteinte du nerf facial n'a été évaluée à l'histologie dans aucune des deux études. Toutefois, il est possible que l'atteinte plus légère des bulles tympaniques ait été accompagnée d'une atteinte du nerf facial dans une plus faible proportion que parmi les bulles tympaniques de l'autre étude.

## 4. Histologie

### 4.1 Comparaison à l'examen macroscopique

Cette étude est la première utilisant l'histologie comme test de référence pour l'évaluation d'une modalité diagnostique de l'otite moyenne chez le veau. L'histologie a identifié cinq bulles tympaniques positives qui ne présentaient pas de changements à l'examen macroscopique. La détection à l'histologie de bulles tympaniques positives ayant un examen macroscopique normal en chirurgie a été rapportée chez le chien (51). L'histologie apparaît donc plus sensible pour la détection de changements précoces.

### 4.2 Méthode d'évaluation

Il n'existe pas de méthode universelle d'évaluation histologique de la bulle tympanique chez le veau. Dans la présente étude, la bulle tympanique était évaluée à l'histologie de façon semi-quantitative sur une échelle de 0 à 4, tandis qu'une autre étude récente a utilisé une échelle subjective de 1 à 5 en fonction de la sévérité des lésions présentes (2). Dans les cas légers de la

présente étude, les changements impliquaient l'épithélium et la sous-muqueuse sans accumulation d'exsudat en partie déclive de la bulle tympanique, et pouvaient être observés multifocalement sans être présents en partie ventrale. Nos résultats indiquent donc l'importance d'évaluer la totalité de la bulle tympanique afin d'éviter de sous-diagnostiquer certaines otites.

#### 4.3 Interprétation

À notre connaissance, il s'agit du premier rapport de lésions aussi légères lors d'otite moyenne chez le veau, ce qui rend leur interprétation clinique difficile. Dix-neuf bulles tympaniques ont été considérées négatives avec l'attribution d'un grade 1 à l'histologie, correspondant pourtant à jusqu'à 25% de la section de la bulle tympanique présentant des changements. La corrélation avec la présence de lésions dans la trompe d'Eustache, telle que rapportée chez les porcelets (24) de même que chez le veau (2), ainsi qu'avec la colonisation de la bulle tympanique par des pathogènes aurait été utile à l'interprétation de ces lésions. Une étude a rapporté des lésions histologiques légères chez un chien cliniquement sain et il a été proposé que des études ultérieures déterminent le degré d'inflammation normalement observable à l'histologie chez les animaux sains (51). De façon similaire chez le veau, d'autres études sont nécessaires pour déterminer le caractère significatif de lésions observées dans moins de 25% de la bulle tympanique.

#### 4.4 Importance clinique

Dans la présente étude, la majorité des otites étaient subcliniques. La présence de cas légers à l'histologie soulève la question de l'importance clinique de ces cas. Chez les porcelets, les otites moyennes débutent sous forme d'eustachite et évoluent en sévérité (24). À l'inverse, les chats et les enfants peuvent présenter une effusion de l'oreille moyenne sans évoluer en otite moyenne clinique (33, 35). Dans une étude expérimentale sur des veaux de lait, Maunsell *et al.* (2) a émis l'hypothèse d'un processus similaire à celui observé chez le porcelet, soit que lorsque *M. bovis* atteint la bulle tympanique, il devient à l'abri du système immunitaire et prolifère en grand nombre pour évoluer en otite moyenne. Une autre étude évaluant l'impact de l'otite et d'autres maladies sur la qualité de la carcasse a conclu que l'otite n'a pas d'effet négatif, mais la méthode diagnostique n'est pas précisée (62). De plus, la présence d'otite

n'est évaluée qu'à l'abattoir, ce qui n'exclut pas l'occurrence d'une otite subclinique présentant une guérison spontanée, ou concomitante à une autre maladie et ayant répondu au traitement administré pour cette dernière. La faible prévalence d'otites cliniques de 1,6% dans cette étude limite également l'extrapolation des résultats aux élevages à prévalence très élevée. Les conséquences chez le veau en croissance d'un épisode d'otite moyenne clinique ou subclinique, en contrôlant pour les maladies concomitantes, restent à étudier.

#### 4.5 Lésions concomitantes

Compte tenu du temps, du budget et du personnel disponibles pour l'étude, seules les bulles tympaniques ont été évaluées à l'histologie. L'évaluation des lésions de la trompe d'Eustache, tel que discuté plus haut, de même que des lésions pulmonaires aurait permis d'étudier leur association avec les lésions de la bulle tympanique. La bronchopneumonie est la maladie la plus souvent associée à l'otite clinique (9-11). Devant la forte proportion d'otites subcliniques dans la présente étude et l'incertitude quant à leur importance clinique et à la nécessité de les traiter, il aurait été intéressant de connaître dans quelle mesure ces otites sont associées à une bronchopneumonie.

## 5. Défis et solutions du projet

### 5.1 Sélection des sujets

Une des complexités de cette étude était la sélection des veaux sur la ferme. La prévalence d'otite sur la ferme de même que la sensibilité de l'échographie n'étaient pas connues d'avance. L'objectif était de réaliser 4 visites à la ferme et de sélectionner 10 veaux par visite pour un total de 40 veaux. Initialement, il était prévu de faire l'échographie sur des veaux choisis aléatoirement jusqu'à l'obtention de 10 bulles tympaniques positives et 10 bulles tympaniques négatives par visite. Finalement, l'échographie a dû être réalisée systématiquement sur tous les veaux des enclos sélectionnés afin d'obtenir un nombre minimum de bulles tympaniques positives, parfois inférieur à 10. Toutefois, cette méthode d'échantillonnage est également une des forces de l'étude, puisque la sensibilité et la spécificité sont estimées sur un échantillon de taille modérée et représentant la totalité de la population de cette cohorte de veaux (à l'exception des veaux morts avant leur sélection). Les valeurs de sensibilité et spécificité

peuvent donc plus facilement être transposées à une autre population que si elles avaient été estimées sur une sous-population, par exemple des veaux présentés au CHUV pour otite clinique.

### 5.2 Bulles tympaniques suspectes

Une deuxième difficulté de l'étude était l'évaluation de bulles tympaniques présentant une atteinte de plus faible sévérité que décrite jusqu'à maintenant. L'existence d'une catégorie de bulles tympaniques « suspectes » n'était pas prévue initialement. En raison du faible nombre de bulles tympaniques positives à la ferme, ces bulles tympaniques suspectes ont finalement été sélectionnées comme les bulles tympaniques positives. La catégorie a été conservée et définie clairement pour le diagnostic échographique au CHUV. De plus, pour l'échographiste A, un plus grand nombre de bulles tympaniques étaient suspectes au CHUV qu'à la ferme. Cette difficulté semblait plus élevée au CHUV en raison du déroulement de l'échographie. Le même appareil à échographie était utilisé. Toutefois, l'échographie à la ferme était réalisée dans une optique de dépistage, tandis qu'au CHUV elle visait à obtenir une image à enregistrer pour chacune des positions, afin de prendre des mesures entre les structures et pour relecture. La contention des veaux était également différente à la ferme et au CHUV, en raison des installations. À la ferme, l'échographiste se situait à l'extérieur de l'enclos; la tête du veau était passée dans un espace à la mangeoire et repliée sur la barrière, ce qui avait pour effet d'ouvrir l'angle derrière la mandibule et de faciliter le contact et le maniement de la sonde. Au CHUV, l'échographiste était à l'intérieur de la stalle et la tête du veau était attachée à la barrière, en ligne droite avec le tronc. Ces différences ont pu influencer la capacité à détecter un plus grand nombre d'anomalies ou leur visualisation dans plus d'une position, critères qui auraient mené à un diagnostic positif plutôt que suspect.

### 5.3 Appareil et sonde à échographie

Finalement, l'appareil à échographie utilisé dans cette étude était un appareil portatif. Le principal avantage de ce choix est d'être représentatif du type d'appareil utilisé par les vétérinaires praticiens. De cette façon, les sensibilités et spécificités de la présente étude reflèteraient celles pouvant être obtenues par les vétérinaires praticiens lorsqu'ils maîtrisent la technique d'échographie. Le principal inconvénient de ce choix d'appareil est qu'il offrait une

image de moins bonne définition que l'appareil utilisé dans l'étude sur les cadavres et sur les cas cliniques, ce qui a pu influencer la capacité de détection d'anomalies subtiles. La qualité d'image varie également selon les modèles d'appareil, et il est possible que celle d'un appareil destiné principalement à l'échographie du système reproducteur soit inférieure à celle de l'appareil utilisé dans la présente étude. En revanche, la sonde utilisée dans cette étude est la sonde linéaire courte, qui dans l'étude sur les cadavres avait offert la meilleure qualité d'image (18). Or, peu de vétérinaires pratiquant en médecine bovine utilisent ce type de sonde, par conséquent il est possible que l'image obtenue à l'aide d'un appareil portable et d'une sonde transrectale par les vétérinaires praticiens ne soit pas de qualité diagnostique.

#### 5.4 Technique

La sensibilité, spécificité et variabilité ont été évaluées par deux échographistes qui avaient travaillé à développer la technique sur des fœtus bovins. De ce fait, ils ont acquis une bonne connaissance des repères anatomiques entourant la bulle tympanique et permettant son identification, ainsi qu'une certaine expérience avec le déroulement de la technique pour l'obtention des trois positions décrites et finalement l'identification d'images anormales. En moyenne, l'évaluation échographique des deux bulles tympaniques d'un veau peut être réalisée en cinq minutes. Cependant, pour un vétérinaire praticien non-familier avec la technique, l'identification de la bulle et l'obtention successive des positions utiles à son évaluation sont probablement les étapes les plus difficiles à réaliser. La bulle tympanique et ses repères sont des structures osseuses de petites dimensions. La longueur visible de la surface de la bulle est d'environ 1 cm (18). L'aspect des surfaces osseuses peut varier grandement lorsque la position et l'orientation de la sonde ne sont pas optimales, ce qui n'est pas aussi critique lors d'échographie de tissus mous. La nécessité de changer de position, dans un espace restreint caudal à la mandibule, crée une difficulté supplémentaire et un risque de ne pas parvenir à identifier les structures souhaitées dans la position suivante si l'attention n'est pas portée à suivre le repère durant le changement de position.



## V – Conclusion

Pour le diagnostic d'otite moyenne chez le veau, la tomodensitométrie est la méthode de référence du vivant de l'animal (14), tandis que l'histopathologie est la méthode de référence post-mortem. Néanmoins, l'échographie est la seule technique d'imagerie médicale permettant le diagnostic par les vétérinaires praticiens à la ferme, rapidement et avec un minimum de contention. L'échographie des bulles tympaniques offre une bonne spécificité et une faible sensibilité pour le diagnostic d'otite clinique et subclinique, bien que la sensibilité soit inférieure sur les bulles tympaniques atteintes de façon subclinique. Cette étude a également démontré qu'une importante proportion des otites peuvent être subcliniques. Pour toutes ces raisons, l'échographie a le potentiel d'être utilisée dans des études futures sur des groupes de veaux, notamment pour estimer la prévalence d'otite moyenne incluant les cas subcliniques. Elle pourrait également être utilisée pour étudier l'impact des otites cliniques et subcliniques sur la croissance des veaux, en tenant compte de leur possible association avec une bronchopneumonie. Elle pourrait finalement contribuer à comprendre la cinétique du développement d'otites moyennes en vue de déterminer le moment optimal où instaurer un traitement afin d'en augmenter l'efficacité, diminuer l'incidence clinique des otites, les coûts associés aux traitements répétés et les pertes associées aux cas chroniques.

## Bibliographie

1. Jensen R, Maki LR, Lauerman LH, Raths WR, Swift BL, Flack DE, et al. Cause and pathogenesis of middle ear infection in young feedlot cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1983 May 1;182(9):967-72.
2. Maunsell F, Brown MB, Powe J, Ivey J, Woolard M, Love W, et al. Oral inoculation of young dairy calves with *Mycoplasma bovis* results in colonization of tonsils, development of otitis media and local immunity. *PLoS One.* 2012;7(9): e44523.
3. Walz PH, Mullaney TP, Render JA, Walker RD, Mosser T, Baker JC. Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to *Mycoplasma bovis*. *J Vet Diagn Invest.* 1997 Jul;9(3):250-4.
4. Maeda T, Shibahara T, Kimura K, Wada Y, Sato K, Imada Y, et al. *Mycoplasma bovis*-associated suppurative otitis media and pneumonia in bull calves. *J Comp Path.* 2003 Aug-Oct;129(2-3):100-10.
5. Yeruham I, Elad D, Liberboim M. Clinical and microbiological study of an otitis media outbreak in calves in a dairy herd. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1999 Apr;46(3):145-50.
6. Foster AP, Naylor RD, Howie NM, Nicholas RA, Ayling RD. *Mycoplasma bovis* and otitis in dairy calves in the United Kingdom. *Vet J.* 2009 Mar;179(3):455-7.
7. Sockett DC, Jicinsky SA, Earleywine TJ, Miller BL, Johnson TE, Olson JD. Efficacy of tulathromycin and oxytetracycline on reducing the incidence of otitis media caused by *Mycoplasma bovis* in preweaned Holstein dairy calves. *The AABP Proceedings.* 2008;41:214.

8. Stanton AL, Kelton DF, LeBlanc SJ, Wormuth J, Fox LK, Leslie KE. Effects of tulathromycin on incidence of various diseases and growth of young heifers. *J Am Vet Med Assoc.* 2013 Jul 15;243(2):267-76.
9. Morin DE. Brainstem and cranial nerves abnormalities: listeriosis, otitis media/interna, and pituitary abscess syndrome. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2004 Jul;20(2):243-73.
10. Francoz D, Fecteau G, Desrochers A, Fortin M. Otitis media in dairy calves: A retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). *Can Vet J.* 2004 Aug;45(8):661-6.
11. Bernier Gosselin V, Francoz D, Babkine M, Desrochers A, Nichols S, Doré E, et al. A retrospective study of 29 cases of otitis media/interna in dairy calves. *Can Vet J.* 2012 Sep;53(9):957-62.
12. Finnen A. Predictive values of neurological examination, otoscopic examination and brainstem auditory evoked response (BAER) in calves with otitis media-interna [Mémoire de maîtrise]. Montréal (QC): Université de Montréal; 2011.
13. Maunsell FP, Donovan GA. *Mycoplasma bovis* infections in young calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2009 Mar;25(1):139-77.
14. Finnen A, Blond L, Francoz D, Parent J. Comparison of computed tomography and routine radiography of the tympanic bullae in the diagnosis of otitis media in the calf. *J Vet Intern Med.* 2011 Jan-Feb;25(1):143-7.
15. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Textbook of Veterinary Anatomy.* 4<sup>e</sup> éd. St. Louis: Saunders/Elsevier; 2010.
16. Getty R. Sisson and Grossman's *The Anatomy of the Domestic Animals*, v. 2. 5<sup>e</sup> éd. Philadelphia: Saunders; 1975.

17. Barone R. Neurologie II : système nerveux périphérique, glandes endocrines, esthésiologie, t. 7 de Anatomie comparée des mammifères domestiques. 5<sup>e</sup> éd. Paris: Vigot; 2010.
18. Bernier Gosselin V, Babkine M, Nichols S, Desrochers A. Ultrasound evaluation of tympanic bulla in calves. *Can Vet J.* 2012 Aug;53(8):849-54.
19. De Lahunta A, Glass E. Veterinary neuroanatomy and clinical neurology. 3<sup>e</sup> éd. St. Louis: Saunders Elsevier; 2009.
20. Van Biervliet J, Perkins GA, Woodie B, Pelligrini-Massini A, Divers TJ, de Lahunta A. Clinical signs, computed tomographic imaging, and management of chronic otitis media/interna in dairy calves. *J Vet Intern Med.* 2004 Nov-Dec;18(6):907-10.
21. Lamm CG, Munson L, Thurmond MC, Barr BC, George LW. *Mycoplasma* otitis in California calves. *J Vet Diagn Invest.* 2004 Sep;16(5):397-402.
22. Macleod NSM, Wiener G, Barlow RM. Factors involved in middle ear infection (otitis media) in lambs. *Vet Rec.* 1972 Oct 7;91(15):360-2.
23. Jensen R, Pierson RE, Weibel JL, Tucker JO, Swift BL. Middle ear infection in feedlot lambs. *J Am Vet Med Assoc.* 1982 Oct 15;181(8):805-7.
24. Shimada A, Adachi T, Umemura T, Kohno K, Sakaguchi Y, Itakura C. A pathologic and bacteriologic study on otitis media in swine. *Vet Pathol.* 1992 Jul;29(4):337-42.
25. Ruohola A, Pettigrew MM, Lindholm L, Jalava J, Räisänen KS, Vainionpää R, et al. Bacterial and viral interactions within the nasopharynx contribute to the risk of acute otitis media. *J Infect.* 2013 Mar;66(3):247-54.
26. Rosenfeld RM, Bluestone CD. Evidence-based Otitis Media. Hamilton: Decker; 1999.

27. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Management of Acute Otitis Media. Diagnosis and management of acute otitis media. *Pediatrics*. 2004 May;113(5):1451-65.
28. Morita T, Fukuda H, Awakura T, Shimada A, Umemura T, Kazama S, et al. Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* as a possible primary pathogen for porcine otitis media. *Vet Pathol*. 1995 Mar;32(2):107-11.
29. Kazama S, Yagihashi T, Morita T, Awakura T, Shimada A, Umemura T. Isolation of *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma arginini* from the ears of pigs with otitis media. *Res Vet Sci*. 1994 Jan;56(1):108-10.
30. Duarte ER, Hamdan JS. Otitis in cattle, an aetiological review. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2004 Feb;51(1):1-7.
31. Fisher PG, Carpenter JW. Neurologic and musculoskeletal diseases. Dans: Quesenberry KE, Carpenter JW, éditeurs. *Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery*. 3<sup>e</sup> éd. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p. 245-256.
32. Morgan KL. Parasitic otitis in sheep associated with *Psoroptes* infestation: a clinical and epidemiological study. *Vet Rec*. 1992 Jun 13;130(24):530-2.
33. Shanaman M, Seiler G, Holt DE. Prevalence of clinical and subclinical middle ear disease in cats undergoing computed tomographic scans of the head. *Vet Radiol Ultrasound*. 2012 Jan-Feb;53(1):76-9.
34. Ayling R, Nicholas R, Hogg R, Wessels J, Scholes S, Byrne W, et al. *Mycoplasma bovis* isolated from brain tissue of calves. *Vet Rec*. 2005 Mar 19;156(12):391-2.

35. American Academy of Family Physicians; American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery; American Academy of Pediatrics Subcommittee on Otitis Media With Effusion. Otitis media with effusion. *Pediatrics*. 2004 May;113(5):1412-29.
36. Koenig JB, Watrous BJ, Kaneps AJ, Adams JG, Parker JE. Otitis media in a llama. *J Am Vet Med Assoc*. 2001 May 15;218(10):1619-23.
37. Kawasaki Y, Takagi M, Fushimi Y, Mukai S, Yoshida T, Chuma T, et al. Bilateral otitis media with facial paralysis in a Japanese black calf. *Vet Rec*. 2009 Aug 15;165(7):212-3.
38. Braun U, Scharf G, Blessing S, Kaser-Hotz B. Clinical and computed tomographic findings in a heifer with vestibular syndrome caused by bullous empyema. *Vet Rec*. 2004 Aug 28;155(9):272-3.
39. Stokol T, Divers TJ, Arrigan JW, McDonough SP. Cerebrospinal fluid findings in cattle with central nervous system disorders: a retrospective study of 102 cases (1990-2008). *Vet Clin Pathol*. 2009 Mar;38(1):103-12.
40. Gara-Boivin C, Nichols S, Bernier Gosselin V, Babkine M, Gains MJ, Francoz D. Cerebrospinal fluid findings in normal and confirmed cases of otitis media in calves. *J Vet Intern Med*. 2013 May-Jun;7(3):671.
41. Nation PN, Frelief PF, Gifford GA, Carnat BD. Otitis in feedlot cattle. *Can Vet J*. 1983 Jul;24(7):238.
42. Arcangioli MA, Froux W, Poumarat F, Le Grand D. Case reports: *Mycoplasma bovis* otitis in French dairy calves. *Revue Méd Vét*. 2012;163(6):284-6.
43. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat. 7<sup>e</sup> éd. St. Louis: Elsevier Saunders; 2010.

44. Marriott MR, Dart AJ, Macpherson C, Hodgson DR. Total ear canal ablation and lateral bulla osteotomy in an alpaca. *Aust Vet J.* 1999 May;77(5):301-2.
45. Sumner JP, Mueller T, Clapp KS, Darien BJ, Forrest LJ, Colopy SA. Modified ear canal ablation and lateral bulla osteotomy for management of otitis media in an alpaca. *Vet Surg.* 2012 Feb;41(2):273-7.
46. Garosi LS, Dennis R, Schwarz T. Review of diagnostic imaging of ear diseases in the dog and cat. *Vet Radiol Ultrasound.* 2003 Mar-Apr;44(2):137-46.
47. Thrall DE. *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology.* 2<sup>e</sup> éd. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994.
48. Hammond G, Sullivan M, Posthumus J, King A. Assessment of three radiographic projections for detection of fluid in the rabbit tympanic bulla. *Vet Radiol Ultrasound.* 2010 Jan-Feb;51(1):48-51.
49. Bischoff MG, Kneller SK. Diagnostic imaging of the canine and feline ear. *Vet Clin Small Anim.* 2004 Mar;34(2):437-58.
50. Love NA, Kramer RW, Spodnick GJ, Thrall DE. Radiographic and computed tomographic evaluation of otitis media in the dog. *Vet Radiol Ultrasound.* 1995;36(5):375-9.
51. Rohleder JJ, Jones JC, Duncan RB, Larson MM, Waldron DL, Tromblee T. Comparative performance of radiography and computed tomography in the diagnosis of middle ear disease in 31 dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2006 Jan-Feb;47(1):45-52.
52. Doust R, King A, Hammond G, Cave T, Weinrauch S, Mellor D, et al. Assessment of middle ear disease in the dog: a comparison of diagnostic imaging modalities. *J Small Anim Pract.* 2007 Apr;48(4):188-92.

- 53.Griffiths LG, Sullivan M, O'Neill T, Reid SW. Ultrasonography versus radiography for detection of fluid in the canine tympanic bulla. *Vet Radiol Ultrasound*. 2003 Mar-Apr;44(2):210-3.
- 54.Dickie AM, Doust R, Cromarty L, Johnson VS, Sullivan M, Boyd JS. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for the identification of fluid within the canine tympanic bulla. *Res Vet Sci*. 2003 Dec;75(3):209-16.
- 55.King AM, Weinrauch SA, Doust R, Hammond G, Yam PS, Sullivan M. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for fluid identification within the feline tympanic bulla. *Vet J*. 2007 May;173(3):638-44.
- 56.King AM, Posthumus J, Hammond G, Sullivan M. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for the identification of fluid within the tympanic bulla of rabbit cadavers. *Vet J*. 2012 Aug;193(2):493-7.
- 57.Dohoo I, Martin W, Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research*. 2e éd. Charlottetown: VER, Inc.; 2009.
- 58.Lee K, Yamada K, Tsuneda R, Kishimoto M, Shimizu J, Kobayashi Y, et al. Clinical experience of using multidetector-row CT for the diagnosis of disorders in cattle. *Vet Rec*. 2009 Nov;165(19):559-62.
- 59.Barthez PY, Koblik PD, Hornof WJ, Wisner ER, Seibert JA. Apparent wall thickening in fluid filled versus air filled tympanic bulla in computed tomography. *Vet Radiol Ultrasound*. 1996;37(2):95-8.
- 60.Dickie AM, Doust R, Cromarty L, Johnson VS, Sullivan M, Boyd JS. Ultrasound imaging of the canine tympanic bulla. *Res Vet Sci*. 2003 Oct;75(2):121-6.



61.King AM, Hall J, Cranfield F, Sullivan M. Anatomy and ultrasonographic appearance of the tympanic bulla and associated structures in the rabbit. *Vet J.* 2007 May;173(3):512-21.

62.Pardon B, Hostens M, Duchateau L, Dewulf J, De Bleecker K, Deprez P. Impact of respiratory disease, diarrhea, otitis and arthritis on mortality and carcass traits in white veal calves. *BMC Vet Res.* 2013 Apr;9(1):79.

