

Apport des automates d'hématologie (Sysmex XN-Series) dans le diagnostic rapide du paludisme : à propos de deux cas

Contribution of hematology analyzers (Sysmex XN-Series) in the rapid diagnosis of malaria: case reports

Pauline Pitti

Françoise Tassin

Aurore Keutgens

Service d'hématologie biologique,
CHU de Liège, N°1 Avenue de
l'Hôpital 4000 Liège Belgique

Résumé. Le paludisme est une maladie potentiellement sévère sévissant particulièrement en Afrique. En Europe, les cas de paludisme proviennent majoritairement de voyageurs revenant de zones endémiques. La symptomatologie non spécifique peut ne pas alerter le clinicien si cette notion de voyage n'est pas abordée. Or, le diagnostic et l'instauration rapide d'un traitement empêchent l'évolution vers les formes graves, notamment en cas d'infection à *Plasmodium falciparum*, capable d'engager le pronostic vital en 24h. La microscopie sur frottis mince et en goutte épaisse est la méthode de référence pour le diagnostic mais certains automates d'hématologie ont démontré leur capacité à participer au diagnostic précoce. Nous décrivons deux cas illustrant la contribution de la chaîne automatisée Sysmex XN-9100 dans le diagnostic de la malaria. Le premier cas clinique est celui d'un jeune homme infecté par de nombreux gamétocytes de *Plasmodium falciparum*. Ceux-ci forment une population additionnelle visualisable sur les scattergrammes des leucocytes WNR (numération des leucocytes) et WDF (formule leucocytaire). Le second cas concerne un homme atteint de neuropaludisme, avec une parasitémie élevée à *Plasmodium falciparum*. Les hématies parasitées forment une discrète double population sur le scattergramme des réticulocytes, située à la limite de discrimination des globules rouges matures et des réticulocytes. Les anomalies des scattergrammes, visualisables en quelques minutes, offre une anticipation du diagnostic de malaria en comparaison à la microscopie sur frottis mince et goutte épaisse, technique nécessitant un temps et une expertise non négligeable.

Mots clés : paludisme, automates d'hématologie, Sysmex XN-9100, fluoro-cytométrie, scattergramme

Abstract. Malaria is a potentially severe disease, particularly in Africa. In Europe, the majority of malaria cases come from travelers returning from endemic areas. The non-specific symptomatology may not alert the clinician if this notion of travel is not addressed. However, diagnosis and rapid initiation of treatment prevent the evolution of severe forms of the disease, especially in the case of *Plasmodium falciparum* infection, which can be life-threatening within 24 hours. Thin and thick blood smears microscopy is the main tools for diagnosis, but some automated hematology analyzers have demonstrated their ability to participate in early diagnosis. We describe two cases illustrating the contribution of the Sysmex XN-9100 automated system for the diagnosis of malaria. The first clinical case described a young man infected with numerous *Plasmodium falciparum* gametocytes. WNR (white blood cell count) and WDF (white blood cell differentiation) scattergrams showed an additional population,

Article reçu le 25 novembre 2022,
accepté le 22 janvier 2023

Correspondance : P. Pitti
<p.pitti@chuliege.be>

corresponding to gametocytes. The second case focused on a man with neuromalaria and high *Plasmodium falciparum* parasitaemia. Parasitized red blood cells form an inconspicuous double population on the reticulocyte scattergram, located at the discrimination limit between mature red blood cells and reticulocytes. Scattergram abnormalities, which can be visualized in a few minutes, offer an anticipation of the diagnosis of malaria in comparison to thin and thick smears microscopy, that requiring considerable time and expertise.

Key words: malaria, hematology analyzers, Sysmex XN-9100, fluorescence flow cytometry, scattergram

Introduction

Le paludisme est une maladie potentiellement sévère causée par le parasite *Plasmodium*. Actuellement, cette maladie transmise par piqûre de moustiques anophèles femelles infectées continue de sévir, particulièrement en Afrique. Selon l'OMS, 241 millions de cas de paludisme ont été rapportés en 2020 dont 95 % en Afrique subsaharienne. Les autres cas sont majoritairement importés lors de voyage à l'étranger vers des régions où la transmission est importante. Le nombre de décès rapporté en 2020 était de 627 000, dont 80 % d'enfants de moins de 5 ans [1].

Il existe cinq espèces de *Plasmodium* impliquées dans les infections humaines : *P. falciparum* et *P. vivax*, les deux espèces les plus dangereuses pour l'humain, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. knowlesi* (Asie du Sud-Est). L'espèce *P. falciparum* est toujours la plus répandue à l'heure actuelle [2-4].

Une fois inoculé dans l'organisme sous forme de sporozoïtes, ce protozoaire entame une période de maturation en schizontes dans les cellules hépatiques, correspondant à la phase d'incubation, qui prend fin lors de l'éclatement des schizontes en mérozoïtes. Ces derniers sont capables d'infecter les globules rouges et évoluent ensuite vers le stade de trophozoïtes puis de schizontes. Cette étape de croissance nécessite un apport d'acides aminés, que le parasite se procure en décomposant l'hémoglobine. L'hème libéré, toxique pour les *Plasmodium*, est alors transformé en hémozoïne (également appelé pigment malarique). Une fois les schizontes à maturité, ils éclatent à nouveau en mérozoïtes, entraînant une rupture de la membrane des hématies et la libération de l'hémozoïne dans la circulation, fortement pyrogène, qui sera ensuite phagocytée par des macrophages. Après quelques cycles de réplication asexuée, certains trophozoïtes se différencient en gamétocytes, formes sexuées du parasite. Les gamétocytes pourront alors être ingérés

par le moustique anophèle, où se déroulera la reproduction sexuée. *P. vivax* et *P. ovale* ont la particularité de présenter des formes latentes persistantes dans le foie, les hypnozoïtes. Ils peuvent alors entraîner une rechute des semaines voire des années après l'exposition (*figure 1*) [2-4].

L'apparition des premiers symptômes dépend de la durée d'incubation de l'espèce impliquée, elle peut varier de 7 jours pour *P. falciparum* à 40 jours pour *P. malariae*. En moyenne, les premières plaintes apparaissent 10 à 15 jours après la morsure du moustique infecté et comprennent fièvre, maux de tête et frissons. Certains patients infectés peuvent également présenter une pâleur et un ictère en fonction du degré de l'anémie hémolytique et des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées). En l'absence de traitement, ces symptômes, caractérisés comme accès palustre simple, peuvent évoluer vers un accès palustre grave (également appelé pernicieux) engageant le pronostic vital en 24 heures en cas d'infection à *P. falciparum*. Les formes graves sont caractérisées par une atteinte neurologique (neuropaludisme) et une défaillance multiviscérale. Les autres espèces (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*) sont rarement mortelles. *P. knowlesi* peut quant à lui engendrer des formes similaires à celle de *P. falciparum* [2-4].

Le choix du traitement est dépendant de l'espèce impliquée dans l'infection et de sa gravité clinique. Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine représentent le traitement de choix en cas d'infection à *P. falciparum*. L'artémisinine seule n'est plus recommandée au vu de l'émergence de résistance. Les accès simples sont traités per os tandis que les traitements IV sont préférés lors d'accès palustres graves, avec surveillance en milieu hospitalier [2-4].

La méthode de référence pour le diagnostic du paludisme est la microscopie sur frottis mince et en goutte épaisse après coloration au May-Grunwald-Giemsa. L'examen microscopique permet de mettre en évidence

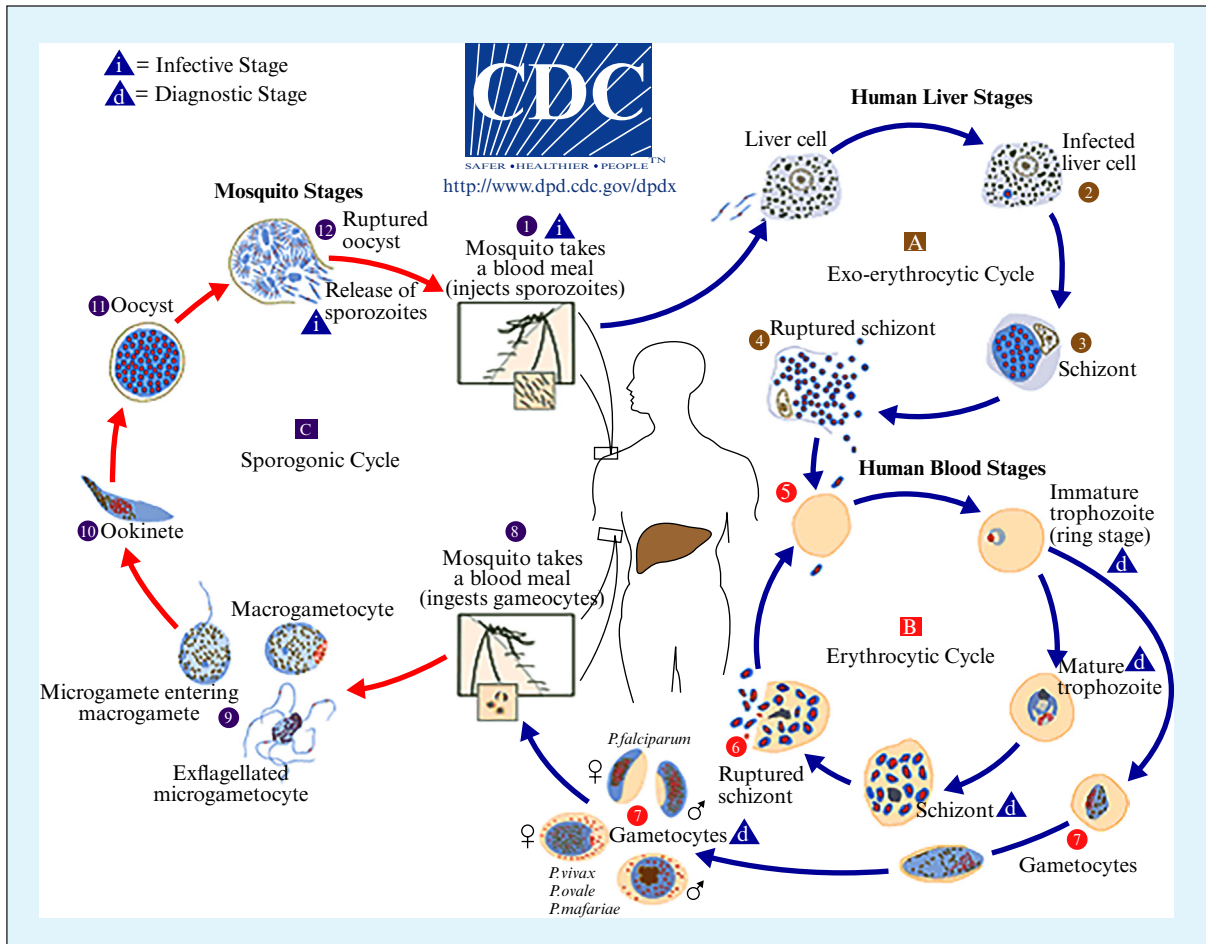


Figure 1. Cycle du paludisme (Source : Centers for Disease Control and Prevention (CDC)).

Copyright © 2024 JLE. Téléchargé par John Libbey le 25/01/2024.

l'espèce à l'origine du paludisme, les différents stades parasites et de calculer la parasitémie (pourcentage de globules rouges infectés), afin d'évaluer la gravité de l'infection et suivre la réponse au traitement. La parasitémie est calculée sur base de minimum 500 globules rouges ; les gamétocytes n'étant pas inclus dans le comptage. Ce type d'examen nécessite une expertise importante ainsi qu'un temps de réalisation non négligeable. Des tests de diagnostic immunochromatographiques rapides sont également disponibles afin d'améliorer la prise en charge, notamment dans les hôpitaux et laboratoires ne disposant pas toujours de personnel compétent en matière de microscopie. L'émergence de la biologie moléculaire a permis de mettre au point différentes PCR (*Polymerase Chain Reaction*) permettant de détecter des infections de faible densité [2-4].

Le diagnostic et l'instauration rapide d'un traitement permettent une élimination rapide du parasite et empêchent ainsi l'évolution vers les formes graves de la maladie.

Bien qu'évocatrice en zone endémique, la symptomatologie non spécifique peut ne pas alerter le clinicien si la notion de voyage n'est pas abordée. Les différents tests de diagnostic évoqués ne seront donc pas réalisés.

Par contre, face à un patient fébrile, un hémogramme est très fréquemment demandé. La majorité des laboratoires sont maintenant équipés d'automates d'hématologie, fonctionnant 24 heures/24 dans les grandes institutions et permettant une analyse complète et rapide des éléments figurés du sang. Certains automates ont démontré leur capacité à participer au diagnostic précoce de malaria. Nous décrivons ici deux cas

de paludisme détectés par une chaîne Sysmex XN-9100 composée de trois analyseurs XN, permettant de réaliser les hémogrammes et les formules leucocytaires.

Cas clinique n°1

Un jeune homme de 14 ans s'est présenté en soirée aux urgences de notre institution sous le conseil de son médecin généraliste pour mise au point d'une pyrexie.

Le patient décrit l'apparition de fièvre accompagnée de céphalées. Il s'agit du deuxième épisode de ce type, le patient ayant déjà éprouvé les mêmes symptômes quelques jours avant sa venue aux urgences. Ne présentant aucun autre symptôme et pas de signes de gravité, le patient ne s'était pas inquiété. Au vu du contexte sanitaire, une infection à la Covid-19 a été écartée après réalisation d'un test PCR s'étant avéré négatif.

Un hémogramme réalisé sur les automates XN met en évidence une anémie normocytaire (HGB : 9,2 g/dL, valeurs de référence : 13,3-17,2 g/dL ; MCV : 84,7 fl, valeurs de référence : 83,7-100,8 fl) accompagnée d'une réticulocytose à 6,2 % (valeurs de référence : 0,9-2,6 %) et d'une fraction réticulocytaire immature (IRF) à

32,5 % (valeurs de référence : 6,9-26,8 %). La formule leucocytaire automatisée, établie sur le principe de cytométrie en flux, montre une population anormale additionnelle au niveau du scattergramme du canal WNR, canal permettant la numération des globules blancs ainsi que des érythroblastes. Cette population est présente en bas à gauche du scattergramme, zone représentant en situation non pathologique les globules rouges et les plaquettes lysées (figure 2A). Elle est également mise en évidence au niveau du canal WDF, permettant la différenciation des populations leucocytaires, en bas à droite du scattergramme, proche de la zone des neutrophiles et des éosinophiles (figure 2B). Le scattergramme des réticulocytes ne montre pas d'anomalies.

D'après la littérature [5-7], ces populations anormales pourraient correspondre à des hématies parasitées.

La présence de ces populations a induit la réalisation d'un frottis sanguin via l'automate SP-50 (permettant l'étalement de frottis sanguins et leur coloration) couplé à un microscope digitalisé, le DI-60. L'analyse du frottis au DI-60 via le logiciel CellaVision® a permis d'objectiver une formule leucocytaire dans les normes avec

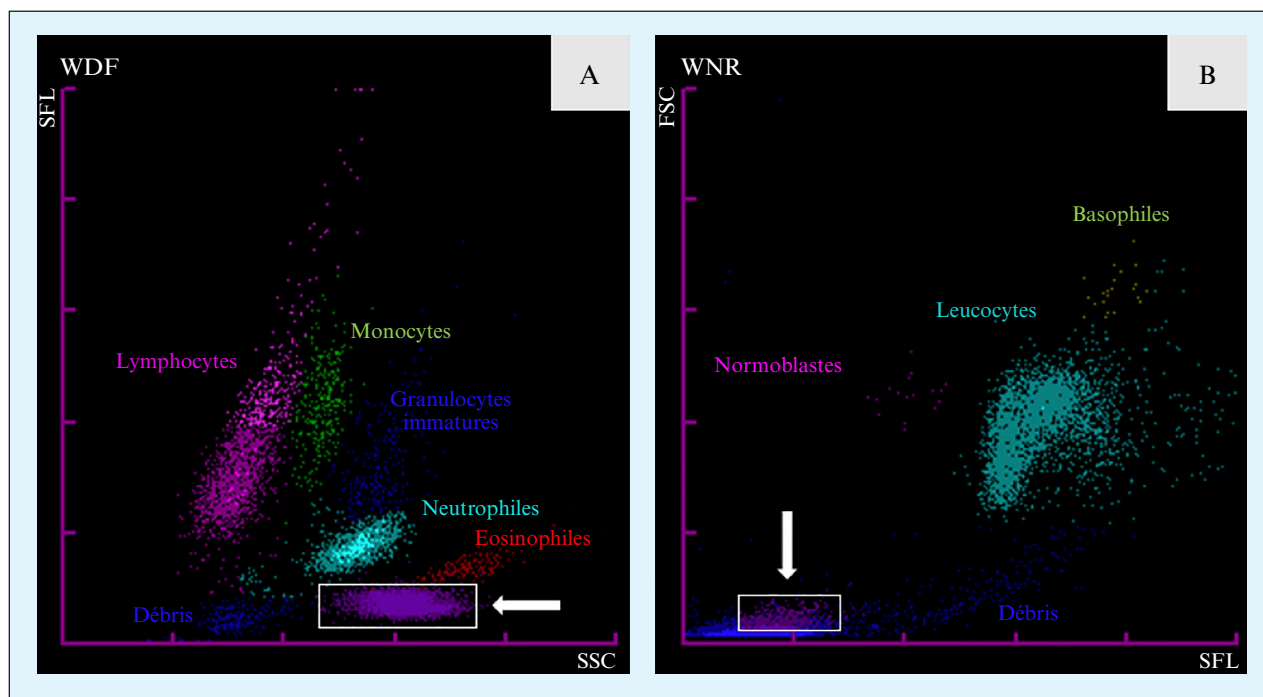


Figure 2. Scattergrammes WDF et WNR. **A)** Scattergramme WDF montrant une population additionnelle de couleur mauve, située dans la zone blanche en bas à droite, correspondant aux gamétocytes. **B)** Scattergramme WNR montrant une population additionnelle de couleur mauve, située dans la zone blanche en bas à gauche (zone représentant habituellement les globules rouges et plaquettes lysées), correspondant aux gamétocytes.

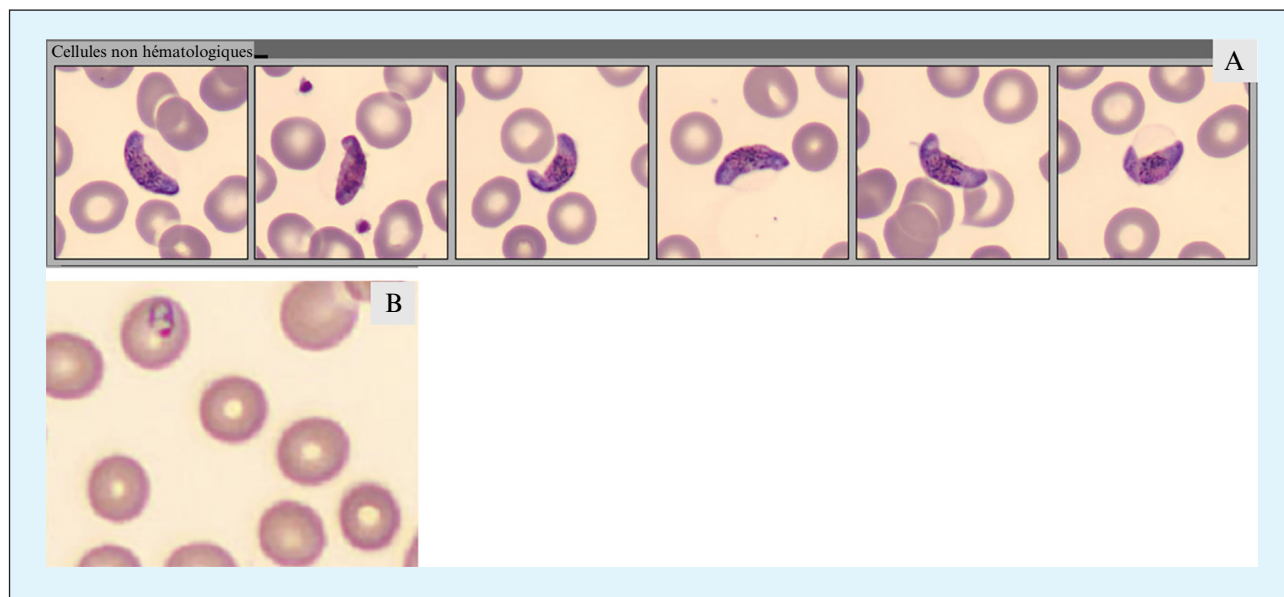


Figure 3. Visualisation via le logiciel CellaVision® du frottis sanguin après étalement et coloration par l'automate SP-50. **A)** Présence de gamétocytes de *Plasmodium falciparum*, forme sexuée du parasite. **B)** Un trophozoïte de *Plasmodium falciparum*.

quelques granulocytes immatures ainsi que la présence de gamétocytes (5,5 %) (figure 3A) et d'un trophozoïte de *Plasmodium falciparum* (0,04 %) (figure 3B).

Un syndrome inflammatoire (fibrinogène : 4,4 g/L, valeurs de référence : 1,79-3,86 g/L; CRP : 48,2 mg/L, valeurs de référence : < 5 mg/L) et une augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH : 388 U/L, valeurs de référence : 125-220 U/L) accompagnaient les résultats de l'hémogramme.

Suite à ces résultats, lors de l'anamnèse par le médecin urgentiste, le patient énonce avoir voyagé au Cameroun pendant une durée de un mois, sans prophylaxie antipaludique.

La parasitémie observée via les automates d'hématologie a été confirmée par une méthode immunochromatographique rapide (Palutop®) et un examen microscopique sur frottis mince et goutte épaisse en microbiologie.

De l'Eurartesim® (association de pipéraquline tétrahydrophosphate et d'artémimol) a été prescrit au patient à une posologie de 4 comprimés par jour pendant 3 jours, avec contrôle et suivi auprès du médecin généraliste.

Cas clinique n°2

Un patient de 42 ans, décrivant des vertiges et céphalées depuis 4 jours ne cédant pas aux antidouleurs, s'est rendu spontanément aux urgences de notre

institution, n'observant aucune amélioration de sa symptomatologie. L'anamnèse, bien que limitée par la barrière linguistique, a révélé un séjour récent en Afrique, mais la prise d'une prophylaxie antipaludique semblait incertaine.

L'hémogramme réalisé sur les automates XN révèle au niveau de la lignée érythrocytaire une anémie microcytaire (HGB : 11,8 g/dL, valeurs de référence : 13,3-17,2 g/dL) ; MCV : 78,3 fl, valeurs de référence : 83,7-100,8 fl), une réticulocytose à 6,0 % (valeur de référence : 0,9-2,6 %) ainsi qu'un IRF à 33,3 % (valeurs de référence : 6,9-26,8 %) et la présence d'érythroblastes (0,3 %). Au niveau de la lignée plaquettaire, une thrombopénie (53 000/mm³, valeurs de référence : 150 000-353 000/mm³) a été objectivée. Ces deux derniers paramètres ont conduit à la réalisation d'un frottis sanguin, afin d'une part d'examiner la morphologie des globules rouges et d'autre part d'exclure ou non la présence d'agrégats plaquettaires.

Contrairement au premier cas décrit, le scattergramme des canaux WNR et WDF ne montre aucune population additionnelle ou anormale. Par contre, l'alarme signalant un scattergramme des réticulocytes anormal s'est déclenchée. Les réticulocytes sont mesurés par le canal spécifique RET. Une discrète double population est visible sur le scattergramme RET, entre la population constituée des globules rouges matures et la population des réticulocytes (figure 4).

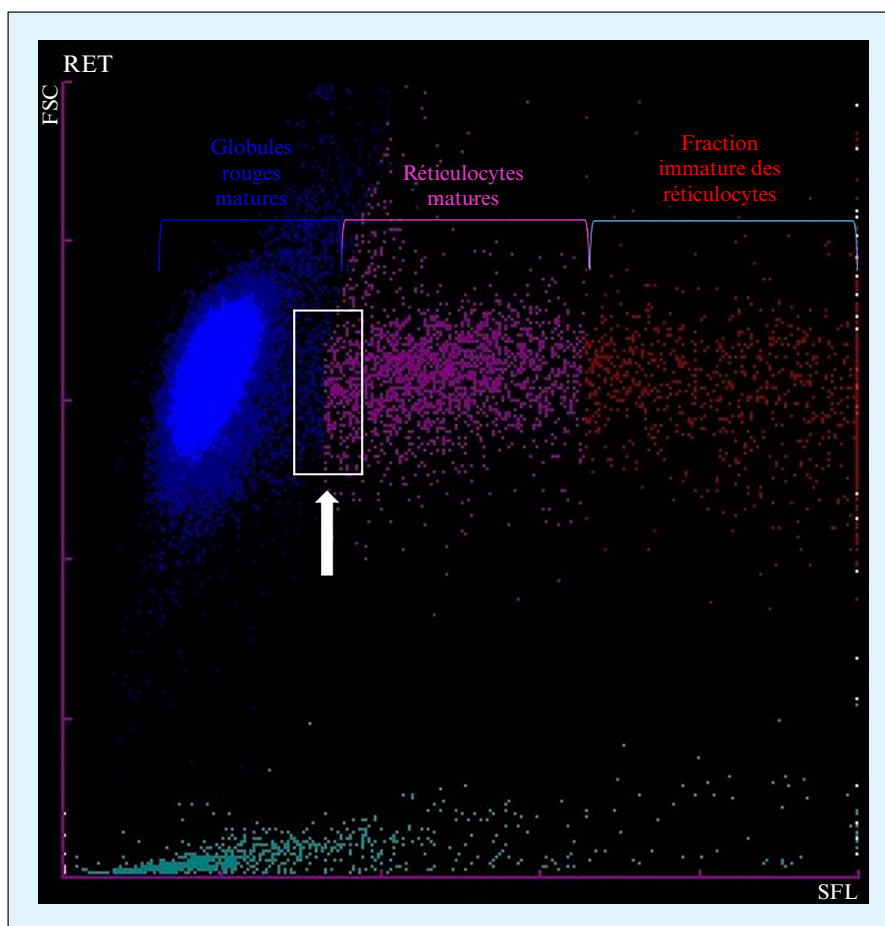


Figure 4. Scattergramme des réticulocytes. Dans le cadre blanc, une double population de globules rouges matures (bleus) est accolée aux réticulocytes (rose), correspondant aux hématies parasitées par des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

Copyright © 2024 JLE. Téléchargé par John Libbey le 25/01/2024.

La formule leucocytaire a montré une hyperneutrophilie (89,5 %, valeurs de référence : 42,2 %-71 %) avec présence d'un faible pourcentage de granulocytes immatures (0,5 %) et de lymphocytes activés (0,9 %). L'examen du frottis par microscopie optique a permis de conclure à l'absence d'agrégats plaquettaires. L'analyse de la morphologie des globules rouges au CellaVision® a mis en évidence une grande quantité d'hématies infestées par des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*.

La suite du bilan réalisé aux urgences montre un syndrome inflammatoire majeur (fibrinogène : 4,2 g/L, valeurs de référence : 1,79-3,86 g/L; CRP : 372, 5 mg/L, valeurs de référence : < 5 mg/L ; procalcitonine : 63,2 µg/L) et une légère hyperbilirubinémie (bilirubine totale : 1,34 mg/dL, valeurs de référence : < 1,20 mg/dL ; bilirubine conjuguée : 0,59 mg/dL, valeurs de référence : < 0,5 mg/dL).

La thrombopénie ainsi que la notion de voyage récent en Afrique ont orienté les cliniciens vers une hypothèse diagnostic de paludisme.

La technique immunochromatographique rapide (Palutop®) et l'examen microscopique sur frottis mince et goutte épaisse en microbiologie ont confirmé la présence de *Plasmodium falciparum* dans le prélèvement sanguin du patient, avec une parasitémie atteignant 9.5 %.

Le diagnostic de neuropaludisme a alors été posé et le patient a été transféré dans le service des soins intensifs pour surveillance neurologique. Du Malacel® (Artésunate IV) à une dose de 2,4 mg/kg (soit 150 mg) a été administré à l'admission puis à 12 h et 24 h, suivi d'une dose/jour, et un suivi journalier de la parasitémie a été instauré. Après trois jours de traitement, un relais per os par Eurartesim® a pu être introduit et le patient autorisé à quitter les soins intensifs.

Discussion

Les cas illustrés démontrent la capacité de certains automates d'hématologie à anticiper le diagnostic de malaria.

Sysmex est actuellement le leader européen en matière d'automate d'hématologie. Les chaînes automatisées commercialisées par Sysmex sont composées de divers modules (dont certains optionnels), permettant une certaine personnalisation. La chaîne XN-9100 telle qu'utilisée dans notre institution se compose d'une première partie comprenant trois analyseurs XN muni du logiciel IPU. Ces analyseurs utilisent la technique de fluoro-cytométrie en flux pour la numération des globules blancs, des réticulocytes et des érythroblastes ainsi que pour la réalisation de la formule leucocytaire. En fonction du paramètre étudié, les réactifs utilisés (fluorochrome, tampon de lyse) diffèrent et la mesure s'effectue via un canal spécifique : le canal WNR pour le comptage des leucocytes et des érythroblastes, le canal WDF pour la réalisation de la formule leucocytaire et le canal RET pour la détermination des réticulocytes. L'impédance combinée à la technique de focalisation hydrodynamique est utilisée pour la numération des globules rouges et des plaquettes. L'hémoglobine est quant à elle mesurée par photométrie.

Plusieurs articles scientifiques [5-7] ont évalué les performances des automates XN de la firme Sysmex dans le diagnostic du paludisme.

Concernant les canaux WNR et WDF, tous s'accordent sur le fait qu'une population additionnelle au niveau de leur scattergramme respectif peut être observée en cas de paludisme. Les acides nucléiques contenus dans le noyau des parasites fixent les fluorochromes utilisés en cytométrie en flux, émettant une fluorescence supplémentaire observable sur le scattergramme. Dumas *et al.* [7] ont mis en évidence que les populations anormales décrites sur les scattergrammes WDF et WNR sont absentes lorsque seuls des trophozoïtes sont retrouvés dans le sang périphérique, même en cas de parasitémie élevée à *P. falciparum*. Les trophozoïtes, dont l'aspect en forme d'alliance est caractéristique de cette espèce, n'entraînent pas de variation significative des scattergrammes, or, il s'agit du stade le plus fréquemment observé lors d'infection par *P. falciparum* dans notre institution. En outre, Buoro *et al.* [6], en accord avec cette constatation, décrivent également que les altérations des scattergrammes sont plus fréquemment observables lors d'infection caractérisée par la présence de gamétocytes et de schizontes. Dans le premier cas clinique, le stade parasitaire majoritaire était

des gamétocytes, qui en accord avec la littérature, a entraîné une anomalie distinctement visualisable sur les scattergrammes WDF et WNR, contrairement au second cas, pour lequel seul des trophozoïtes avec une forte parasitémie étaient présents.

Concernant les réticulocytes, il est bien établi dans la littérature que lors d'infections aux parasites du genre *Plasmodium*, leur numération et leur scattergramme présentent des altérations caractéristiques [5, 6]. Tout comme pour les canaux WDF et WNR, les acides nucléiques du parasite réagissent avec le fluorochrome, mimant l'interaction des réticulocytes, et interfèrent avec leur numération. Il en résulte une pseudo-réticulocytose, avec néanmoins une fraction immature des réticulocytes dans la norme. Le scattergramme peut présenter une discrimination anormale des globules rouges matures et des réticulocytes, avec une double population de globules rouges matures, correspondant aux hématies saines et aux hématies parasitées (*figure 4*). Ces différentes anomalies semblent être plus fréquemment rencontrées en cas d'infection à *P. falciparum* avec une parasitémie élevée [5-6]. Les parasites intraérythrocytaires contenant une petite quantité d'ARN, tels que les trophozoïtes de *P. falciparum*, émettent une fluorescence similaire aux réticulocytes. Les stades parasitaires rencontrés et le type d'hématies infectées étant différents en fonction de l'espèce de *Plasmodium*, le scattergramme des réticulocytes sera impacté différemment (taille et fluorescence émise différentes). En effet, les trophozoïtes sont le plus souvent rencontrés lors d'infection à *P. falciparum*, tandis que tous les stades peuvent être rencontrés avec les autres espèces. *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. knowlesi* infectent tous les types de globules rouges, *P. vivax* les réticulocytes et *P. malariae* les hématies anciennes. Bien que la parasitémie du second cas clinique atteignait 9.5%, la double population au niveau du scattergramme RET nécessite un œil aguerrri afin d'être mise en évidence. La réticulocytose était accompagnée d'un IRF légèrement augmenté, contrairement à ce qui est décrit dans la littérature. Les perturbations du scattergramme des réticulocytes n'étaient pas visibles dans le premier cas décrit. De plus, lors de cas d'infection à *P. falciparum* avec présence majoritaire de trophozoïtes, les réticulocytes ne sont pas d'emblée recherchés, ils sont cependant ajoutés automatiquement lorsque l'hémoglobine est < 10 g/dL chez les adultes, comme recommandé par le Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC). L'altération du scattergramme des réticulocytes semble donc être un outil diagnostique anticipatif de la microscopie plus adapté aux régions endémiques, où des parasitémies élevées sont plus fréquemment rencontrées.

Le logiciel IPU couplé aux analyseurs XN peut également apporter une aide au diagnostic de malaria. L'alarme iRBC (*inclusion Red Blood Cell*) est programmée pour se déclencher lorsqu'une population significative de globules rouges comportant des inclusions interfère avec les canaux de numération des leucocytes. En effet, dans le canal WDF, la présence de ces globules rouges peut entraîner une erreur de comptage des neutrophiles et des éosinophiles. Le système iRBC permet donc de séparer distinctement les hématies parasitées des neutrophiles et des éosinophiles. Chaque alarme déclenchée est assortie d'un indice de crédibilité, le Q-Flag. Dans le cas du premier patient, la fluorescence additionnelle sur le scattergramme WDF a engendré le déclenchement de l'alarme iRBC, accompagnée d'une valeur de Q-Flag de 300, soit la valeur maximale. Ceci démontre qu'en cas de présence de gamétocytes, les anomalies des scattergrammes engendrent un indice de crédibilité élevé, encourageant vivement une investigation plus approfondie.

La seconde partie de la chaîne automatisée XN-9100 comprend un automate étaleur-colorateur de frottis sanguin, le SP-50 et un microscope digitalisé, le DI-60. Ce dernier est équipé du logiciel CellaVision, qui s'appuie sur une technologie numérique d'analyse des images, pour localiser et analyser les cellules du sang total. Il est ensuite capable d'établir un classement préalable des cellules obtenues à partir des frottis sanguins. Ce système informatique peut être intégré à n'importe quel automate d'hématologie compatible. L'examen de frottis sanguins par le DI-60 et le CellaVision peut également révéler la présence de trophozoïtes, de schizontes et de gamétocytes. Une formation et expérience en cytologie est néanmoins cruciale afin de les identifier correctement. En effet, ces différentes formes parasitaires pourraient être confondues avec des plaquettes et/ou des amas plaquettaires en microscopie traditionnelle tout comme en microscopie digitalisée. Un cas a d'ailleurs été décrit pour lequel le CellaVision a confondu les hématies parasitées par des plaquettes géantes [8]. Dans notre cas, le classement cellulaire initial du patient montrait en effet que les gamétocytes étaient incorrectement placés dans la catégorie des agrégats plaquettaires. Ceci souligne l'importance d'observer la moindre cellule classée par le logiciel CellaVision et de ne pas classer de manière précipitée. De plus, une parasitémie provisoire peut être calculée grâce au complément Advanced RBC Application du CellaVision. Ce module permet une pré-caractérisation des globules rouges, notamment de ceux comportant des inclusions, qui est ensuite vérifiée par le personnel compétent en hématologie. Un pourcentage d'hématies

avec inclusions peut donc être aisément calculé. Les utilisateurs du CellaVision ne disposant pas de ce complément ne bénéficient que d'une évaluation sommaire de la taille, de la forme et de la teinte des globules rouges (six caractéristiques morphologiques *versus* 21 pour les bénéficiaires de l'Advanced RBC Application).

Un hémogramme est souvent d'emblée réalisé lors de l'admission d'un patient aux urgences présentant un syndrome inflammatoire. Les différents paramètres mesurés par les automates XN sont disponibles en seulement quelques minutes, une suspicion de malaria peut donc être signalée au clinicien dans un délai très court. Cet avantage est d'autant plus intéressant en période de prestations de garde pendant laquelle le microbiologiste qualifié n'est pas directement disponible pour pratiquer l'analyse microscopique.

D'autres automates d'hématologie ont également démontré leur capacité à participer au diagnostic de malaria. C'est le cas des automates Cell-Dyn, commercialisé par la firme Abbott, qui utilise une technologie basée sur la diffraction à différents angles d'un faisceau lumineux polarisé dirigé sur les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes, appelée *Multi-Angle Polarized Scatter Separation* (MAPSS). Les scattergrammes obtenus permettent de visualiser une population anormale, constituée des cellules mononucléées de grandes tailles, hautement dépolarisées, correspondant à des monocytes ayant phagocyté l'hémozoïne libérée lors de la lyse des globules rouges. Une pseudo-réticulocytose est également observée [9]. Dharap et Raimbault [10] ont évalué les performances de l'automate Yumizen H550 de HORIBA Medical pour la détection de *P. vivax*. Cet analyseur relativement peu coûteux utilise l'impédance couplée à une technique optique (mesure de l'absorbance) pour la numération et la différenciation des leucocytes. La combinaison de l'impédance et de l'absorbance permet d'obtenir un graphique tenant compte de la taille et de la complexité de la cellule. Une population additionnelle peut être observée sur le graphique en présence d'hématies parasitées. Seules les formes matures (schizontes et gamétocytes) présentent une taille suffisante pour être détectées par la technologie du Yumizen. Lee *et al.* [11] ont comparé les performances de la chaîne automatisée Mindray Cal 8000, composée d'un analyseur BC-6800, au Sysmex XE-2100, prédécesseur des XN actuellement utilisés. Ces deux automates utilisent la même technologie, la fluoro-cytométrie, et présentent une bonne corrélation en ce qui concerne les mesures des différents paramètres. Le BC-6800 présentait l'avantage à ce moment-là de déjà disposer d'un flag alertant sur la présence de globules rouges parasités, contrairement

au XE-2100, qui ne signalait que la présence d'interférences au niveau de la population des éosinophiles. Depuis lors, le flag iRBC a été développé sur les analyseurs XN.

La firme Sysmex a également mis au point de nouveaux automates, les XN-30 (but de recherche uniquement) et XN-31, dédiés spécifiquement au diagnostic de malaria. Grâce à la cytométrie en flux utilisant des réactifs/fluorochromes et une longueur d'onde du laser (405 nm) spécifiques, ils permettent en un peu moins d'une minute de différencier *P. falciparum* des autres espèces, de déterminer les stades parasitaires présents et de fournir la parasitémie. Ils ont déjà démontré leur capacité dans des zones endémiques, où l'automate permet un screening rapide des patients avec une excellente sensibilité (20 parasites/ μ L) et spécificité [12, 13]. En région non endémique, où les cas de malaria sont plus rares, la plus value de l'utilisation de tels automates doit encore être établie et doit prendre en considération le coût par rapport aux bénéfices dans la prise en charge des patients et la charge de travail du personnel.

Conclusion

La rapidité d'émission du diagnostic est cruciale dans la prise en charge de patients paludéens, le pronostic vital pouvant être engagé dans les 24 heures. Les automates XN de la firme Sysmex offre une anticipation du diagnostic en comparaison à la microscopie sur frottis mince et goutte épaisse, en étant toutefois limité aux stades parasitaires matures. Néanmoins, de nouveaux automates présentant de meilleures performances ouvrent la voie vers le diagnostic rapide et automatisé du paludisme.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

Références

1. World malaria report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
2. Fiche informative Paludisme (Malaria). Agence pour une Vie de Qualité (AVIQ) ; 2016.
3. Institut Pasteur [En ligne]. Paris (France) ; 2021. Paludisme ; [cité le 23 septembre 2022]. Disponible à l'adresse suivante : <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/paludisme>
4. Centers for Disease Control and Prevention [En ligne]. Atlanta (USA) ; 2022. CDC - Parasites - Malaria ; [cité le 23 sep 2022]. Disponible à l'adresse suivante: <https://www.cdc.gov/parasites/malaria/index.html>
5. Dubreuil P, Pihet M, Cau S, Croquefer S, Deguigne PA, Godon A, *et al.* Use of Sysmex XE-2100 and XE-5000 hematology analyzers for the diagnosis of malaria in a nonendemic country (France). *Int J Lab Hematol* 2014 ; 36 (2) : 124-34.
6. Buoro S, Manenti B, Seghezzi M, Moioli V, Bagorria M, Callegaro A, *et al.* Abnormal scattergrams and cell population data generated by fully automated hematological analyzers: New tools for screening malaria infection? *Int J Lab Hematol* 2018 ; 40 (3) : 326-334.
7. Dumas C, Tirard-Collet P, Mestrallet F, Girard S, Jallades L, Picot S, *et al.* Flagging performance of Sysmex XN-10 haematology analyser for malaria detection. *J Clin Pathol* 2020 ; 73 (10) : 676-677.
8. Rosetti M, Farneti G, Monti M, Torri A, Poletti G, Massari E, *et al.* Parasitised red blood cells misclassified as giant platelets by an automated digital morphology analyser (Sysmex DI-60/CellaVision): a case report and a retrospective EQA analysis. *Br J Haematol* 2021 ; 192 (3) : e90-e92.
9. Campuzano-Zuluaga G, Hänscheid T, Grobusch MP. Automated haematology analysis to diagnose malaria. *Malar J* 2010 ; 9 : 346.
10. Dharap P, Raimbault S. Performance evaluation of machine learning-based infectious screening flags on the HORIBA Medical Yumizen H550 Haematology Analyzer for vivax malaria and dengue fever. *Malar J* 2020 ; 19 (1) : 429.
11. Lee HT, Park PW, Seo YH, Kim KH, Seo JY, Jeong JH, Kim MJ, Ahn JY. Performance evaluation of Mindray CAL 8000(BC-6800 and SC-120) hematology analyzer and slidemaker/stainer. *J Clin Lab Anal* 2017 ; 31 (4) : e22065.
12. Post A, Kaboré B, Reuling IJ, Bognini J, Wouter van der Heijden W, Diallo S, *et al.* The XN-30 hematology analyzer for rapid sensitive detection of malaria: a diagnostic accuracy study. *BMC Med* 2019 ; 17 (1) : 103.
13. M'baya B, M'fune T, Samon A, Hwandih T, Münster M. Evaluation of the Sysmex XN-31 automated analyser for blood donor malaria screening at Malawi Blood Transfusion Services. *Vox Sang* 2022 ; 117 (3) : 346-353.