

ARTICLE ORIGINAL

Interférences érythrocytaires dans la détection du *Plasmodium* par fluorocytométrie en flux au Sysmex® XN-31 : étude en milieu pédiatrique à Ouagadougou, Burkina Faso

Erythrocyte interferences in *Plasmodium* detection by fluorescence flow cytometry using the Sysmex® XN-31: a pediatric setting study in Ouagadougou, Burkina Faso

Salam Sawadogo¹

Koumpingnin Nebie¹

Djima Fahriane Dora Koulybari^{1,2}

Myriam Nikiema/Minoungou^{1,3}

Flore Rebecca Toubre^{1,4}

Oumar Sourabie^{1,5}

Stéphane Nana¹

Eléonore Kafando^{1,5}

1 Laboratoire d'hématologie de
l'Université Joseph KI-Zerbo,

Ouagadougou, Burkina Faso

2 Centre Hospitalier Universitaire
Régional de Ouahigouya, Burkina
Faso

3 Centre Hospitalier Universitaire
Yalgado Ouedraogo de
Ouagadougou, Burkina Faso

4 Centre Hospitalier Universitaire
SANOU Souro de Bobo-Dioulasso,
Burkina Faso

5 Centre Hospitalier Universitaire
Pédiatrique Charles de Gaulle de
Ouagadougou, Burkina Faso

Auteur correspondant :

Salam Sawadogo

Adresse courriel:

salam.sawadogo@ujkz.bf

Résumé

Introduction : L'automate Sysmex® XN 31 détecte les hématies infectées par le Plasmodium (MI RBC) par la technique de la cytométrie en flux à fluorescence et fournit une parasitémie en une minute. Toutefois, certains échantillons sanguins génèrent un flag "Abnormal MI RBC scattergram" attribué à des interférences érythrocytaires qui perturbent les signaux optiques de diffusion frontale (FSC) et de la fluorescence latérale (SFL).

Objectif : Il s'agissait de décrire les anomalies érythrocytaires associées à la présence du flag "Abnormal MI RBC scattergram" sur l'automate Sysmex® XN 31.

Méthodes : Nous avons mené une étude transversale prospective ayant inclus des cas présentant l'alarme "Abnormal MI RBC scattergram" lors de la détection du Plasmodium sur l'automate Sysmex® XN 31. Pour chaque échantillon, un hémogramme avec frottis sanguin et numération des réticulocytes, une goutte épaisse, ainsi qu'un dépistage des hémoglobines A, S et C ont été réalisés.

Résultats : Au total, 290 échantillons d'enfants ont été inclus, avec un âge médian de 8,5 mois dont 40,4% de nouveau-nés et 53,1% de garçons. La goutte épaisse était négative pour tous les échantillons testés. Au moins une anomalie de la lignée érythrocytaire a été observée à l'hémogramme dans 78,3% des échantillons, dont une anémie (60%), une érythroblastémie (33,4%), une réticulocytose (29,3%) et un scattergramme réticulocyttaire (60,3%). Par ailleurs des drépanocytes (13,8%), des cellules cibles (37,6%) et une hémoglobinopathie (36,9%) ont été notées.

Conclusion : Le flag "Abnormal MI RBC scattergram" sur le Sysmex® XN 31 est associé à une régénération érythroïde et à des anomalies morphologiques des globules rouges susceptibles d'induire un excès de fluorescence intra érythrocytaire perturbant le clustering MI RBC. Ces observations soulignent l'importance d'une interprétation contextualisée des résultats de détection du Plasmodium au Sysmex® XN 31 dans les zones d'endémie caractérisées par une forte prévalence d'hémoglobinopathies.

Mots clés : Paludisme ; Sysmex® XN 31 ; Fluorocytométrie en flux ; Régénération érythroïde ; Abnormal MI RBC scattergram.

Abstract

Introduction : The Sysmex® XN 31 analyzer detects Plasmodium infected red blood cells (MI RBCs) using fluorescence flow cytometry and provides parasitemia results in one minute. However, some blood samples generate an "Abnormal MI RBC scattergram" flag, attributed to erythrocyte-related interferences that disrupt the forward scatter (FSC) and side fluorescence (SFL) optical signals.

Objective : To describe the erythrocyte abnormalities associated with the "Abnormal MI RBC scattergram" flag on the Sysmex® XN 31.

Methods : We conducted a prospective cross sectional study including cases presenting the "Abnormal MI RBC scattergram" flag during Plasmodium detection on the Sysmex® XN 31. For each sample, a complete blood count with blood smear and reticulocyte count, a thick blood smear, and rapid screening tests for hemoglobin screening A, S, and C were performed.

Results : A total of 290 pediatric samples were included, with a median age of 8.5 months; 40.4% were neonates and 53.1% were male. All the thick blood smear were negative for Plasmodium. At least one erythroid abnormality was identified in 78.3% of samples, including anemia (60%), erythroblastemia (33.4%), reticulocytosis (29.3%), and abnormal reticulocyte scattergrams (60.3%). Morphological abnormalities included sickle cells (13.8%), target cells (37.6%). In addition, hemoglobinopathies were identified in 36.9% of cases, including 10% of sickle cell disease.

Conclusion : The "Abnormal MI RBC scattergram" flag on the Sysmex® XN 31 is associated with erythroid regeneration and red blood cell morphological abnormalities that may induce excess intra erythrocytic fluorescence, thereby disrupting the MI RBC clustering. These findings underscore the need for contextual interpretation of Plasmodium detection results on the Sysmex® XN 31 in endemic regions with a high prevalence of hemoglobinopathies.

Keywords : Malaria; Sysmex® XN-31; Fluorescence flow cytometry; Erythroid regeneration; "Abnormal MI RBC scattergram"

INTRODUCTION

Le paludisme est une cause importante de décès en Afrique subsaharienne, en particulier chez les enfants de moins de cinq ans (1). Au Burkina Faso, cette infection est endémique avec une transmission quasi-continue sur l'ensemble du territoire (2, 3) et une incidence estimée à 446,4 cas pour 1000 habitants en 2024 (4). Les efforts mondiaux visent l'élimination du paludisme d'ici 2030 en s'appuyant sur l'accès universel à la prévention, au diagnostic et au traitement, l'intensification des actions d'élimination et le renforcement de la surveillance (5, 6).

Dans ce contexte, un diagnostic parasitologique rapide et fiable est essentiel. La microscopie (goutte épaisse et frottis mince), technique de référence, permet l'identification et la quantification des parasites, mais reste chronophage, opérateur-dépendant et exige une expertise soutenue (7). Les tests de diagnostic rapide (TDR) antigéniques ciblant la protéine riche en histidine 2 (HRP2) et la lactate déshydrogénase parasitaire (pLDH) ont facilité l'accès au dépistage. Mais, ils ne quantifient pas la parasitémie et présentent une limite de détection souvent ≥ 100 parasites/ μL (8–10). Leur performance est en outre, compromise par les délétions des gènes codant pour les protéines HRP2 et HRP3, fréquentes en Afrique de l'Ouest (11). Les techniques moléculaires, comme la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et l'amplification isotherme médiée par boucle (LAMP), sont très sensibles, mais demeurent coûteuses et peu accessibles en routine dans les environnements à ressources limitées (12). Les analyseurs Sysmex® XN-30 (prototype non commercialisé) et Sysmex® XN 31 (Sysmex Corporation, Kobe, Japon) ont introduit une approche diagnostique basée sur la détection des acides nucléiques plasmodiaux intra érythrocytaires par la fluorocytométrie en flux. Ils fournissent en une minute un résultat sur la présence d'hématies infectées (MI-RBC), ainsi qu'une parasitémie exprimée en valeurs absolue et relative (iRBC/ μL , %iRBC), avec une sensibilité $> 95\%$, une spécificité de 100% et une limite de détection (LOD) d'environ 20 iRBC/ μL (13–16). Toutefois, leur performance peut être altérée par des profils érythrocytaires atypiques, fréquents en contexte pédiatrique africain. Ces profils atypiques, incluant l'érythroblastémie, la réticulocytose et les hémoglobinoopathies (17–20), modifient la fluorescence et la diffusion optique, entraînant un clustering MI RBC moins net et l'apparition du flag "Abnormal MI RBC scattergram", interprété comme un résultat "indéterminé". En Afrique de l'Ouest, ces hémoglobinoopathies, dont la drépanocytose (5 à 10% (21)), induisent une hémolyse chronique, une régénération érythroïde et des anomalies morphologiques fréquentes. Il est donc essentiel de caractériser les profils érythrocytaires associés au flag "Abnormal MI RBC scattergram" sur le Sysmex® XN-31, afin de réduire les

erreurs diagnostiques et d'optimiser l'utilisation de cet outil dans une approche intégrée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons mené une étude transversale à visée descriptive du 1er juillet au 30 novembre 2022 au sein des unités d'hématologie et de parasitologie du laboratoire de biologie médicale du Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle (CHUP-CDG), hôpital pédiatrique de référence à Ouagadougou. Le laboratoire réalise en routine les hémogrammes et le dépistage du paludisme à l'aide des analyseurs Sysmex® XN 1000 et Sysmex® XN 31, respectivement.

Ont été inclus de manière consécutive, tous les patients pédiatriques (< 15 ans), adressés pour suspicion clinique de paludisme et dont l'échantillon sanguin a généré un flag "Abnormal MI RBC scattergram" sur le Sysmex® XN 31. Les échantillons coagulés, hémolysés ou âgés de plus de 24 heures n'ont pas été inclus.

La fréquence du flag "Abnormal MI-RBC scattergram" a été estimée à 3,6% dans une population de donneurs de sang (22). Afin d'optimiser la taille de l'échantillon dans notre étude, et en tenant compte des données de routine du laboratoire, nous avons retenu une proportion attendue de 25% avec une précision de 5% pour un intervalle de confiance de 95%. L'application de la formule de Schwartz ($n = \frac{Z^2 \cdot p(1-p)}{d}$) (23) a permis d'estimer à 288 le nombre de sujets nécessaires.

Conformément à la procédure du laboratoire, tous les échantillons sanguins prélevés sur tube EDTA et reçus pour diagnostic biologique du paludisme étaient systématiquement analysés sur le Sysmex® XN 31. En cas d'activation du flag "Abnormal MI RBC scattergram", les actions suivantes étaient immédiatement réalisées :

- un hémogramme complet sur le Sysmex® XN 1000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japon), incluant la numération des érythroblastes (NRBC), la numération des réticulocytes et la revue des scattergrammes des réticulocytes ;
- la confection de deux gouttes épaisses colorées au Giemsa pour la recherche microscopique du Plasmodium et l'estimation de la densité parasitaire ;
- la confection de deux frottis sanguins colorés au RAL (RAL Diagnostics, France) pour l'identification de l'espèce *plasmodiale* et la recherche des anomalies morphologiques des globules rouges.

Les examens microscopiques ont été réalisés à l'objectif x100 à immersion sur au moins 20 champs par trois microscopistes indépendants. En cas de divergence, une lecture supplémentaire par un biologiste permettait de trancher. Les anomalies morphologiques érythrocytaires recherchées incluaient les drépanocytes, les cellules cibles, les corps de Howell Jolly, les érythroblastes, les elliptocytes entre autres. Elles étaient considérées

comme significatives et potentiellement susceptibles d'avoir un impact analytique, lorsqu'elles étaient observées de manière répétée sur plusieurs champs microscopiques (24). Par ailleurs, un test rapide HemoTypeSC® (*HemoTypeSC™, Silver Lake Research*) a été réalisé pour le dépister des hémoglobines A, S et C.

Lorsque l'analyse immédiate n'était pas possible, les échantillons étaient conservés entre 2 et 8°C et analysés dans un délai maximal de 24 heures après le prélèvement, afin de limiter les altérations cellulaires susceptibles d'affecter la qualité des résultats.

Analyses des données

Les données ont été encodées sur un masque de saisie Epi-Info 7.2.4.0 (*Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA*) et exportées sur Stata 15 (*StataCorp LLC, Texas USA*) pour les analyses. Les

résultats ont été rapportés en médiane avec les 1er et 3ème quartiles (Q1–Q3) et en fréquence (%).

Considérations éthiques

L'anonymat, la confidentialité et l'intégrité des patients ont été respectés. Une approbation institutionnelle de conduire l'étude a été obtenue. Les résultats des analyses biologiques supplémentaires ont été communiqués aux cliniciens pour une prise en charge adéquate des patients.

RÉSULTATS

Caractéristiques des patients

Nous avons inclus 290 enfants avec un âge médian de 8,5 mois (Q 1 : 2 jours ; Q3 : 36 mois). La majorité, soit 84,4% avait moins de 5 ans, dont 40,4% de nouveau nés (< 1 mois). Les garçons représentaient 53,1% (ratio H/F=1,1). Plus de la moitié des prélèvements (50,7%) provenait des urgences pédiatriques (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques de base des patients inclus (n = 290)

Paramètres	Effectif	Proportion (%)
Genre		
Masculin	154	53,1
Féminin	136	46,9
Age (mois)		
< 1	117	40,4
1 – 59	128	44,1
≥ 60	45	15,5
Services cliniques		
Urgences	147	50,7
Néonatalogie	94	32,4
Ambulatoire	33	11,4
Autres	16	5,5
Anomalies hématologiques		
Anémie	174	60,0
Leucopénie	55	19,0
Hyperleucocytose	128	44,1
Thrombopénie	83	28,6
Thrombocytose	73	25,2

MI-RBC scattergrams et examen microscopique

La figure 1 illustre différents profils de scattergrammes MI-RBC obtenus sur le Sysmex® XN-31, avec en 1a et 1b, des profils négatif et positif, respectivement. La figure 1c présente un flag “*Abnormal MI RBC scattergram*”, caractérisé par un nuage de points diffus et non structuré, dépourvu de clustering typique des hématies

infectées, chez un enfant drépanocytaire de 5 ans.

L'examen microscopique réalisé sur la goutte épaisse et le frottis sanguin des 290 échantillons présentant le flag “*Abnormal MI RBC scattergram*” était négatif pour le *Plasmodium*. Aucun trophozoïte ni schizonte n'a été observé.

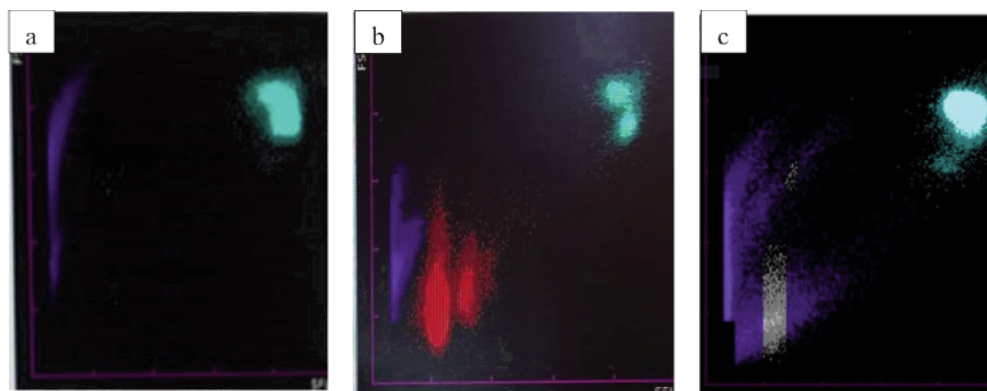


Figure 1 : Profils de scattergrammes MI RBC observés sur le Sysmex® XN 31. (a) Profil négatif caractérisé par l'absence de cluster d'hématies infectées et par une distribution homogène des globules rouges non parasités (encadré violet). Pas de dispersion anormale du signal (échantillon de contrôle non inclus dans l'étude). (b) Profil positif montrant un cluster net, dense et bien délimité d'hématies infectées (MI RBC) dans la zone de haute fluorescence (encadré violet), avec en encadré violet, des hématies non infectées (échantillon de contrôle non inclus dans l'étude). (c) Profil indéterminé (flag “*Abnormal MI RBC scattergram*”) illustré par un nuage de points diffus, hétérogène et désorganisé, sans formation de cluster MI-RBC exploitable (encadré rouge), une légère fluorescence dans la zone des érythroblastes (encadré vert). Ce profil est celui d'un enfant drépanocytaire de 5 ans présentant au frottis sanguin des drépanocytes, des cellules cibles et des érythroblastes, anomalies susceptibles de perturber la distribution optique dans le canal MI RBC.

Anomalies érythrocytaires et hémoglobiniques

Parmi les 290 échantillons analysés, au moins une anomalie érythrocytaire a été notée dans 227 cas, soit 78,3%. Ces anomalies incluaient l'érythroblastémie (33,4%) et la réticulocytose (29,3%) (Tableau 2), avec des anomalies de distribution réticulocytaire (flag “*RET Abn Scattergram*” de l'enfant drépanocytaire de 5 ans

sur la figure 2). Des anomalies morphologiques (Figure 3) ont également été observées, notamment des cellules cibles (37,6 %) et des drépanocytes (13,8 %). Enfin des anomalies hémoglobiniques ont été détectées dans 36,9% des cas, incluant 10% de syndromes drépanocytaires majeurs (Tableau 3).

Tableau 2 : Fréquence des anomalies quantitatives et morphologiques érythrocytaires (n = 290)

Paramètres	Effectif	Proportion (%)
Érythroblastémie	97	33,4
Réticulocytose	85	29,3
Scattergramme réticulocytaire anormal	175	60,3
Anisocytose	111	38,3
Cellules cibles	109	37,6
Drépanocytes	40	13,8
Dacryocytes	7	2,4
Sphérocytes	3	1,0
Echinocytes	1	0,3

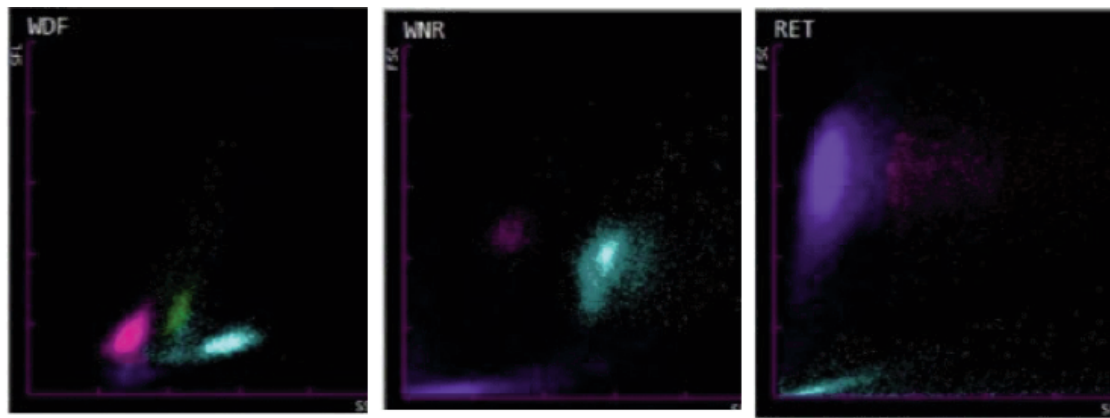


Figure 2 : Scattergrammes WDF, WNR et RET de l'échantillon de l'enfant drépanocytaire de 5 ans avec "*Abnormal MI-RBC scattergram*", obtenus sur le Sysmex® XN 1000. Le canal WDF montre une répartition structurée et attendue des différentes populations leucocytaires. Le canal WNR présente un regroupement homogène avec quelques points périphériques (discrète hétérogénéité). Le canal RET révèle un nuage de points largement dispersé, sans séparation nette des sous-populations réticulocytaires, en accord avec les flags rapportés ("*anisocytosis*", "*fragments?*", "*NRBC present*" et "*RET Abn Scattergram*"). Cette dispersion traduit des anomalies de maturation ou de régénération érythroïde susceptibles de modifier la distribution optique des cellules et d'interférer secondairement avec la détection MI RBC sur le Sysmex® XN 31.

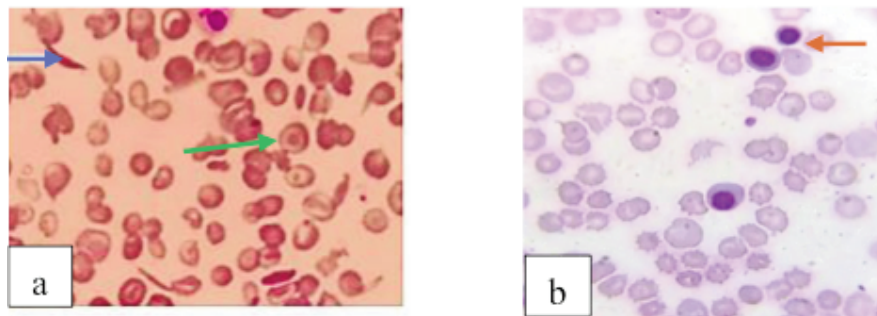


Figure 3 : Anomalies morphologiques érythrocytaires observées au grossissement (x 100) à immersion sur les frottis sanguins d'échantillons présentant un flag "*Abnormal MI-RBC scattergram*" au Sysmex® XN-31. (a) Hématies cibles (flèche verte) et drépanocytes (flèche bleue) chez l'enfant drépanocytaire de 5 ans. (b) Érythroblastes circulants (flèche orange), cellule nucléée à forte fluorescence pouvant interférer avec la détection MI-RBC.

Tableau 3 : Profil hémoglobinique des patients (n = 290)

Profil hémoglobinique	Effectif	Proportion (%)
AA	183	63,1
AC	44	15,2
AS	17	5,9
CC	17	5,9
SS	17	5,9
SC	12	4,1

DISCUSSION

L'objectif de cette étude de décrire les anomalies morphologiques érythrocytaires et hémoglobiniques associées dans les cas présentant un flag "*Abnormal MI RBC scattergram*" sur le Sysmex® XN 31. Nous avons noté que ce flag était fréquemment lié à une réticulocytose (29,3 %), une érythroblastémie (33,4 %), des anomalies morphologiques (78,3 %) et des hémoglobinopathies (36,9 %). Notre étude présente des plusieurs limites qu'il convient de considérer dans l'interprétation des résultats. Premièrement, son caractère monocentrique, réalisé dans un hôpital pédiatrique universitaire, expose à un biais de sélection avec une surreprésentation de nouveau-nés et d'enfants présentant des pathologies aiguës ou complexes. Deuxièmement, le choix méthodologique de n'inclure que des échantillons présentant un flag "*Abnormal MI-RBC scattergram*" n'a pas permis une comparaison avec d'autres profils de scattergrammes sur le Sysmex® XN 31. En outre, la confirmation parasitologique reposait uniquement sur la microscopie, méthode de référence certes, mais limitée par sa sensibilité opérateur dépendante. Une confirmation par PCR aurait renforcé l'analyse, mais cette technique n'était pas disponible dans notre contexte. La caractérisation des anomalies érythrocytaires a utilisé une approche multimodale alliant les indices et la morphologie érythrocytaires ainsi que le typage de l'hémoglobine. Toutefois, l'absence d'étude quantitative des fractions de l'hémoglobine et la non-détection d'autres variants ont restreint l'analyse de l'impact global des anomalies hémoglobiniques. Ces limites soulignent la nécessité d'études complémentaires plus robustes, afin de mieux explorer les interférences analytiques dans le canal MI-RBC du Sysmex® XN-31 dans notre contexte.

Dans cette cohorte pédiatrique, aucun des 290 échantillons n'a présenté de recherche microscopique du *Plasmodium* positive. Ces observations suggèrent que le flag "*Abnormal MI RBC scattergram*" reflète davantage une perturbation du signal fluorocytométrique qu'une parasitémie masquée. Cette interprétation est cohérente avec les performances analytiques élevées rapportées pour les analyseurs XN 30/XN 31 (LOD < 20 iRBC/ μ L, sensibilité et spécificité proches de 100%) (14, 15, 25).

L'utilité du Sysmex® XN 31 pour la surveillance épidémiologique du paludisme, y compris chez des donneurs de sang asymptomatiques a également été prouvée (22, 26). Par ailleurs, comparé à la microscopie et aux TDR, le Sysmex® XN-31 offre l'avantage d'un délai de rendu des résultats d'environ une minute, contre 30 minutes pour les TDR et jusqu'à quatre heures pour la microscopie (27). Dans un contexte hospitalier pédiatrique situé en zone d'endémie palustre comme le nôtre, de telles performances diagnostiques sont essentielles pour contribuer à la réduction de la morbidité et la mortalité liées au paludisme (28). Le Sysmex® XN 31 détecte le Plasmodium en colorant les

acides nucléiques intra érythrocytaires avec un fluorochrome (Fluorocell M). L'analyse combine ensuite la fluorescence et la diffusion optique pour distinguer les hématies infectées (MI-RBC) des hématies non infectées (20). Ce mode de détection rend l'appareil particulièrement sensible aux interférences liées à la présence résiduelle d'acides nucléiques dans certaines populations érythrocytaires. Dans les globules rouges matures normalement anucléés, l'inclusion du Plasmodium est aisément identifiable. En revanche, les érythroblastes et les réticulocytes, riches en acides nucléiques résiduels, fixent fortement le fluorochrome et génèrent des signaux parasites dans le canal MI RBC (canal de détection des hématies infectées par le Plasmodium). Le clustering MI-RBC devient alors insuffisamment structuré, conduisant à l'apparition d'un flag "*Abnormal MI RBC scattergram*" (17, 25, 26).

Les anomalies morphologiques érythrocytaires (drépanocytes, hématies cibles ou codocytes, corps de Howell-Jolly, ponctuations basophiles, ...) peuvent également produire des signaux de diffusion optique atypiques en fixant le fluorochrome de manière non spécifique. Ces altérations dispersent le nuage MI RBC et peuvent mimer des profils de faible parasitémie. En effet, ces anomalies érythrocytaires modifient simultanément la diffusion frontale (FSC – Forward Scatter), en raison des variations de taille et de forme des hématies, et la fluorescence latérale (SFL – Side Fluorescence), du fait de la présence résiduelle d'acides nucléiques. Cette double perturbation du signal optique peut déplacer certaines populations cellulaires vers la zone de faible fluorescence du canal MI RBC, simulant ainsi une parasitémie faible (14, 16, 17, 19, 20). Ces interférences expliquent la survenue de résultats indéterminés ou faussement positifs, soulignant l'importance d'une interprétation prudente du flag "*Abnormal MI RBC scattergram*".

Des anomalies morphologiques (78,3%), une réticulocytose (29,3%) et une érythroblastémie (33,4%) ont été observées (Tableau 2 et Figure 3). Ces profils sont compatibles avec des contextes cliniques de régénération érythroïde post-hémolytique ou physiologique, notamment chez le nouveau-né. Dans notre cohorte, les nouveau-nés représentaient 40,4% des participants, et les hémoglobinopathies étaient présentes 36,9%, incluant la drépanocytose (10%) et l'homozygotie CC (5,9%), toutes deux classiquement associées à une hémolyse chronique. Ces données sont cohérentes avec l'épidémiologie des hémoglobinopathies au Burkina Faso, où le portage S et/ou C dépasse 27%, avec une incidence de la drépanocytose estimée à 1,8% (29, 30). L'association d'une hémolyse chronique, d'une réticulocytose élevée et de morphologies érythrocytaires atypiques (corps de Jolly, de ponctuations basophiles, cellules cibles, ...) dans ces affections génétiques, particulièrement la drépanocytose, constitue une source majeure d'activation du flag "*Abnormal*

MI RBC scattergram". L'analyse conjointe des scattergrammes Sysmex® XN 1000 et XN 31 chez un enfant drépanocytaire (Figures 1 et 2) ainsi que la confrontation avec le frottis sanguin (Figure 3) illustre ce lien.

Dans une étude de Khartabil et al., 95% et 62% des patients présentant respectivement une réticulocytose ou une érythroblastémie affichaient un flag "Abnormal MI RBC scattergram" au Sysmex® XN-31(17). Dans notre cohorte, les proportions observées étaient 2 à 3 fois plus faibles (29,3 % et 33,4 %). En revanche, un scattergramme réticulocytaire anormal sur le Sysmex® XN-1000 (Figure 2) a été noté chez plus de 60 % des patients, contre 48% dans l'étude précitée (17)). Ce paramètre, rarement rapporté dans la littérature, pourrait constituer un indicateur indirect de la présence d'interférences dans le canal MI-RBC du Sysmex® XN-31. Par ailleurs, la différence observée avec l'étude de Khartabil et al. suggère que les morphologies érythrocytaires atypiques chez les enfants, influencent significativement la distribution optique des globules rouges et augmentent la probabilité d'un flag "*Abnormal MI RBC scattergram*" sur le Sysmex® XN-31.

Une étude réalisée au Kenya a rapporté que certains échantillons présentant un flag "*Abnormal MI RBC scattergram*" se sont révélés PCR positifs pour le *Plasmodium* (20). Les auteurs ne précisent pas si cette discordance était liée à une parasitémie très faible. Toutefois, ces échantillons présentaient fréquemment des anomalies érythrocytaires (drépanocytes, codocytes, dacryocytes, corps de Howell Jolly). Une hypothèse plausible évoquée dans la littérature, est la persistance transitoire de résidus parasitaires intra érythrocytaires après l'instauration du traitement, susceptibles de générer une fluorescence résiduelle et de perturber la détection fiable des MI RBC (14).

Un résultat biologique indéterminé constitue un obstacle majeur à une prise en charge rapide et efficace du patient. Pour le clinicien, il entretient une incertitude diagnostique susceptible de retarder l'instauration du traitement approprié, exposant le patient à un risque accru de complications. Pour le biologiste, il implique une communication renforcée avec le clinicien, une éventuelle reprise du prélèvement, et dans certains cas, le recours à des méthodes alternatives. Lorsqu'un flag "Abnormal MI RBC scattergram" est activé, il est recommandé d'examiner attentivement le scattergramme du canal MI-RBC, en particulier la dispersion des nuages de points. En effet, un scattergramme MI-RBC normal présente un nuage de point compact vertical et bien structuré, perpendiculaire à l'axe des abscisses (Figure 1b), correspondant à un regroupement net des hématies infectées sous forme d'un ou plusieurs cluster(s) annulaire(s). A l'inverse, le flag "Abnormal MI RBC scattergram" montre un nuage de points diffus,

hétérogène et désorganisé (Figure 1c) (14, 17).

Au regard de la diversité des interférences analytiques décrites avec le Sysmex® XN 31, une question majeure demeure : quel serait l'aspect du scattergramme MI RBC en cas de paludisme réel chez un patient présentant simultanément une anomalie morphologique des globules rouges ou une hémoglobinopathie ? Il est plausible que les signaux optiques des hématies parasitées se superposent à ceux des réticulocytes, des NRBC et des cellules morphologiquement anormales. Une telle superposition pourrait conduire à un nuage MI RBC moins compact, voire à un profil hybride associant un cluster parasitaire authentique à une dispersion évoquant un "*Abnormal MI RBC scattergram*". Cette problématique, encore peu documentée, mérite d'être approfondie afin de mieux cerner les limites de l'algorithme de détection du Sysmex® XN 31 et d'optimiser l'interprétation des résultats dans les populations à forte prévalence d'anomalies érythrocytaires comme dans notre contexte.

CONCLUSION

Chez les enfants pris en charge au CHUP-CDG, les résultats comportant un flag "*Abnormal MI RBC scattergram*" sur le Sysmex® XN-31 étaient principalement observés dans des contextes de régénération érythroïde et d'hémolyse chronique, le plus souvent associés à des hémoglobinopathies. La microscopie pour la détection du *Plasmodium* étant restée négative dans l'ensemble de ces situations, l'hypothèse d'un paludisme non détecté apparaît peu probable. Toutefois, le profil du scattergramme MI RBC en cas d'infection palustre chez un patient porteur d'une hémoglobinopathie demeure peu documenté dans la littérature. Aussi, il reste pertinent la réalisation systématique d'une goutte épaisse chez les enfants présentant un flag "*Abnormal MI RBC scattergram*", ainsi qu'un hémogramme complet et un dépistage des hémoglobines anormales S et C. Une telle approche intégrée, combinant l'analyse morphologique, le typage hémoglobinique et la confirmation microscopique, est essentielle pour fiabiliser le diagnostic et éviter les traitements inappropriés.

Remerciements

Nous remercions les équipes du laboratoire d'analyses biomédicales du CHUP CDG pour leur engagement et la qualité des lectures microscopiques, ainsi que les cliniciens prescripteurs.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Financement

Aucun financement spécifique externe.

REFERENCES

1. World malaria report 2024: addressing inequity in the global malaria response. Geneva: World Health Organization; 2024
2. Sangaré I, Ouattara CA, Soma DD, Soma D, Assogba BS, Namountougou M, *et al.* Spatial-temporal pattern of malaria in Burkina Faso from 2013 to 2020. *Parasite Epidemiol Control* 2022; 18: e00261. doi:10.1016/j.parepi.2022.e00261
3. Bationo C, Cissoko M, Katilé A, Sylla B, Ouédraogo A, Ouedraogo JB, *et al.* Malaria in Burkina Faso: A comprehensive analysis of spatiotemporal distribution of incidence and environmental drivers, and implications for control strategies. *PLOS ONE* 2023; 18: e0290233. doi:10.1371/journal.pone.0290233
4. Direction Générale des Etudes et des Statistiques Sectorielles. *Annuaire statistique santé 2024*. Ouagadougou, Burkina Faso: Ministère de la santé, 2024.
5. World Health Organization. *Global technical strategy for malaria 2016-2030*. Geneva: World Health Organization, <https://iris.who.int/handle/10665/176712> (accessed 17 August 2025).
6. World Health Organization. *Global Malaria Programme operational strategy 2024-2030*. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO., Geneva: : World Health Organization, 2024.
7. World Health Organization, UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. *Microscopy for the detection, identification and quantification of malaria parasites on stained thick and thin blood films in research settings (version 1.0): procedure: methods manual*. Geneva: World Health Organization, <https://iris.who.int/handle/10665/163782> (accessed 17 August 2025).
8. Hänscheid T. Current strategies to avoid misdiagnosis of malaria. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 497–504. doi:10.1046/j.1469-0691.2003.00572.x
9. Gillet P, Mori M, Van Esbroeck M, Van den Ende J, Jacobs J. Assessment of the prozone effect in malaria rapid diagnostic tests. *Malar J* 2009; 8: 271. doi:10.1186/1475-2875-8-271
10. Moody A. Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 66–78. doi:10.1128/CMR.15.1.66-78.2002
11. Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, Wernsdorfer WH. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77: 119–127. doi:10.4269/ajtmh.2007.77.119
12. Yalley AK, Ocran J, Cobbinah JE, Obodai E, Yankson IK, Kafintu-Kwashie AA, *et al.* Advances in Malaria Diagnostic Methods in Resource-Limited Settings: A Systematic Review. *Trop Med Infect Dis* 2024; 9: 190. doi:10.3390/tropicalmed9070190
13. Onsongo S, Otieno K, Mathenge L, Makotsi E, Kariuki G, Ngetich V, *et al.* The Diagnostic Performance of a Sysmex XN □31 Automated Malaria Analyzer vs. Expert Microscopy. *Int J Lab Hematol* 2025; 47: 613–621. doi:10.1111/ijlh.14456
14. Pillay E, Khodaiji S, Bezuidenhout BC, Litshie M, Coetzer TL. Evaluation of automated malaria diagnosis using the Sysmex XN-30 analyser in a clinical setting. *Malar J* 2019; 18: 15. doi:10.1186/s12936-019-2656-9
15. Post A, Kaboré B, Reuling IJ, Bognini J, 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: 103. doi:10.1186/s12916-019-1337-7
16. Komaki-Yasuda K, Kutsuna S, Kawaguchi M, Kamei M, Uchihashi K, Nakamura K, *et al.* Clinical performance testing of the automated haematology analyzer XN-31 prototype using whole blood samples from patients with imported malaria in Japan. *Malar J* 2022; 21: 229. doi:10.1186/s12936-022-04247-x
17. Khartabil TA, de Rijke YB, Koelewijn R, van Hellemond JJ, Russcher H. Fast detection and quantification of Plasmodium species infected erythrocytes in a non-endemic region by using the Sysmex XN-31 analyzer. *Malar J* 2022; 21: 119. doi:10.1186/s12936-022-04147-0
18. Tokponnon TF, Ossè R, Denon YE, , Gounou Yerima IJ, Houessinon F, Agassounon B, *et al.* Evaluation of the Diagnostic Capacity of Malaria by XN-31 Automate at Cotonou in an Endemic Area of Benin, West Africa. *Adv Infect Dis* 2024; 14: 810–821. doi:10.4236/aid.2024.144060.
19. Zuluaga-Idárraga L, Rios A, Sierra-Cifuentes V, Garzón E, Tobón-Castaño A, Takehara I, *et al.* Performance of the hematology analyzer XN-31 prototype in the detection of Plasmodium infections in an endemic region of Colombia. *Sci Rep* 2021; 11: 5268. doi:10.1038/s41598-021-84594-y
20. Kagaya W, Takehara I, Kurihara K, Maina M, Chan CW, Okomo G, *et al.* Potential application of the haematology analyser XN-31 prototype for field malaria surveillance in Kenya. *Malar J* 2022; 21: 252. doi:10.1186/s12936-022-04259-7
21. OMS. *Drépanocytose*. In: *Rapport du secrétariat. Cinquante-neuvième Assemblée Mondiale de la santé*. A59/9 Point 11. 4., Genève: Organisation Mondiale de la Santé. Disponible sur: <https://iris.who.int/handle/10665/21621>. (accessed 17 August 2025)

22. M'baya B, Mfuné 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: 346–353. doi:10.1111/vox.13208
23. Schwartz D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris : Flammarion, 1996. 314p.
24. Bain BJ. Blood Cells: A Practical Guide. 5th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2015.
25. Picot S, Perpoint T, Chidiac C, Sigal A, Javouhey E, Gillet Y, *et al.* Diagnostic accuracy of fluorescence flow-cytometry technology using Sysmex XN-31 for imported malaria in a non-endemic setting. *Parasite* 2022; 29: 31. doi:10.1051/parasite/2022031
26. Kayange M, M'baya B, Hwandih T, Saker J, Coetzer TL, Münster M. Automated measurement of malaria parasitaemia among asymptomatic blood donors in Malawi using the Sysmex XN-31 analyser: could such data be used to complement national malaria surveillance in real time? *Malar J* 2022; 21: 299. doi:10.1186/s12936-022-04314-3
27. LeBlanc L, Rosa A, Martigny D, Lapointe AA, Ricard-Lacombe A, Malick M, *et al.* Malaria Screening Turnaround Time: Comparative Multicenter Analysis of Negative and Positive Results and Impacts of Rapid Diagnostic Test Implementation and Laboratory Centralization. *Open Forum Infect Dis* 2023; 10: ofad500.695. doi:10.1093/ofid/ofad500.695
28. Otieno JA, Were LM, Sagam CK, Kariuki S, Ochodo E. Evaluating the impact of malaria rapid diagnostic tests on patient-important outcomes in sub-Saharan Africa: a systematic review of study methods to guide effective implementation. *BMJ Open* 2024; 14: e077361. doi:10.1136/bmjopen-2023-077361
29. Kafando E, Sawadogo M, Cotton F, Vertongen F, Gulbis B. Neonatal screening for sickle cell disorders in Ouagadougou, Burkina Faso: a pilot study. *J Med Screen* 2005; 12: 112–114. doi:10.1258/0969141054855300
30. Sawadogo S , Nebie K , Kima D , Savadogo H , Sanou J , Ouedraogo D, *et al.* Incidence of Sickle Cell Disease and Other Hemoglobinopathies in Burkina Faso: Results of a Five-Year Systematic Neonatal Screening (2015-2019) in Four Urban Hospitals. *Open J Blood Dis* 2022; 12: 87–97. doi:10.4236/ojbd.2022.124009.