



**INFECTION/
INFLAMMATION**

SEED N°33 HEMATOLOGIE : *Les Nouveaux paramètres hématologiques Sysmex pour la surveillance rapide de la réponse du système immunitaire.*

Les patients atteints de maladies inflammatoires sont très fréquents dans les hôpitaux. Lorsque les patients sont suspectés d'avoir une inflammation, il est important de différencier au plus vite entre les inflammations causées par les infections et celles qui ne le sont pas, et déterminer l'agent pathogène responsable ainsi que le statut de la réponse immunitaire du patient en cas d'infection. S'ensuit le traitement, à cet effet, les médecins doivent déterminer la thérapie appropriée pour leurs patients et éviter l'abus d'antibiotiques.

Diagnostiquer correctement les inflammations et les infections suspectées par l'examen clinique, les marqueurs biochimiques et les hémocultures microbiologiques sont coûteuses et prennent du temps.

Une indication initiale rapide serait bénéfique puisque cela peut orienter vers les tests de diagnostic appropriés, éviter les tests de suivi non nécessaires, et aider à démarrer ou modifier le traitement le plus rapidement possible. Les

paramètres hématologiques de l'inflammation obtenus à partir d'une numération sanguine de routine sur les analyseurs Sysmex de la Série-XN et XN-L peuvent fournir des informations quantitatives sur la réaction inflammatoire du système immunitaire du patient.

Valeur clinique des paramètres hématologiques de l'inflammation dans la gestion des maladies inflammatoires

Les analyseurs Sysmex de la Série- XN et XN-L offrent un ensemble de paramètres hématologiques de l'inflammation permettant d'évaluer quantitativement le statut d'activation des neutrophiles (NEUT-RI, NEUT-GI), les granulocytes immatures (IG) et les lymphocytes activés (RE-LYMP, AS-LYMP).

Le système immunitaire est une ligne initiale, non spécifique de défense contre les pathogènes. Sa fonction principale est d'identifier et d'éliminer les substances étrangères grâce aux globules blancs et d'activer davantage le système immunitaire à travers un processus de présentation de l'antigène des pathogènes.

Dans cette phase d'infection, on retrouve typiquement les neutrophiles activés (augmentation de NEUT-RI et NEUT-GI), les granulocytes immatures (IG), les lymphocytes réactionnels (RE-LYMP) et les plasmocytes T (AS-LYMP). Généralement, les variations des valeurs de ces paramètres dépendent de la nature du stimulus inflammatoire, la gravité et le stade de l'infection.

La réponse immunitaire initiale déclenche une réponse immunitaire adaptée, qui peut être divisée en une réponse immunitaire précoce médiée par les cellules et une réponse immunitaire humorale ultérieure. La réponse immunitaire médiée par les cellules est caractérisée par une augmentation des lymphocytes T activés et des cellules NK. La réponse humorale est typiquement caractérisée par des lymphocytes B activés (plasmocytes). Les lymphocytes B activés peuvent être quantifiés par le paramètre AS-LYMP (lymphocytes synthétisant les anticorps). Tous les lymphocytes activés (y compris les plasmocytes) sont quantifiés par le paramètre RE-LYMP (tous les lymphocytes réactionnels).

La combinaison des paramètres RE-LYMP et AS-LYMP fournit des informations supplémentaires sur l'activation cellulaire de la réponse immunitaire initiale et adaptée. L'augmentation des valeurs de la fluorescence de ces populations cellulaires enregistrée au cours de l'analyse indique à la fois l'augmentation de l'activité cellulaire et des changements dans la composition de la membrane, et indique ainsi s'il existe une immunité cellulaire ou humorale en réponse aux agents pathogènes. Cela permet de différencier entre les infections virales et bactériennes, ou entre infections aiguë et chronique, ou s'il y a une maladie inflammatoire sans infection.

Le tableau 1 résume les paramètres hématologiques de l'inflammation avec leurs unités respectives. Ces paramètres permettent de quantifier :

- Les lymphocytes activés,
- Les granulocytes immatures et
- Le statut d'activation des neutrophiles.

Plusieurs études récentes ont montré que ces paramètres sont utiles pour détecter et surveiller les infections et les inflammations [1 -8]. Les paramètres de structure des neutrophiles NEUT-RI et NEUT-GI obtenus à partir des automates de la Série-XN et XN-L pourraient prédire l'apparition de marqueurs d'infection à un stade plus avancé comme la présence de granulocytes immatures, ce qui suggère que ces paramètres neutrophiles peuvent être utilisés pour détecter les infections bactériennes à un stade précoce [1]. En outre, une étude en cours (publication en préparation) a observé que les deux paramètres RE-LYMP et AS-LYMP sont augmentés principalement dans les infections virales [2]. Les valeurs de RE-LYMP n'ont été augmentés que dans quelques infections bactériennes et les AS-LYMP étaient seulement modérément augmentés dans les infections bactériennes. Une autre étude sur les enfants de moins de cinq ans a montré que NEUT-RI était augmenté chez les patients avec infections bactériennes par rapport aux contrôles [6], alors que les RE-LYMP et AS-LYMP étaient significativement plus élevés chez les patients atteints d'infections virales que chez les patients atteints d'infections bactériennes. De plus, dans cette étude, le paramètre AS-LYMP fourni le même pouvoir de discrimination entre infection virale et bactérienne comme la procalcitonine. Stiel *et al.* (2016) ont montré que le paramètre NEUT-RI a une sensibilité et spécificité élevées pour diagnostiquer une coagulation intravasculaire disséminée chez les patients présentant un choc septique [7]. Oehadian *et al.* (2015) ont étudié les possibilités de diagnostic différentiel des paramètres de recherche lymphocytaires atypiques (RE-LYMP et AS-LYMP) et ont observé qu'ils peuvent aider à différencier la dengue de la leptospirose et la fièvre entérique [8].

Étude de cas : réponse immunitaire initiale précoce aux bactéries intracellulaires

Historique du cas

Un homme de 23 ans avec fièvre intermittente a consulté son médecin trois jours après le début de la fièvre. Les symptômes que présentait le patient sont les suivants : essoufflement, toux productive, douleurs abdominales, diarrhée, sueurs nocturnes et malaise. Considérant ces symptômes, le médecin suspecte une pneumonie et a demandé une numération formule sanguine complète pour rechercher la cause possible de l'infection.

Interprétation de cas

Les résultats de l'analyse sur analyseur XN du jeune homme avec de la fièvre, focus clinique sur les poumons, a révélé une leucopénie avec un augmentation relative des neutrophiles (NEUT / LYMPH = 8,5). Les neutrophiles ont montré une activation accrue - NEUT-RI = 60,7 FI - et combiné avec les faibles concentrations d'AS-LYMP (0,6 %), les résultats indiquent une réponse immunitaire initiale aux bactéries intracellulaires.

Le diagnostic différentiel dans de tels cas de pneumonie vise à distinguer la cause sous-jacente, qui peut être soit des bactéries extracellulaires ou intracellulaires, une infection virale ou une inflammation provenant d'une source non pathogène. Les résultats présentés ont montré une diminution du compte absolu des neutrophiles. L'activation des neutrophiles et la diminution du nombre des lymphocytes - à la fois en valeurs relatives et absolues - excluent une infection virale du diagnostic différentiel dans ce cas.

Habituellement, si la pneumonie est causée par des bactéries extracellulaires, cela entraînerait une augmentation du nombre absolu de neutrophiles (avec un nombre d'IG élevé) et une diminution du nombre de monocytes. Cela caractériserait une phase aiguë de l'infection et serait généralement accompagné aussi d'une thrombocytopenie, qui n'a pas été observée dans ce cas. Une inflammation sans infection entraînerait une neutrophilie sans activation des neutrophiles. Les faibles nombres d'AS-LYMP dans la formule leucocytaire sont des plasmocytes T- cellules indépendantes, et qui sont des cellules de type B circulantes produisant des anticorps non spécifiques après activation directe par les lipopolysaccharides. Ceux-ci peuvent être

libérés des parois cellulaires de certaines bactéries, et se lient au récepteur des cellules B.

Les résultats globaux excluent une infection bactérienne extracellulaire, une inflammation non pathogène et une infection virale. Le diagnostic final de tuberculose suspectée a été fait par radiographie pulmonaire positive. Quatre semaines après la numération sanguine initiale et le début du traitement antibiotique le diagnostic final de la tuberculose causé par *M. tuberculosis* a été confirmé par un résultat positif des cultures d'expectoration pour les bacilles acido-alcoolo-résistants, avec coloration Ziehl-Neelsen.

Conclusion

Les paramètres de diagnostic décrits dans ce bulletin, peuvent aider les médecins à diagnostiquer, traiter et surveiller les patients avec des maladies inflammatoires. Les paramètres hématologiques de l'inflammation fournissent des informations supplémentaires sur l'activation de la réponse immunitaire. Ils aident au diagnostic différentiel entre inflammation et infection, aux différentes causes pathogènes de l'infection (virale *versus* bactérienne) et différents types de réponse immunitaire : réponse immunitaire initiale, cellulaire ou humorale. Ces paramètres permettent une évaluation quantitative de l'état d'activation des neutrophiles (NEUT-RI, NEUT-GI), des granulocytes immatures (IG) et des lymphocytes activés (RE-LYMP, AS-LYMP). Ils sont facilement disponibles à partir d'une numération formule sanguine complète sur analyseurs Sysmex série-XN et XN-L.

Tab.1 Résumé des paramètres hématologiques d'inflammation avec leur interprétation immunologique, unités et valeurs de référence respectives

Populations cellulaires et/ou leurs caractéristiques	Description	Interprétation Immunologique	Paramètre	Unités	Valeur de Référence
Lymphocytes réactionnels Totaux	Lymphocytes B et T activés reconnus par une intensité de fluorescence élevée par rapport à celle des lymphocytes communs.	Augmentation de la réponse immunitaire initiale et adaptée médiée par les cellules	RE-LYMP#	Cellules/L	0 – 0.5 x 10 ⁹ /L
			RE-LYMP% ⁱ	%	0 – 5%
Lymphocytes produisant les anticorpsⁱⁱ	Lymphocytes B activés exclusivement reconnus par une augmentation marquée de l'intensité de la fluorescence comparée à celle des lymphocytes normaux.	Augmentation de la réponse immunitaire humorale initiale et adaptée	AS-LYMP#	Cellules/L	0 cellules/L
			AS-LYMP% ⁱ	%	0%
Granularité des Neutrophiles	La mesure de la granularité cytoplasmique des neutrophiles, représente leurs réponses au processus inflammatoire.	Augmentation de la réponse immunitaire initiale précoce.	NEUT-GI : Intensité de la granularité des Neutrophiles	Intensité Scatter (SI)	142,8 - 159,3 SI [1]
Réactivité des Neutrophiles	La mesure de l'intensité de la fluorescence des neutrophiles, représente leurs ractivités métaboliques.	Augmentation de la réponse immunitaire initiale précoce.	NEUT-RI : Intensité de la réactivité des Neutrophiles	Intensité Fluorescence (FI)	39,8 - 51,0 (FI [1])
Granulocytes Immatures	L'ensemble des métamyélocytes, myélocytes et promyélocytes sont comptés dans une population unique, séparés des neutrophiles	Indique la sévérité de la réponse immunitaire initiale précoce.	IG#	Cellules/L	0 – 0.06x 10 ⁹ /L
			IG% ⁱ	%	0 – 0,6%

i: pourcentage des GB

ii: lorsque les AS-LYMP sont présents, ils sont inclus également dans les RE-LYMP

Tab.2 Revue des résultats d'analyse obtenus à partir d'analyseurs Série-XN et XN-L

Paramètres GB	Données	Paramètres GR	Données	Paramètres PLQ	Données
GB (10 ⁹ /L)	2.98	GR (10 ⁹ /L)	3,96	PLQ-I (10 ⁹ /L)	244
NEUT# (10 ⁹ /L)	2.50*	HGB (g/L)	102	PLQ-F (10 ⁹ /L)	231
LYMPH# (10 ⁹ /L)	0.29*	HCT (L/L)	0,312	IDP (fL)	11,4
MONO# (10 ⁹ /L)	0.17*	VGM (fL)	78,8	VPM (fL)	11,2
EO# (10 ⁹ /L)	0.01*	TCMH (pg)	25,8	P-RGC (%)	30,7
BASO# (10 ⁹ /L)	0.01	CCMH (g/L)	327	PCT (L/L)	0,0027
IG# (10 ⁹ /L)	0.02*	IDR-SD (fL)	42,2	IPF# (10 ⁹ /L)	4,2
RE-LYMP# (10 ⁹ /L)	0.03	IDR-CV (%)	14,6	IPF (%)	1,8
AS-LYMP# (10 ⁹ /L)	0.02	NRBC # (10 ⁹ /L)	0		
NEUT%	84.0*	NRBC %	0	Flag (s) GB	
LYMPH%	9.7*	MicroR (%)	8,3	lymphopénie	
MONO%	5.7*	MacroR (%)	3,3	Déviation Gauche ?	
EO%	0.3*	HYPO-H _e (%)	1,6	Lymph. Atyp ?	
BASO%	0.3	HYPER-H _e	0,3		
IG%	0.7*	RET# (10 ⁹ /L)	22,6	* résultats non fiables	
RE-LYMP%	1.0	RET %	0,57	§ paramètre de recherche	
AS-LYMP%	0.6	IRF (%)	5,1		
NEUT-GI (SI)	145.5	RET- H _e (pg)	29,8		
NEUT-RI (FI)	60.7	Delta-H _e (pg)	3,8		
		FRC # (10 ¹² /L) [§]	0,0851		
		FRC% [§]	2,15		

Références

[1] Cornet E et al. (2015): Contribution of the new XN-1000 parameters NEUT-RI and NEUT-WY for managing patients with immature granulocytes. *Int J Lab Hematol.* 37(5): e123 – 6.

[2] Van der Ven A et al.: *Manuscript in preparation.*

[3] Park SH et al. (2015): Sepsis affects most routine and cell population data (CPD) obtained using the Sysmex XN-2000 blood cell analyzer: neutrophil-related CPD NE-SFL and NE-WY provide useful information for detecting sepsis. *Int J Lab Hematol.* 37(2): 190 – 8.

[4] Luo Y et al. (2013): Utility of neut-X, neut-Y and neut-Z parameters for rapidly assessing sepsis in tumor patients. *Clin Chim Acta.* 422: 5 – 9.

[5] Linssen J et al. (2008): Automation and validation of a rapid method to assess neutrophil and monocyte activation by routine fluorescence flow cytometry in vitro. *Cytometry B Clin Cytom.* 74(5): 295 – 309.

[6] Henriot I et al. (2016): New parameters on the hematology analyzer XN-10 (Sysmex™) allow to distinguish childhood bacterial and viral infections. *Int J Lab Hematol.* 39(1): 14 – 20.

[7] Stiel L et al. (2016): Neutrophil Fluorescence: A New Indicator of Cell Activation During Septic Shock-Induced Disseminated Intravascular Coagulation. *Crit Care Med.* 44(11): e1132 – 36.

[8] Oehadian A et al. (2015): New parameters available on Sysmex XE-5000 hematology analyzers contribute to differentiating dengue from leptospirosis and enteric fever. *Int J Lab Hematol.* 37(6):861.

[9] Pekelharing JM et al. (2010): Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Sysmex Journal International.* 20(1): Online only.

Pour plus d'information : www.sysmex-europe.com/whitepapers

Comment ces paramètres sont-ils mesurés sur les analyseurs d'hématologie ?

Ces paramètres hématologiques d'inflammation peuvent être déterminés par la fluorescence cytométrie en flux sur les analyseurs série -XN et XN-L. Ils sont visualisés dans le scattergramme (exemples plus bas), qui est généré lors de l'analyse Fig. 1.

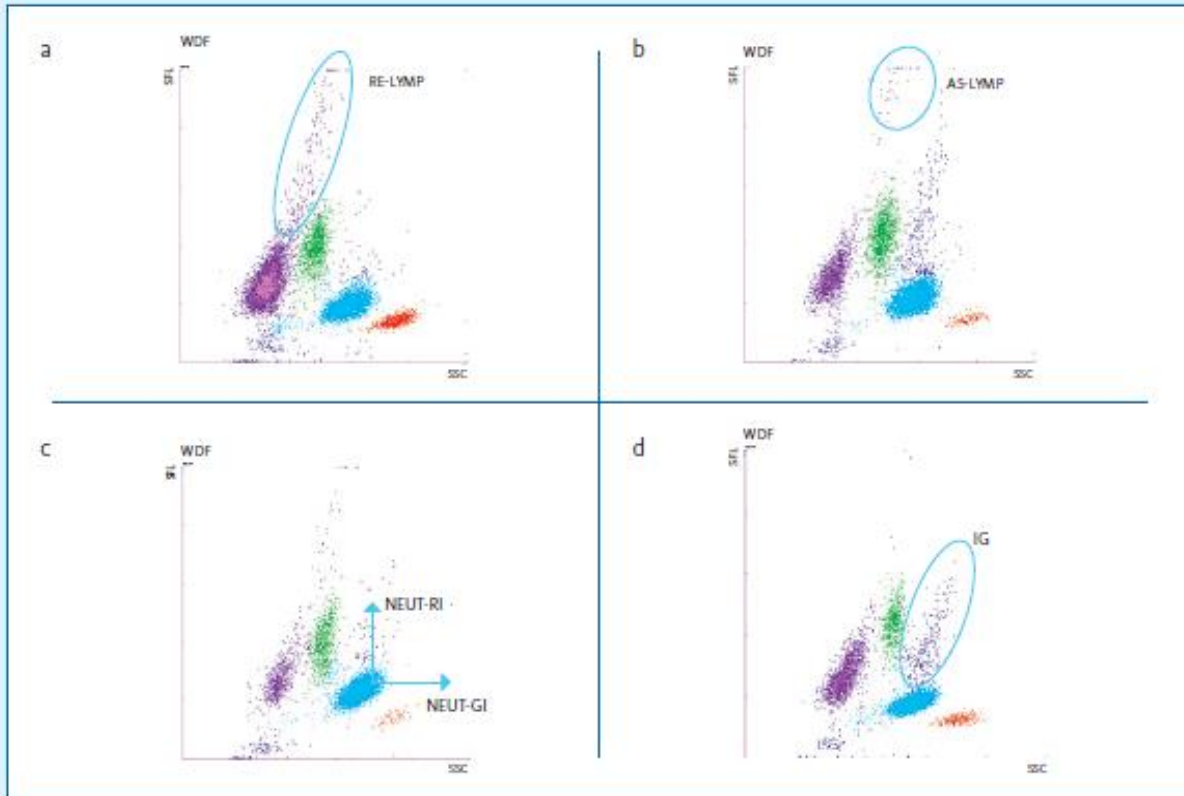


Fig. 1 Paramètres hématologiques d'inflammation décrivant les populations cellulaires activées qui apparaissent au cours de la réponse immunitaire. Les scattergrammes renseignent sur la structure intracellulaire (side scatter : SSC) sur l'axe des x et sur la présence de matériels bioactive (side fluorescence signal : SFL) sur l'axe des y. chaque point représente une cellule. a : lymphocytes réactionnels ; b : lymphocytes sécrétant des anticorps ; c : neutrophiles activés ; d : granulocytes immatures

Dans le scattergramme du patient décrit plus haut (Fig. 2), on observe ce qui suit : neutrophiles activés (NEUT-RI : augmentation de l'intensité de la fluorescence, nuage bleu) et des monocytes (vert). De plus, quelques plasmocytes (AS-LYMP) sont aussi détectés.

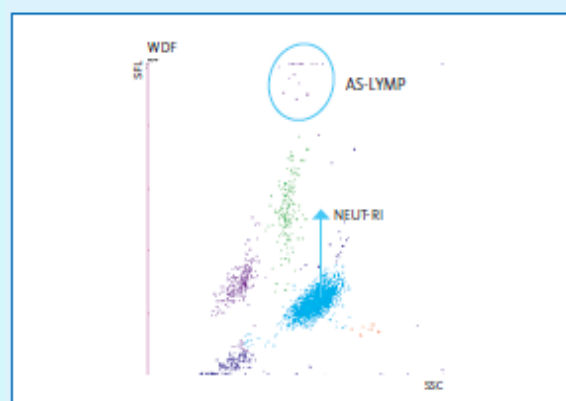


Fig.2 Scattergramme du patient décrit plus haut