

**Compte rendu de la 15^{ème} journée du
Club des biologistes en hémostase**

Cette réunion s'est tenue le 15 Juin 2018 et a rassemblé 35 biologistes.

1. Biologie et traitement par ACE910 (Emicizumab)

Présentation de C. Nougier (Lyon)

L' ACE910 ou emicizumab (HEMLIBRA) est un anticorps monoclonal bispécifique administré en sous-cutanée dans le traitement de l'hémophilie A sévère avec inhibiteur (AMM en ATU en Février 2018). Cet anticorps dépourvu d'activité enzymatique est dirigé contre le FIXa et le FX et joue un rôle de « cofacteur » en permettant la génération de FXa. L'emicizumab ne nécessite pas de phase d'activation pour être actif et peut donc impacter les tests de coagulation notamment ceux qui explorent la voie intrinsèque de la coagulation. Des études de surcharges en emicizumab sur des plasmas normaux ou d'hémophiles A sévères montrent :

- qu'il n'existe pas d'impact significatif de l'emicizumab sur les résultats du TP, INR, ni du fibrinogène et cela quelque soit le type de thromboplastine utilisée (animale, recombinante)
- un raccourcissement important du TCA ou TCK avec de faibles concentrations d'emicizumab (dès 12.5 µg/mL). Ce test pourrait être toutefois utile en cas de suspicion d'anticorps anti- drogue (rares cas décrits). Dans ce cas, le TCA s'allonge à nouveau.
- la mesure du taux de FVIII retrouve des résultats très élevés (> 150%) même en l'absence de FVIII circulant
- une surestimation modérée des autres facteurs de la voie endogène (IX, XI, XII)
- une activité de FVIII mesurable par technique chromogénique uniquement avec le kit Hyphen qui contient des protéines (FIXa et FX) recombinantes humaines. Aucune activité détectable avec les kits utilisant des protéines animales. Ces derniers kits doivent être utilisés pour le dépistage et titrage d'un inhibiteur antiVIII.
- des interférences sur les mesures d'activités chronométriques des protéines C et S et sur la résistance de la protéine C activée. Il est préférable d'utiliser la mesure chromogénique de la protéine C, la mesure de la protéine S libre Ag et d'effectuer la recherche de la mutation du FV Leiden.

Le traitement par Hemlibra ne devrait pas nécessiter de surveillance biologique en dehors de situation à risque. Néanmoins une surveillance particulière doit être apportée lorsque, une association thérapeutique avec un agent by-passant est nécessaire en cas de situations chirurgicales urgentes ou programmées.

En raison de son mode d'action, l'emicizumab associé avec un agent by-passant pourrait présenter des risques de complications thrombotiques notamment avec l'aPCC contenant du FIXa, ligand principal de l'emicizumab. Dans ces situations, les tests classiques de coagulation ne permettent pas une surveillance biologique adaptée. Les patients traités par emicizumab, présentent un raccourcissement important du TCA dès la première injection alors que les concentrations circulantes d'emicizumab n'ont pas atteint le plateau. De plus, le dosage de Facteur VIII par méthode chromométrique n'est pas possible chez ces patients puisque les dosages de FVIII donnent des résultats élevés en absence de FVIII circulant. Le dosage de FVIII par méthode chromogénique à l'aide de réactifs recombinants humains ne permet qu'une estimation partielle de l'effet hémostatique de l'emicizumab sur la coagulation en mesurant une activité 'FVIII Like' sans être sensible à l'action de l'agent by-passant. Seuls les tests globaux permettraient une évaluation globale de l'hémostase. Les études actuelles montrent que le test de génération de thrombine mesuré sur PPP est sensible à la présence d'emicizumab. Le pic de génération de thrombine augmente de façon dose-dépendante en présence d'emicizumab et met en évidence l'effet synergique en présence d'aPCC ou de rFVIIa. La thromboélastographie en sang total réalisée sur des échantillons issus de patients hémophiles sévères avec (n=5) ou sans (n=2) inhibiteurs montre également que le CT (clotting time) mesuré par ROTEM était significativement diminué post-injection d'emicizumab chez tous les patients traités et que ce raccourcissement était corrélé à la diminution des accidents hémorragiques. L'étude d'Hartmann en 2018 confirme également, sur des échantillons d'hémophiles A sévères auxquels sont ajoutés *in vitro* des anticorps anti-VIII, de l'emicizumab, du rFVIIa ou de l'aPCC, que l'emicizumab seul permet un raccourcissement du CT sans toutefois le normaliser et met en évidence une action synergique entre l'emicizumab et l'aPCC (diminution du CT et l'augmentation du CFT), effet non observé lors de l'association rFVIIa - emicizumab. La thromboélastographie pourrait donc être un outil de surveillance pertinent. Un protocole d'étude pour déterminer l'intérêt de ces tests globaux est en cours de rédaction.

Traitement par Emicizumab : expérience de Necker (T. Pascreau, D.Lasne)

7 patients traités dans le protocole HAVEN, 6 ayant bénéficié de l'ATU.

Événements indésirables : 1 hémarthrose, 1 hématome et une hémarthrose sur fracture accidentelle du fémur ; 1 rhabdomyolyse transitoire concomitante à la reprise du sport, traitement uniquement par réhydratation.

Biologie : TCK ratio diminués (< 1,18). Dosage du FVIII par méthode chromométrique ininterprétables. Dosage par méthode chromogénique utilisant des réactifs d'origine bovine interprétables pour les patients sous emicizumab recevant du FVIII pour traiter un accident hémorragique. L'intérêt de la méthode chromogénique utilisant des réactifs d'origine humaine est en cours d'évaluation.

Tests de génération en plasma pauvre en plaquette réalisés chez un patient de 29 ans inclus dans le protocole Haven 4 (bras sans inhibiteur) :

- Fracture du fémur compliquée d'hématome et hémarthrose : traitement par Advate® 15/U/Kg/12h pendant 3 jours. Crainte de complications thrombotique
- Les TGT réalisés avec le plasma du patient traité par Emicizumab et Advate® ou par emicizumab et surchargé *in vitro* en Advate® ne montrent pas un profil hyperthrombotique.

Traitement par Emicizumab : expérience de Bicêtre (V Proulle)

Patient HAS sans inhibiteur hospitalisé pour chirurgie de la hanche programmée.

Mise sous Emicizumab en mars 2017 après une prophylaxie par Elocta (rBDD FVIII)

Choix de traitement pour la PTH : Elocta aux doses habituelles (identiques à celles des patients sans traitement par Emicizumab) : 57 UI/kg pré chirurgical, 20 UI/kg en per opératoire puis 20 UI/Kg x 2 / j

Evolution clinique : bonne efficacité hémostatique, pas de complication thrombotique

Surveillance biologique :

- dosages de FVIII chromogénique avec des réactifs d'origine animale (Stago) : dosage du FVIII infusé = Elocta
- dosages de FVIII chromogénique avec des protéines recombinantes humaines (HYPHEN Biomed) : dosage du FVIII infusé Elocta + emicizumab circulant

Observation : contrairement à ce qu'on aurait pu attendre, il existe un « différentiel » entre ces 2 dosages qui n'est pas constant dans le temps

Projet et proposition de travail :

In vitro, sur des échantillons surchargés de différentes doses d'emicizumab et de FVIII :

- dosages de FVIII avec les différentes techniques
- test de génération de thrombine en PPP

- dosage de thrombine « spatio-dynamique » avec un nouvel appareil mesurant la fibrino formation et la génération de thrombine dans le temps : Thrombodynamics
Lorsque l'appareil sera disponible, possibilité de passer des plasmas de patients traités en parallèle avec les différentes techniques pour comparer les résultats obtenus ex vivo.

2. Accréditation : partages d'expérience (Céline Desconclois, Clamart et Cécile Lavenu Bombled, Bicêtre)

Nous rapportons notre expérience de présentation d'analyses pour accréditation, à l'occasion d'un audit de surveillance n°6 et d'extension. Le LBM du GH est déjà avancé en terme d'accréditation, en actes 81% de l'activité ; au laboratoire d'hématologie de Bicêtre cela représente 93%; à Béclère 95%.

Sur Bicêtre et Béclère, nous avons présenté une ligne en extension de portée, la ligne CB6 avec la mesure des temps d'occlusion plaquettaire sur les deux sites et l'agrégométrie optique sur Bicêtre.

Nous avons également présenté sur Bicêtre un rajout sur la ligne CB3, concernant le titrage de l'anti-FVIII.

Les constructions des dossiers de validation de méthodes nous ont posé quelques problèmes, nous amenant à questionner nos collègues pour avoir leurs retours sur des dossiers déjà présentés. Nous n'avons pas eu de réponses car ces analyses n'avaient jamais été présentées.

Nous rapportons donc lors de cette présentation les problèmes que nous avons rencontrés à la préparation des validations de méthodes et lors de l'audit.

Le titrage anti-FVIII n'a pas fait l'objet d'une expertise technique, l'auditeur se concentrant sur les agrégations plaquettaires. Il s'agit d'un processus complexe comprenant deux sous-processus : un sous-processus «titrage» et un sous processus «dosage chronométrique de l'activité FVIII». Ce dernier est déjà accrédité depuis 2016, en portée A. Les difficultés rencontrées pour la validation des performances sont dues à l'absence de CIQ dans le service et à un nombre très restreints d'EEQ par an, et par niveau. La répétabilité a été étudiée sur deux sujets (1 titrage négatif et 1 titrage positif), en passant dans la même série 5 préparations différentes d'une même dilution et en étudiant le taux de FVIII résiduel. La reproductibilité a été étudiée par le biais des temps témoin, de façon rétrospective sur une durée de plusieurs mois. Ceci permettait également de valider la variabilité inter-opérateur. L'incertitude de mesure n'est pas évaluable pour l'instant du fait d'un nombre restreint d'exercices (changement d'automates en 2016). Les autres paramètres (sensibilité, spécificité, limites de détection, interférences) ont été argumentés sur la base de la bibliographie et des

recommandations de pratiques. Nous avons été confrontés à un problème métrologique car si les températures mesurées des bains à sec à 37°C étaient conformes à l'EMT +/- 1°C, l'incertitude de mesure rajoutée des sondes entraînait un dépassement des seuils. Après étude de la bibliographie, peu prolixe, l'EMT a été augmenté à 2°C. Nous avons ensuite pu étudier l'impact d'une incubation à 35, 37 ou 39°C sur 13 prélèvements et n'avons pas mis en évidence de différence significative ; à noter, l'utilisation de bains à sec sur Bicêtre et de bains-marie sur Béclère.

La validation de méthode **de l'agrégométrie optique** a présenté différents problèmes. Le principal est l'absence de tout CIQ et EEQ technique. L'incertitude de mesure dans ces conditions n'est pas évaluable. Nous avons rencontré le même problème avec les TO-PFA. La difficulté de faire des CIQ inter-laboratoire a été argumentée. Nous avons argumenté également qu'un témoin sain était passé dans une série si nous n'avions pas de réponse normale à un agoniste. La répétabilité a été étudiée ; cette étude a été réalisée sur 2 témoins sains, pour 6 agonistes, sur 5 points, en étudiant trois critères: agrégation maximale, latence et pente. La reproductibilité était impossible à étudier. Les valeurs de références ont été établies sur la base des résultats de 29 sujets sains, étudiés sur une période de 6 mois, ceci a été considéré comme un point fort. Les autres paramètres (sensibilité, spécificité, limites de détection, interférences) ont été argumentés sur la base de la bibliographie et des recommandations de pratiques. Lors de l'audit, l'auditeur technique a été très pointilleux sur l'aspect pré-analytique. Le circuit des tubes, depuis le prélèvement jusqu'à l'enregistrement a été considéré comme maîtrisé avec un point fort pour un circuit dédié (portoirs particuliers et saisie par Scan'Bac notamment). L'étude des délais de réalisation avait été étudiée rétrospectivement sur une durée de 13 mois et était conforme avec le délai imposé <2h. L'auditeur a également été très attentif à l'aspect manuel de la technique impliquant une saisie manuelle de l'identité et de l'agoniste/concentration utilisés. L'argumentation retenue est celle d'une pièce dédiée, calme, sans risque de perturbations (pas de téléphone par exemple, pièce isolée). La validation par le technicien et dans un deuxième temps par le biologiste de tous les tracés et valeurs obtenus ont été des arguments retenus. Enfin la compétence du personnel technique a été étudiée, à toutes les étapes. La formation et l'accès à une documentation permettant de comparer les courbes obtenues par rapport aux courbes attendues ont été appréciés. L'interaction technicien/biologiste, à toutes les étapes pré-analytiques, analytiques et post-analytiques a été mise en avant. A noter un quiproquo sur le Multiplate qui avait été compris comme une technique de back-up alors que ce n'est pas la même méthodologie, que les techniques n'auraient pas pu être corrélées et

que l'agrégométrie en impédance n'est pas accréditée dans notre service. Enfin, la prestation de conseil, les staffs clinico-biologiques mensuels ont été reconnus comme des points forts.

La validation de méthode **des temps d'occlusion plaquettaire sur automates PFA** a également posé différents problèmes. Le principal est l'absence de tout CIQ et EEQ technique comme pour l'agrégométrie optique et l'obligation de travailler sur prélèvement frais. Une attention particulière a été portée sur l'analyse et la maîtrise des risques, en particulier pré-analytiques. La reproductibilité, la justesse, l'exactitude et l'incertitude de mesure ne sont pas évaluables. La répétabilité (n = 4 à 5) a été faite sur un volontaire sain et un prélèvement d'une personne avec thrombopathie connue. La valeur limite de CV retenue est de 20% (d'après *Bock et al, British Journal of Haematology 1999*). L'impossibilité technique d'avoir des CIQ, des CIQe et des EEQ a été longuement discutée et finalement comprise et admise par les évaluateurs. Les valeurs de références ont été établies sur la base de la bibliographie (*Fressinaud et al, Blood 1998, Fressinaud et al, British Journal of Haematology 1999*), et ont été validées localement par des études sur des volontaires sains. Les items sensibilité et spécificité analytique, étendue de mesure et interférences ont été argumentés grâce à la bibliographie. La prestation de conseils a été retenue comme argument fort pour la fiabilité des analyses de la portée

3. Bibliographie : Claire Flaujac (Versailles)

Effects of pre-analytical heat treatment in factor VIII (FVIII) inhibitor assays on FVIII antibody levels. *B. Boylan and C.H.Miller. Haemophilia 2018; 1-5.*

4. Cas cliniques :

- A propos de deux syndromes hémorragiques inexpliqués par *Fabienne Pinault Vincent (Le Mans)*
- A propos d'un auto anti II ou anti V ? *Hubert Galinat (Brest)*

5. Enquête de pratique : CAT devant une diminution du TP par François Grand (Poitiers)

Un questionnaire en ligne a été envoyé sur la mailing du club des biologistes (mai 2018). L'objectif était d'évaluer les pratiques des différents centres hospitaliers en France concernant la baisse du TP, et les analyses ajoutées dans cette circonstance. 29 centres ont répondu (21 CHU, et 8 centres hospitaliers non universitaires). A noter

qu'une majorité des laboratoires dispose d'une thromboplastine Stago (22 centres sur 29).

Définition de la valeur seuil pour une exploration d'un TP

La valeur seuil de TP bas pouvant justifier une exploration était fixée à 65% ou 70 % pour près plus de 80% des laboratoires. La valeur seuil indiquée par le laboratoire n'était pas dépendante du réactif employé. 65.5% des participants connaissaient la justification du seuil défini dans leur laboratoire. Parmi les justifications, les plus évoquées étaient : (1) valeur seuil correspondant aux valeurs normales, (2) seuil défini par rapport à la sensibilité à détecter un déficit en facteur.

Remarques sur le seuil basé sur les valeurs normales

Les valeurs normales sont avant tout définies sur des bases statistiques, à partir d'une population normale de répartition gaussienne. D'après les recommandations CLSI (Guideline EP28 A3C), les valeurs normales doivent être définies comme la moyenne ± 2 DS obtenue sur un large échantillon (au moins 120 sujets normaux). Tout paramètre devrait faire l'objet de cette étude, et en théorie pour chaque laboratoire et couple réactif-automate. En pratique, ces études sont peu réalisées par les laboratoires pour des raisons évidentes de mise en place. Les fournisseurs de réactifs, pourtant les plus concernés, le font rarement.

Le CLSI évoque une solution « *a minima* », permettant de vérifier au sein du laboratoire que les résultats obtenus correspondent à des références préalables de la littérature, sur la base 20 à 40 patients. Cette vérification des valeurs normales est censée être réalisée au moment de la validation de méthodes. Cette analyse est également implicitement réalisée par les laboratoires au moment du changement de lot de réactif, dans le cadre du calcul du temps témoin. La définition d'une valeur normale « basse », basée sur la notion de « dérive statistique » n'est pas forcément synonyme de valeur seuil à partir de laquelle une exploration se justifie.

Remarques sur le seuil basé sur la sensibilité aux déficits en facteur

La sensibilité est propre à chaque réactif de thromboplastine, et le biologiste doit donc être au fait de la sensibilité du réactif qu'il utilise. Le CLSI détaille comment calculer la sensibilité d'un réactif à un déficit en facteur (guideline ref H47 A2). Il s'agit du taux de facteur correspondant à la valeur haute de normalité du test considéré (taux de facteur étudié correspondant à un TCA ratio à 1.2 par exemple ; ou pour le cas du TP à 70%). Une sensibilité est considérée comme bonne arbitrairement entre 30 et 45 %. Cette analyse est intéressante pour le TCA, pour lequel un allongement est généralement associé à un déficit isolé en facteur. Dans le cadre du TP, cette analyse est plus complexe, car les baisses de TP observées sont plus généralement acquises (hypovitaminose K, CIVD, atteinte hépatique) et liées à des déficits combinés. Il peut

toutefois être utile de connaître la sensibilité de la thromboplastine à des déficits constitutionnels isolés en FVII par exemple. Le réactif Neoptimal (Stago), remplaçant de l'actuelle Neoplastine, présente ainsi une sensibilité équivalente à la Neoplastine CI plus pour le facteur VII (39 % contre 36 %, Poster ISTH 2017). Par contre, la sensibilité pour le facteur X du Neoptimal étant plus haute (51 % contre 38% avec Neoplastine CI plus), il faudra s'attendre à observer des TP s'abaissant plus facilement pour des déficits mineurs en FX

Analyses ajoutées par les laboratoires devant un TP bas

Analyses disponibles dans les laboratoires, et conditions de réalisation

Concernant le dosage des facteurs (figure 1), tous les laboratoires disposent du fibrinogène en 24/24, et la quasi majorité pour le FV. Le FII n'est, par contre, pas systématiquement à bord 24/24, probablement dans une stratégie en deux temps n'intégrant le FII qu'en deuxième intention. Les analyses concernant les CIVD de type complexes solubles, PDF sont peu utilisées, au profit des monomères de fibrine (45 % des centres) et des D Dimères (dont l'utilisation par tous les laboratoires en 24/24 est plus vraisemblablement liée à leur emploi dans l'exclusion de la thrombose).

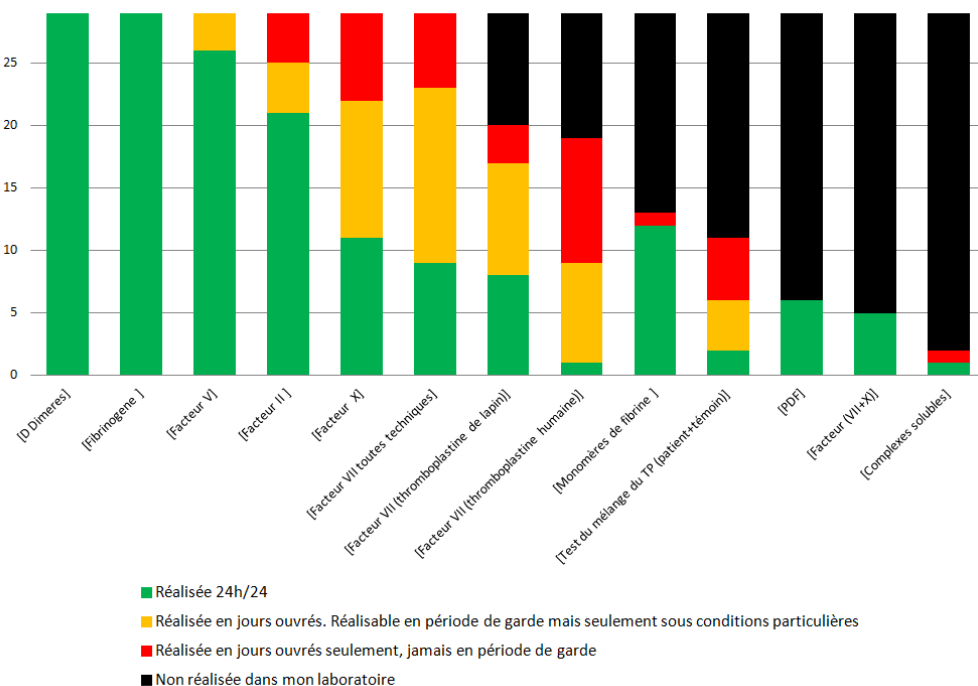


Figure 1 : Modalités de disponibilité et de réalisation des différentes analyses dans les laboratoires.

Il existe une homogénéité des centres concernant l'ajout du FV et du fibrinogène devant un TP bas (figure 2). Les PDF et complexes solubles ne sont pas ajoutés, car peu employés par les laboratoires. Les FVII et FX sont quand à eux rarement réalisés en première intention, sauf en cas de test combiné « FVII+FX ».

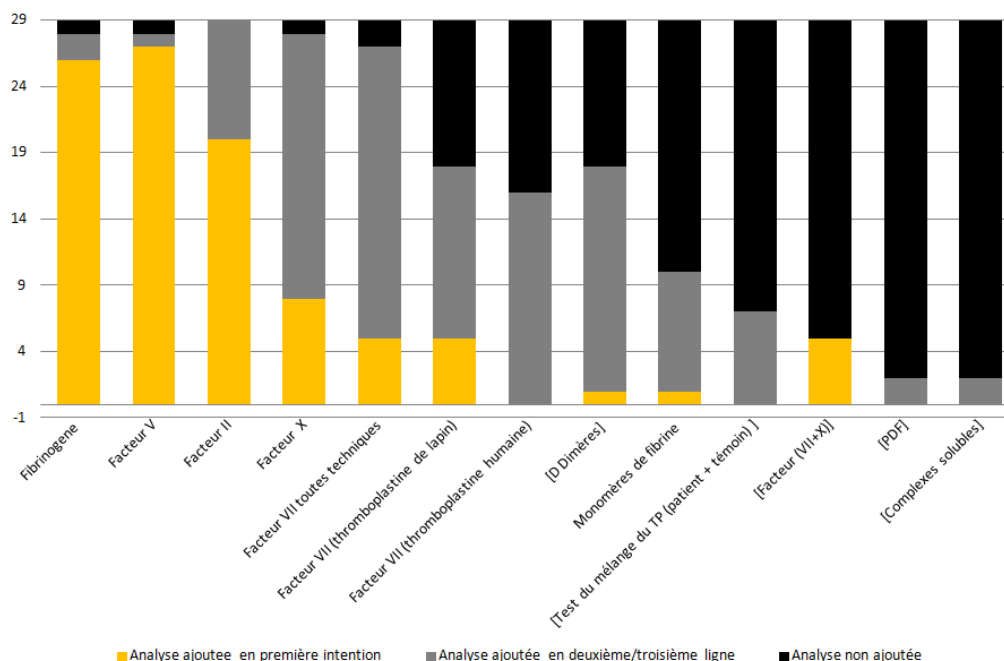


Figure 2 : Modalité d'ajout des analyses dans les laboratoires

Stratégie d'ajout des facteurs

En regardant en détail les modalités de stratégie (en plusieurs étapes), il existe une relative hétérogénéité des pratiques, bien que certaines stratégies prédominent (FV => II+VII+X ; FV+FII => VII+X),

Tableau 1 : Stratégie d'ajout des facteurs devant un TP bas et nombre de centres concernés

1e ligne	2 ^e /3 ^e ligne	Nombres de centres
FV	FII FVII FX	8
FV FII	FVII FX	6
FV FII F(VII+X)	FVII, FX	5
FV FII FX	FVII	5
FV FII FVII FX		3
FV FII FVII	FX	1
FV FVII	FII FX	1

Stratégie d'ajout des analyses associées à la CIVD

Dans le contexte d'exploration de CIVD, la majorité des centres ajoutent les D Dimères seuls. La seconde stratégie consiste à doser le duo Monomères + D Dimères. Six centres n'ajoutent aucune analyse concernant la CIVD devant un TP bas.

Tableau 2 : Stratégie d'ajout des analyses associées à la CIVD devant un TP bas et nombre de centres concernés

Monomères	D Dimères	PDF	CS	Nombre
	X			10
X	X			6
X				3
		X		2
	X		X	1
X	X		X	1
Pas d'ajout				6

En conclusion, les laboratoires démontrent une relative homogénéité des seuils de TP utilisés, bien que la sensibilité à repérer des déficits en facteur puisse varier d'un réactif à un autre. La majorité des centres procède à l'ajout de fibrinogène et de FV en première intention. Cette stratégie rappelle l'importance de repérer une hypofibrinogénémie (acquise ou constitutionnelle), qui s'accompagne parfois d'une baisse mineure du TP.

Le débat reste ouvert quant aux modalités d'ajout devant un dossier avec hyperfibrinogénémie. Certains biologistes indiquent que l'exploration d'un TP, lorsqu'elle est décidée, implique qu'elle en vaut la peine pour des raisons cliniques, et justifie donc une investigation complète. Dans cette démarche, il conviendrait donc davantage de définir quand ne pas explorer le TP.

6. Comparaison de méthode pour les recherches/titrages anti-FVIII : D. Lasne (Necker)

L'expérience de Necker du passage d'une configuration «déficient Siemens + APTT-SP (portée B)» à une configuration «déficient Werfen + SynthASIL (portée A)» pour le titrage des anti-FVIII a été présentée.

Les taux résiduels de FVIII sont plus élevés (et peuvent être >100%) et les titres d'inhibiteurs plus faibles (différences significatives) dans la configuration « déficient

Werfen + SynthASIL » . Outre un activateur de la voie du TCA différent, on note que le déficient Siemens contient du facteur Willebrand (VWF) contrairement au déficient Werfen. Les données de la littérature concernant l'impact du VWF contenu dans les déficients pour les recherches d'anti-FVIII sont controversées. Un travail du club des biologistes réalisé en 2015 (*Pouplard et al, Int Jnl Lab Hem 2015, 37, 125-132*) concluait que la présence du VWF dans les déficients n'est pas nécessaire avec une méthode Nijmegen modifiée utilisant de l'imidazole.

Les taux résiduels de FVIII obtenus avec un déficient Werfen réplété en VWF sont plus bas qu'avec le déficient Werfen sans VWF et comparables à ceux obtenus avec le déficient Siemens. Mais les titres d'inhibiteurs, notamment les titres faibles (< 5 UB/ml) avec le déficient Werfen sans VWF sont proches des titres obtenus en dosage chromogénique.

En conclusion, le dosage du FVIII résiduel pour les titrages d'anti-FVIII utilisant le déficient Werfen sans VWF est comparable au dosage par la méthode chromogénique qu'il est conseillé de mettre en œuvre pour vérifier les titres faibles (*Miller et al, Haemophilia, 2018, 24(2) :186-197*). Le problème des taux résiduels de FVIII > 100% dans les recherches négatives reste non élucidé.

Perspective : analyser les résultats de l'ECAT en considérant les différents réactifs (déficients et activateurs). Demande faite à l'ECAT. Présentation prévue en Novembre 2018.

7. Le point sur les protocoles et les études multicentriques en cours : Claire Pouplard (Tours), Catherine Ternisien (Nantes), Sophie Voisin (Toulouse)

A. Protocole de validation du facteur IX chromogénique (société STAGO)

La société STAGO avait sollicité le club des biologistes afin de réaliser une étude de validation de son nouveau kit FIX chromogénique selon les exigences réglementaires pour obtenir un marquage CE. Nous avons actuellement 15 CHU qui ont donné leur accord pour être centre collecteur. Ces centres collecteurs s'engagent à fournir des échantillons de 15 patients différents (3 aliquots de 500 µL par patient, conservés à – 80°C et congelés depuis moins de 2 ans).

Les patients concernés seront des hémophiles B sévères, modérés ou mineurs ainsi que des patients traités par antivitamine K ou ayant une insuffisance hépatocellulaire.

Il est également demandé que les centres collecteurs fournissent des sujets contrôles avec un taux de facteur IX supérieur à 60 %. Pour chaque échantillon, seront renseignés : l'âge, le sexe, la date de congélation, le type de pathologie associée (hémophilie B ou insuffisance hépatocellulaire) ainsi que le traitement (facteur IX substitutif ou traitement par AVK). Les résultats de TP, de TCA obtenus dans chaque

centre seront également fournis. Il est rappelé qu'un ARC de chez STAGO viendra vérifier les datas sur site.

2 centres « testeurs » sont validés par STAGO : les CHU de Marseille et de Rennes. Chacun de ces deux centres recevra la moitié des échantillons. Les dosages seront effectués par méthode chromométrique (CK Prest et Céphascreen) et par méthode chromogénique (réactifs commercialisés par STAGO et HYPHEN).

Le protocole est actuellement en cours de relecture par STAGO, une 1^{ère} lecture ayant été faite par Dominique Lasne et Claire Pouplard. Nous attendons donc la version finale qui devrait nous être donnée par STAGO dans les semaines qui viennent.

B. Etude multicentrique d'évaluation des pharmacocinétiques sous rFVIII-Fc (Elocta[®])

L'objectif de l'étude menée au sein du club des biologistes et totalement indépendante de la société Sobi, était d'étudier dans la vie réelle les résultats de pharmacocinétique (PK) obtenus avec l'Elocta[®] et de comparer ces résultats à ceux obtenus avec des facteur VIII conventionnels.

Les résultats présentés portaient sur 100 patients hémophiles A sévères inclus dans 12 centres. Pour chaque patient, une étude de PK sous ELOCTA[®] avait été réalisée et pour 48 d'entre eux une PK sous facteur VIII conventionnel. L'âge moyen des patients inclus était de 30 ans avec 13 patients de moins de 10 ans. La posologie moyenne de l'ELOCTA[®] était de 40 UI/kg et le taux de VWF :Ag était connu chez plus de 2/3 des patients. Les dosages du facteur VIII ont été réalisés par méthode coagulante (OSA) et par méthode chromogénique (CSA).

Comme attendu, nous observons des taux de rFVIII-Fc plus faibles en méthode OSA comparés aux taux mesurés en CSA avec une différence de l'ordre de 20%. Sur l'ensemble de la population, le taux de récupération est de 2,41 % par U/kg perfusée, lorsque les taux de rFVIII-Fc sont mesurés en OSA. Cette récupération est plus élevée (2,83 %/UI/kg perfusé) lorsque les dosages sont réalisés par méthode CSA. Nous observons un taux de récupération significativement plus faible chez les patients de moins de 10 ans et aucune corrélation du taux de récupération n'est observée avec le poids, la posologie administrée ou le taux de VWF :Ag.

Concernant la demi-vie d'élimination ($T_{1/2}$) de l'Elocta[®], celle-ci est de 15 h sans différence significative qu'elle soit calculée avec des taux de facteur VIII mesurés en OSA ou en CSA. Nous observons comme attendu une très forte corrélation entre la demi-vie d'élimination et le taux de VWF :Ag. Dans notre population, nous avons un taux moyen de VWF :Ag de 98 % (extrêmes : 41 - 223 %). Cette demi-vie d'élimination

est significativement plus courte chez les patients de moins de 10 ans 11,6h (13 patients avec un âge moyen de 6,7 ans) vs 15h.

Dans une 2^{ème} partie de notre étude, nous avons étudié, chez une sous population de 48 patients, les paramètres de PK obtenus avec les facteurs VIII conventionnels. Le taux de récupération moyen calculés à partir de dosage effectués en OSA est de 2,3 % par U/kg de facteur VIII perfusé et n'est pas différents du taux de récupération obtenus avec l'Elocta[®]. Comme attendu, la demi-vie d'élimination des facteurs VIII conventionnels est significativement plus courte (10 heures).

Les T_{1/2} vie Elocta[®] et T_{1/2} vie FVIII conventionnel sont fortement corrélés ($r^2 = 0,57$).

Le bénéfice apparent apporté par le FVIII-Fc est très variable d'un patient à l'autre avec un ratio T_{1/2} Elocta / T_{1/2} FVIII conventionnel variant de 0,6 à 2,4 (moyenne 1,4). L'augmentation de la demie avec l'Elocta[®] est inférieure à 1,2 uniquement chez des patients ayant reçu un FVIII conventionnel recombinant BHK Helixate[®]/Kogenate[®]/Kowaltry[®] (n=10).

Quelque soit le FVIII injecté (rFVIII-Fc ou FVIII conventionnel), la demie vie est fortement corrélée au taux de VWF :Ag, qui est significativement plus bas chez patients ayant un ratio T_{1/2} rFVIII Fc / T_{1/2} FVIII ratio > 1,3 (moyenne VWF :Ag 79% vs 116% chez les autres patients, p=0.017).

En conclusion, cette étude est la première à rapporter des résultats de PK sous Elocta sur une aussi large population d'hémophiles A sévères. Nos résultats confirment le bénéfice du rFVIII-Fc chez la plus part des patients, adultes ou enfants mais souligne l'impact du VWF sur la demie vie du rFVIII-Fc et des FVIII conventionnels.

C. Des propositions concernant le dosage des FVIII et FIX, chez les patients hémophiles substitués sont en cours de rédaction.