

Compte rendu de la 22^{ème} journée du Groupe d'Etude de la biologie des maladies hémorragiques (BIMHO)

Cette réunion s'est tenue le 25 Novembre 2022 et a rassemblé 39 biologistes.

1. Retour de congrès ISTH (Claire Flaujac)

2. Etude DOAC-remove® (Pierre Toulon)

Les AOD interfèrent avec les tests d'hémostase et une fenêtre thérapeutique est nécessaire pour réaliser un bilan d'hémostase fiable. Le but de l'étude est d'évaluer la possibilité de neutraliser l'AOD avec un charbon activé, DOAC™ Remove (5 Diagnostics) ce qui permettrait de supprimer leur interférence avec les tests d'hémostase et d'éviter l'interruption du traitement anticoagulant. L'étude a porté sur 134 patients sous Apixaban, 131 sous Rivaroxaban et 152 sous Dabigatran et sur un groupe contrôle sans AOD (n = 315 dont 23 héparines et 30 AVK). Les résultats ont été comparés avant/après par des tests non-paramétriques.

En conclusion du traitement du plasma par DOAC™ Remove :

- Pas d'impact significatif sur le résultat des tests d'hémostase chez les patients non traités par AOD
- Elimination de l'interférence des 3 AOD testés chez les patients traités par AOD
- Mesure fiable des différents tests d'hémostase de routine ou spécialisés avec un surcoût modeste
- Pas de nécessité d'instaurer une fenêtre thérapeutique chez les patients sous AOD pour réaliser un bilan d'hémostase

Le poster est accessible sur demande auprès de Pierre Toulon.

3. ACT et Ac monoclonal mimant le FVIII (Dominique Lasne et Ladislav Capdevila)

Le travail, réalisé par Ladislav Capdevila en 2021 à l'hôpital Necker, fait suite à la prise en charge d'un patient devant subir un remplacement valvulaire aortique sous CEC en Août 2020. A l'époque, il n'existait pas de données dans la littérature sur l'interférence de l'emicizumab sur l'Activated Clotting Time (ACT) mais compte tenu de l'utilisation d'activateurs proches de ceux utilisés pour le TCA, une interférence était probable.

Nous avons mesuré les ACT-HR et LR (Hemochron Signature Elite) en sang total citraté après recalcification dans 3 groupes de patients :

- 1/ des donneurs sains dont le sang a été surchargé avec différentes concentrations d'héparine non fractionnée (HNF) et d'emicizumab
- 2/ des patients hémophiles A sévères traités par emicizumab, dont le sang a été surchargé avec différentes concentrations d'HNF
- 3/ des patients opérés en chirurgie cardiaque sous CEC dont le sang a été surchargé avec de l'emicizumab.

Les résultats publiés dans *Haemophilia* (Capdevila et al, *Emicizumab does not interfere with the activated clotting time. Haemophilia. 2022;1–5. DOI: 10.1111/hae.14497*) montrent que l'ACT-HR ou LR (Hémochron Signature Elite) peuvent être utilisés pour la surveillance de l'héparine chez des patients hémophiles

A traités par emicizumab sans risque de sous-estimation de l'anticoagulation ni de surdosage en héparine.

A l'inverse, une publication récente montre un raccourcissement de l'ACTII (Medtronic) induit par l'emicizumab (*Tanaka KA et al, In vitro effects of emicizumab on activated clotting time in blood samples from cardiac surgical patients. Haemophilia, 2022;28:183–190. DOI: 10.1111/hae.14452*).

4. Bibliographie (Marie Tuffigo et Sophie Voisin)

A lire :

1. Heijdra JM, Atiq F, Al Arashi W, et al. Desmopressin testing in von Willebrand disease: Lowering the burden. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6:e12784
2. C Balduini « treatment of inherited thrombocytopenias » *Haematologica* 2022;107:1278-1292.
3. Alessandro Pecci C Balduini : "inherited thrombocytopenias : an updated guide for clinicians » *Blood Reviews* 2021;48:100784

5. A propos d'un cas de Willebrand acquis de type 2B (Hubert Galinat et Emmanuelle Jeanpierre)

Mr M, 64 ans, est suivi au CH de Morlaix pour un « PTI chronique » résistant aux traitements habituels (corticothérapie et IgIV). Il présente une tendance aux ecchymoses faciles mais provoquées depuis 2007. Il est de groupe O, n'a pas de consommation éthylique ni tabagique et n'a jamais été transfusé. Aucun antécédent hémorragique n'est retrouvé dans sa famille. En 2010, le diagnostic de PTI est porté devant une thrombopénie avec une réponse partielle aux IgIV. En 2018, un myélogramme évoque un SMD débutant.

En 2020, devant un taux de PSA élevé, une biopsie prostatique est préconisée mais devant une thrombopénie à 50 G/L peu corrigée aussi bien après corticothérapie qu'après administration d'IgIV, le patient est transféré sur le CHU de Brest en 2020 pour la prise en charge de cette biopsie et la réévaluation de la thrombopénie. Devant cette thrombopénie, une exploration du facteur Willebrand est réalisée et une activité Willebrand (GplbM) est retrouvée abaissée à 31% et discordante avec le VWF :Ag dosé à 111% . Le facteur VIII est normal à 152%. Ces résultats orientant vers une maladie de Willebrand de type 2B (VWD 2B), un test RIPA réalisé met en évidence une agrégation paradoxale aux faibles doses de ristocétine (<0.5 mg/ml). Des épreuves croisées (PPP patient + PRP témoin) montrent une agrégation paradoxale à la faible dose de ristocétine en faveur d'une VWD 2B. Les analyses complémentaires réalisées par le CRMW montrent une réduction significative du pourcentage des formes de haut poids moléculaire mais une absence d'hyperfixation du vWF à la Gplb α recombinante aux faibles concentrations de ristocétine. L'étude du gène VWF et du gène GPIBA ne retrouve aucun variant de séquence délétère, éliminant le diagnostic de VWD2B et de pseudo Willebrand. Parallèlement, l'électrophorèse des protéines objective une immunoglobuline monoclonale de type IgG lambda dosée à 6g/L. L'association d'un phénotype évocateur d'une VWD2B, l'absence de mutation en faveur de VWD2B ou du pseudo-Willebrand et la présence d'une immunoglobuline monoclonale nous font alors évoquer un **diagnostic de Willebrand 2B acquis**.

Le test thérapeutique aux IgIV ne corrige pas la thrombopénie et ne permet pas d'envisager la chirurgie. L'étude de la pharmacocinétique du Veyvondi® réalisée

(T0h à T5h) montre une récupération correcte mais avec une demi-vie diminuée du Veyvondi®. Les taux d'activité Willebrand obtenus permettent néanmoins d'envisager l'utilisation du Veyvondi® au cours des chirurgies chez ce patient, à condition de rapprocher les injections.

Enfin, afin d'établir le lien entre le caractère acquis du Willebrand 2B et l'IgG monoclonale des épreuves croisées avec le PPP patient chauffé et un PRP témoin ont été réalisées: l'agrégation positive à la faible dose de ristocétine prouve qu'un composé thermostable du patient transforme le Willebrand d'un témoin en le rendant hyperaffin à la Gplb plaquettaire. Lorsque ce même plasma chauffé est débarrassé des IgG (à l'aide de billes magnétiques anti IgG), l'agrégation à la faible dose de ristocétine se négative. Ces résultats sont en faveur d'une modification de la conformation du VWF rendu hyperaffin à la Gplb plaquettaire par l'IgG monoclonale. Par ailleurs, la recherche d'un anti-facteur Willebrand (IgG) par méthode ELISA donne un résultat faiblement positif.

Au total, nous retenons un diagnostic de Willebrand 2B acquis en lien avec une immunoglobuline monoclonale (IgG lambda). De façon intéressante, l'étude de la bibliographie révèle deux cas de Willebrand 2B acquis (l'un en Allemagne en 2011, l'autre aux US en 2014), tous deux chez des patients présentant une gammopathie monoclonale de signification indéterminée. Le mécanisme invoqué est un changement de conformation du facteur Willebrand après fixation de l'immunoglobuline monoclonale, entraînant une affinité augmentée du VWF à la Gplb plaquettaire.

6. Actualités sur le BIVV001 (rFVIII-Fc-VWF-XTEN) : C. Flaujac, E. Jeanpierre, C. Nougier et C. Ternisien

1) Généralités :

Le FVIII circule dans le plasma sous forme d'un complexe non covalent. La liaison du FVIII au VWF repose sur un site de liaison localisé au niveau des domaines D'et D3 du VWF mature (résidus S764 et R1035). Ce complexe FVIII/VWF circule avec une stoechiométrie à saturation d'environ 1 : 50. Ce large excès molaire de VWF implique que 95 à 98% du FVIII circule sous forme complexée au VWF et qu'à l'inverse la majorité du VWF circulant est libre de FVIII mais conserve le potentiel de fixer d'autres molécules de FVIII notamment en cas d'administration endogène. La demi-vie du FVIII endogène est dépendante du VWF variant de 2 h en l'absence de VWF à 10-14h en présence de concentrations normales de VWF. Cela implique que la demi-vie d'un concentré de FVIII capable de se lier au VWF endogène ne peut excéder celle du VWF d'environ 9 à 15h. Le BIVV001 ou rFVIII-VWF-XTEN est un concentré de FVIII recombinant dont la caractéristique est de ne pas se lier au VWF endogène. Cette propriété se traduit par un découplage de la clairance du BIVV001 de celle du VWF endogène comme l'atteste la $\frac{1}{2}$ vie de 40 h soit 4 fois supérieur à un FVIII standard.

Le BIVV001 est un facteur VIII modifié par 3 technologies (FVIII-Fc/ D'D3 VWF/XTEN linkers) procurant un allongement significatif de $\frac{1}{2}$ vie (plus de 40 heures). Il repose sur une technologie innovante de fusion d'un concentré de FVIII recombinant à chaîne unique délété du domaine B à l'exception d'une séquence linker de 5 aa (SFSQN) lié de façon covalente à un fragment recombinant D'D3 de VWF par l'intermédiaire d'un fragment recombinant dimérisé d'immunoglobuline IgG1 ainsi qu'à 2 polypeptides hydrosolubles linkers XTEN. Le BIVV001 est produit grâce

à la coexpression de ses chaînes polypeptidiques dans une lignée cellulaire humaine (cellules HEK293 Human embryonic kidney). La liaison covalente au fragment recombinant D'D3 du VWF permet de découpler la clairance du BIVV001 de celle du VWF endogène. Le fragment dimérique Fc présent au sein du complexe permet d'allonger la $\frac{1}{2}$ vie du BIVV001 en prévenant le catabolisme du complexe rFVIII – VWF- XTEN dans le compartiment lysosomal et en permettant son recyclage dans le compartiment plasmatique par l'intermédiaire du récepteur FcRn exprimé par les cellules endothéliales. L'emploi de la technologie XTEN reposant sur l'addition de polypeptides hydrophiles et biodégradables permet également d'allonger la $\frac{1}{2}$ vie plasmatique du BIVV001 indépendamment de son recyclage dans le compartiment plasmatique par l'intermédiaire du récepteur FcRn. Un premier polypeptide XTEN de 288 aa a été introduit à cet effet entre domaine A2 et A3 en remplacement du domaine B du FVIII. Un second polypeptide XTEN de 144 aa a également été inséré entre le fragment recombinant D'D3 de VWF et le fragment Fc. Il faut ajouter à cette structure de base quelques modifications additionnelles : incorporation de 2 mutations C1099A :C1142A) dans le fragment D'D3 du VWF afin de prévenir sa dimérisation et l'introduction d'un site additionnel de clivage par la thrombine (région acide 2) entre la portion D'D3-XTEN et le fragment dimérique Fc.

Le BIVV001 comporte 4 sites de clivage par la thrombine dont 1 site de clivage additionnel (région acide a2) introduit dans la portion D'D3-XTEN et le fragment dimérique Fc. L'activation du BIVV001 par la thrombine résulte alors en une molécule identique au FVIII activé physiologique.

2) Congrès ISTH Londres 2022 :

Présentation des données de phase 3 de l'efanesoctocog alfa ou BIVV001 (XTEND-1 Study)

Bras A : 132 hommes, 1 femme : 52 semaines 1 injection/semaine à 50 UI/kg

Bras B : 26 hommes : 26 semaines à la demande 50 UI/kg puis 1x/semaine 50 UI/kg

Pour mieux comprendre les données présentées, un rappel sur les données précédentes a été fait :

- **Etude multicentrique de phase 1/2a**, ouverte, à doses croissantes (16 patients, 2 bras 25UI/kg ou 65 UI/kg par rapport au FVIII comparateur) : tableaux de PK présentés avec les dosages chromométriques un temps (dosage réalisés avec de Actin® FSL et un calibrant dédié efanesoctocog alfa) + tableaux de PK présentés avec les dosages chromogénique (FVIII Biophen® et un calibrant dédié efanesoctocog alfa). Les T1/2 sont de l'ordre de 37.6 à 42.5h en chromométrie, et 39.8 à 45.8h en chromogénie selon les 2 groupes de patients. Cmax légèrement plus favorable en PK chromométrie → choix du fournisseur pour les suivis ultérieurs.

-**Etude de phase 1 à doses répétées** a évalué l'innocuité, la tolérance et la pharmacocinétique d'une dose répétée d'efanesoctocog alfa chez 24 patients adultes atteints d'hémophilie A sévère et précédemment traités. PK à J1 environ 46% de FVIII, à J7 environ 10% (groupe 50 UI/kg) ; PK à J1 environ 69% de FVIII, à J7 environ 12% (groupe 65 UI/kg) ; tableaux de PK présentés avec les dosages chromométriques un temps (dosage réalisés avec de Actin® FSL et un calibrant dédié efanesoctocog alfa) + tableaux de PK présentés avec les dosages

chromogénique (FVIII Biophen® et un calibrant dédié efanesoctocog alfa). Les T1/2 sont de l'ordre de 41 à 37h en chronométrie selon les 2 groupes.

Concernant les résultats de l'étude phase 3 :

Les ABR sont respectivement à 0.71 (1.43) et à 0.00 (0.00–1.04) selon les bras A et B. 96.7% des saignements se sont amendés après 1 injection d'efanesoctocog alfa et la réponse a été considérée comme excellente/bonne dans 94.9%. Aucun inhibiteur n'a été détecté pendant cette étude.

Sur le plan biologique, les injections d'efanesoctocog alfa ne modifient pas le taux de VWF et ne sont pas influencés par le taux de VWF

Les taux de FVIII étaient >40% jusqu'à au moins J4 post injection et >15% à J7. D'après les graphiques présentés, on observe des taux à J1 entre 101 et 126%, à J3 entre 59% et 68% et à J7 entre 12.8 et 15.2%. Les dosages ont été faits par mesure chronométrique (ACTIN® FSL très probablement !). La T1/2 est de l'ordre de 47h (conforme aux données de phase1/2). Le profil est similaire entre semaine 1 et semaine 26.

3) Les expériences lilloises et lyonnaises ont été rapportées

7. Etude multicentrique FVIII porcin recombinant : Véronique Le Cam-Duchez

Résultats de la première phase d'Obizur®

L'objectif de cette première phase était d'une part de valider la méthode de dosage du rFVIII porcin et la dilution au 1/11^{ème} donnée par la notice pour la reconstitution du substrat ; et d'autre part de vérifier la stabilité du rFVIII porcin dilué dans du déficient en FVIII Siemens ou dans du tampon Imidazole après 2 heures d'incubation à 37°C.

Déroulement de la première étape :

- Faire une courbe de calibration du FVIII avec **votre** déficient en FVIII habituel et 1 ou 2 céphalines. Chaque courbe de calibration doit être réalisée avec le **calibrant NIBSC**
- Les flacons d'OBIZUR® sont titrés à 11 U. Les reconstituer avec 1ml d'eau distillée. Effectuer une dilution au 1/11 dans un plasma déficient en facteur VIII contenant du facteur Willebrand et tamponné (Utiliser **votre** propre plasma déficient si il répond à ces deux exigences)
- **Doser la dilution au 1/11** du rpVIII afin de vérifier que le titre obtenu est à 1U/ml en utilisant la ou les calibrations précédemment réalisées.
- Chaque manip est à réaliser 3 fois sur 3 jours différents

Résultats de la première étape : Tous les centres n'ont pas réalisé les 3 dosages de la dilution au 1/11^{ème} ; en conséquence les moyennes ont été faites par centre puis par réactifs

- 6 centres ont dosé avec du CKPrest (14 valeurs) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 137,6 % -CV = 7%
- 2 centres ont dosé avec du SynthasIL (2 valeurs) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 137,5 % -CV = 3,6%
- 3 centres ont dosé avec du Triniclot (7 valeurs) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 140 % -CV = 7,4%

- 3 centres ont dosé avec du Actin FS (7 valeurs) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 116,6 % -CV = 5,1% (1 valeur très différente des autres à 81% (moyenne des 2 autres centres = 134,3%))
- 1 centre a dosé avec du Synthafax (1 valeur) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 79 %
- 1 centre a dosé avec du PTTa (1 valeur) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 122 %
- 1 centre a dosé avec du Pathromtin (3 valeurs) :
moyenne de la dilution au 1/11 = 144,7 % - CV = 4,9%
- Ainsi tous centres confondus la moyenne des moyennes par centre = 125,3 % avec un CV à 18,2 % et si on élimine les valeurs de 81 et 79 : la moyenne des moyennes par centre = 136 % avec un CV = 5,6 %.

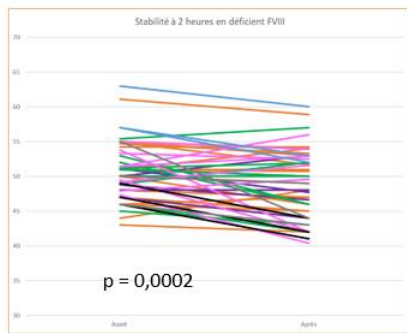
En conclusion, il est difficile de faire des préconisations pour adopter une dilution identique pour chaque centre ; même si une dilution au 1/15 serait probablement plus proche pour atteindre 1 UI.

Déroulement de la deuxième étape :

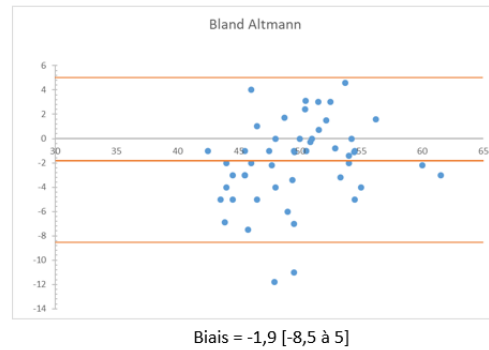
- Réaliser ensuite 2 mélanges différents volume à volume
- Mélange 1 : rpVIII à 1U/ml + déficient VIII contenant du Willebrand et tamponné (Déficient Siemens : fourni par Takeda)
- Mélange 2 : rpVIII à 1U/ml + tampon Imidazole 0.05M (Siemens fourni par Takeda)
- Doser le facteur VIII sur les 2 mélanges avec les courbes de calibration précédemment réalisées.
- Incuber les 2 mélanges pendant 2 heures à 37°C.
- Doser le facteur VIII sur les 2 mélanges avec les courbes de calibration précédemment réalisées.
- Chaque manip est à réaliser 3 fois sur 3 jours différents

Résultats de la deuxième étape : Comme le montre les figures ci-dessous, globalement les résultats de stabilité sont identiques en déficient en FVIII ou en tampon Imidazole

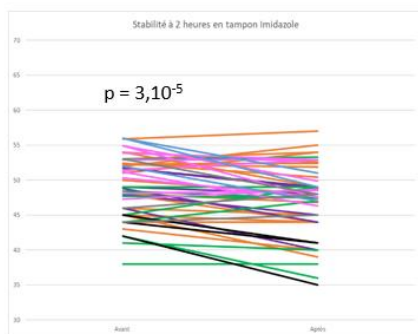
- Stabilité en Déficient FVIII



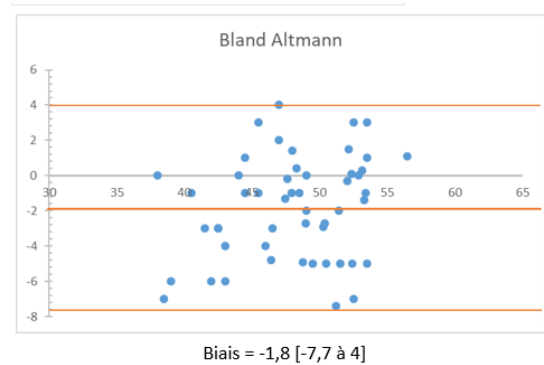
CK Prest
 Synthasil
 Triniclot
 Actin FS
 Syntafax
 Pathromtin
 PTTa



➤ Stabilité en tampon Imidazole



CK Prest
 Synthasil
 Triniclot
 Actin FS
 Syntafax
 Pathromtin
 PTTa



Néanmoins, les biais ne sont pas équivalents pour certaines céphalines :

BIAIS	Déficient FVIII	Tampon Imidazole
CK Prest	-0,8 [-5 à 3,2]	-1,2 [-6,1 à 3,7]
Synthasil	-1,1 [-5,8 à 3,6]	-3,4 [-6,9 à 0,1]
Triniclot	-1,6 [- 8,5 à 5,3]	-0,1 [- 5,7 à 5,5]
Actin FS	-2 [- 13 à 9]	- 2 [-8,3 à 4,4]

En conclusion, l'utilisation du tampon Imidazole semble possible avec très peu de valeurs (aléatoires ?) en dehors de la zone acceptable.

La seconde partie de cette étude sera le titrage des anti VIII porcin.

8 - Le point sur les projets en cours :

8.1 Retour d'expériences des chirurgies sous Emicizumab Quelle surveillance biologique réaliser en fonction du type de chirurgie ? (C Nougier et al, Lyon)

Ce projet est porté par le groupe COMETH et le groupe BIMHO.

Au vue des expériences reportées dans la littérature, il n'existe pas de consensus concernant la surveillance biologique des patients traités par emicizumab lors d'une chirurgie lourde ou légère. Les objectifs de l'étude CHIREMI est de décrire au niveau national :

- la surveillance biologique, si celle-ci a été mise en place, des patients traités par emicizumab et ayant bénéficié d'une chirurgie
- décrire la prise en charge thérapeutique des patients traités par emicizumab et ayant bénéficié d'une chirurgie

- décrire la survenue de manifestations hémorragiques/thrombotiques au décours des chirurgies

Le questionnaire qui sera adressé aux centres est déjà rédigé sur Survey Monkey et consultable à l'adresse : <https://fr.surveymonkey.com/r/NJLPQF9>

Un tableau de renseignements sera envoyé via la mailing liste pour recenser les centres souhaitant participés, le binôme biologiste (BIMHO)/médecin(COMETH) référent de l'étude dans le centre déclaré, l'adresse de la DRC du centre souhaitant participer.

8.2 Projet de groupe de travail sur la thématique : bilan biologique d'hémostase en cas de suspicion de maltraitance (Société Française de Pédiatrie, COMETH, société française de pédiatrie médico-légale, BIMHO/GFHT) :Sandrine Meunier (Lyon), Annie Harroche (Paris), Martine Balençon (Rennes), François Paysant (Grenoble), Fabienne Nedelec (Rennes), Mathilde Granjon (Brest), Christophe Nougier (Lyon)

Une enquête en ligne sur les bilans biologiques prescrits en cas de suspicion de traumatismes infligés de l'enfant a été réalisée de février à mai 2022 ; les pratiques recueillies concernaient 3 situations :

- Devant des lésions hémorragiques d'allure traumatiques (ecchymoses, hématomes, purpura...) chez un enfant non déambulant (<1 an), quels examens biologiques demandez-vous en première intention ? En seconde intention si le premier bilan est normal ?
- Devant un cas de saignement intracrânien de l'enfant non déambulant, quels examens biologiques demandez-vous: En première intention ? En seconde intention si le premier bilan est normal ?
- Devant des lésions hémorragiques d'allure traumatiques (ecchymoses, hématomes, purpura...) après l'âge de la marche, quels examens biologiques demandez-vous: En première intention ? En seconde intention si le premier bilan est normal ?

Le questionnaire en ligne est diffusé via la SFP, SFPML, la COMETH et le groupe BIMHO.

432 réponses ont été collectées avec une bonne répartition territoriale, y compris des DOM. 44% des réponses proviennent de professionnels de CHU, 19% de CHG et 27% hors CHU et hors CHG (Libéral, Établissement petite enfance, Etablissement médicaux-socio). Parmi ces professionnels 72% sont pédiatres, 13% sont biologistes, 7,6% médecins légistes, 1,4% pédiatres légistes, 4,4% médecins non pédiatres (urgentistes, généralistes, hématologues...) et 1,6% non classés.

Les pratiques des professionnels font généralement référence à l'expérience personnelle (35%), les recommandations de l'HAS 2014 et 2017 (26%), dans 18% à un consensus d'expert local, dans 10% des cas aux sociétés savantes et 3% des cas à la littérature.

Dans plus de 58% des cas aucune réponse n'est donnée à la question : sur quoi basez-vous votre pratique, vos prescriptions ?

Dans les différentes situations, le bilan de première intention varie en fonction des manifestations cliniques et de la situation mais la prescription d'un hémogramme et d'un bilan de coagulation semble être la règle (taux de réponses >60%). Le bilan de 2^{de} intention n'est pas la règle et varie en fonction de l'exhaustivité du bilan initial. Dans plus de 20% des cas aucun bilan secondaire n'est prescrit en cas de bilan de première intention normal. Les pratiques dépendent de la catégorie des professionnels interrogés : le bilan biologique de première intention est plus complet pour les biologistes interrogés (Bilan de coagulation, Hémogramme, associés à un dosage de willebrand activité/antigène dans 75% des cas vs 20% chez les autres professionnels, dosages des facteurs dans 70% des biologistes interrogés vs 30% des autres professionnels ...) orientant le bilan de 2nd intention plutôt vers les pathologies plaquettaires et déficit rare (FXIII). Enfin les pratiques diffèrent en fonction des établissements où exerce le professionnel : le bilan de première intention est plus important en CHU (disponibilité des techniques de dosages plus importante en CHU qu'en CHG ou hors structure hospitalière) alors que le bilan de 2nd intention semble plus important pour les établissements hors CHU.

L'analyse des réponses est encore en cours.

L'objectif de ce travail est de définir et d'harmoniser les bilans de 1^{ère} et 2^{de} intention en fonction de la prévalence des déficits et sensibilité des tests qui peuvent être utilisés et des besoins exprimés par les médecins légistes. Les résultats seront communiqués lors des différents congrès des sociétés savantes qui ont participé à cette enquête et la rédaction d'une publication sur le même modèle que le groupe anglais (Biss T, Sibson K, Baker P, Macartney C, Grayson C, Grainger J, Chalmers E, Dixon S; BSH Committee. *Haematological evaluation of bruising and bleeding in children undergoing child protection investigation for possible physical maltreatment: A British Society for Haematology Good Practice Paper. Br J Haematol. 2022 Oct;199(1):45-53. doi: 10.1111/bjh.18361. Epub 2022 Jul 26. PMID: 35881677*).

8.3 Dosage FIX et traitement par rFIX long acting : intérêt d'une calibration spécifique? Eve-Anne Guery, Claire Pouplard, François Grand, Florence Blanc-Jouvan, Christophe Nougier

Un travail préalable mené par les centres d'Annecy et Lyon (présenté au CFH 2022) montrait que l'utilisation de céphalines dites « acceptables » pour le dosage d'Idelvion® engendrait par rapport à une calibration spécifique des calculs de taux de récupération, des consommations et un coût médico-économique significativement différents en cas de chirurgies théoriques lourdes et légères.

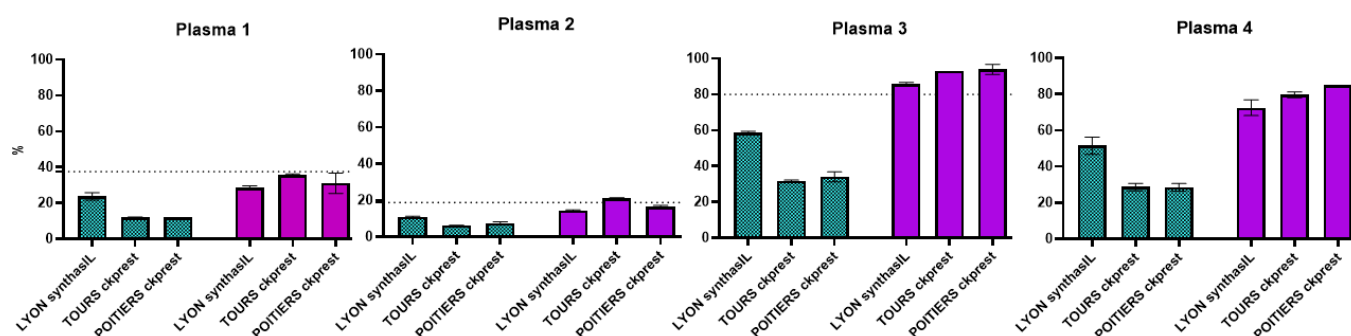
L'objectif de cette seconde étude préliminaire, menée à Tours, Poitiers et Lyon était de savoir si l'on pouvait utiliser des réactifs aPTT proscrits pour le dosage d'Idelvion® (CKPrest) lorsqu'on utilise un calibrant spécifique et de comparer les résultats obtenus avec et sans calibration spécifique par rapport à ceux obtenus avec un réactif dit « acceptable » dans la littérature (SynthasIL).

Un calibrant (titre théorique à 102%) réalisé par dilution d'Idelvion® dans du plasma déficient FIX (Cryopep) a été envoyé aux 3 centres ainsi que 4 plasmas à doser (P1, P2, P3, P4). Les plasmas de P1 à P3 sont des plasmas spikés *in vitro* en Idelvion alors que le plasma P4 est un plasma de patient traité par Idelvion® (ex-vivo). Les dosages ont été réalisés en 3 séries indépendantes en utilisant les réactifs utilisés habituellement dans chaque laboratoire (CKPrest à Tours et Poitiers, SynthasIL à Lyon) sur la gamme FIX classique ou sur la gamme calibrée en Idelvion®.

Les résultats ci-dessous ont été obtenus :

 sans calibration spécifique

 Calibration spécifique



	CV(%) INTER-LABORATOIRE			
	P1	P2	P3	P4
sans calibration spécifique	37	32	35	31
après calibration spécifique	11	17	6	8

CKPrest vs Synthasil avec dosages réalisés sur gamme classique FIX. Comme attendu les résultats obtenus en CKPrest sont inférieurs d'environ 50% par rapport à ceux obtenus avec le Synthasil. La variabilité moyenne entre laboratoire est alors comprise entre 32 et 37%. Lorsque les dosages sont réalisés en utilisant une gamme Idelvion il n'existe plus de différence significative entre les 2 réactifs utilisés ; la variabilité inter-laboratoire étant estimée entre 6 et 17%.

Il semblerait donc qu'en utilisant un calibrant spécifique Idelvion, les réactifs « proscrits » dans la littérature pour la surveillance biologique d'un patient traité par Idelvion pourraient être utilisés. Ces résultats préliminaires doivent être complétés par une étude à plus grande échelle avec une diversité de réactifs plus importants et un calibrant Idelvion titré avec la céphaline utilisée pour le titrage (Pathromtin SL) pour vérifier également l'exactitude.

L'obtention d'un calibrant spécifique pour chacune des molécules à doser aurait plusieurs avantages :

- Grand intérêt d'utiliser son réactif de routine, éviter de « jongler » entre plusieurs réactifs, lot de réactifs, calibration différente avec des réactifs différents (ceux acceptables pour Idelvion mais pas Alprolix et inversement...il n'existe pas pour l'instant un réactif universel)
- Les dosages de médicaments sont de plus en plus éloignés du FIX physiologique, utilisé un dosage de FIX classique calibré avec un calibrant FIX humain physiologique introduit un biais systématique. Si on calque la démarche sur la surveillance biologique des anticoagulants, personne aujourd'hui ne doserait une activité antiXa Orgaran sur une gamme HNF.
- Le passé (Refacto AF) et l'avenir (BIVV01) montrent que de disposer de calibrant spécifique peut/pourra être la solution

- La mise à disposition de calibrant et contrôle par les industriels peut se faire rapidement (ex : obtention d'un calibrant et CIQ emicizumab en moins d'un an post commercialisation)

Une réflexion sur le sujet a fait l'objet de réunion entre l'ISTH, les industriels du diagnostic et pharmaceutique sous l'égide de l'OMS (Ovanesov MV, Williams SC, Nübling CM, Dodt J, Hilger A, Maryuningsih Y, Gray E. Summary of the WHO hearing on the development of product-specific reference materials for coagulation factor VIII and factor IX products. *Biologicals*. 2020 Sep;67:88-93).

8.4 Autre projet d'étude :

Evaluer les performances des différentes trousse de dosage des FVIII chromogénique dans nos centres et notamment sur les taux bas puisque les taux > ou < à 5% conditionneront le type de suivi des patients traités par thérapie génique (Biomarin) ; un projet d'étude va être rédigé et proposé au groupe.

9. Questions diverses

9.1 Renouvellement du board (Tous).

Deux membres du board (Frédéric Sobas et Sophie Voisin) ont souhaité leur départ. Un appel à candidature a été lancé. Un grand merci à Sophie et Frédéric pour leur contribution pendant toutes ces années et bienvenue à Eve - Anne Guery et Christophe Nougier !

9.2 Les comptes BIMHO (D. Lasne)

Pour rappel, l'argent du groupe BIMHO issu de protocoles et de dons pour l'organisation de réunions scientifiques est déposé sur le compte du GFHT à la BRED. Il reste à venir, le solde du protocole Obizur. Compte tenu du temps passé par la secrétaire du GFHT (Fatiha Gautier), il est décidé en réunion de la rémunérer et 100 € seront prélevés sur le solde du protocole OBIZUR.