

## Compte rendu de la 13<sup>ème</sup> journée du Club des biologistes en hémostase

Cette réunion s'est tenue le 16 juin 2017 et a rassemblé 34 biologistes.

### 1. Fond de tubes : le point sur la législation. Claire Pouplard (Tours), Marie-Françoise Hurtaud (Paris-Robert Debré)

Le pdf de la présentation est accessible sur demande ([catherine.ternisien@chu-nantes.fr](mailto:catherine.ternisien@chu-nantes.fr)).

A lire sur le même thème « La loi Jardé, un nouvel encadrement législatif pour une simplification de la recherche clinique? C. Levya et al. *Archives de Pédiatrie* 2017;24:571-577 (Disponible en ligne sur [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com))

### 2. Comparaison de deux techniques de dosage du VWF :CBA : ELISA vs technique automatisée. Emilie Jusselme, Christophe Nougier (Lyon)

La maladie de Willebrand est une anomalie constitutionnelle de l'hémostase définie comme étant une anomalie quantitative partielle (type 1), totale (type 3) ou qualitative (type 2). Le diagnostic fait appel à différentes techniques de dosages :

- mesure de l'activité cofacteur de la ristocétine (VWF :RCo) qui mesure la capacité de liaison du facteur Willebrand à la glycoprotéine GPIb plaquettaire induite par la ristocétine. Cette activité est diminuée dans tous les types de maladie de Willebrand, sauf le type 2N.
- mesure du Willebrand antigène (VWF :Ag) qui permet de faire le diagnostic différentiel entre les déficits quantitatifs (dans lesquels il est diminué) et les déficits qualitatifs dans lesquels il est normal et dans lesquels le rapport VWF:RCo / VWF : Ag est inférieur à 0,7
- Le test de liaison au collagène (VWF :CB): ce dosage correspond à la capacité de liaison du facteur willebrand au collagène. Il permet le diagnostic différentiel dans les maladies de Willebrand de type 2 et de mettre en évidence des anomalies de multimérisation du facteur Willebrand. Le résultat est classiquement diminué dans les type 2A et 2B et normal dans les types 2M et 2N.

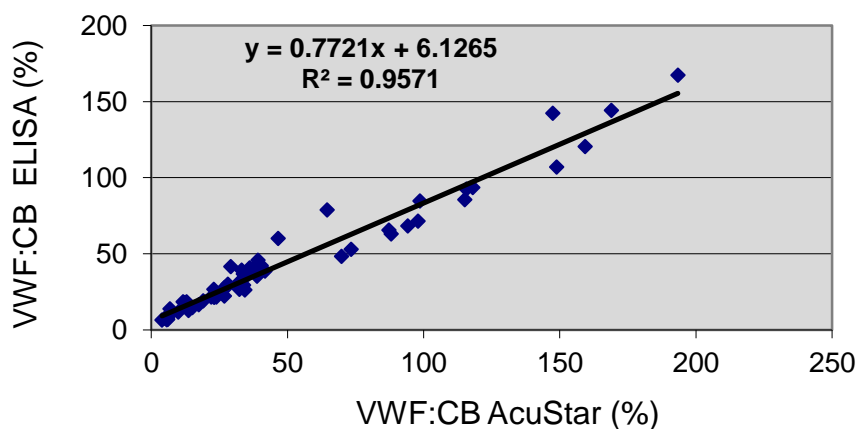
Objectif de l'étude : notre étude se propose de comparer les performances analytiques de deux techniques de mesure de la liaison au collagène :

- technique classique ELISA (Asserachrom VWF:CB)
- technique automatisée de chimiluminescence utilisant des particules magnétiques coatées avec un antigène (collagène) qui se fixent au VWF où se fixent dans un deuxième temps des anticorps monoclonaux marqués à l'isoluminol. L'activation se fait ensuite par l'utilisation de triggers (révélateurs), la détection de la réaction se fait par le biais d'un système optique et se mesure en unité de lumière relative (Hemosil Accustar, Von Willebrand factor Collagen Binding Activity).

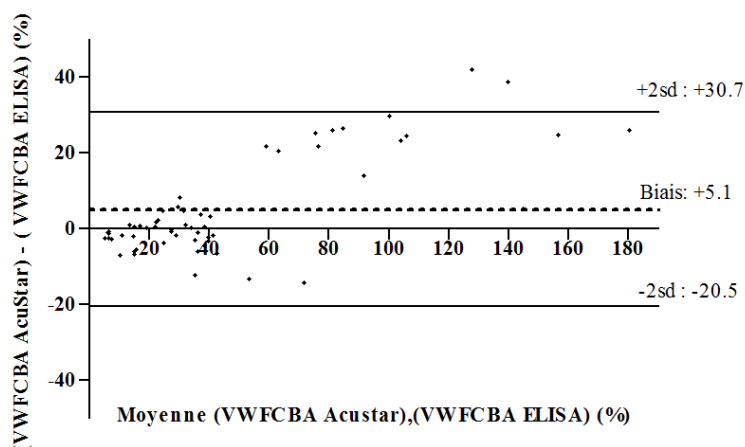
Matériel et Méthode : la mesure de la liaison au collagène a été réalisée par les 2 techniques sur 64 plasmas citratés. Ces plasmas proviennent de 49 patients génotypés et phénotypés pour la maladie de Willebrand (21 type 1, 10 type 2A, 11 type 2B, 7 type 2M) et de 15 sujets sains.

Résultats : Les performances analytiques de chacune des deux techniques ont été analysées :

- **Répétabilité** : Les coefficients de variation (CV) sont de 6.3% sur le contrôle normal et 3.8% sur le contrôle anormal pour la technique automatisée alors qu'ils étaient respectivement de 12.5% et 8.4% pour la technique ELISA.
- **Reproductibilité** : Les CV sont de 9.6% sur le contrôle normal et 7.0% sur le contrôle anormal pour la technique automatisée alors qu'ils étaient respectivement de 6.8% et 9.1% pour la technique ELISA.
- **La corrélation** des résultats entre les deux techniques (Figure 1) : le coefficient de corrélation sur l'ensemble des résultats est de 0.96 traduisant une très bonne corrélation entre les deux techniques. Le diagramme des différences de Bland-Altman (Figure 2) montre que les valeurs obtenues avec la technique automatisée sont légèrement supérieures (Biais + 5.1 U/dL).
- **La concordance** des résultats : nous trouvons des résultats concordants pour tous les résultats VWD type 1, type 2A, type 2B. Parmi les type 2M (n=7), 4 résultats discordants ont été détectés (résultats normaux en ELISA et anormaux en technique automatisée). Ces 4 patients présentent un phénotype 2M-2A like qui explique pourquoi le VWF :CB est diminué. La technique automatisée semble donc plus sensible pour discriminer les différents sous-types 2M.



**Figure 1 : corrélation des résultats de VWF :CB entre la technique ELISA et Chemiluminescence AcuStar**



**Figure 2 : diagramme de Bland et Altman**

### Discussion :

Notre étude montre des performances analytiques comparables entre 2 techniques de mesure de VWF :CB. La technique ELISA actuellement utilisée semble cependant moins sensible pour détecter certains variants de maladie de Willebrand type 2M. La nouvelle technique automatisée a pour avantage d'être répétable, reproductible et plus rapide. Elle permet également d'avoir rapidement avec un seul échantillon les résultats des mesures de l'activité cofacteur de la ristocétine, de l'antigène et du test de liaison au collagène du VWF, permettant ainsi un diagnostic et une classification rapide des maladies de Willebrand.

### **3. Bibliographie : Sophie Voisin (Toulouse)**

Turecek et al a world-wide survey and field study in clinical haemostasis laboratories to evaluate FVIII :C activity assay variability of ADYNOVATE and OBIZUR in comparison with ADVATE. *Haemophilia* 2016; 22, 946

Hillarp et al; measuring FVIII activity of glycopegylated recombinant factor VIII, N8-GP, with commercially available one-stage clotting and chromogenic assay kits: a two-centre study. *Haemophilia* 2017;23, 458

Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor Activity Assays for Monitoring Extended Half-Life FVIII and Factor IX Replacement Therapies. *Semin Thromb Hemost.* 2017; 43:331

Kitchen S, Jennings I, Makris M, Kitchen DP, Woods TA, Walker ID. Factor VIII assay variability in postinfusion samples containing full length and B-domain deleted FVIII. *Haemophilia.* 2016; 22:806-12.

Kitchen S, et al; Chromogenic assay for BAY 81-8973 potency assignment has no impact on clinical outcome or monitoring in patient samples. *J Thromb Haemost.* 2016; 14:1192-9.

Kitchen S, et al; BAY 81-8973, a full-length recombinant factor VIII: results from an International comparative laboratory field study. *Haemophilia.* 2016; 22:e192-9.

### **4. Cas clinique : Fabienne Pineau Vincent (Le Mans), Anne Ryman (Bordeaux)**

### **5. Les changements de lots de réactif : évaluation de l'impact et continuité de la gestion des résultats des CIQ. Frédéric Sobas et Emilie Jusselme (Lyon) ; Panagiotis Tsiamirtzis – Konstantinos Bourazas (Athènes)**

L'intérêt du tableur Bayésien (Predictive Control Chart ou PCC) dans la gestion des risques inhérents aux changements de lots de réactif a été présenté. En termes de calibration du tableur, il faut renseigner comme valeur cible a priori la valeur moyenne obtenue avec le précédent lot de réactif et non la valeur cible donnée par la notice du fournisseur. Par ailleurs il faut renseigner les 4 dernières valeurs de CIQ

obtenues avec le précédent lot de réactif pour que le tableur soit apte à détecter dès la 1<sup>ère</sup> valeur de CIQ obtenue avec le nouveau lot de réactif un saut significatif (Simulations mathématiques à l'appui).

Ce travail a été accepté en poster pour le prochain ISTH de Berlin présenté ci-dessous :



## Efficiency of Bayesian logic in reagent batch change management : application to aPTT



F. Sobas<sup>1</sup>, K. Bourazas<sup>2</sup>, E. Jousseme<sup>1</sup>, C. Nougier<sup>1</sup>, C. Négrier<sup>1</sup>, P. Tsiamyrtzis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospices Civils de Lyon, Service d'hématologie biologique, Groupement hospitalier Est, Bron, France  
<sup>2</sup>Athens University of Economics and Business, Department of Statistics, Athens, Greece



### Introduction :

A preliminary study (1) showed how the conventional preliminary phase for internal quality control (IQC) management can be avoided using Bayesian logic. The dynamic nature of Bayesian IQC results management enables this new tool not only to quantify but also absorb any big shifts occurring in longitudinal monitoring of IQC results during reagent batch change.

(1) Use of prior manufacturer specifications with Bayesian logic eludes preliminary phase issues in quality control: An example in a hemostasis lab", Blood Coagul Fibrinolysis 2015, 26: 590-596

The aim of this study was to illustrate detection of a big step change on the IQC control chart liable to impact patient results, and automatic updating of the control chart. The case study is discussed with respect to the EP26-A CLSI standard "User evaluation of between-reagent lot variation; approved guideline": there is no consensus in terms of definition of critical difference size for patients' results when changing reagent lots. In hemostasis, inter-assay CV is generally greater with lyophilized IQC samples than with patients' fresh plasma. To our knowledge, it has never previously been reported that lyophilized IQC samples fail to detect an impact on patient results following reagent batch change. The present concrete case demonstrates the interest of predictive control chart (PCC) (1) in managing reagent batch change. A management strategy is proposed for the potential risk to the patient incurred by this critical batch change phase.

### Materials and Method

An ACL TOP 750 analyzer, Hemosil Synthasil and Hemosil Normal Control assayed (aPTT prior target = 29 s) were used, all from Instrumentation Laboratory (IL), Bedford, MA, USA (own inter assay SD = 0.64)

The last IQC result with the initial Synthasil batch is reported at control point 4, and the first result with the new reagent batch at control point 5.

### Results

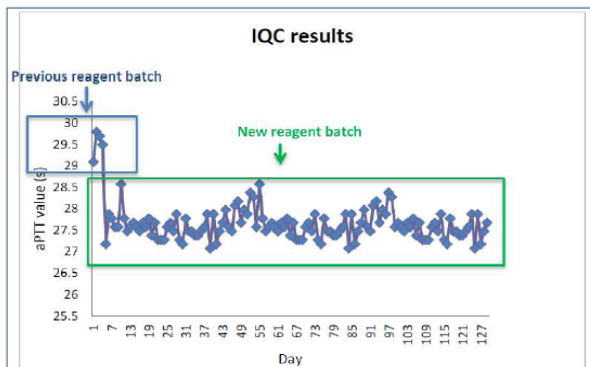


Figure 1 : Plot of raw IQC results with the two lots of reagent

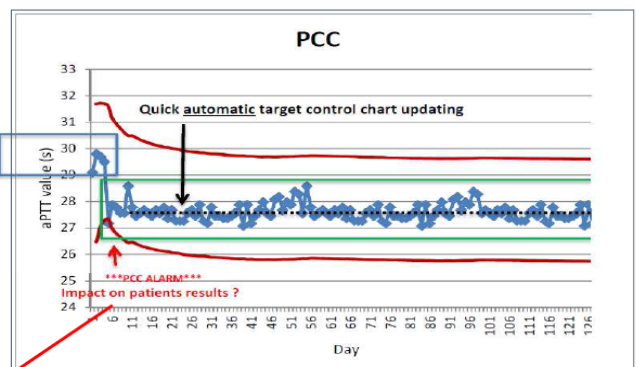


Figure 2 : PCC control chart with the two lots of reagent management (PCC upper and lower acceptable limits in red)

Vassault A ; et al. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation technique. Ann Biol Clin (Paris) 1999; 57(6) p. 685-95

$$\text{Discordance limits} = \pm \sqrt{[(3 \times S_1)^2 + (3 \times S_2)^2]^{0.5}}$$

$S_1$  and  $S_2$  = Inter assay SD with batch 1 and batch 2 of reagent

Considering  $S_1 = S_2$ , then discordance limits =  $\pm 1.424 S_1$  (99.7% confidence intervals)

Figure 3 : Codes for acceptable comparison limits definition

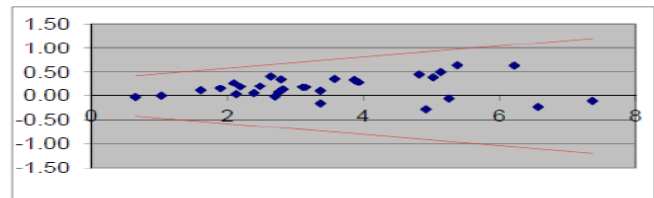


Figure 4 : Plot of differences between the two lots of reagent (acceptability limits in red ; bias in XX')

### Conclusion

Reagent batch change almost always leads to a step change in the IQC control chart. We also need to be able to detect impact on patient results, bearing in mind that lyophilized IQC matrices overexpress the analytic variability of the method. We thus need a tool that will immediately and continuously detect any brutal step change in the control chart. In case of significant shift, patient results with the old and the new batch should be compared. The PCC meets these requirements, efficiently detecting significant step changes and automatically updating the control chart target. PCC may thus play a central role in effective management of reagent batch change in hemostasis.

## 6. Synthèse des résultats de la Confrontation Inter Laboratoires pour le test VWF :FVIII. Claudine Caron (Lille)

**Pourquoi organiser cette CIL :** Examen inscrit sur la liste complémentaire des actes HN pour lequel aucune EEQ n'est proposée par les organismes habituels

**Déroulement :** 8 plasmas (A-H) préparés à Lille envoyés à 10 laboratoires, 4 (Bicêtre, Bordeaux, Lille, Toulouse) utilisant une méthode non commerciale, 6 (Besançon, Brest, Grenoble, Lyon, Rennes, Rouen) utilisant le kit commercial Asserachrom® VWF :FVIII Stago. Pour chacun des échantillons, les taux de FVIII et de VWF :Ag étaient donnés.

**Saisie des résultats :** dans un fichier Excel, comportant

- des résultats quantitatifs : % fixation, défini dans la méthode non commerciale, par le rapport des pentes de fixation du plasma testé par rapport à un plasma de référence, et dans la méthode Asserachrom par lecture directe sur une gamme de calibration
- des résultats qualitatifs :
  - o interprétation codée (normale, modérément diminuée, très diminuée ou nulle), selon le % fixation (respectivement >80%, 30 à 65%, <15-20%, critères définis par la méthode de référence)
  - o diagnostic en texte libre, intégrant le % fixation et les taux de FVIII, VWF :Ag et ratio FVIII/VWF :Ag

### Réponses attendues :

Echantillon	Données			Identification	Interprétation	Diagnostic
	FVIII (%)	VWF:Ag (%)	ratio FVIII /VWF:Ag			
A	89	95	0,94	Pool de plasmas normaux	Normale	VWD2N exclue, plasma normal?
B	53	118	0,45	Pool + plasma 2N R816W V/V	Modérément diminuée	VWD2N hétérozygote, ratio FVIII/VWF pas expliqué
C	8	115	0,07	2N R816W homozygote	Nulle	VWD 2N
D	79	84	0,94	R854Q hétérozygote	Modérément diminuée	VWD2N hétérozygote
E	96	60	1,60	Transmetteur type3	Normale	VWD2N exclue, plasma normal?
F	23	92	0,25	2N R854Q homozygote	Très diminuée	VWD2N
G	23	44	0,52	2N R854Q + autre mutation	Très diminuée	VWD2N
H	20	23	0,87	2N/3 R854Q/ c.7081+1G>T	Modérément diminuée	VWD2N hétérozygote, déficit en VWF

## Analyses des résultats :

Avec les conseils de Roland Meley et Richard Cohen (ProBioQual) pour le choix des tests statistiques

- % fixation :
- o Calcul des moyennes, ET et CV par méthode et toutes méthodes

Toutes techniques				
	moyenne	ET	CV	range
A	92,2	12,34	19,28	77-116
B	43,2	15,58	39,76	22-77
C	1,03	1,41		0-4
D	58,7	15,59	26,09	24-83
E	92,3	7,65	8,28	81-101
F	9,7	3,53	36,38	5-16
G	12,4	7,07	57,05	7-30
H	23,55	15,06	63,93	12-63

- o Utilisation d'un algorithme robuste pour calculer moyenne, ET, CV et z'-score (selon les préconisations de la norme ISO 13528 :2015, permettant de tenir compte de l'incertitude sur la valeur assignée pour les petits effectifs)
- Interprétation et diagnostic : analyse de concordance par rapport à la réponse attendue, selon code couleur (vert : conforme ; orange : non conforme sans impact pour le patient ; rouge : non conforme avec impact pour le patient)  
Par exemple,
  - o « orange » : interprétation « normale » (non cohérente avec le % fixation trouvé à 60%) au lieu de « modérément diminuée » pour un patient R854Q hétérozygote avec des taux normaux de FVIII et VWF :Ag et ratio de 0.94
  - o « rouge » : interprétation « modérément diminuée » et diagnostic « 2N hétérozygote », réponses cohérentes avec le % fixation de 30% trouvé, mais qui est surestimé (valeur assignée pour ce plasma 11%) ; il s'agissait d'un patient VWD2N double hétérozygote avec un ratio VIII/VWF :Ag de 0.52, donc l'impact pour le patient est d'orienter le diagnostic vers une hémophilie A mineure avec une prise en charge inadéquate

## En conclusion, plusieurs remarques :

On ne note pas de différence de performances diagnostiques entre les 2 techniques utilisées dans cette CIL (1 diagnostic erroné pour la méthode non commerciale et 2 pour l'Asserachrom).

Un échantillon « artificiel » (mélange v/v d'un pool de plasmas normaux et d'un plasma VWD2N) présente des % fixation très différents selon la méthode (en moyenne 34% en Asserachrom et 57% en méthode non commerciale).

L'interprétation du test reposant sur une fourchette de valeurs du % fixation, l'intérêt du calcul d'un z'-score est limité.

Il serait intéressant pour les laboratoires utilisant une méthode non commerciale d'utiliser un tableur commun pour le calcul des pentes de fixation

Dans le futur, l'organisation d'autres CIL pour cet examen pourra être allégée en nombre et type d'échantillons (par exemple, 2 échantillons représentatifs des diagnostics les plus fréquents)

## **7. Le point sur les protocoles et études multicentriques en cours**

### **7.1 Evaluation du FVIII chromogène Siemens. Emmanuel De Maistre (Dijon)**

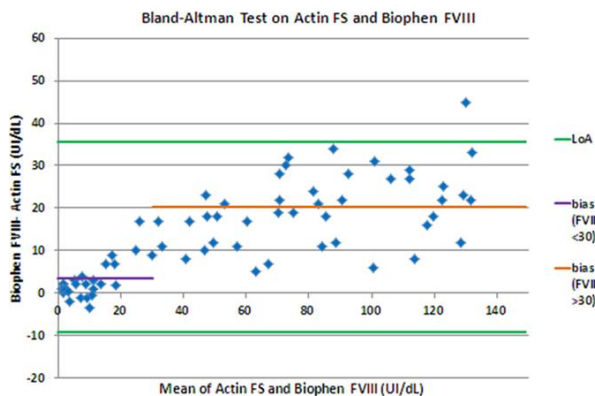
Le club des biologistes en hémostase avait été sollicité par la société Siemens pour évaluer la trousse Berichrom Factor VIII chromogenic (Siemens) par rapport à la trousse de référence Biophen Factor VIII (Hyphen Biomed) sur des automates Siemens / Sysmex. Quatre centres se sont proposés pour effectuer les dosages : Lille et Dijon (Sysmex CS 2100/2500), Rouen et Montpellier (Siemens BCS XP). Les témoins étaient sélectionnés dans chacun des 4 centres. Pour les patients, seuls les hémophiles A traités par concentrés en facteur VIII B-délétés/tronqués ont été inclus: ReFacto AF<sup>®</sup> (Pfizer), avec les différences bien connues entre les 2 techniques de mesure chronométrique et chromogénique, et deux autres produits nouvellement commercialisés : Nuwiq<sup>®</sup> (Octapharma) et NovoEight<sup>®</sup> (NovoNordisk). Les plasmas provenaient de 10 centres (Bordeaux, KB, Necker, Versailles, Le Mans, Marseille, Nantes, Reims, Rouen, Tours). Pour chacun des plasmas, 3 dosages de facteur VIII étaient effectués : 1 dosage par technique chronométrique (activateur Actin FS) et 2 dosages par technique chromogénique (Berichrom Factor VIII chromogenic et Biophen Factor VIII).

Au total, 142 aliquots ont été recueillis chez des patients hémophiles (53 sous Refacto<sup>®</sup>, 49 sous Nuwiq<sup>®</sup> et 40 sous NovoEight<sup>®</sup>). Les aliquots ont été redistribués en fonction du volume de plasma disponible : 81 patients pour le groupe Sysmex CS et 83 patients pour le groupe Siemens BCS. Pour chaque groupe d'automates, les calibrations et le passage des CQI ont été superposables entre les 2 sites, ce qui a permis de pooler les résultats.

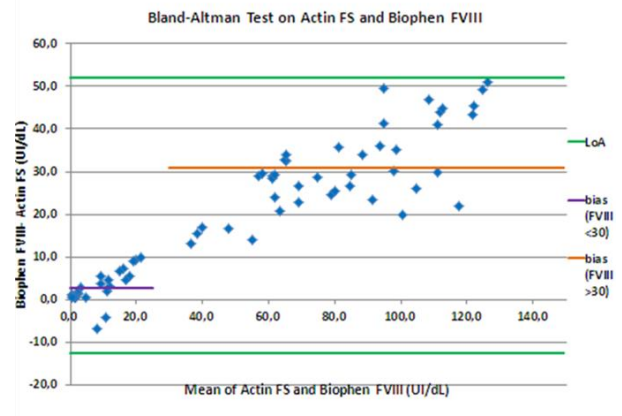
Chez les témoins, il n'a pas été observé de différence entre les 3 techniques de mesure.

Chez les patients hémophiles, la différence déjà connue avec ReFacto<sup>®</sup> entre le dosage chronométrique et le dosage chromogénique, est également observée avec les 2 autres produits (Nuwiq<sup>®</sup> et NovoEight<sup>®</sup>). Les taux de facteur VIII sont plus bas en technique chronométrique et la différence est plus marquée chez les patients hémophiles substitués, dont le taux de facteur VIII est supérieur à 30 UI/dL.

BCS

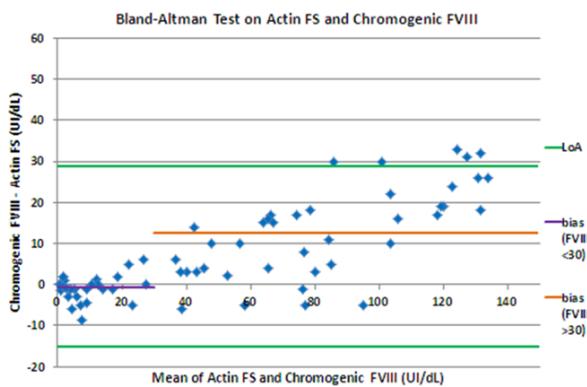


CS

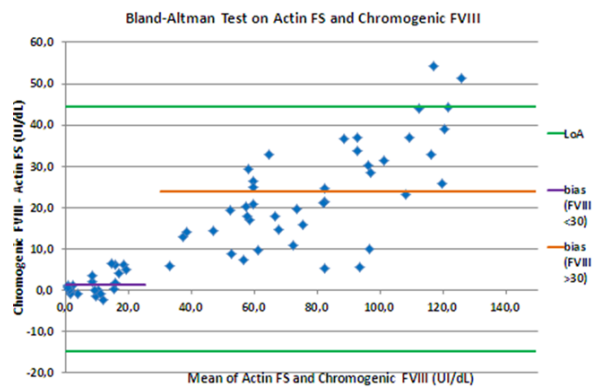


### VIII Biophen Hyphen Biomed et Actin FS (tous produits)

BCS



CS



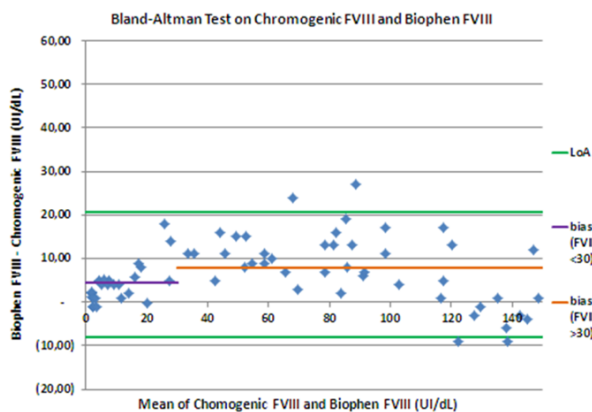
### VIII Chromogenic Siemens et Actin FS (tous produits)

A noter que la différence entre les 2 techniques de dosage (chromométrique et chromogénique) est moins importante avec les automates BCS XP (société Siemens sollicitée, mais pas d'explication).

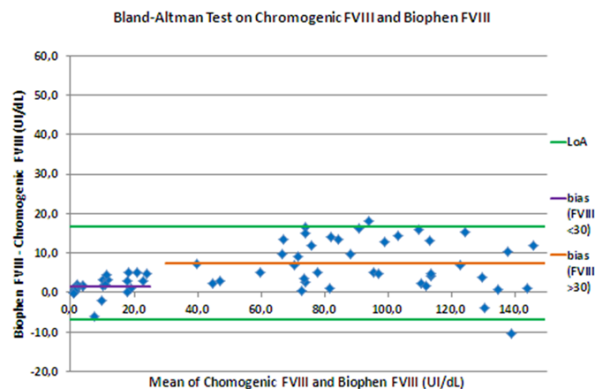
Il existe une différence entre les 2 trousse chromogéniques (valeurs plus élevées avec la trousse Biophen Factor VIII), mais la différence n'est pas significative (test Wilcoxon,  $p = 0.064$  pour les automates BCS XP et  $p = 0.748$  pour les automates Sysmex CS).



BCS



CS



**VIII Biophen Hyphen Biomed et VIII Chromogenic Siemens (tous produits)**

		Actin FS	Chromo Siemens	Chromo Hyphen
ReFacto AF (n=35)	Moyenne (ET)	64,4 (50,0)	70,6 (56,3)	79,8 (56,5)
	Ecart Tous >30IU/dL	4-153	1.9-160	6,9-184
NovoEight (n=23)	Moyenne (ET)	49.9 (47,7)	53.8 (56.1)	57,3 (52,8)
	Ecart Tous >30IU/dL	0.5-133	0,3-149	1.8-141
Nuwiq (n=25)	Moyenne (ET)	60,2 (42,2)	71,2 (52.0)	77,3 (50,7)
	Ecart Tous >30IU/dL	1.1-121	0,8-148	2,5-149

**Résultats sur automates BCS (Rouen, Montpellier) : N=83**

		Actin FS	Chromo Siemens	Chromo Hyphen
ReFacto AF (n=36)	Moyenne (ET)	62.3 (42.3)	82.9 (61.6)	88 (63.1)
	Ecart Tous >30IU/dL	0.6-137	1.5-194	1.3-192
NovoEight (n=21)	Moyenne (ET)	49.5 (38.8)	63.8 (53.1)	69.5 (53.9)
	Ecart Tous >30IU/dL	0.4-132	1.5-166	1.4-175
Nuwiq (n=24)	Moyenne (ET)	41.4 (37.8)	58.8 (52.7)	62.7 (55.1)
	Ecart Tous >30IU/dL	1.2-101	1.5-144	1.8-152

**Résultats sur automates CS (Lille, Dijon) : N=81**

En conclusion, cette étude confirme la discordance pour le dosage du facteur VIII entre les techniques de dosage chromométrique et chromogénique pour Refacto® et les 2 autres concentrés en facteur VIII B-déléte/tronqué récemment commercialisés, à savoir Nuwiq® et NovoEight®. Les différences observées entre les 2 trousse chromogéniques ne sont pas significatives.

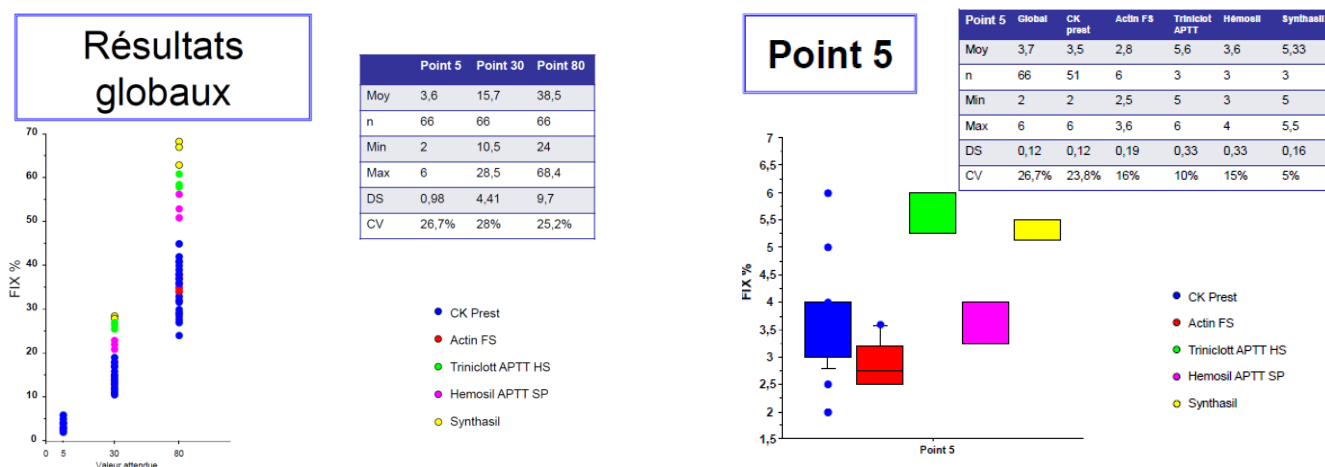
## 7.2 Dosage du FIX-FP de CSL Behring. C. Ternisien, C. Caron, H. Galinat, D. Lasne, C. Pouplard

Concernant le FIX-FP, la seule étude biologique dont nous disposons a fait l'objet d'un poster présenté à la WFH, en 2016, par K. St Ledger et al. Ce travail concluait que chez les patients substitués par le FIX-FP, les dosages par méthode chronométrique pouvait être utilisés sous réserve d'éviter l'actine et le kaolin qui sous-estimaient l'activité chronométrique de 50%. Aucune comparaison avec le chromo n'avait été réalisée. Par ailleurs, durant l'étude de phase II deux sites français rapportent leur expérience. Les dosages centralisés effectués avec la silice comme activateur (Pathromtin, Siemens®) ont été comparés avec ceux obtenus avec le Kaolin (CK Prest, Stago®). Les résultats mesurés avec le Kaolin sont 50% plus bas que ceux mesurés avec la silice ; en revanche si une calibration spécifique au produit est réalisée les concentrations mesurées avec la silice ou le kaolin sont similaires. Ces datas suggéraient l'intérêt soit de calibrer avec un standard spécifique au produit soit d'utiliser un facteur de correction.

Afin de confirmer ces premiers résultats, une étude multicentrique a été réalisée sur 20 centres en France. Chaque laboratoire participant recevait 3 échantillons surchargés en FIX-FP aux concentrations de 5, 30 et 80%. Les dosages étaient réalisés, sur 3 jours de suite, dans la vraie vie, selon les conditions du laboratoire par technique chronométrique. Deux centres ont également réalisé des dosages par méthode chromogénique avec le kit Hyphen.

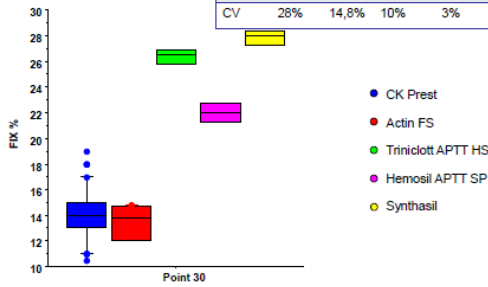
**Automates** : 16 STAR, 2 ACL Top, 1 CA 1500, 1CA 5100

**Réactifs TCA** : CK Prest (n = 17), Actin FS (n= 2), Triniclott APTT(n= 1), APTT Synthasil (n=1), APTT Hemosil : n= 1



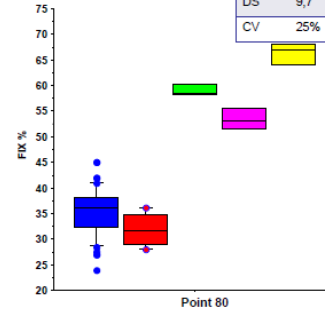
## Point 30

Point 30	Global	CK prest	Actin FS	Triniclot APTT	Hémosil	Synthasil
Moy	15,7	14,3	13,5	26,3	22	27,8
n	66	51	6	3	3	3
Min	10,5	10,5	12	25	21	27
Max	28,5	19	14,8	27	23	28,5
DS	4,4	2,11	1,33	0,76	1,0	0,76
CV	28%	14,8%	10%	3%	4,5%	2,7%

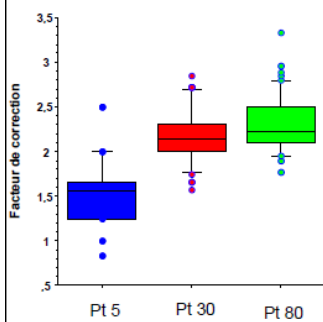


## Point 80

Point 80	Global	CK prest	Actin FS	Triniclot APTT	Hémosil	Synthasil
Moy	38,5	35,6	31,8	59,1	53,4	66,1
n	66	51	6	3	3	3
Min	24	24	28	58	51	63
Max	68	45	36,1	61	56,3	68,4
DS	9,7	4,7	3,5	1,6	2,6	2,8
CV	25%	13%	11%	2,7%	5%	4,2%

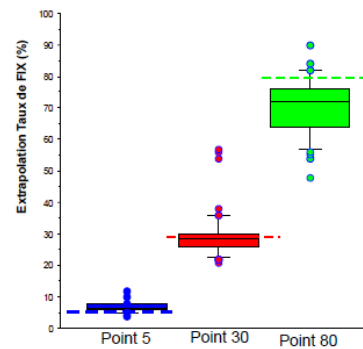


Un facteur de correction est-il envisageable si utilisation CK prest ou actin FS?



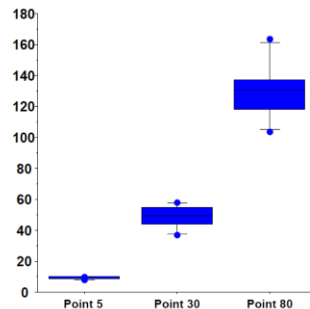
	FR pt 5	FR pt 30	FR pt 80
Moy	1.51	2.14	2.31
n	57	57	57
Min	.83	1.57	1.77
Max	2.5	2.85	3.3
DS	0.36	0.42	0.33
CV	24%	14.8%	14%

Et si nous proposons un facteur de correction de 2 pour tous?



	FR pt 5	FR pt 30	FR pt 80
Moy	6.97	28.42	70.36
n	57	57	57
Min	4	21	48
Max	12	38	90
DS	1.67	4.10	9.53
CV	24%	14.4%	13.6%

## Dosages en FIX chromogène (Hyphen)



	Pt 5%	Pt 30%	Pt 80%
Moy	9.01	48.8	130.6
n	6	6	6
Min	8.1	37	104
Max	10	58	164
CV	9%	16.6%	15.4%

En conclusion, cette étude multicentrique a été réalisée sur des échantillons surchargés « *in vitro* » en FIX-FP à différentes concentrations (5, 30 et 80%). Les taux de facteurs ont été validés par le CHU de Rouen en Pathromtin (1 seule expérience). Cette étude confirme que tous les réactifs APTT ne sont pas équivalents pour le dosage du FIX-FP. L'activateur ne semble pas être le seul responsable ; la composition et la concentration en phospholipides joue probablement un rôle. Un facteur de correction proche de 2 semble être envisageable pour les dosages réalisés en CK Prest et Actin FS. Les résultats sont acceptables sans facteur de correction pour le Synthasil et Triniclot APTT HS. Cette étude n'a cependant pas testé tous les réactifs d'APTT proposés en France et reste à valider chez les patients substitués.

Concernant la technique chromogénique, vu le faible effectif (2 participants) il est difficile de conclure et cette méthode reste à valider en multicentrique et chez les patients substitués.

### **5.3 Dosage du FIX-Fc de Sobi (Catherine Ternisien, Nantes)**

Concernant le rFIX-Fc, une étude conduite dans 30 laboratoires montre que le rFIX-Fc peut être suivi avec fiabilité et précision en utilisant la technique chromométrique de routine. Néanmoins des variabilités existent selon les réactifs utilisés (*Sommer JM et al. Thromb Haemost 2014 ; 112 :932-940*).

Afin de pouvoir analyser localement le rFIXFc, Swedish Orphan Biovitrum AB et en son nom Precision Biologic ont préparé un kit d'échantillons dosés à 0.05, 0.20 et 0.80 UI/ml de rFIXFc. Ce kit devrait permettre d'évaluer la fiabilité des dosages chromométriques (et chromogéniques si disponible) utilisés dans les laboratoires de routine. Ce kit est disponible sur demande à Caroline Martinez ([Caroline.Martinez@sobi.com](mailto:Caroline.Martinez@sobi.com)). Le kit est livré avec les instructions expliquant les modalités de participation à cette analyse. Les résultats sont à adresser à Precision Biologic Inc. Ils seront présentés et analysés lors de la prochaine réunion d'automne.