

Compte rendu de la 5^{ème} journée du Club des biologistes en hémostase

Cette réunion s'est tenue le 14 Juin 2013 et a rassemblé 31 biologistes.

1. Pourquoi doser le Facteur VIII par méthode chromométrique, chromogénique et antigénique dans l'Hémophilie A : Marc Trossaert

En 2013, il est d'usage d'affirmer le diagnostic de sévérité d'une hémophilie A sur le taux de l'activité du facteur VIII (FVIII:C). Les recommandations de l'ISTH mentionnent que : si l'activité est indétectable (<1%), il s'agit d'hémophilie sévère ; si l'activité est comprise entre 1 et 5%, l'hémophilie est dite modérée ; au-delà et jusqu'à 40% l'hémophilie est mineure (ou atténuée).

Mais comment doit-on doser le FVIII:C? Deux types de méthodes peuvent être proposées : la technique en 1 temps (ou chromométrique), basée sur le TCA et utilisant un plasma déficitaire en FVIII et les techniques en 2 temps, aujourd'hui le plus souvent colorimétriques, basée sur l'évaluation de la génération de FXa après addition de FIXa, FII et FX. Depuis plus de 20 ans, de nombreux travaux ont montré que ces dosages pouvaient être discordants chez les hémophiles A mineures, dans un sens comme dans un autre (FVIII:C 1 temps > FVIII:C 2 temps ou FVIII:C 2 temps > FVIII:C 1 temps), sans qu'on sache, à ce jour, quelle conséquence en tirer au niveau du diagnostic ou de la prise en charge thérapeutique. De plus, il pourrait exister des différences en fonction des kits de dosages de FVIII:C colorimétriques selon l'anomalie génétique responsable de l'hémophilie A mineure.

Quid des taux de FVIII:C < 2% ? Le diagnostic d'hémophilie A sévère ou modérée est à ce jour uniquement basé sur la valeur du FVIII:C. Cependant, les études clinico-biologiques ont montré que pour des valeurs « limites », aux alentours de 1%, les patients hémophiles pouvaient avoir un phénotype clinique plus ou moins hémorragique, pas toujours en rapport avec le taux de FVIII:C retrouvé. Pour ce qui concerne les dosages de FVIII:C en 1 temps, de loin les plus utilisés, la qualité de la déplétion du plasma déficitaire en FVIII est essentielle et doit toujours être pris en compte dans l'interprétation biologique et clinique du résultat. Les méthodes de FVIII:C en 2 temps ne devraient pas présenter ce défaut. Cependant les études clinico-biologiques qui définiraient les méthodes optimales pour définir le caractère modéré ou sévère du profil hémorragique d'un patient hémophile avec un taux de FVIII :C < 2% restent à mener.

Enfin, quel est l'intérêt du dosage de FVIII par technique antigénique (FVIII:Ag) ? Il permet essentiellement le diagnostic d'anomalie quantitative ou qualitative du déficit en facteur VIII. Même s'il reste conseillé d'établir définitivement ce diagnostic pour chaque patient hémophile, son intérêt clinique reste encore à démontrer.

2. Utilisation en France des tests chromogéniques pour le dosage du FVIII sous ReFactoAF®. Résultat d'une enquête de pratique (Claudine Caron)

Cette enquête s'inscrit dans la suite de plusieurs travaux multicentriques concernant le dosage du FVIII sous ReFacto AF®.

Une étude *in vitro* sur plasmas déficients en FVIII surchargés en ReFacto AF (Pouplard C et al, *Haemophilia* 2011 ; 17: e958 – e962) a confirmé une différence de l'ordre de 30% entre OSA – dosage chromométrique 1 temps- et CSA – dosage chromogénique- (CSA>OSA), cet écart étant réduit d'un facteur 3 lorsque le standard spécifique RLS AF est utilisé dans la méthode OSA.

Une étude multicentrique « patients » a ensuite été initiée montrant que l'utilisation du RLS AF minimise également l'écart OSA-CSA chez les patients traités par ReFacto AF, la différence OSA-CSA se réduisant à 10% (CSA>OSA) et devenant équivalente voire inférieure aux écarts CSA-OSA observés avec les autres concentrés recombinants ou plasmatisés de FVIII.

Enquête de pratique : 21 réponses analysées pour 24 réponses reçues

- Nombre d'hémophiles traités par ReFacto AF
Médiane [min-max]: 8 [1 – 60]
- Nombre de dosages par an sous ReFacto AF
Médiane [min-max]: 7 [<5 – 65]
3 réponses: ? (*ne sait pas*)
- Tests utilisés pour le dosage du FVIII
 - FVIII OSA/ Std plasma (méthode Aa) : 5 centres **(24%)**
Nombre de dosages: ? à 65 (*médiane: ?*) pour 20 à 60 HA
 - FVIII OSA/ Std ReFactoAF (méthode Ab) : 5 centres **(24%)**
Nombre de dosages: <5 à 47 (*médiane: <5*) pour 2 à 60 HA
 - FVIII CSA (méthode B) : 11 centres **(52%)**
Nombre de dosages: <5 à 29 (*médiane: 8*) pour 1 à 16 HA
dont B+Aa (1) et B+Ab (3)
- Raisons d'utilisation de FVIII OSA/ Std plasma (méthode Aa)

6 réponses

- Non connaissance du produit par lequel le patient est substitué: 3
- Organisation du poste de travail : 5 (en particulier en garde)
- Capacités de configuration des automates: 0
- Gestion de l'approvisionnement en réactif spécifique: 1
- Coût du réactif pour le FVIII CSA: 0
- Autres:
 - Procédure Ab jugée non nécessaire par le médecin coordinateur du CTH (1)
 - Rareté des demandes (1)
 - Ecart CSA/OSA moindre avec réactif TCA Synthasil IL sur ACL Top (2)

3. Validation en portée B de l'adaptation du dosage fonctionnel du VWF par la technique Innovance VWF Ac (Siemens) sur automate STA-R (Diagnostica Stago) : Carine Crampé-Scherrer

Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'évaluation des méthodes analytiques et la révision de la stratégie du diagnostic biologique de la maladie de Willebrand au CHU de Saint-Etienne.

Objectifs de l'étude : évaluer selon les recommandations du document SH GTA 04 (COFRAC) les performances du réactif Innovance VWF (Siemens) adapté en portée B sur STA R.

Les dosages en portée B sur STA R ont été réalisés selon le protocole d'adaptation fourni par la société Diagnostica Stago. Les différences méthodologiques notables de cette adaptation par rapport au dosage en portée A sont les suivantes :

- longueur d'onde de lecture sur automate STA R : 540nm
- dilution au 1/6 du réactif I dans de l'eau distillée
- calibration unique pour l'ensemble du domaine de mesure : 10-80% sur plasma au 1/3 (sur plasma pur pour les taux <10% ; sur plasma dilué au 1/6^{ème} pour les taux >80%)
- calibration à chaque série et dosages en double préconisés dans protocole fourni

a. Evaluation des performances de répétabilité

Contrôles lyophilisés CN et CP (Siemens) et pool de plasmas normaux congelé à -80°C.

Les résultats sont satisfaisants avec des CV conformes à l'objectif fixé au préalable à l'étude (CV répétabilité = 0.75x CVFI avec CVFI=CV90 des recommandations du GEHT en cours de publication). Les CV obtenus sont inférieurs à ceux de la technique VWF :RCo sur BCS XP.

b. Evaluation des performances de fidélité intermédiaire

Contrôles lyophilisés CN et CP (Siemens) et pool de plasmas normaux congelé à -80°C.

Les résultats sont satisfaisants avec des CV conformes aux limites acceptables des recommandations du GEHT en cours de publication (CV90) et inférieurs à ceux de la technique VWF :RCo sur BCS XP.

c. Exactitude et incertitude de mesure : non évaluables

d. Evaluation de la stabilité du réactif I dilué au 1/6^{ème} : vérifiée sur une période de 8 heures

e. Détermination du domaine de mesure

La limite supérieure de linéarité annoncée à 80% sur protocole de base est vérifiée. La limite de quantification annoncée à 3.3% n'est pas vérifiée. Elle est estimée entre 5.5 et 8.8%.

f. Interférences spectrales : absence (jusqu'à 3,9 g/L en hémoglobine et 8,8mM en triglycérides)

g. Contamination inter-échantillons : Absence

h. Comparaison de méthodes

La répartition des types de VWD est la suivante :

	Sujets sains	Type 1	Types 2						Type 3	SWA*
			2A	2B	2M	2M «2A like»	2N	2 indéterminé		
VWF:RCo BCS XP	100	48	10	3	3	3	7	6	1	3
VWF:Ac BCS XP	100	48	10	3	3	3	7	6	1	3
VWF:Ac STA R	82	34	6	3	3	2	6	6	1	0

*SWA : syndrome de Willebrand acquis

Deux groupes de sujets ont été définis en fonction du taux de VWF : « taux de VWF normaux » et « taux de VWF abaissés ». Pour chaque comparaison ont été réalisées : une analyse statistique descriptive, une analyse de concordance par régression linéaire de Passing Bablok, une analyse des couples de valeurs par représentation graphique de Bland et Altman et calcul du biais moyen.

1. Innovance VWF :Ac STA R vs VWF :RCo sur BCS XP

➤ Taux de VWF normaux

Les 2 techniques sont corrélées avec $r^2 = 0.897$ et $p < 0.0001$ mais ne sont pas **statistiquement** concordantes pour les taux normaux : **VWF :Ac(STA) = 0.83VWF:RCo + 13.67** (nécessité d'établissement de valeurs de référence adaptées ; phénomène retrouvé avec la technique en portée A).

L'analyse des couples de valeurs montre un biais moyen VWF:Ac(STA)-VWF:RCo de **-1.35%**.

6 valeurs sur 88 sont en dehors des limites d'agrément sans incidence diagnostique (surestimation dans 4 cas du VWF :RCo et dans 2 cas du VWF :Ac STA).

➤ Taux de VWF abaissés

Les 2 techniques sont corrélées avec $r^2 = 0.877$ et $p < 0.0001$ et sont concordantes pour les valeurs correspondant à des taux abaissés : **VWF :Ac(STA) = 1.14VWF:RCo -2.83**

L'analyse des couples de valeurs montre un biais moyen VWF:Ac(STA)-VWF:RCo de **+1.35%**.

2 valeurs sur 49 sont en dehors des limites d'agrément sans incidence diagnostique (mise en évidence des déficits dans les 2 cas).

2. Innovance VWF :Ac STA R vs Innovance VWF :Ac BCS XP

➤ Taux de VWF normaux

Les 2 techniques sont corrélées avec $r^2 = 0.934$ et $p < 0.0001$ et sont concordantes pour les valeurs correspondant à des taux normaux : **VWF:Ac(STA) = 0.96VWF:Ac(BCS) + 3.94**

L'analyse des couples de valeurs montre un biais moyen VWF:Ac(STA) - VWF:Ac(BCS) de **+0.91%**.

2 valeurs sur 88 sont en dehors des limites d'agrément sans incidence diagnostique.

➤ **Taux de VWF abaissés**

Les 2 techniques sont corrélées avec $r^2 = 0.972$ et $p < 0.0001$ et sont concordantes pour les valeurs correspondant à des taux abaissés : **VWF :Ac(STA) = 1.08VWF:Ac(BCS) -0.14**

L'analyse des couples de valeurs montre un biais moyen VWF:Ac(STA)-VWF:Ac(BCS) de **+1.62%**.

2 valeurs sur 53 sont en dehors des limites d'agrément sans incidence diagnostique (mise en évidence des déficits dans les 2 cas).

Conclusions :

L'adaptation du dosage fonctionnel du VWF par le réactif Innovance VWF Ac (Siemens) sur automate STA R (Diagnostica Stago) présente des performances analytiques tout à fait satisfaisantes en termes de répétabilité et de fidélité intermédiaire. Elle fournit des résultats concordants avec la technique VWF :RCo sur BCS XP et la technique en portée A (Innovance VWF :Ac sur BCS XP) pour les patients atteints de maladie de Willebrand.

Bien que présentant quelques limites en termes de praticabilité (dilution du réactif I, calibration systématique, dosage en double, domaine de linéarité plus limité), ses performances et sa compatibilité avec le dosage ponctuel permettent de réaliser le diagnostic et la surveillance du traitement de la maladie de Willebrand selon les recommandations en vigueur.

4. Normes 15189 version 2012 : le management par la qualité. Expériences marseillaise et lyonnaise. Frédéric Sobas et Marie Françoise Aillaud

Avec la version 2012 de la norme NF EN ISO 15189 apparaît la notion de processus. **F Sobas** fait le point sur la notion de processus, sa définition et son application dans le système qualité. La version 2012 de la norme ISO 15189 met en avant le Management par la qualité. Avec la version 2007 de la norme ISO 15189 il n'y avait pas encore de rupture franche avec le GBEA. La nouvelle version de la norme ISO 15189 est très proche la norme ISO 9004 de gestion des performances durables des organismes – approche de management par la qualité. Il y a le concept clé qu'il ne peut y avoir de gestion durable sans prise en compte de toutes les parties intéressées qui interagissent avec le laboratoire. Ainsi, dans un environnement complexe, il doit y avoir prise en compte non seulement de l'intérêt des clients du laboratoire mais également des attentes des services support, des services financiers, des services administratifs, des organismes de tutelle, des fournisseurs. L'approche processus devient incontournable pour répondre à cet objectif de gestion durable. D'une logique de description d'activités on passe à une logique de description d'interrelation d'activités pour répondre à la vocation d'une organisation décrite dans la politique qualité du laboratoire.

L'expérience lyonnaise qui débute la mise en place de son système de qualité nous est rapportée par **F. Sobas**. La biologie des HCL est réalisée par un laboratoire certes multi site mais unique appelé LBMMS. Seule une approche systémique s'appuyant sur la définition d'une cartographie des processus permet de mettre en place une gestion transversale avec une volonté affichée de transférabilité des résultats des patients sur toute l'institution. Il y a donc à côté de l'équipe des pilotes transversaux de processus une équipe de pilotes qualité de discipline qui ont l'objectif de mettre en place un système de management par la qualité évalué sous la

forme de revue de processus avant une revue de direction unique. Il y a un référentiel ISO qui décrit la méthode d'implémentation de l'approche processus : **ISO/TC 176/SC 2/N 544R3 : Guide sur les concepts et utilisation de l'approche processus pour le management des systèmes**

Ce référentiel permet de trouver l'articulation entre l'approche processus transversale et la nécessaire déclinaison en local. Il a été présenté cette articulation autour du Processus analytique. Parmi les intérêts de la méthode il faut souligner les points suivants :

- une activité n'est plus une finalité en soit
- les responsabilités sont définies
- les ressources nécessaires sont définies
- la dynamique d'amélioration continue est possible via l'exploitation des indicateurs qui peuvent être communs pour permettre une revue de processus transversale
- on se donne la méthode pour prendre en compte toutes les parties intéressées telles que les directions des achats devenues des acteurs clé de pilotage des collectivités publiques

MF Aillaud propose à son tour l'expérience marseillaise qui a démarré en 2000 (obtention de l'accréditation en 2006) et qui a transformé l'existant sous forme de processus. L'organisation chronologique des 26 procédures d'organisation (PO) et des 9 procédures de fonctionnement (PF) a évolué sous forme de 8 processus. Le diaporama détaillant les processus est à disposition sur simple demande auprès de MF Aillaud ou de C Ternisien.

La conclusion de cet exposé sur le système qualité montre l'exemple de l'application au dosage du facteur VIII. On se rend compte que le système doit être solide et construit à l'avance. Au jour le jour, restent à gérer les CIQ, EEQ et validations techniques et biologiques : le cœur du métier.

5. Déficit acquis en FXI en fin de grossesse ? Pierre Toulon et Christine Biron-Andreani

Le Facteur XI (FXI) a été identifié par Rosenthal en 1953 (facteur Rosenthal, ou plasma thromboplastin antecédent) dans le plasma de patients ayant des antécédents hémorragiques modérés. Il s'agit d'une glycoprotéine de 160 KDa constituée de deux chaînes identiques de 607 AA reliées par une liaison disulfure, avec une cupule glucidique de 5%. Sa synthèse est majoritairement (exclusivement?) hépatique comme le suggèrent les taux plasmatiques diminués en cas d'insuffisance hépatocellulaire, qui se normalisent après greffe hépatique. Sa concentration plasmatique est d'environ 5.0 µg/mL, soit 30 nM, et son activité coagulante plasmatique normale comprise entre 50 et 150%. Les déficits constitutionnels en FXI sont associés à une symptomatologie hémorragique mais sans corrélation entre le phénotype biologique (taux de FXI) ou le génotype et le phénotype hémorragique (sévérité). Les taux à la limite inférieure de la zone normale de FXI pourraient être facteur de risque d'hémorragie du post-partum (Chauleur C, et coll. 2008), alors que les taux élevés pourraient être facteur de risque de MTEV (Meijers JC, et coll. 2000)

La question se pose de la relevance clinique de taux diminués du FXI observés chez certaines femmes au cours de la grossesse, principalement en fin de 3ème

trimestre (bilan pré-péridurale), et de la conduite à tenir pendant l'accouchement et le post-partum. Une recherche sur Medline avec les termes "Factor XI" et "pregnancy" aboutit à 59 occurrences directement liées au sujet. La plupart (n=47) concernent des cas des femmes déficitaires en FXI pendant la grossesse ou l'accouchement (histoire naturelle, prise en charge thérapeutique...), et trois concernent des complications autres (MTEV, HTAP, ou FC). Seules 9 publications traitent des (éventuelles) variations du taux plasmatique du FXI au cours de la grossesse, la plupart datant des années 1960 et 1970, certaines étant en japonais ou en allemand (non traduites). Finalement seules 5 sont donc directement exploitables, mais elles aboutissent à des conclusions pour le moins contradictoires. En effet, elles rapportent, pendant la grossesse, des taux diminués du FXI (Phillips LL, et coll. 1973 et Hellgren M, et coll. 1981), des taux augmentés (Condie RG, et coll. 1976 avec ré-augmentation dans le post-partum et Saidi P, et coll. 1979 avec normalisation dans le post-partum) ou inchangés (Kadir RA, et coll. 1998) !!!... Une étude plus récente, menée à Montpellier, a fait l'objet d'une thèse de Médecine soutenue en 2005. L'étude transversale de 108 femmes prélevées à une ou deux reprises pendant leur grossesse (normale) n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative concernant le taux de FXIc pendant la grossesse (quel que soit le trimestre) et un groupe contrôle, mais il est à noter qu'une des femmes prélevées au cours du 3ème trimestre de grossesse avait un FXIc=29%. Une étude longitudinale de 13 femmes prélevées séquentiellement au cours de leur grossesse (1 fois par trimestre) a montré une diminution des taux de FXIc et de FXI:Ag entre le 2ème et le 3ème trimestre de grossesse, mais qui restent néanmoins dans les limites de la normale.

En conclusion, compte tenu des données disponibles, l'organisation d'une étude ne paraît pas être justifiée aujourd'hui. En revanche, il est prévu une compilation des dossiers de patientes chez qui un déficit isolé en FXI a été mis en évidence en fin de grossesse, en se concentrant sur les éventuelles complications hémorragiques pendant l'accouchement et l'évolution du taux de FXI dans le post-partum.

6. Le point sur les ateliers :

a. VWF :RCo automatisé sur BCS : courbe basse (Céline Desconclois et Claire Flaujac)

Rappel des données bibliographiques à l'origine de ce travail :

La première publication sur ce sujet a été le poster présenté en 2008 lors de l'Hemophilia World Congress (*Stadler et al. JTH 2009, supplement 2*) suivie de celle de *Hillarp et al. JTH 2010* correspondant à la validation de la méthode. On retrouve principalement dans cet article une limite de détection de 3,1% et des CV de reproductibilité acceptables selon les seuils GEHT y compris pour les CV des valeurs basses à 5% de moyenne. Le test se compose d'une double courbe permettant de lire entre 3 et 200%, avec un chevauchement dans la zone 30-50%.

Plus récemment, l'équipe de *Favaloro et al. (JTH 2010)* a publié une validation de la méthodologie sur des plasmas de patients sur des prélèvements rétrospectifs.

Avantages de la technique :

- Automate BCS, largement disponible dans les laboratoires
- Limite de détection : 3% avec la gamme basse
- Linéarité de la courbe basse ++

- Chevauchement des courbes = gain de linéarité dans la zone basse de la configuration actuelle du BCS
- Stabilité des calibrations (pas de recalibration systématique)

Inconvénients de la technique :

- Difficultés pour obtenir une concentration optimale de ristocétine dans le milieu réactionnel. Elle est probablement de l'ordre de 1 à 2 mg/ml. En effet, si la concentration est trop importante, on observe une précipitation des protéines plasmatiques
- Il faut travailler avec un plasma déficient en VWF (Plasma commercial Hyphen accessible mais de coût élevé)
- Il n'y a pas de contrôles dédiés pour la courbe basse → dilution des CIQ habituels ?

Etat des travaux de mise au point :

La société Siemens nous a donné quelques boîtes de BC von Willebrand (lot identique entre Cochin et Bicêtre). Les premiers essais réalisés à Bicêtre sont décevants mais ils ont été réalisés sans utiliser de plasmas déficients en VWF en diluant mais avec un tampon BSA. Nous avons donc acheté des déficients VWF grâce des crédits « recherche ». Nous avons également retravaillé la configuration du BCS avec un ingénieur application Siemens mais celle-ci reste non validée officiellement par Siemens.

Ce qu'il reste à faire : relancer les essais avec la nouvelle configuration et le plasma déficient en VWF. Nous sommes également en attente des réponses aux questions méthodologiques posées au Dr Hillarp.

En conclusion : L'intérêt de cette technique est probablement limité, car si elle fonctionne, elle ne sera qu'en portée B et en concurrence avec l'INNOVANCE FvW dont la limite de détection est de 3% également. Cependant, elle aura le mérite de doser le facteur Willebrand par une véritable « activité cofacteur de la ristocétine ».

b. Mesure de l'activité VWF : RCo : validation de méthode en agrégométrie (Claudine Caron)

Application dans 5 laboratoires (Caen, Lille, Nantes, Toulouse, Tours) d'un **protocole opératoire standardisé**, utilisant

- les réactifs VWF ou BC-VWF (Siemens)

Préparation :

	BC VWF Reagent	VWF Reagent
Reconstitution	4ml H2O	2ml H2O
Temps de stabilisation	60 min	60 min
Dilution de travail	+12 ml NaCl 0,9%	+14 ml NaCl 0,9%
Numération plaquettaire	Faire comptage des plaquettes	Faire comptage des plaquettes
Stabilité de la dilution	Faire les mesures dans un délai de 2 h	Faire les mesures dans un délai de 2 h
Concentration ristocétine	5mg dans 4 ml Soit 0,3 mg/ml dans dilution de travail	5mg dans 4 ml Soit 0,3 mg/ml dans dilution de travail

- une même source de ristocétine (réactif Stago 100 mg) à la concentration finale de 1mg/ml, obtenue comme suit : reconstitution par 3,33 ml de NaCl 0,9% permettant l'obtention d'une solution-mère à 30 mg/ml conservée aliquotée à -70°C ; préparation d'une dilution de travail au 1/3
- un même lot de plasma standard SHP Siemens, titré à 88 UI/dL en VWF :RCo
- des contrôles préparés par mélange du plasma SHP dans un plasma déficient en VIII/VWF (Stago) : C1 (88 UI/dL), C2 (44 UI/dL), C3 (11 UI/dL)
- sur agrégomètres APACT ou SD Medical

Protocole proposé :

	SD Medical	APACT
Suspension Plaquettes	250µl	200µl
Solution Ristocétine	30 µl	25 µl
Incubation	3 min	3 min
Dilutions plasmas standards, contrôles, à tester	30 µl	25µl
Temps de lecture	2 min	2 min

Résultats

- **répétabilité** = C1, C2 et C3 testés à plusieurs dilutions dans une même série

a- sur la vitesse : calcul du CV pour chaque dilution

CV <10% pour C1 aux dilutions 1/2, 1/4 et 1/8

CV 10 à 15% pour C2 aux dilutions 1/2 et 1/4, et C3 au 1/1

CV >20% pour C1 au 1/16, C2 aux 1/8 et 1/16, et C3 aux 1/2 et 1/4

b- sur le taux moyen calculé à partir des dilutions dont le CV de vitesse est <20%

Pour C1, le taux moyen varie de 81,3% à 93,5%, le CV de 1% à 8% et le biais de -7,6% à + 6,3%

Pour C2, le taux moyen varie de 33,1% à 48,1%, le CV de 4,4% à 14% et le biais de -24,8% à + 9,3%.

Pour C3, le taux moyen varie de 8 à 22,6% et le CV de 5,7% à 38,2% (remarque : des CV plus élevés sont obtenus avec la préparation C3 par rapport à un plasma VWD)

Critères d'acceptabilité proposés pour la répétabilité : **<10% pour CQN (#100%) et <15% pour CQP (#10 à 50%)**

- **fidélité intermédiaire**= C1, C2 et C3 testés dans 5 séries différentes ; taux moyen calculé à partir des dilutions dont le CV de vitesse est <20%.
Pour C1, le taux moyen varie de 82,8% à 95,6%, le CV de 6,11% à 15,7% et le biais de -5,9% à + 8,6%

Pour C2, le taux moyen varie de 41,4% à 50,4%, le CV de 6,8% à 16,2% et le biais de -5,9% à + 14,5%.

Pour C3, le taux moyen varie de 9 à 14,7% et le CV de 10% à 26,8% (remarque : des CV plus élevés sont obtenus avec la préparation C3 par rapport à un plasma VWD)

Critères d'acceptabilité proposés pour la fidélité intermédiaire :
<15% pour CQN (#100%) et CQP (#10 à 50%)

- **limite de détection (LOD)**

LOD = le plus petit signal (vélocité) qui se distingue du blanc-réaction (plasma VWD type 3)

On observe que lorsque la vélocité est <10, le CV de répétabilité est >20% pour 73% des mesures,

Donc **LOD proposée = 10**

- **limite de quantification (LOQ)**

LOQ = la plus faible concentration avec CV dans la limite d'acceptabilité, c'est-à-dire <15%

On obtient un CV de 18% pour une concentration de 8%

Donc **LOQ proposée = 10%**

7. Questions diverses

- Participation au réseau France Coag : Claire Pouplard

A la suite de la dernière réunion du comité du réseau France Coag, Claire Pouplard a souhaité faire le point avec les membres du club des biologistes sur l'expression des résultats lors de la recherche d'un anti-FVIII.

Il a clairement été souligné que la recherche d'un anti-VIII ne pouvait être réalisée par le simple test du mélange et le calcul de l'indice de Rosner même après une incubation de deux heures à 37°C.

Avant la réunion du club des biologistes un questionnaire avait été envoyé à tous les centres afin de connaître le seuil de positivité utilisé pour la recherche d'un inhibiteur. Les seuils de 0.6 UB (seuil clinique) et 0.4 UB (seuil analytique) sont utilisés dans respectivement 50% et 40% des centres et 0.5UB dans les autres centres. Après discussion, il est proposé de généraliser le seuil de positivité de 0.6UB selon les recommandations internationales. Cependant, une attention particulière est à porter sur tout résultat entre 0.4 UB et 0.6 UB, résultat qui n'est pas analytiquement parlant négatif et doit donc être notifié au clinicien afin de programmer un contrôle.

- Participation du club des bios au GEHT Lille

Une séance plénière de restitution des travaux du club des bios aura lieu lors du GEHT de Lille le Jeudi 21 Novembre 2013