

## **Compte rendu de la 10<sup>ème</sup> journée du Club des biologistes en hémostasie**

Cette réunion s'est tenue le 26 novembre 2015 et a rassemblé 34 biologistes.

### **1. Analyse de la littérature sur le dosage des FVIII et FIX « long acting » : Catherine Ternisien (Nantes) et Claire Pouplard (Tours)**

Les concentrés de FVIII et de FIX ont fait leur apparition seulement dans les années 80 pour le traitement de l'hémophilie. Tout d'abord d'origine plasmatique puis d'origine recombinante, ces traitements possèdent certaines limites en raison de :

- leur demi-vie relativement courte : 8 à 12 heures pour le facteur VIII  
18 à 24 heures pour le facteur IX
- le risque d'inhibiteur induit par les traitements par FVIII (environ 30% des hémophiles A sévères)
- leur administration uniquement par voie intraveineuse

L'augmentation de la  $\frac{1}{2}$  vie des FVIII et FIX a fait l'objet de nombreuses recherches et plusieurs procédés permettent aujourd'hui l'arrivée de nouveaux traitements:

- Pégylation : couplage à un Polyéthylène Glycol (PEG)
  - Objectifs :
    - Augmenter la masse de la molécule et diminuer la filtration glomérulaire
    - Diminuer l'immunogénicité du FVIII par masquage de la protéine
- Protéine fusion:
  - Avec le Fragment Fc (domaine constant des IgG)
    - IgG :  $\frac{1}{2}$  vie = 21 jours, car se fixent à FcRn, récepteur «néonatal », exprimé dans le placenta, mais aussi par les hépatocytes et les cellules endothéliales.
    - Par ce mécanisme la protéine de fusion avec Fc échappe à la dégradation par le lysosome
  - Avec l'albumine ( $\frac{1}{2}$  vie : 20 jours)
- Polysialylation : uniquement des études pré-cliniques chez la souris

- Liposomes "FVIII "encapsulé" dans des liposomes PEGylés" : décevant

Ces techniques sont utilisées sur du facteur VIII, facteur IX et facteur VIIa

**Les traitements 'Long Acting' en développement** (adapté d'après Carcao, *Haemophilia* 2014)

Produit	Technologie	T <sub>1/2</sub> (h)	T <sub>1/2</sub> vs FVIII/FIX natif
<b>Concentré FIX « long acting »</b>			
N9-GP (Novo-Nordisk)	Glycopégylation sur site spécifique (PEG de 40 kDa)	96-110	>5 fois
rFIXFc (Biogen Idec)	Fusion protéique avec fragment Fc de IgG1	57-83	3 fois
rFIX-FP (CSL- Behring)	Fusion protéique avec albumine	89-96	>5 fois
<b>Concentré FVIII « long acting »</b>			
BAY-94-9027 (Bayer)	Pégylation (PEG de 60kDa) sur site spécifique d'un FVIII B délété	19	1.4 fois
BAX 855 (Baxalta)	Pégylation aléatoire directe (2 PEG de 20kDa) sur FVIII <i>full length</i>	Non disponible	1.5 fois
N8-GP (Novo-Nordisk)	Glycopégylation sur site spécifique (PEG de 40 kDa) du FVIII B tronqué (21 aa)	19	1.6 fois
FVIII-Fc (Biogen Idec)	FVIII B délété fusionné avec fragment Fc	18.8-19	1.5 - 1.7 fois

L'arrivée de ces nouveaux traitements dans l'arsenal thérapeutique de l'hémophilie nous fait craindre des difficultés de dosage de ces molécules dans nos laboratoires. Il est en effet important de souligner que les FVIII *long acting* sont fréquemment développés à partir d'un FVIII recombinant délété en domaine B ou avec un domaine B tronqué. De plus le couplage des FVIII ou FIX avec un PEG peut modifier les tests d'hémostase. Lors des essais cliniques publiés à ce jour avec ces différents '*long acting*' les dosages ont très souvent été réalisés de façon centralisée, ce qui ne reflète pas la réalité de nos pratiques quotidiennes caractérisées par une très grande hétérogénéité des réactifs utilisés.

## Méthodes de dosage utilisées lors des essais cliniques et résultats

	<b>Chromogénie (CSA)</b>	<i>Versus</i> <b>chromométrie (OSA)</b>	<b>Référence</b>
<b>N8-GP</b>	Coamatic	No data	<i>Tiede JTH 2013</i>
	Biophen	OSA kaolin/ac ellagique = CSA OSA silice < CSA	<i>Lochu Abstract ISTH 2013</i>
<b>BAY-94-9027</b>	réactif non précisé	Cmax OSA (ac ellagique) > CSA (+25%)	<i>Coyle JTH 2014</i>
	Biophen	OSA (ac ellagique) = CSA OSA silice : allongement des tps de coagulation	<i>Gu Haemophilia 2014</i>
<b>FVIII-Fc</b>	Différents réactifs	CSA >OSA (20 – 30%)	<i>Sommer Haemophilia 2014</i>
	OK (Biophen)	CSA >OSA ac ellagique (+ 32%)	<i>Powell Blood 2012</i>
<b>rFIX-FP</b>	No data	Silice	<i>Santagostino Blood 2012</i>
<b>N9-GP</b>	No data	Silice	<i>Négrier Blood 2011</i>
	OK (Biophen)	OSA Kaolin/ac ellagique < CSA OSA silice>>>CSA	<i>Lochu Abstract ISTH 2013</i>
	OK (Biophen)	Ac ellagique ~CSA	<i>Holm Abstract ISTH 2013</i>
<b>rFIX-Fc</b>	No data	silice	<i>Powell NEJM 2013</i>

En conclusion, l'activité des FVIII et FIX est déterminée en utilisant soit une méthode coagulante (OSA) soit une méthode chromogénique (CSA) (*Kitchen et al, Haemophilia 2015*). Récemment la technique coagulante a montré ses limites dans le suivi biologique des patients recevant des concentrés de facteur VIII de haute pureté (*Barrowcliffe, Haemophilia 2012*) De plus il a été constaté des variations du taux de facteur VIII ou IX en fonction des céphalines utilisées. La méthode chromogénique pourrait être la méthode la plus optimale pour la surveillance des patients substitués par les « long acting » en permettant une meilleure standardisation. Toutefois des études biologiques en multicentrique apparaissent nécessaires pour conclure.

## 2. Dosage du FVIII chromogénique : à propos de 3 kits. Virigine Barbay, L. Soret, V. Le Cam Duchez, JY Borg (Rouen)

L'objectif de cette étude a été de comparer 3 kits de dosage du FVIII chromogénique : *Factor VIII Chromogenic* de SIEMENS, *Chromogenix - Coamatic Factor VIII* de IL-Werfen et *BIOPHEN FVIII:C* de HYPHEN BioMed.

Les dosages ont été effectués sur l'automate BCS XP, Siemens. Les résultats ont été comparés aux valeurs obtenues par méthode chromométrique (Pathromtin SL, Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, Siemens) et immunologique (Asserachrom VIII :Ag, Stago). Tous les dosages ont été réalisés sur plasmas congelés.

Les résultats des dosages de FVIII chromogénique effectués sur un pool de plasma de sujets sains à différents temps montrent une perte progressive de l'activité après décongélation (moins 20% en 3 h) pour les 3 kits. Les résultats indiquent que les dosages doivent être effectués dans l'heure suivant la décongélation pour les 3 kits. Les résultats des contrôles fabricants normaux et pathologiques Siemens sont dans les valeurs attendues en gamme normale pour les 3 réactifs et légèrement supérieurs aux valeurs attendues en gamme fine avec le réactif Werfen. Des plasmas de patients hémophiles mineurs, modérés et sévères sont testés ainsi qu'un déficit qualitatif en FVIII (patient n°8) :

Patients	FVIII:c (%)	FVIII:chromogénique (%)			FVIII:Ag (%)	Mutation	Domaine
		Siemens	Werfen	Hyphen			
N°1	6	1,6	11,2	5,1	0,8-1,2	-	
N°2	25	22	27,4	11,9	25,4	Exon 14 Arg698Trp	A2
N°3	14	5,2	18,1	10,4	7,2	-	
N°4	8	5,2	18,1	9,4	1,3	-	
N°5	16	10,5	15,5	4,3	38,1	Exon 13 pThr688Asn	A2
N°6	5	4	11,7	6,3	<1	Exon 23 Arg2150His	C1
N°7	<1	<1	5,6	1,4	<1	Exon 14	B
N°8	47	45	34	12	96	Exon 11 p.Arg550His	A2

Les taux obtenus avec le réactif Siemens sont les plus bas pour 5 patients et/ou les plus proches des taux de FVIIIc (4 patients). Les ratios FVIII coagulant/FVIII chromogénique sont tous  $>1$  avec le test Siemens, comme cela est souvent rapporté dans la littérature (1). Pour le patient présentant la mutation p.Arg550His, un ratio élevé était attendu mais dans nos résultats aucune discordance n'est constatée entre les dosages chromométrique et chromogénique Siemens.

Les taux obtenus avec le réactif Werfen sont systématiquement plus élevés, pouvant faire évoquer un problème de calibration ou du couple automate/réactif.

Les réactifs Hyphen donnent souvent des résultats intermédiaires par rapport aux 2 autres techniques.

Nous avons également testé des plasmas de patients présentant une hémophilie A acquise, un lupus anticoagulant et un anticorps anti-FV à titre fort. Dans ces circonstances, le dosage chromogénique ne connaît pas les interférences qui perturbent le dosage chromométrique.

Enfin, nous avons surchargé en Turoctocog alfa (Novoeight®) un plasma déficitaire en FVIII en utilisant une gamme allant de 25 à 150 %. Les taux de FVIII obtenus sont très proches entre les 3 techniques chromogéniques. Les taux de FVIII chromogénique sont proches des taux de FVIII chromométrique pour des valeurs de FVIII  $< 75\%$  et supérieurs d'environ 10 à 20% pour les valeurs de FVIII  $> 75\%$ . Chez un patient traité par Novoeight® et prélevé à T30 et T120, les résultats sont également très proches les uns des autres pour les 3 techniques chromogéniques. La technique chromogénique donne des taux supérieurs à la technique chromométrique d'environ 20 à 30%.

En conclusion, la technique chromogénique pour le dosage du FVIII présente de nombreux avantages en comparaison de la technique chromométrique. L'étude comparative des différents réactifs pourra se poursuivre sur un plus grand nombre de patients hémophiles A bien caractérisés. Le choix du réactif à utiliser pour le dosage de FVIII chromogénique devra aussi inclure les données sur les dosages des nouveaux produits long acting.

(1) Armstrong E, Hillarp A, Assay discrepancy in mild haemophilia A, *European Journal of Haematology*, 2014 Aug ; 76 :48-50

### **3. Dosage du FVIII par méthode chromogénique chez les hémophiles A substitués. Expérience du CHRU de Lille (Claudine Caron)**

Depuis le 15 avril 2015, les dosages de FVIII prescrits chez les hémophiles A substitués, sont réalisés par méthode chromogénique avec le réactif Biophen<sup>®</sup> FVIII Hyphen Biomed sur STAR<sup>®</sup> Stago. Lors de la prescription de l'analyse FVIII dans le service de soins via le logiciel de prescription connectée CIRUS, la question « *Traitement en cours par concentré de FVIII* » est posée et le prescripteur doit répondre « oui » ou « non ». Ensuite, un événement créé dans le SGL du laboratoire permet d'orienter vers un dosage de FVIII chromogène si la réponse est « oui » ou de maintenir un dosage par chromométrie si la réponse est « non ». Quelques erreurs de réponse ont été rencontrées, par exemple réponse « oui » sous desmopressine, concentré de Willebrand ou fractions activées. La formation et l'habilitation au test a concerné l'ensemble du personnel technique afin d'assurer la prise en charge continue de jour comme de nuit de l'analyse.

L'optimisation des réactifs est assurée par aliquotage pour réaliser 2 dosages et les 2 niveaux de CQI. La stabilité des réactifs aliquotés a été évaluée à au moins 3 mois. Le CV de fidélité intermédiaire est  $\leq 5\%$ . Fin octobre soit après 29 semaines d'activité, 435 dosages chromogéniques ont été réalisés « au fil de l'eau », correspondant à 15% des dosages de FVIII du laboratoire. Le coût moyen réactif par résultat est de 15 €. La question de l'éligibilité de ce paramètre au RIHN est posée.

### **4. A propos du Multiplate : Valérie Proulle (Bicêtre)**

La caractérisation de la maladie de Willebrand (VWD) et des thrombopathies constitutionnelles repose essentiellement sur l'étude des fonctions plaquettaires en agrégométrie optique (LTA), technique longue et nécessitant une expertise et un volume de sang importants. Les performances de l'impédancemétrie sur sang total (WBI) avec l'appareil Multiplate<sup>®</sup> (Roche) dans ces indications ont été évaluées lors de 2 études monocentriques réalisées à Bicêtre en 2007 et en 2014.

L'utilisation du Multiplate<sup>®</sup> a l'avantage de ne nécessiter que peu de sang et d'être d'utilisation et de réalisation simples et rapides.

### **Pour la maladie de Willebrand hors VWD type 2B et 3 :**

- L'étude de l'agglutination induite par la ristocétine (RIPA) en WBI sur Multiplate® (échantillons anticoagulés par héparinate de lithium) ne s'est pas montré moins efficace que la LTA (sensibilité : 63% vs 68%) chez 25 patients étudiés en parallèle.
- L'utilisation du Multiplate® pour le dépistage de la VWD n'est pas performante en première intention en raison du manque de sensibilité de la méthode lorsque les échantillons sont prélevés sur citrate ou sur hirudine (moins de 50% des patients atteints détectés).
- La WBI n'est pas non plus une méthode efficace pour le suivi thérapeutique des patients atteints de VWD et traités par Minirin®.

### **Pour les thrombopathies :**

- L'expérience menée sur une année et sur 18 patients atteints de thrombopathies constitutionnelles bien caractérisées (thrombasthénie de Glanzmann, syndrome de Bernard et Soulier, Pseudo-Willebrand plaquettaire, MYH9, VWD 2B) est très encourageante. Tous les patients ont été correctement détectés en utilisant les différents agonistes disponibles (RIPA, ADP, collagène, TRAP, acide arachidonique) sur sang anticoagulé par citrate ou hirudine.
- Le Multiplate® s'avère particulièrement intéressant dans les thrombopathies associées à une thrombopénie. Le chiffre de plaquettes < 70 G/L (plaquettes 20 – 70 G/L) chez 10 patients atteints de VWD 2B, MYH9 ou syndrome de Bernard et Soulier n'a pas empêché une orientation diagnostique correcte reposant notamment sur le résultat de la RIPA.

## **5. Activité VWF : à propos de la nouvelle nomenclature - SSC de l'ISTH par Bodo et al, JTH 2015 (Catherine Ternisien)**

**La mesure de l'activité cofacteur de la ristocétine (VWF :RCo) reste la technique fonctionnelle de référence pour le diagnostic de VWD. Elle évalue la capacité du VWF à interagir avec des plaquettes normales en présence de ristocétine. La ristocétine en se liant à la fois au VWF et à la GPIb plaquettaire induit une agglutination des plaquettes VWF dépendante. La lecture de l'agglutinat se réalise :**

- Sur lame : test de 1<sup>ère</sup> génération
- En agrégométrie : test de 2<sup>ème</sup> génération ou semi automatisé
- Sur automate : test de 3<sup>ème</sup> génération
- Selon des protocoles automatisés (*Readelli, JTH 2005, Hillarp, JTH 2010, Lawrie Haemophilia 2011*) : test de 4<sup>ème</sup> génération

Ce test reste le « gold standard » malgré ses limites de performance (LOD de l'ordre de 10 UI/dl) et la variabilité inter-essai et interlaboratoire qui reste élevée.

**Des tests permettant de s'affranchir des plaquettes mais utilisant la ristocétine ont été développés (VWF:GPIbR).** Ces tests (dénominations fabricants HemosIL VWF:RCo<sup>®</sup> IL, Hemosil<sup>®</sup> AcuStar VWF:RCo<sup>®</sup> IL) utilisent des particules de latex ou des particules magnétiques recouverte d'un Ac monoclonal lié à de la rGP1b $\alpha$  et de la ristocétine. L'agglutination est mesurée en turbidimétrie ou en chimiluminescence.

**D'autres tests fonctionnels évaluant la liaison du VWF à la GP1b plaquettaire et n'utilisant ni plaquettes ni ristocétine ont été développés.** Ils utilisent :

- Soit un ac monoclonal reconnaissant un épitope du VWF contenant le site de liaison à la GP1b $\alpha$  (dénomination fabricant : **HemosIL VWF Act<sup>®</sup> IL** ; nouvelle nomenclature : **VWF :Ab**). La lecture se fait par immunoturbidimétrie.
- Soit une soit une rGP1b $\alpha$  dite « gain de fonction » capable d'induire la liaison spontanée du VWF sans ristocétine (dénomination fabricant: **Innovance VWF:Ac<sup>®</sup> Siemens** ; nouvelle nomenclature : **VWF:GPIbM**). L'agglutination est mesurée en turbidimétrie.

**En résumé,**

<b>Abréviation</b>	<b>Description</b>
<b>VWF:RCo</b>	Activité cofacteur de la ristocétine: utilise plaquettes et ristocétine
<b>VWF:GPIbR</b>	Test basé sur la liaison du VWF en présence de ristocétine à la rGP1b $\alpha$
<b>VWF:GPIbM</b>	Liaison spontanée du VWF à la rGP1b $\alpha$ mutée dite gain de fonction
<b>VWF:Ab</b>	Liaison d'un ac monoclonal (mAb) à un épitope du domaine A1 du VWF



## 6. Dosage du VWF :RCo : expérience de Caen (Agnès Le Querrec et Yohann Repessé )

### 1. Objectifs

Evaluer les performances de différents kits commerciaux pour le dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine du facteur Willebrand (VWF :RCo) :

- réactif ABP VWF :RCo distribué par Stago sur automates STAR et STAR-Max (VWF :RCo)
- réactif HemosIL VWF :RCo de Werfen sur automate ACL 700 (VWF :GP1bR)
- réactif BC Willebrand de Siemens sur automate CS2100i (VWF :RCo)
- réactif Innovance VWF :Ac de Siemens également sur cet automate (VWF :GP1bM).

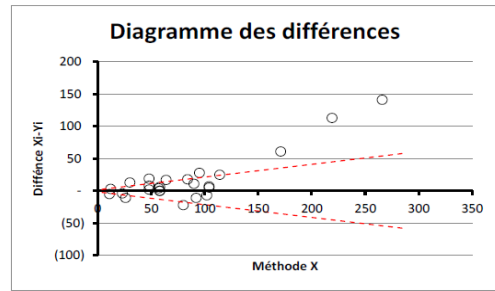
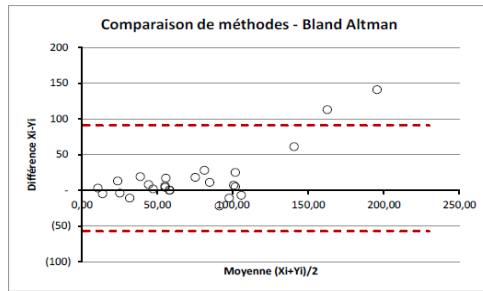
### 2. Echantillons testés

Les analyses ont été réalisées à partir d'une plasmathèque de sujets sains et de patients ayant une maladie de Willebrand constitutionnelle ou acquise bien caractérisée. Les résultats ont été comparés à ceux de VWF:RCo obtenus sur nos agrégomètres (APAC-4004) en utilisant le réactif Von Willebrand (Siemens) comme source plaquettaire et de la ristocétine (Stago).

### 3. Réactif ABP VWF :RCo (Stago/STAR)

Le kit contient 5 flacons : TBS, plaquettes lyophilisées, Ristocétine, plasma standard et un plasma pathologique (contrôle anormal). Le domaine de mesure est compris entre 9 et 160% avec réalisation de dilutions automatiques. Il est possible de réaliser 1 à 4 séries par coffret soit 40 à 60 tests par coffret. La calibration est réalisée par lot et comprend 6 points réalisés en double. L'étude de répétabilité sur 20 mesures du contrôle anormal du kit retrouve les résultats suivants : moyenne=23,2%, écart-type=3,6% et un CV de 15,4%. Une évaluation de la reproductibilité sur 9 mesures retrouve les résultats suivants : moyenne=32,3%, écart-type= 0,7% et un CV de 2,19%.

29 plasmas ont été testés et les résultats ont été comparés à ceux obtenus en agrégométrie. Il existe une bonne corrélation entre les deux méthodes. Les résultats sont représentés ci-dessous (**méthode X** : VWF :RCo en agrégométrie et **méthode Y** : Kit ABP VWF :RCo) sur le diagramme de comparaison de méthode de Bland Altman et le diagramme des différences. Certaines valeurs sont en dehors des limites d'agrément pour des résultats de VWF:RCo supérieurs à 150%.

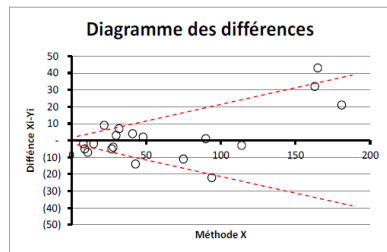


#### 4. VWF:RCo Agreg / autres kits commerciaux VWF :RCo

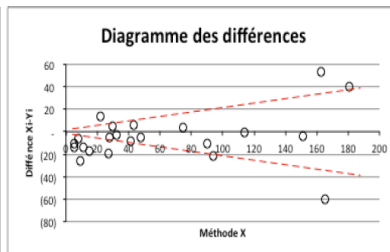
23 plasmas patients ont été testés avec les différents kits commerciaux :

- réactif ABP VWF :RCo sur automate STAR-Max
- réactif HemosIL VWF :RCo sur automate ACL 700
- réactifs BC Willebrand et Innovance VWF :Ac sur automate CS2100i.

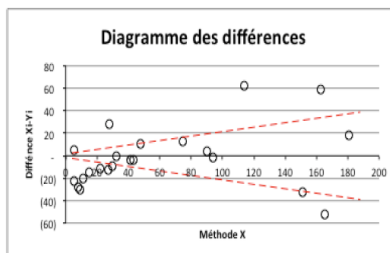
Les résultats ont été comparés aux résultats obtenus en agrégométrie. Les graphiques ci - dessous représentent les résultats de VWF :RCo et les diagrammes des différences pour les 4 méthodes évaluées (**Méthode X** : VWF :RCo en agrégométrie, **méthode Y** : méthode testée).



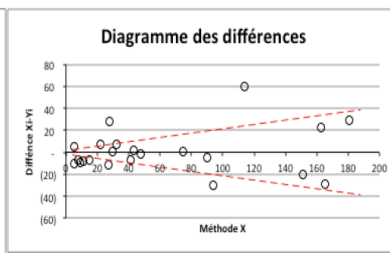
ABP assay (VWF:RCo)



HemosIL (VWF:GP1bR)



VWF reagent (VWF:RCo)



Innovance (VWF:GP1bM)

En conclusion, il apparaît que les 4 méthodes évaluées permettent le diagnostic de déficit en facteur Willebrand (VWF :RCo<50%). Il existe néanmoins d'importantes différences dans les résultats lorsque les rapports activité/Ag sont calculés, notamment sur des plasmas de patients présentant des maladies de Willebrand de

type 2 ou maladies de Willebrand acquises. Une analyse plus détaillée de ces différences en relation avec le type et sous-type de VWD doit être réalisée pour préciser les performances respectives de ces réactifs.

## **7. Critères de sélection et d'évaluation d'un organisme fournisseur d'un programme EEQ (Frédéric Sobas)**

La norme ISO 15189 impose une identification des fournisseurs critiques en terme d'impact sur la qualité analytique des résultats d'examens. Les organismes d'EEQ en renseignant fondamentalement les laboratoires sur l'exactitude de leurs résultats d'examen constituent des fournisseurs critiques. A ce titre la norme impose l'identification de critères de sélection et d'évaluation. Au regard des exigences réglementaires, les critères de sélection d'un organisme d'EEQ proposés sont les suivants :

- Ambition et dynamisme au service de la discipline Hémostase (objectivée par le label ISO 17043 sur les programmes Hémostase)
- Des rapports clairs au regard des exigences de la norme ISO 17043
- Des échantillons respectant au mieux le principe de commutabilité (le plus possible de vrais plasmas de patients) avec notamment des anomalies qualitatives
- Analyse statistique de la performance analytique devant être pondérée par l'utilisation clinique des méthodes
- Activité de formation et non de sanction pour permettre l'amélioration continue
- Appropriation de l'approche de gestion des risques sur l'ensemble du processus de réalisation : pré analytique et post analytique (études de cas)
- Approches de l'analyse des résultats d'EEQ sur le long terme : mise à disposition d'outils adéquats
- Implémentation des logiques de laboratoire unique multisite en termes d'analyse intersite des retours de résultats pour porter une appréciation sur la transférabilité des résultats d'examen en termes d'exactitude

L'évaluation des organismes d'EEQ doit comporter deux volets. Le cœur de métier de l'organisme d'EEQ doit être évalué par les audits annuels selon la norme ISO 17043 dont les préconisations sont considérées comme pertinentes par la norme ISO 15189. Par ailleurs le niveau de satisfaction de chaque utilisateur est rendue possible

par la formalisation d'une logique commune d'interprétation des retours de résultats d'EEQ prenant en compte l'ensemble des parties intéressées : les laboratoires, l'organisme d'EEQ et les industriels.

## **8. Hémophilie A acquise dans la petite enfance : à propos d'un cas (Dominique Lasne)**

### **9. Le point sur les protocoles**

#### **– Validation des FVIII et FIX chromogènes Hyphen Biomed**

Les objectifs de cette étude sont d'évaluer les performances des méthodes chromogéniques automatisées des réactifs Biophen<sup>®</sup> FVIII et Biophen<sup>®</sup> FIX, sur 4 automates différents dans 7 sites hospitaliers : STA-R<sup>®</sup> (Lille et Brest), BCS<sup>®</sup> XP (Montpellier et Saint-Etienne), ACL TOP<sup>®</sup> (Nantes et Nice), CS-5100/2100<sup>®</sup> (Eaubonne), par comparaison aux méthodes coagulantes en 1 temps pour chacun des automates (CKPrest pour Stago, Actin FS pour Siemens, SynthASil pour Werfen). Les échantillons testés sont répartis comme suit :

- Groupe patients (n=50): hémophiles A ou B, patients avec taux <70%, hémophiles traités, patients sous AVK, dont 25 plasmas < 30% et 25 plasmas entre 30 et 70%
- Groupe témoins (n=50) avec taux de FVIII ou FIX entre 70 et 120%

La durée initiale de l'étude est prévue de septembre à décembre 2015

#### **– Registre des anti-FV (RAVI, Registry and biological characterization of Acquired factor V Inhibitors)**

Projet présenté par Annabelle Dupont lors du GEHT de Grenoble dans le groupe de travail Protocoles multicentriques. Les équipes porteuses sont les services de médecine interne et d'hématologie biologique de l'hôpital Bichat, Paris et le service d'hémostase et transfusion du CHRU de Lille.

Ce registre qui comportera une échantillothèque, est une opportunité pour travailler à une méthode Bethesda « standardisée » en complément de l'étude chauffage déjà réalisée.

- **Projet d'étude multicentrique sur le titrage d'un anti-VIII de titre faible : impact du tampon de dilution, et influence du tamponnage du plasma titré source de FVIII : protocole en cours de rédaction (Christophe Nougier, Claire Pouplard).**

Ce projet d'étude multicentrique est en cours de rédaction et devrait débuter en Janvier 2016.

- **Projets d'étude pour le dosage de FVIII et FIX long-acting**

Concernant les dosages des facteurs VIII et IX, il existe en France une grande hétérogénéité des pratiques (automates différents et grande diversité des réactifs utilisés). Un des objectifs du club des biologistes en hémostase est d'anticiper dans nos laboratoires les dosages du FVIII, FIX chez les patients traités par les « long acting ». Pour cela, la mise en place d'études multicentriques est nécessaire. Des contacts ont été pris auprès des laboratoires pharmaceutiques pour initier ces études. A suivre...