

**Compte rendu de la 17^{ème} journée du
Groupe d'Etude de la biologie des maladies hémorragiques (BIMHO)**

Cette réunion s'est tenue le 21 Juin 2019 et a rassemblé 34 biologistes.

1. Traitement par emicizumab (HEMLIBRA[®]) : impact sur les tests et surveillance biologique de l'hémostase (C Nougier, Lyon)

L'emicizumab est un anticorps monoclonal humanisé bispécifique capable de restaurer dans une certaine mesure la fonction du FVIII activé (FVIIIa) déficitaire chez les hémophiles A. Il représente une avancée thérapeutique majeure dans la prise en charge des hémophiles, en assurant une prophylaxie efficace. Aucune adaptation de posologie n'est nécessaire, ce qui induit un changement majeur pour les patients habitués à une surveillance biologique régulière de l'hémostase indispensable avec les produits de substitution.

Toutefois, dans certaines circonstances, comme avant un geste invasif ou en cas d'hémorragie, le recours à la biologie sera nécessaire. L'interférence de l'emicizumab sur les tests d'hémostase, notamment ceux dont le principe est basé sur un temps de céphaline avec activateur (TCA), doit être connue pour interpréter au mieux les examens réalisés, et pour choisir les méthodes les mieux adaptées pour guider la thérapeutique. Ainsi, la disparition complète de l'allongement du TCA sous emicizumab ne suffit pas à considérer l'hémostase comme normalisée. En cas d'administration de FVIII chez un patient recevant ou ayant reçu de l'emicizumab, le dosage du FVIII et le titrage d'un inhibiteur devront employer une méthode chromogénique utilisant des réactifs d'origine animale. L'utilisation des tests globaux, comme la thromboélastographie et le test de génération de thrombine, a été proposée pour évaluer la réponse biologique lors de l'utilisation d'agents by-passants chez des patients traités par emicizumab, mais ces résultats doivent être confirmés.

**2. Dosage du FIX chez les personnes avec Hémophilie B traitées par rFIX-Fc :
Valérie Proulle (Bicêtre)**

Objectif de l'étude : Evaluer la concordance entre différentes méthodes OSA et CSA pour le dosage du FIX chez les personnes avec Hémophilie B traitées par rFIX-Fc (Alprolix[®]) dans le laboratoire d'Hémostase de l'Hôpital du Kremlin Bicêtre

But : Optimiser la surveillance et la prise en charge des personnes avec Hémophilie B traitées par rFIX-Fc (Alprolix[®])

Matériel et méthodes :

- Etude monocentrique, pendant 6 mois
- Echantillons plasmatiques : n=171 provenant de 20 personnes Hémophiles B sévère (3-60 ans) recevant un traitement par Alprolix[®]
- Comparaison des méthodes de dosage locales :

FIX:C CSA vs FIX:C OSA dans
le laboratoire d'Hémostase de l'Hôpital du Kremlin Bicêtre

<p>Dosage FIX OSA CK-Prest® (CK)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Automatisé : STAR-Max®, Stago • Disponible 24/24h et 7/7j • Peu coûteux • Simple • Rapide • Réactifs : plasmas déficients immuno-déplétés, • Activateur : kaolin, • PL : lapin 	<p>Dosage FIX OSA STA-Cephascreen® (CFS)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Automatisé : STAR-Max®, Stago • Disponible 24/24h et 7/7j • Moins coûteux vs CSA • Plus coûteux vs CK (x3) • Simple • Rapide • Réactifs : plasmas déficients immuno-déplétés, • Activateur : polyphénols, • PL : lapin 	<p>Dosage FIX CSA RoxFactorIX®, Rossix</p> <ul style="list-style-type: none"> • Automatisé : CS-5100®, Siemens • Disponible uniquement heures ouvrables (env / 2 semaines) • Onéreux (x12 vs CK, x3,6 vs CFS) • 40% plus long • Réactifs : facteurs d'origine humaine, • PL synthétiques
---	--	---

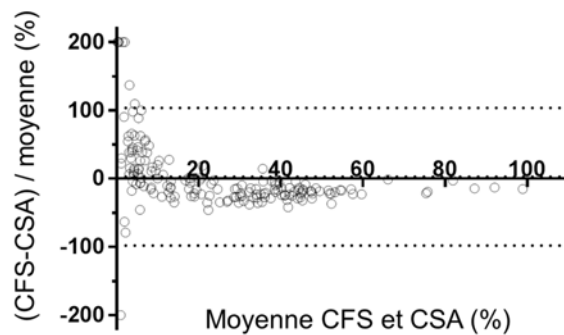
- Méthode CSA :
 - FIX:C, RoxFactorIX®, Rossix, CS-5100®, Siemens
 -
- Méthode OSA :
 - STA-CK-Prest®, STA-ImmunodefFIX®, Stago
 - STA-Cephascreen® (CFS), STA-ImmunodefFIX®, Stago
 - STAR-Max®, Stago
- Analyse statistique :
 - Régression de Deming / Bland-Altman / erreurs absolues et relatives

Résultats :

Comparés aux FIX CSA, avec l'analyse de Deming :

- les dosages de FIX CK sont 40% plus bas en moyenne, avec une erreur relative d'environ 46-55% sur toute la zone de mesure : résultats conformes à la littérature qui mentionne une sous-estimation des dosages en OSA avec STA-CK-Prest®. **La méthode de dosage OSA en STA-CK-Prest® est inutilisable chez ces patients.**
- Les dosages de FIX CFS sont 23% plus bas en moyenne. La différence relative varie de 20-23% dans la zone 10-110%, ce qui est actuellement considéré comme une erreur cliniquement acceptable lors de la surveillance des patients traités par produits substitutifs (cf Kitchen *et al.* ; Peyvandi *et al.*). Dans la zone 1-10%, l'erreur relative est de 46-53%. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de Bland-Altman :

Représentation de Bland-Altman : CFS vs CSA



Néanmoins, les études sur échantillons surchargés suggèrent que la précision des dosages par la méthode CSA n'est pas optimale dans la zone 1-10%. Dans cette zone, le dosage par méthode OSA avec CFS sur STAR-Max est probablement plus précis que le dosage en chromogénique.

En conclusion, cette étude monocentrique « field study » confirme l'importance du choix du couple réactif/automate pour assurer la fiabilité des résultats utilisés pour l'ajustement thérapeutique,

- grâce à une méthode disponible 24/24h 7/7j, simple, automatisée,
- utilisable dans les situations d'urgence,
- $\approx 40\%$ plus rapide que la méthode CSA
- ≈ 4 fois moins onéreuse que la méthode CSA

pour *in fine* optimiser la prise en charge des personnes avec Hémophilie B sévère sans impacter démesurément les coûts institutionnels publics.

3. Les différences acceptables : étude pour la caractérisation de l'incertitude de mesure maximale acceptable dans l'exploration biologique de l'hémophilie en contexte chirurgical: Valérie Eschwege (Nancy), Christophe Nougier (Lyon), Felipe Guerrero (Toulouse)

Introduction

La différence de mesure est une réalité courante en biologie médicale. Cette variabilité peut modifier l'interprétation clinique et aboutir à des erreurs dans la conduite à tenir. Pourtant, la variabilité maximale acceptable est mal caractérisée.

Le seuil d'acceptabilité de cette variabilité est habituellement défini d'après la variabilité observée dans les laboratoires et non par rapport au risque d'erreur d'interprétation clinique. Des coefficients de variation de 25-30% sont considérés comme acceptables par les auteurs (1). Dans ces conditions il n'est pas possible de définir si les méthodes chromogènes et chromométriques sont équivalentes.

L'objectif de ce travail est de proposer des bases théoriques pour associer la variabilité analytique et le risque d'erreur dans l'interprétation d'un résultat, et de faire un état des pratiques récentes sur les seuils de décision clinique et sur les

coefficients de variabilité (CV) des laboratoires. Ceci dans le contexte de la surveillance biologique de l'hémophilie.

Du point de vue théorique, notre analyse suggère que les différences acceptables dépendent de la valeur seuil cliniquement acceptable, du niveau d'hétérogénéité des pratiques cliniques pour définir cette valeur seuil, de la position de la valeur seuil dans le domaine de mesure, de la distance entre le résultat observé et la valeur seuil et du CV des résultats.

Du point de vue pratique,

- Une évaluation récente des pratiques (enquête 2019) suggère que les principaux seuils d'interprétation clinique utilisés pour l'adaptation des doses de concentrés sont de 50% pour les chirurgies à faible risque hémorragique et de 80% pour les chirurgies à risque élevé. Cependant il apparaît une hétérogénéité significative des pratiques.
- L'analyse des CV intra-laboratoire (2) et d'EEQ (ECAT 2018) pour le facteur VIII montre que le CV varie en fonction du taux de facteur VIII en mono et en multicentrique (courbe en U) sans biais systématique entre méthodes chronométrique et chromogène.
- Sur les plasmas de patients traités par ELOCTA (C. NOUGIER), la méthode chronométrique sous-estime d'environ 20% de façon quasi-systématique les résultats de facteur VIII par rapport à la méthode chromogène.

En conclusion,

- Selon cette approche, un coefficient de variation de 30% augmente de façon excessive le risque d'erreur d'interprétation et ne semble pas acceptable.
- Un biais supplémentaire de 20% entre méthodes chronométrique et chromogène n'est donc pas acceptable dans le contexte chirurgical des personnes avec une hémophilie.
- Ces résultats doivent être confirmés de façon formelle dans une approche expérimentale.

Références

(1). Kitchen et al. Semin Thromb Hemost 2017 (2). Sobas et al. Blood Coagul Fibrinolysis 2008.

4. Recommandations préanalytiques du GFHT : Claire Flaujac (Versailles)

Ces recommandations sont accessibles sur le site du GFHT.

5. Nouveautés ECAT dans le traitement des résultats d'EEQ : Frédéric Sobas (Lyon)

Depuis la création de l'ex club des biologistes hospitaliers en Hémostase, une tribune a toujours été offerte à la thématique « démarche qualité / gestion durable / accréditation selon les exigences de la norme ISO 15189 et du SH Ref 02 ». Beaucoup d'aspects analytiques ont été évoqués et présentés allant de la problématique du calcul des incertitudes de mesure, en passant par l'important travail autour de la qualité prévue évoquée par la norme selon le modèle 3 de la conférence de consensus de Milan (recos GHFT) et l'intérêt du paradigme bayésien dans la gestion des CIQ. En ce 1^{er} semestre de l'année 2019, à l'échelon national

autour de la révision du SH Ref 02 se pose la question d'une gestion globale efficiente des CIQ et EEQ dans un contexte difficile de différents conflits d'intérêt. F Sobas met en avant le fait qu'avant de parler de tel ou tel outil statistique pour gérer les résultats de CIQ et de d'EEQ, il faut poser une dialectique globale de gestion des CIQ et EEQ. La dialectique proposée s'adosse à la notion élémentaire de COMPLEMENTARITE entre l'information apportée par les plans de CIQ et celle apportée par les plans d'EEQ. Il y a complémentarité au sens où le couple CIQ – EEQ a vocation à identifier les effets délétères respectivement des facteurs de confusion INTERNES et EXTERNES capables d'induire une perte de maîtrise des méthodes. Une perte de maîtrise de méthode au sens entendu par les statisticiens experts en maîtrise statistique des procédés peut être de nature TRANSITOIRE mais brutale avec potentiellement un fort impact sur le patient (OUTLIERS). Une perte de maîtrise toujours au sens entendu par les statisticiens experts en maîtrise statistique des procédés peut être de nature PERSISTANTE dans le temps avec un réel CHANGEMENT STRUCTUREL de la méthode induisant une dérive sur les valeurs de SD de FI et ou de moyenne dans les cartes de contrôle (chapitre 5.6.2.3 de la norme), étant entendu que l'on pose dans ses cartes de contrôle ses propres valeurs de moyenne et de SD de FI pour une effective maîtrise statistique des procédés (il y a des inférences statistiques inhérentes à chaque passage de CIQ). Il peut être ainsi décliné une définition claire de ce qui est attendu de la part des plans de CQ (CIQ et EEQ) : une aptitude à détecter les OUTLIERS et les TENDANCES sur respectivement les valeurs de SD de FI et de moyenne dans les cartes de contrôle pour statuer fondamentalement sur l'existence ou pas d'un accroissement de l'erreur aléatoire et ou de l'erreur systématique autour de la QUALITE PREVUE. La qualité prévue ne peut être mise sous contrôle qu'à la condition que CIQ et EEQ soient alignés sur un même objectif. Les EEQ orientent la définition de la qualité prévue : la performance du laboratoire au regard de l'état de l'art en termes de performance dans son groupe de pairs soit le modèle 3 de la conférence de consensus de Milan (recos du GHFT). Les CIQ ont vocation à vérifier la stabilité (absence d'accroissement de l'erreur aléatoire et de l'erreur systématique) des méthodes entre deux exercices consécutifs d'EEQ. C'est une dialectique qui s'applique à proposer la meilleure réponse autour de toutes les questions physiopathologiques posées sur les résultats d'examen.

Dans ce contexte il est ré expliqué l'intérêt d'une analyse bivariée des résultats d'EEQ par l'organisme d'EEQ choisi. Il est en effet possible d'identifier si un laboratoire est confronté via ses retours d'EEQ à un problème d'accroissement de l'erreur aléatoire et ou d'erreur systématique notamment liés à des facteurs EXTERNES :

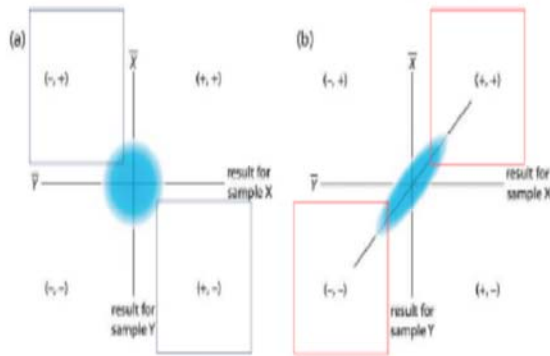


Figure 1. Typical Youden plots when (a) random errors are significantly larger than systematic errors due to the analysts and (b) when systematic errors due to the analysts are significantly larger than the random errors [126].

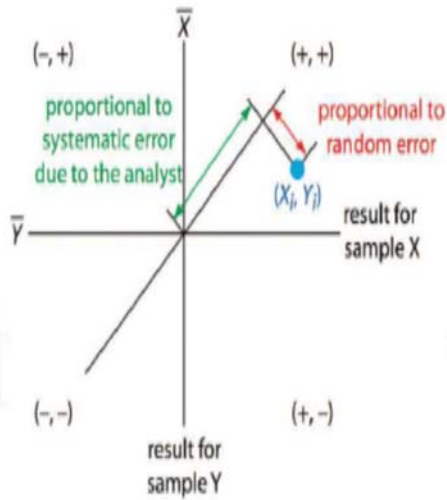


Figure 2. Relationship between the result for a single laboratory (in blue) and the contribution of random error (red arrow) and the contribution from the laboratory's systematic error (green arrow) [126].

Rappel intérêt de l'analyse bivariée :

Classement des anomalies

- Accroissement erreur aléatoire ?

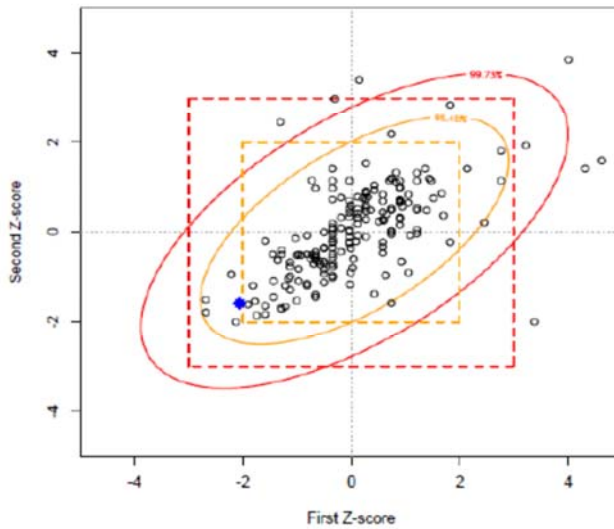
Imprecision

- Accroissement du biais ?

Biais

Il est ensuite présenté l'intérêt du Hotelling pour cette analyse bivariée :

Nouveautés ECAT dans le traitement des EEQ



How to evaluate your z-score?

Panagiotis Tsiamyrtzis ¹ Frederic Sobas ²

¹Dept. of Statistics, Athens University of Economics and Business
pt@aeub.gr

²Hospices Civils de Lyon
frederic.sobas@chu-lyon.fr

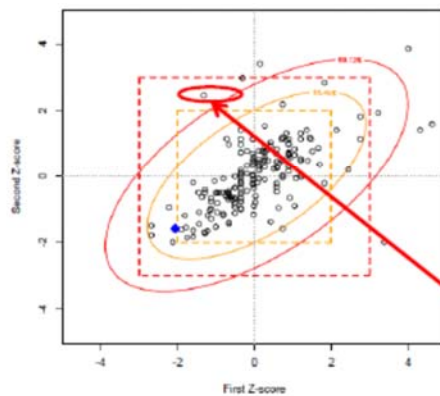
Leiden, 9 November 2018

Passer du « carré » à « l'ellipse » améliore la performance en terme d'interprétation

Carré : des résultats indépendants l'un de l'autre

Ellipse : des résultats dépendants cad qui « bougent » dans le même sens (si survient un souci à type de dérive)

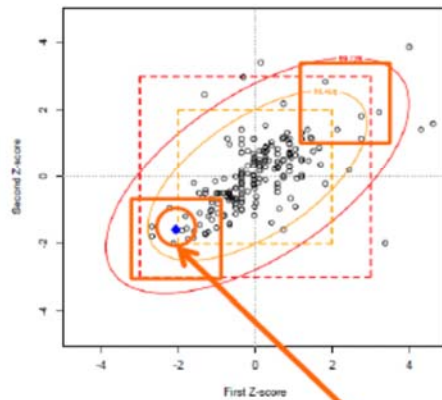
Nouveautés ECAT dans le traitement des EEQ



Y and H red cards :
5 vs 6

Même performance sur les cartons **rouges** à une exception près identifiée
par l'analyse bivariée : ce laboratoire a un **réel** problème de **PRECISION**
dans sa méthode (**quadran - / +**)

Nouveautés ECAT dans le traitement des EEQ

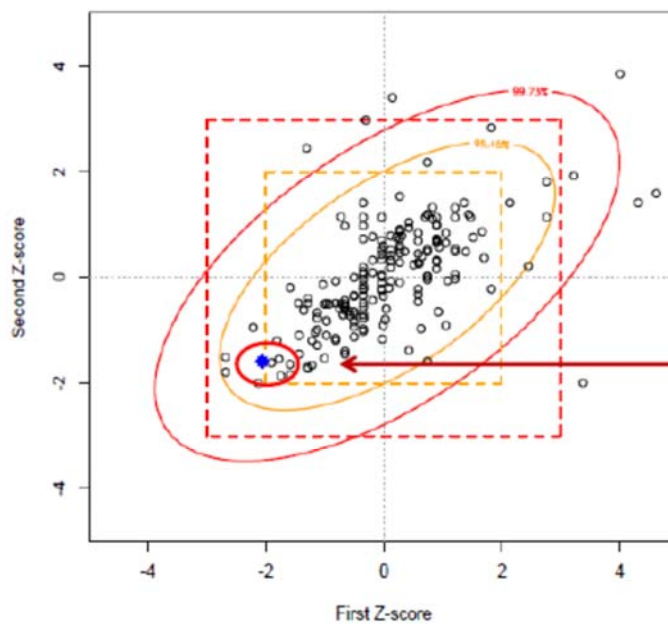


Y and H orange cards :
13 vs 3

Réduction du nombre de laboratoires « **questionnables** » en analyse bivariable (comme c'est le cas pour le labo de Lyon)

10 laboratoires passent de **orange** à **vert** !

Nouveautés ECAT dans le traitement des EEQ



Le stimulus avant l'audit Cofrac : 1^{ère} éval anti VIII colo !

18.162 :
Rendu : 0.9 UB/ml
ECAT a priori à 2.8 UB/ml
Assigned value : 2.2 UB/ml

18.163 :
Rendu : 10 UB/ml
ECAT a priori à 6.5 UB/ml
Assigned value : 24 UB/ml

n = 184 retours en anti VIII

Nouveautés ECAT dans le traitement des EEQ

Morale de l'histoire :

on gagne en efficience en termes d'analyse des causes sur EEQ par analyse bivariée en mode Hoteling

une analyse bien on line CIQ / EEQ (modèle 3)

- Accroissement de la variance de la méthode ?
- Accroissement de l'erreur systématique de la méthode ?

Et ceci qqsoient les spécifications clinicobiologiques sous jacentes

6. Titrage des anti - FVIII : analyse de l'ECAT en fonctions des réactifs utilisés : *Dominique Lasne (Necker)*

Lors de la réunion du club des biologistes du 15 Juin 2018, les résultats de comparaison de méthodes de recherche et de titrage d'anti-FVIII obtenus avec la combinaison « déficient FVIII Siemens et l'aPTT-SP Werfen » versus la combinaison « déficient Werfen et réactif de TCA SynthasIL » réalisés à l'hôpital Necker ont été présentés. Les taux résiduels de FVIII étaient plus élevés avec la combinaison Werfen conduisant à des titres d'inhibiteurs plus faibles. Le rôle du facteur Willebrand présent dans le déficient Siemens a été évoqué. Il a donc été décidé de contacter l'ECAT qui nous a fourni une analyse détaillée des résultats des exercices 2018 : cette analyse ne montre pas de différence significative du titrage de l'anti-VIII en fonction des fournisseurs de déficient. Malheureusement, l'analyse n'était pas possible par référence de déficient ce qui aurait été plus informatif. De plus, aucune information n'était disponible concernant la réalisation d'une méthode chromométrique ou chromogénique.

Des résultats de comparaison des méthodes chromométrique et chromogénique sur des échantillons de plasma provenant de patients hémophiles et de contrôles de qualité ont été ensuite présentés. Alors que les résultats obtenus à partir de plasmas de patients sont comparables avec les 2 méthodes, il existe des différences importantes sur les échantillons lyophilisés des exercices 2018 et 2019 de l'ECAT et sur le contrôle interne lyophilisé Technoclone. Les titres d'inhibiteurs sont systématiquement et significativement plus faibles (environ 50%) quand une technique chromogénique est utilisée quelle que soit l'origine du réactif (humain ou non humain). L'utilisation de plasma contenant un anticoagulant de lupique pour diluer les contrôles a été discutée et la question va être posée à l'ECAT.

7. Confrontation inter-laboratoire VWF :FVIII (Emmanuelle Jean Pierre)

Le test de liaison du VWF au FVIII (VWF :FVIII) est réalisé par 11 laboratoires en France et il est inscrit sur la liste complémentaire, ce qui implique son accréditation. Il n'existe pas d'EEQ (ce test est quasiment exclusivement utilisé en France). Une première confrontation inter laboratoire (CIL) avait été réalisée en 2017 (présentation des résultats par C Caron à la 13^{ème} réunion du Club des bios en juin 2017), pour tester sa faisabilité. Il est souhaitable de mettre en place cette CIL de façon pérenne. Nous proposons que cette CIL soit annuelle et porte sur 3 échantillons. Il est proposé que l'ensemble des laboratoires qui réalise cette analyse préparent, chacun leur tour, 11 aliquots de 3 plasmas sélectionnés. Le laboratoire en charge de la sélection envoie aux 10 autres centres, les aliquots des 3 plasmas sélectionnés (normal, hétérozygote, homozygote, hétérozygote composite...) et identifiés par une lettre. Cependant, Lille disposant des outils nécessaires à l'analyse des données, (calcul des z'-scores), les résultats seront à envoyer à Lille, et nous effectuerons cette analyse après réception de l'ensemble des résultats ; chaque centre est identifié, pour le rendu des résultats, par un numéro qui est défini de façon aléatoire et connu de lui seul. Lille propose de commencer, avec un envoi des échantillons en fin d'année (novembre probablement). Ensuite, je vous propose de suivre un ordre alphabétique : Besançon, Bicêtre, Bordeaux, Brest, Grenoble, Lariboisière, Lille, Lyon, Rennes, Rouen, Toulouse.

8. Le point sur les protocoles (Claire Pouplard, Catherine Ternisien)

- Une étude multicentrique évaluant l'impact du réactif TCA sur le dosage de l'Adynovi[®] est actuellement en cours.
- Une étude prospective, multicentrique, sur l'intérêt du dosage de l'HEMLIBRA[®] est proposée :
 - o selon les résultats de l'étude Haven 1, les taux d'HEMLIBRA[®] en circulation semblent stables à partir de la 5^{ème} semaine de traitement et compris entre 40 et 80 µg/ml.
 - o l'expérience des centres de Necker et de Lyon souligne des variations intra individuelles importantes au cours du temps et non associées à une symptomatologie hémorragique. De plus, certains patients peuvent présenter des concentrations inférieures à 40 µg/ml au-delà de la 10^{ème} semaine de traitement, tout en conservant une bonne efficacité du médicament.
 - o l'absence de données longitudinales sur une grande cohorte de patients ne nous permet pas de proposer une interprétation bioclinique des dosages d'HEMLIBRA[®].
 - o dans ce contexte, le groupe BIMHO propose une évaluation multicentrique des concentrations circulantes d'HEMLIBRA[®] chez des patients hémophiles A traités.
 - o Un projet d'évaluation des pratiques professionnelles sera déposé au CHRU de Tours.
 - o Le dosage pourra être effectué localement ou de façon centraliser si le centre ne souhaite pas mettre au point la technique.
 - o Une feuille de recueil de renseignements devra également être complétée.

- L'étude se fera dans le cadre d'un RIPH3, hors loi Jardé.
- Cela nécessite un dépôt du dossier CNIL, dossier comité d'éthique en CPP (point à clarifier), information du patient. Le dossier sera déposé au CHRU de Tours.
- Il est donc nécessaire que les centres souhaitant participer à cette étude le signalent à C.Ternisien ou C.Pouplard. En pratique, lors de chaque consultation, un aliquot de plasma du patient sera conservé afin de réaliser le dosage l'HEMLIBRA® par méthode chromométrique. Une durée des inclusions sur 2 années est prévue.