

Chapitre 3 DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE

Steve Kitchen, Francisco de Paula Careta, Silmara A. de Lima Montalvão, Emna Gouider, Radoslaw Kaczmarek, Claude T. Tagny, Pierre Toulon, Glenn F. Pierce, Alok Srivastava

RECOMMANDATIONS

3.1 | Introduction

Recommandation 3.1.1

La FMH recommande que les tests de diagnostic et de contrôle de l'hémophilie soient effectués par un personnel ayant des connaissances et une expertise des tests de coagulation en laboratoire, à l'aide d'équipements et de réactifs validés à cet effet.

• REMARQUE : les détails des tests de laboratoire pour le diagnostic et le contrôle de l'hémophilie sont décrits dans le Manuel de laboratoire de la FMH. ^{BC}

3.2 | Tests réalisés par les laboratoires d'analyse de la coagulation

Recommandation 3.2.1

• En vue du prélèvement d'un échantillon de sang visant à déterminer le temps de prothrombine (TP), le temps de céphaline activée (TCA ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX, la FMH conseille aux patients atteints d'hémophilie de conserver leur régime alimentaire, le fait d'être à jeun étant inutile avant la prise de sang.

• REMARQUE : des taux élevés de lipides dans le plasma peuvent affecter la détermination des temps de coagulation en cas d'utilisation d'un coagulomètre à lecture optique. ^{BC}

Recommandation 3.2.2:

En vue du prélèvement d'un échantillon de sang visant à déterminer le TCA (ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX, la FMH recommande que les patients atteints d'hémophilie évitent de pratiquer des exercices exténuants avant la prise de sang.

• REMARQUE : des exercices exténuants ou le stress peuvent provisoirement augmenter l'activité du facteur VIII chez les patients atteints d'hémophilie A mineure dans l'intervalle de référence normal ; par conséquent, les patients doivent se reposer quelques minutes avant la ponction veineuse. ^{BC}

Recommandation 3.2.3:

Pour le diagnostic et la surveillance de l'hémophilie A et B, la FMH recommande que les échantillons sanguins soient immédiatement étiquetés avec le prénom et le nom du patient, un numéro d'identification ou une date de naissance, et la date et l'heure du prélèvement. Cela doit être fait en présence du patient.

• REMARQUE : aucun consensus n'a été trouvé pour déterminer si l'étiquette doit être apposée juste avant ou juste après la prise de sang. ^{BC}

Recommandation 3.2.4:

La FMH recommande que les échantillons sanguins visant à déterminer le TP, le TCA (ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX soient prélevés dans des tubes de citrate contenant une solution aqueuse de citrate trisodique dihydraté de 0,105 M à 0,109 M (concentration de 3,2 % environ), fermés pendant le traitement et conservés entre 18 et 25°C pendant le transport et le stockage. Les échantillons doivent être centrifugés à température ambiante pendant au moins dix minutes à un minimum de 1 700 g, traités dans les huit heures suivant le prélèvement (quatre heures pour le FVIII:C) ou conservés à au moins -35°C.

• REMARQUE : il faut éviter de stocker les échantillons de sang total citraté entre 2 et 8°C dans la mesure où cela peut entraîner une baisse de l'activité du facteur VIII.

• REMARQUE : les échantillons de plasma pauvre en plaquettes (PPP) peuvent être conservés à -35 °C jusqu'à trois mois et à -70 °C jusqu'à six mois avant tout test visant à déterminer l'activité du facteur VIII ou IX. Le stockage du PPP à -20 °C n'est généralement pas approprié. Les congélateurs à dégivrage automatique ne doivent pas être utilisés pour stocker le PPP avant de procéder aux tests visant à déterminer le TP, le TCA (ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX. ^{BC}

Recommandation 3.2.5:

La FMH recommande que les échantillons sanguins visant à déterminer le TP, le TCA (ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX soient rejetés et remplacés si le tube de prélèvement contient moins de 80 % de volume cible.

• REMARQUE : si le tube de prélèvement contient entre 80 et 90 % de volume cible, les résultats obtenus par certaines méthodes peuvent alors présenter une prolongation du TP et du TCA (ou APTT), ou une réduction mineure de l'activité du facteur VIII ou IX. ^{BC}

Recommandation 3.2.6:

La FMH recommande que les échantillons sanguins visant à déterminer le TCA (ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX soient rejetés et remplacés si une hémolyse ou une coagulation in vitro s'est produite au cours du prélèvement et du traitement de l'échantillon.

• REMARQUE : l'impact de l'hémolyse in vitro sur le TP est insuffisant pour affecter la prise en charge du patient.

• REMARQUE : les échantillons provenant de patients atteints d'hémolyse in vivo ayant été prélevés aux fins de déterminer le TP, le TCA (ou APTT), ou l'activité du facteur VIII ou IX peuvent être acceptés et analysés. ^{BC}

Chapitre 3 DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE

Recommandation 3.2.7:

Pour l'examen en laboratoire des patients évalués en raison d'une suspicion d'hémophilie A, la FMH recommande que le temps de prothrombine soit également évalué en utilisant un réactif contenant du facteur tissulaire humain.

• REMARQUE : l'hémophilie A est parfois exclue malgré les signes cliniques de sa présence. Il s'agit parfois d'autres déficits en facteur. Certains patients atteints de déficit en facteur VII établi peuvent présenter des symptômes semblables à ceux d'une hémophilie mineure, mais parfois avec un TP et une activité du facteur VII dans la norme, si le réactif utilisé contient du facteur tissulaire non humain, ce qui peut entraîner une erreur de diagnostic. ^{BC}

Recommandation 3.2.8:

Pour l'examen en laboratoire des patients évalués en raison d'une suspicion d'hémophilie, la FMH recommande qu'un TCA (ou APTT) situé dans l'intervalle de référence normal n'exclue pas la présence d'une hémophilie A ou B mineure.

• REMARQUE : parfois, en cas d'hémophilie A ou B mineure, le TCA (ou APTT) peut se situer dans l'intervalle de référence normal. ^{BC}

Recommandation 3.2.9:

La FMH recommande qu'un TCA (ou APTT) situé dans l'intervalle de référence normal obtenu à partir d'un échantillon contenant un mélange à volume égal d'un pool de plasma normal et de plasma du patient et analysé immédiatement après la préparation du mélange ne soit pas utilisé pour exclure la présence éventuelle d'un inhibiteur du facteur VIII.

• REMARQUE : le TCA (ou APTT) d'un mélange à volume égal d'un pool de plasma normal et de plasma du patient peut être considérablement prolongé après une période d'une à deux heures d'incubation à 37°C si l'échantillon du patient contient un inhibiteur anti-FVIII neutralisant. ^{BC}

Recommandation 3.2.10:

Pour l'examen en laboratoire des patients évalués en raison d'une suspicion d'hémophilie A, la FMH recommande d'utiliser à la fois le dosage en un temps du facteur VIII et le dosage chromogénique du FVIII:C dans le bilan diagnostique initial.

• REMARQUE : les deux tests doivent être effectués même si le résultat de l'un des deux tests montre une activité du facteur VIII située dans l'intervalle de référence normal.

• REMARQUE : le dosage en un temps du facteur VIII nécessite l'utilisation de plasma dépourvu de facteur VIII contenant moins de 1 UI/dl (< 1 %) d'activité du facteur VIII et des niveaux normaux d'autres facteurs de coagulation pouvant affecter le TCA (ou APTT) (fibrinogène, FII, FV, FIX, FX, FXI, FXII, prékallitréine et kininogène de haut poids moléculaire). ^{BC}

Recommandation 3.2.11:

Pour l'examen en laboratoire des patients évalués en raison d'une suspicion d'hémophilie B, la FMH recommande d'utiliser le dosage en un temps du facteur IX dans le bilan diagnostique initial.

• REMARQUE : les données actuellement disponibles sont insuffisantes pour émettre une quelconque recommandation sur le rôle du dosage chromogénique du facteur IX dans le bilan diagnostique initial de l'hémophilie B.

• REMARQUE : le dosage en un temps du facteur IX nécessite l'utilisation de plasma dépourvu de facteur IX contenant moins de 1 UI/dl (< 1 %) d'activité du facteur IX et des niveaux normaux d'autres facteurs de coagulation pouvant affecter le TCA (ou APTT) (fibrinogène, FII, FV, FVIII, FX, FXI, FXII, prékallitréine et kininogène de haut poids moléculaire). ^{BC}

Recommandation 3.2.12:

Pour les dosages de facteur VIII ou IX en un temps ou chromogéniques, le plasma de référence/étalon, qu'il soit commercial ou préparé localement, doit être étalonné en unités internationales (c'est à dire par rapport à la norme internationale appropriée de l'OMS).

• REMARQUE : les résultats doivent être indiqués en UI/ml ou en UI/dl.

• REMARQUE : en principe, le pourcentage est l'unité privilégiée pour indiquer l'activité, lorsque le dosage est effectué en utilisant comme plasma de référence le pool de plasma normal dont l'activité ne peut être étalonnée selon une quelconque norme internationale de l'OMS. ^{BC}

Recommandation 3.2.13:

Pour l'examen en laboratoire en raison d'une suspicion clinique d'hémophilie en utilisant des dosages de facteur VIII ou IX en un temps, la FMH recommande au moins trois dilutions différentes du plasma de référence et de l'échantillon test en cours d'analyse.

• REMARQUE : les résultats des dilutions du plasma de référence et de l'échantillon test doivent être comparés par analyse parallèle. Une des façons de procéder est de calculer le coefficient de variation (CV) des trois résultats en utilisant l'équation suivante : $CV = ([\text{écart type/moyenne}] \times 100)$. Si le coefficient de variation est inférieur à 15 %, il faut alors indiquer la moyenne des trois résultats. Si le coefficient est supérieur à 15 %, il convient d'examiner minutieusement les résultats. La présence d'inhibiteurs pathologiques des facteurs de coagulation ou d'anticoagulants de type lupique peut interférer avec certains dosages de facteur VIII ou IX en un temps. Certains anticoagulants thérapeutiques peuvent également interférer. Dans tous les cas, l'activité des facteurs augmente au cours du test au fur et à mesure de la dilution du plasma. L'activité du facteur est sous estimée lorsque le plasma est moins dilué, et un résultat d'activité plus précis est obtenu lorsque le plasma à tester est plus dilué. ^{BC}

Chapitre 3 DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE

Recommandation 3.2.14:

Dans les populations avec un anticoagulant de type lupique, la FMH recommande d'utiliser des réactifs visant à mesurer le TCA (ou APTT) ne réagissant pas aux anticoagulants lupiques afin de réaliser des dosages de facteur VIII ou IX en un temps. ^{BC}

Recommandation 3.2.15:

Pour tous les dosages de facteur VIII ou IX en un temps, il convient de n'utiliser que les temps de coagulation des dilutions de l'échantillon test situés dans l'intervalle de référence de la courbe d'étalonnage pour calculer l'activité du facteur VIII ou IX dans l'échantillon test.

• REMARQUE : lors de l'analyse d'échantillons tests provenant de patients atteints d'hémophilie A ou B sévère ou modérée, il peut être nécessaire de disposer d'une courbe d'étalonnage étendue ou séparée. Il n'est pas acceptable d'étendre simplement la courbe d'étalonnage par extrapolation sans analyser les autres dilutions du plasma étalon. ^{BC}

Recommandation 3.2.16:

Pour tous les dosages de facteur VIII ou IX, il convient d'inclure un échantillon de contrôle de la qualité interne pour chaque lot d'échantillons tests analysés. Les résultats ne doivent être communiqués qu'à des fins de prise en charge du patient, après confirmation que le résultat du contrôle de la qualité interne se situe bien dans l'intervalle cible d'un tel matériel.

• REMARQUE : les définitions des intervalles cibles pour les matériels relatifs au contrôle de la qualité interne et de la gestion des variations acceptables sont détaillées dans le Manuel de laboratoire de la FMH. ^{BC}

Recommandation 3.2.17:

Pour les échantillons de contrôle de la qualité interne dont l'activité du facteur VIII ou IX est comprise entre 50 et 150 UI/dl, le coefficient de variation inter-essai doit être inférieur à 10 %.

• REMARQUE : certaines études ont montré que l'utilisation d'une courbe d'étalonnage antérieure peut être associée à un coefficient de variation inter essai plus important qu'en ayant recours à une nouvelle courbe d'étalonnage générée au moment du traitement des prélèvements du patient. ^{BC}

Recommandation 3.2.18:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par concentrés de facteur VIII ou IX, la FMH recommande aux laboratoires d'utiliser un dosage de facteur VIII ou IX ayant été validé pour être utilisé avec le concentré spécifique utilisé pour le traitement.

• REMARQUE : cette recommandation est particulièrement importante pour les molécules modifiées de facteur VIII ou IX. ^{BC}

Recommandation 3.2.19:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par concentrés de facteur VIII dérivés du plasma, la FMH recommande aux laboratoires d'utiliser un dosage de facteur VIII en un temps ou chromogénique, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS. ^{BC}

Recommandation 3.2.20:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par concentrés de facteur de coagulation contenant du facteur VIII recombinant complet, la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur VIII en un temps ou chromogénique, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS. ^{BC}

Recommandation 3.2.21:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par efmoctocog alfa (FVIII recombinant fusionné avec l'immunoglobuline G1 d'origine humaine [rFVIIIIFc]; Elocta®/Eloctate®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage du facteur VIII en un temps ou chromogénique, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS. ^{BC}

Recommandation 3.2.22:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par turoctocog alfa pegol (FVIII recombinant à domaine B tronqué avec un groupe polyéthylène glycol de 40 kDa spécifique au site [N8-GP] ; Esperoct®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur VIII chromogénique ou d'un dosage de FVIII en un temps basé sur le TCA (ou APTT) avec des réactifs validés, dont certains réactifs activateurs d'acide ellagique (Actin®, Actin® FS, SynthAFax™, DG Synth™) et certains réactifs activateurs de silice (Pathromtin® SL, SynthASil™), calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS.

• REMARQUE : les dosages du facteur VIII avec les réactifs APTT-SP™, STA®-PTT Automate, ou TriniCLOT™ APTT HS sous-estiment considérablement la véritable activité du facteur VIII N8-GP et ne doivent pas être utilisés. ^{BC}

Chapitre 3 DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE

Recommandation 3.2.23:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par damoctocog alfa pegol (FVIII recombinant à domaine B tronqué avec un groupe polyéthylène glycol de 60 kDa spécifique au site [BDD-rFVIII] ; Jivi®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage du facteur VIII chromogénique ou d'un dosage du facteur FVIII en un temps basé sur le TCA (ou APTT) avec des réactifs validés, dont le réactif activateur d'acide ellagique Actin® FSL et certains réactifs activateurs de silice (Pathromtin® SL, SynthASil™), calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS.

• REMARQUE : les dosages du facteur VIII en un temps avec le réactif activateur d'acide ellagique Actin® FS ou le réactif activateur de kaolin C.K. Prest® surestiment considérablement la véritable activité du facteur VIII et ne doivent pas être utilisés. Les dosages de FVIII en un temps avec les réactifs APTT-SP™ et STA®-PTT Automate sous estiment considérablement la véritable activité du facteur VIII et ne doivent pas être utilisés. ^{BC}

Recommandation 3.2.24:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par ruriococog alfa pegol (FVIII recombinant complet avec du polyéthylène glycol 20 kDa sans site spécifique ; Adynovate®/Adynovi®), la FMH conseille d'effectuer davantage d'études des dosages en laboratoire afin de pouvoir émettre des recommandations en la matière.

• REMARQUE : à ce jour, les conclusions publiées dans la littérature relatives à l'utilisation des dosages du facteur VIII en un temps et chromogéniques dans les échantillons contenant du ruriococog alfa pegol sont contradictoires. ^{BC}

Recommandation 3.2.25:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par lonococog alfa (FVIII recombinant à chaîne unique [rVIII-SingleChain] ; Afstyla®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage du facteur VIII chromogénique, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS.

• REMARQUE : le résumé des caractéristiques du produit recommande d'utiliser des dosages chromogéniques. Il indique également que les dosages du facteur VIII en un temps sous-estiment de 45 % environ le niveau d'activité du facteur VIII par rapport aux dosages chromogéniques et suggère qu'en cas de recours à un dosage en un temps, il soit appliqué un coefficient multiplicateur de 2. ^{BC}

Recommandation 3.2.26:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par concentrés de facteur IX dérivés du plasma, la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur IX en un temps ou chromogénique, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS. ^{BC}

Recommandation 3.2.27:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par concentrés de facteur de coagulation contenant du facteur IX recombinant complet, la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur IX en un temps, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS.

• REMARQUE : les dosages de facteur IX chromogéniques sous-estimerait l'activité du facteur IX du concentré de facteur IX recombinant. ^{BC}

Recommandation 3.2.28:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par efreonacog alfa (FIX recombinant fusionné avec l'immunoglobuline G1 d'origine humaine [rFIXFc] ; Alprolix®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur IX chromogénique ou d'un dosage de facteur IX en un temps basé sur le TCA (ou APTT) avec des réactifs validés, dont certains réactifs activateurs d'acide ellagique (Actin®, Actin® FS, SynthAFax™, Actin® FSL), certains réactifs activateurs de silice (Pathromtin® SL, SynthASil™), ainsi qu'un réactif activateur de polyphénol (Cephascreen®), calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS.

• REMARQUE : les dosages de facteur IX en un temps avec le réactif STA®-PTT Automate ou le réactif activateur de kaolin (C.K. Prest®) sous-estiment considérablement la véritable activité du rFIXFc (Alprolix®) et ne doivent pas être utilisés. ^{BC}

Recommandation 3.2.29:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par albutrepenonacog alfa (FIX recombinant par fusion avec de l'albumine humaine recombinante [rFIX FP] ; Idelvion®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de FIX en un temps basé sur le TCA (ou APTT) avec des réactifs validés, dont certains réactifs activateurs de silice (Pathromtin® SL, SynthASil™), calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS. ^{BC}

• REMARQUE : les dosages de facteur IX en un temps avec le réactif activateur d'acide ellagique Actin® FS ou le réactif activateur de kaolin C.K. Prest® sous-estiment considérablement la véritable activité du rFIX FP (Idelvion®) et ne doivent pas être utilisés. Les tests en un temps avec le réactif activateur d'acide ellagique SynthAFax™ ou les tests de facteur IX chromogéniques surestiment considérablement la véritable activité du rFIX FP (Idelvion®) et ne doivent pas être utilisés. ^{BC}

Chapitre 3 DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE

Recommandation 3.2.30:

Pour contrôler le traitement avec remplacement par nonacog beta pegol (FIX recombinant avec un fragment de polyéthylène glycol de 40 kDa [N9-GP] ; Refixia®/Rebiny®), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur IX chromogénique ou d'un dosage de facteur IX en un temps basé sur le TCA (ou APTT) avec des réactifs validés, dont certains réactifs activateurs d'acide ellagique SynthAFax™ ou de polyphénol Cephascreen®, calibré selon un standard relatif aux produits plasmatiques conforme à un étalon international validé par l'OMS.

• REMARQUE : la plupart des dosages de facteur IX en un temps surestiment considérablement la véritable activité du FIX N9 GP et ne doivent pas être utilisés. Les tests en un temps utilisant le réactif activateur d'acide ellagique SynthAFax™ ou le réactif activateur de polyphénol Cephascreen® sont indiqués pour le contrôle du traitement par N9-GP. ^{BC}

Recommandation 3.2.31:

Pour les patients traités avec de l'emicizumab et chez qui il est nécessaire de confirmer le niveau d'emicizumab escompté, la FMH recommande l'utilisation d'un dosage en un temps modifié incluant une étape supplémentaire de prédilution du plasma test et un calibrage du test réalisé sur des calibreurs spécialement réglés pour l'emicizumab.

• REMARQUE : même à des niveaux sous-thérapeutiques d'emicizumab, le TCA (ou APTT) peut être normal ou inférieur à la norme chez des patients atteints d'hémophilie A sévère avec ou sans inhibiteurs. ^{BC}

Recommandation 3.2.32:

Pour déterminer l'activité du FVIII chez les patients atteints d'hémophilie A traités avec de l'emicizumab, la FMH recommande l'utilisation d'un test de facteur VIII chromogénique contenant du facteur X d'origine bovine.

• REMARQUE : à des niveaux thérapeutiques, l'emicizumab affecte tout dosage du facteur VIII chromogénique contenant du facteur X d'origine humaine. L'emicizumab peut également affecter des dosages du facteur VIII chromogéniques contenant du FIXa d'origine humaine et du facteur X d'origine bovine, mais uniquement à des niveaux d'emicizumab supérieurs à ceux escomptés chez les patients traités avec les doses recommandées. ^{BC}

Recommandation 3.2.33:

Pour déterminer les niveaux d'inhibiteurs du facteur VIII chez les patients traités avec de l'emicizumab, la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur VIII chromogénique contenant du facteur X d'origine bovine. ^{BC}

Recommandation 3.2.34:

Pour les patients chez qui un anticorps anti-emicizumab neutralisant est suspecté, la FMH recommande de mesurer les niveaux d'emicizumab en utilisant un dosage modifié en un temps comprenant une étape supplémentaire de prédilution du plasma test et un calibrage du test réalisé sur des calibreurs spécialement réglés pour l'emicizumab.

• REMARQUE : il est également possible d'utiliser des tests validés d'anticorps anti-emicizumab à cet effet, s'ils sont disponibles. ^{BC}

Recommandation 3.2.35:

Pour déterminer la présence d'inhibiteurs anti FVIII dans un échantillon où l'activité du facteur VIII est supérieure à 5 UI/dl, la FMH recommande qu'avant de procéder au dosage, l'échantillon soit chauffé à 56°C pendant 30 minutes, puis centrifugé à température ambiante à au moins 1 700 g pendant au moins cinq minutes

• REMARQUE : la limite de quantification du dosage de l'inhibiteur du FVIII par la méthode Bethesda modifiée par Nijmegen est d'environ 0,6 UB/ml.

• REMARQUE : le dosage de l'inhibiteur du facteur VIII par la méthode Bethesda modifiée par Nijmegen nécessite l'utilisation d'un plasma normal tamponné comme source de facteur VIII, qui est ensuite mélangé à un volume égal de plasma déficient en facteur VIII pour préparer le mélange de contrôle. ^{BC}

Recommandation 3.2.36:

Pour déterminer la présence d'inhibiteurs anti-FIX dans un échantillon où l'activité du facteur IX est supérieure à 5 UI/dl, la FMH recommande qu'avant de procéder au dosage, l'échantillon soit chauffé à 56°C pendant 30 minutes, puis centrifugé à température ambiante à au moins 1 700 g pendant au moins cinq minutes. ^{BC}

Recommandation 3.2.37:

Pour quantifier les inhibiteurs anti-FVIII, la FMH recommande d'utiliser la méthode Bethesda modifiée par Nijmegen.

• REMARQUE : les dosages Bethesda détectent les anticorps neutralisants. Une petite proportion d'anticorps anti FVIII ne sont pas neutralisants, réduisent la demi-vie du facteur VIII injecté et ne sont pas détectés par les dosages Bethesda.

• REMARQUE : la modification par Nijmegen décrit une méthode spécifique pour tamponner le pool de plasma normal ; d'autres méthodes de tamponnage peuvent également convenir. ^{BC}

Chapitre 3 DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE

Recommandation 3.2.38:

Pour quantifier les inhibiteurs du facteur VIII et du facteur IX, la FMH recommande que seule l'activité résiduelle du facteur VIII ou IX comprise entre 25 et 75 % dans le mélange de contrôle du facteur VIII ou IX soit utilisée pour calculer les concentrations d'inhibiteurs.

• REMARQUE : les résultats les plus précis sont obtenus lorsque l'activité résiduelle du facteur VIII ou IX est proche de 50 % de celle du mélange de contrôle. ^{BC}

Recommandation 3.2.39:

Pour quantifier des inhibiteurs anti FVIII à titre faible (< 2 UB/ml), la FMH recommande l'utilisation d'un dosage de facteur VIII chromogénique par la méthode Bethesda modifiée par Nijmegen afin de mesurer l'activité du facteur VIII résiduel.

• REMARQUE : l'utilisation d'un dosage du facteur VIII par la méthode Bethesda modifiée par Nijmegen plutôt que d'un dosage du facteur VIII en un temps permet une plus grande précision et réduit la variabilité de la mesure du facteur VIII résiduel qui entraîne une sous-estimation, au point d'obtenir un résultat faussement positif alors qu'aucun inhibiteur n'est présent. ^{BC}

Recommandation 3.2.40:

• Pour quantifier l'activité du facteur VIII chez les bénéficiaires d'un transfert de gènes, la FMH conseille de poursuivre les recherches nécessaires pour déterminer la précision relative des dosages chromogéniques et des dosages en un temps aux fins de prévoir la protection hémostatique dans ce domaine.

• REMARQUE : le dosage en un temps semble invariablement donner un résultat d'activité du facteur VIII approximativement 1,6 fois plus élevé que les résultats obtenus avec le dosage chromogénique sur des produits transgéniques du facteur VIII. Il convient d'établir une corrélation entre l'activité du facteur VIII recombinant et plasmatique et la réponse clinique pour déterminer l'activité du facteur VIII chez les sujets traités. ^{BC}

Recommandation 3.2.41:

Pour quantifier l'activité du facteur IX chez les bénéficiaires d'un transfert de gènes, la FMH conseille de poursuivre les recherches nécessaires pour déterminer la précision relative des dosages chromogéniques et des dosages en un temps aux fins de prévoir la protection hémostatique dans ce domaine.

• REMARQUE : étant donné son activité plus élevée que celle du facteur IX initial, le variant appelé FIX Padoue (R338L) a été utilisé pour élaborer la thérapie génique pour le facteur IX. Le dosage en un temps semble invariablement entraîner une activité du FIX Padoue approximativement 1,6 fois plus élevée que les résultats obtenus avec le dosage chromogénique. Il convient d'établir une corrélation entre l'activité du facteur IX recombinant et plasmatique et la réponse clinique pour déterminer l'activité du FIX Padoue chez les sujets traités. ^{BC}

3.4 | Assurance qualité

Recommandation 3.4.1:

• La FMH recommande vivement aux laboratoires d'analyse de la coagulation de mettre en place des programmes d'assurance qualité pour toutes les procédures de laboratoire afin de veiller au respect de la qualité et à la fiabilité des procédures d'analyse sanguine et des comptes rendus des laboratoires en matière de diagnostic et du traitement de l'hémophilie. ^{BC}

Recommandation 3.4.2:

• Pour les tests de dépistage de l'hémostase, la FMH recommande d'effectuer des contrôles de la qualité interne avec au moins deux niveaux d'échantillons ayant fait l'objet d'un contrôle de la qualité interne (échantillons de plasma normaux et anormaux) pour tous les lots de tests au moins une fois par jour. ^{BC}

Recommandation 3.4.3:

• La FMH recommande vivement que les laboratoires cliniques participent systématiquement à l'évaluation externe de la qualité de chaque test utilisé pour le diagnostic et le traitement de l'hémophilie.

• REMARQUE : la participation au Programme international d'évaluation externe de la qualité (IEQAS) de la FMH permet aux laboratoires d'améliorer et de normaliser les tests de laboratoire pour l'hémophilie. ^{BC}

BC, Basé sur un consensus.