

Les facteurs anti-hémophiliques de durée de vie allongée : quelles méthodes de dosage ?

Long-term anti-hemophilic factors: which dosage methods?

T. Baglo¹⁻², EA. Guery², C. Pouplard^{2-3*}

¹ Laboratoire d'Hématologie, Centre National Hospitalier Universitaire HKM, Cotonou. Bénin

² Service d'Hématologie-Hémostase, Hôpital Trousseau, CHU de Tours. France

³ Université de Tours. France

Résumé

Les facteurs anti-hémophiliques (FAH) à demi-vie allongée (*extended half life*: EHL) sont de plus en plus utilisés pour traiter les hémophiles et leur surveillance biologique est complexe. Afin d'aider les biologistes à mieux comprendre les performances et les limites des différentes méthodes de dosage utilisées pour la surveillance des hémophiles traités par les FAH EHL, nous avons réalisé une revue de littérature et émis quelques propositions. Ainsi, pour surveiller les patients traités par rFVIII-EHL, seule la méthode chromogénique est recommandée. La méthode chromométrique n'est acceptable que lors de l'utilisation du rFVIII-Fc. Lors de la surveillance des hémophiles traités par rFIX-EHL, le taux de FIX : C varie en fonction des réactifs du TCA utilisés et une grande vigilance doit être apportée afin d'utiliser un réactif de TCA validé dans cette indication.

Mots clés : Hémophilie ; dosage ; facteur VIII ; facteur IX

Abstract

Long half-life antihemophilic factors (LHFs) are increasingly being used to treat hemophilia and their monitoring is complex. In order to better understand the performance and limitations of the different assays used to monitor hemophiliacs treated with EHL AHFs, we have made a few proposals. Thus, for monitoring patients treated with rFVIII-EHL, only the chromogenic method is recommended. The chromometric method is acceptable when using rFVIII-Fc. When monitoring hemophiliacs treated with rFIX-EHL, the level of FIX:C varies depending on the APTT reagents used and it is important to use a validated APTT reagent for this indication.

Mots clés : Haemophilia; dosage; factor VIII; factor IX

* **Auteur correspondant :**
Claire POUPLARD

E-mail : claire.pouplard@univ-tours.fr

Introduction

Le développement de nouveaux facteurs à demi-vie allongée dit "*Long acting*" a permis une amélioration de la prise en charge et de la qualité de vie des hémophiles sévères grâce à une diminution de la fréquence des injections tout en maintenant un taux de facteur résiduel supérieur à 1 % voir supérieur à 3 % [1].

Différentes technologies ont été développées afin d'augmenter la demi-vie (T1/2) du FVIII et du FIX avec notamment une technique de fusion de la protéine recombinante au fragment Fc d'une IgG1 (rFVIII-Fc et rFIX-Fc) ou à l'albumine (FIX-FP). Une autre technologie, est de coupler le FAH à des groupements polyéthylène glycol (PEG) afin de diminuer leur clairance. Enfin un rFVIII délété en domaine B avec une chaîne unique a également été développé.

En accord avec les recommandations de la pharmacopée européenne, tous les concentrés de FVIII recombinants qu'ils soient à demi-vie prolongée ou non sont titrés par méthode chromogénique. Les monographies de la pharmacopée européenne et les directives de l'*European Medicine Agency* (EMA) préconisent la méthode chromométrique pour le titrage des concentrés de FIX quelles que soient leur origine et leur modification.

Lors de la surveillance des patients hémophiles traités par FVIII ou FIX recombinants, de nombreuses discordances ont été rapportées entre les dosages par méthodes chromométriques et chromogéniques.

Cette revue a pour but d'aider les biologistes à mieux comprendre les performances et les limites des différentes méthodes de dosage pouvant être utilisées pour la surveillance des hémophiles traités par les facteurs anti-hémophiliques à demi-vie prolongée. Les propositions s'appuient sur les textes du groupe des biologistes des maladies hémorragiques (BIMHO) [2-4].

Les facteurs anti-hémophiliques recombinants à demi-vie prolongée

Les stratégies utilisées pour mettre au point les facteurs recombinants à demi-vie prolongée ou EHL reposent sur 3 techniques [5].

La pégylation

Il s'agit d'une modification chimique des FVIII ou FIX consistant à lier des molécules de polyéthylène glycol (PEG) de façon covalente au facteur recombinant afin d'améliorer ses propriétés pharmacocinétiques. L'intérêt

de la pégylation permet d'une part de réduire la clairance totale de la protéine et d'autre part de diminuer l'immunogénicité de la protéine pégylée. Actuellement, 3 FVIII et 1 FIX recombinant pégylés sont disponibles : le Rurioctocog alfa pegol (Adynovi®/Adynovate®, Takeda), le Damoctocog alfa pegol (Jivy®, Bayer), le Turoctocog alfa pegol (Esperoct®, Novo Nordisk) et le Nonacog beta pegol (Refixia®, Novo Nordisk) (Tableau I).

Les protéines de fusion

Une autre stratégie permettant d'augmenter la demi-vie d'élimination des facteurs anti-hémophiliques (FVIII ou FIX) est de les fusionner de façon covalente à une protéine inerte ayant une demi-vie plus longue comme le fragment Fc des immunoglobulines G1 ou l'albumine. En effet, les IgG1 et l'albumine ont une demi-vie d'élimination longue car elles bénéficient d'un mécanisme de recyclage impliquant un récepteur particulier, le FcRn [6]. Actuellement 2 protéines de fusion au fragment Fc sont disponibles (rFVIII-Fc : Efmoroctocog Alfa (Elocta®/Eloctate® et le rFIX-Fc Eltrenonacog ; Alprolix®) ainsi qu'une protéine fusion à l'albumine (rFIX-FP : Albutre penonacog ; Idelvion®).

Modification de la séquence protéique

Une autre stratégie a été de modifier le rFVIII de manière à augmenter son affinité avec le facteur Von Willebrand, permettant ainsi de prolonger la demi-vie de la protéine de coagulation. Ce FVIII recombinant est un FVIII qui ne possède qu'une seule chaîne protéique, il s'agit de Lonoctocog alfa (Afstyl®), CSL Behring).

Surveillance biologique des patients traités

Deux méthodes de dosage permettent la détermination du taux des facteurs anti-hémophiliques chez les hémophiles substitués : la méthode chromométrique et la méthode chromogénique.

La méthode chromométrique permettant la mesure de l'activité du FVIII ou du FIX est la plus anciennement connue et la plus utilisée dans les laboratoires d'hémostase [7]. Cette technique est basée sur la mesure du temps de céphaline avec activateur (TCA) (Figure 1). Il existe cependant une variabilité des résultats obtenus en fonction de la méthode de dosage utilisée, en particulier lorsque les patients hémophiles A ou B sont substitués avec des produits d'origine recombinante [8]. Cette variabilité se

Tableau I : Liste des différents rFVIII et rFIX à demi-vie prolongée actuellement disponibles

Dénomination	Molécules	industriel	Substance active	Caractéristiques	Commentaire
Elocta®/ Eloctate®	rFVIII-Fc	Swedish Orphan Biovitrum	Efmoroctocog alfa	lignée cellulaire HEK 293 (humaine)	FVIII pleine longueur fusionné de façon covalente au fragment Fc d'une IgG1 humaine
Adynovi®/ Adynovate®	rFVIII-PEG	Takeda	Rurioctocog alfa pegol	Produit sur des lignées cellulaires CHO (hamster)	FVIII pleine longueur 2 PEG de 20 kDa
Jivy®		Bayer	Damoctocog alfa pegol	lignée cellulaire HEK293 (humaine)	FVIII domaine B délété 1 PEG de 60 kDa
Esperoct®		Novo Nordisk	Turoctocog alfa pegol	lignée cellulaire CHO (hamster)	FVIII domaine B tronqué (21 aa) Glycopegylation ; 1 PEG de 40 kDa
Afstyla®	rFVIII monochaine B délété	CSL Behring	ionoctocog alfa	lignée cellulaire CHO (hamster)	La chaîne lourde et chaîne légère du FVIII ont été liées de façon covalente. Lors de l'activation par la thrombine, cette construction permet la génération de FVIII activé
Alprolix®	rFIX-Fc	Swedish Orphan Biovitrum	eftrenonacog	Fusion fragment Fc de l'IgG1 sur rFIX produit sur HEK	1 seule molécule de FIX recombinant fusionné de façon covalente au fragment Fc d'une IgG1 humaine
Idelvion®	rFIX-Alb	CSL-Behring	albutrepenonacog	Fusion albumine sur rFIX produit sur lignée CHO	Glycopeptide monocaténaire de 1018 acides aminés : poids moléculaire environ 125 kDa. Liaison du rFIX à l'albumine par un linker clivable
Refixia®	N9-GP	Novo Nordisk	nonacog beta pegol	GlycoPEGylation (d'un rFIX produit sur lignée CHO)	Liaison d'une ½ molécule de PEG de 40 kDa sur 1 ou 2 des N-glycans présents au sein du peptide d'activation du rFIX. Il existe 2 sites de PEGylation possible : 95 % du produit final est mono-PEGylé et 5 % Bi-PEGylé

HEK : cellules embryonnaires humaines du rein ; CHO : cellules d'ovaires de hamster

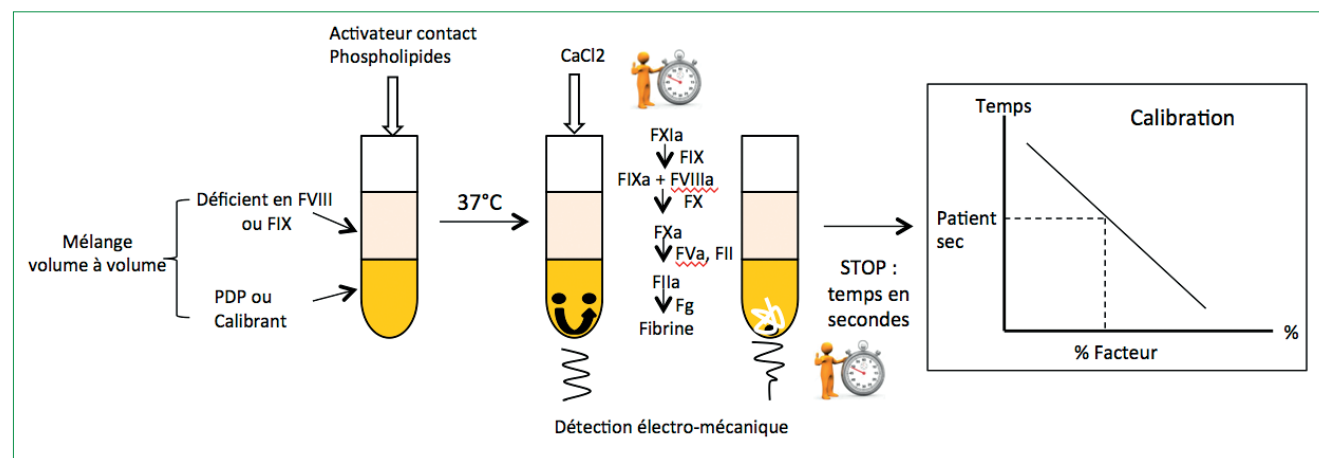
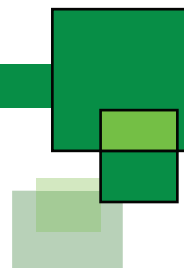


Figure 1 : Dosage chromométrique du Facteur VIII ou FIX

PDP : plasma dépourvu en plaquettes ; Activateurs contacts : Kaolin, acide élagique, silice, ...



révèle encore plus importante avec certains nouveaux médicaments à durée de vie prolongée et les conséquences en terme de surveillance biologique des patients substitués sont majeures. Les principales difficultés de standardisation des résultats obtenus par la méthode chromométrique résident dans l'hétérogénéité des réactifs en terme d'activateur et de composition en phospholipides. En effet, il existe de nombreux réactifs de TCA dans le monde qui varient en fonction de leur activateur et de la source de phospholipides (Tableau II) [9-12].

Les méthodes chromogéniques sont des méthodes dites en 2 temps qui utilisent un substrat chromogène spécifique du facteur Xa (Figure 2).

Les conditions de dosage sont définies de façon à établir une corrélation stricte entre la concentration de FVIII ou de FIX (Figure 2) dans l'échantillon et l'activité de facteur Xa générée. La plus développée est celle du dosage du FVIII et est la méthode de référence de la pharmacopée européenne depuis 1994 pour le titrage des concentrés de FVIII [2, 13]. La liste des principales trousse de réactifs pour le dosage chromogénique des FVIII et FIX est présentée dans le Tableau III.

Chez un patient hémophile A substitué par un facteur FVIII d'origine recombinante, les taux de FVIII mesurés par méthode chromogénique sont en règle générale 20 à 30 % plus élevés que lorsqu'ils sont dosés par une technique coagulante. Cette variation peut aller jusqu'à 50 % lorsqu'il s'agit d'un patient traité par Refacto AF®. Avec les produits d'origine plasmatisque, ces différences n'excèdent pas 20 % [8].

Tableau II : Liste des principaux réactifs de TCA utilisés au cours des études pour les dosages chromométriques

Activateur	Nom du produit	Origine des phospholipides	Fabricant
SILICE	APTT-SP	Synthétique	Werfen
	Cephen	Végétale	Sysmex
	Daptin TC	Non renseigné	Technoclone
	Pathromtin SL	Végétale	Siemens
	Platelin L	Non renseigné	Organon Teknika
	Platelin LS	Porc et poulet	Trinity biotech
	STA-PTT Automate	Lapin	Diagnostica Stago
	SynthASil	Synthétique	Werfen
	TriniCLOT aPTT HS	Porc et poulet	Tcoag
	TriniCLOT aPTT S	Non renseigné	Tcoag
ACIDE ELLAGIQUE	TriniCLOT Automated aPTT	Lapin	Tcoag
	Dade-Actin FS	Soja	Siemens
	Dade-Actin FSL	Soja lapin	Siemens
	Dade-Actin	Lapin	Siemens
	DG-APTT Synth	Synthétique	Grifols
KAOLIN	SynthAFax	Synthétique	Werfen
	STA CK Prest	Lapin	Diagnostica Stago
	Pathromtin	Végétale	Siemens
POLYPHENOL	STA Cephascreen	Lapin	Diagnostica Stago

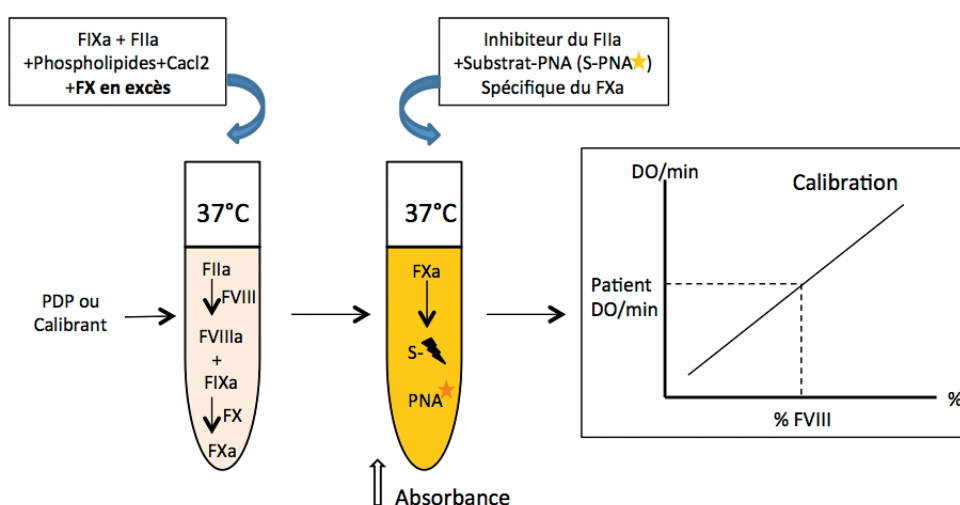


Figure 2 : Dosage chromogénique du facteur VIII

PDP : plasma dépourvu en plaquettes ; Substrat-PNA : peptide couplé à de la paranitroaniline spécifique du facteur Xa, DO : densité optique

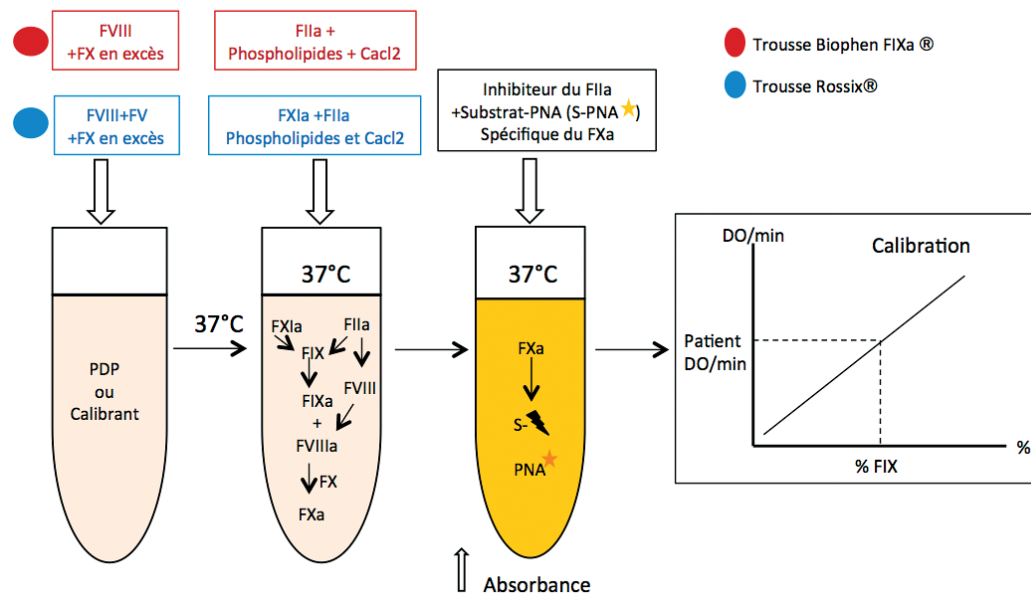


Figure 3 : Dosage chromogénique du facteur IX

PDP : plasma dépourvu en plaquettes ; Substrat-PNA : peptide couplé à de la paranitroaniline spécifique du facteur Xa ; DO : densité optique

Tableau III : Liste des principales trousses de réactifs pour le dosage chromogénique des FVIII et FIX disponibles

Réactifs pour dosage du	Nom du produit	Origine des protéines
Facteur VIII	FVIII chromogenic	Bovine
	Biophen FVIII :C	Humaine
	Chromogenix Coamatic Factor VIII	Bovine
	Chromogenix Coatest SP Factor VIII	Bovine
	Electrachrome FVIII	Bovine
	TECHNOCHROM FVIII :C	Humaine/Bovine
	TriniCHROM FVIII :C	Bovine
Facteur IX	Biophen Factor IX	Humaine
	Rox Factor IX	Bovine

Dosage des facteurs anti-hémophiliques à demi-vie prolongée

Surveillance biologique des patients traités par rFVIII-EHL

Efmorotocog alfa - Elocta®/Elocate®

Au cours des essais cliniques internationaux, les dosages chez les patients traités par Elocta® ont été réalisés à la fois par de méthode chromométrique, en utilisant l'Actin FSL, et par méthode chromogénique. Des taux plus élevés ont été observés avec la méthode chromogénique (biais de 32 vs 21 % lorsque les patients recevaient de l'Advate®) [14]. Une autre étude utilisant le CK Prest, réalisée également chez des patients traités confirme ces résultats avec un biais qui n'excède pas 20 % pour des taux de FVIII supérieurs à 1 UI/ml [15].

Une étude multicentrique réalisée sur des échantillons surchargés en Elocta® et incluant 30 laboratoires a permis de valider un grand nombre de réactifs de TCA avec pour activateur la silice, l'acide éllagique ou le kaolin. Quatre trousses de réactifs chromogéniques (Biophen FVIII, FVIII chromogenic, Technochrom FVIII, Coatest SP FVIII) ont également été validées. Cette étude montre une distribution similaire des résultats par techniques chromométriques ou chromogéniques pour des concentrations similaires d'Advate® et d'Elocta® (≈80 %, ≈20 % et ≈5 %). Néanmoins, pour les niveaux 80 et 20 %, des résultats environs 30 % plus élevés sont observés avec les tests chromogéniques pour l'Elocta® [16].

■ *Proposition 1 : la méthode chromogénique est recommandée pour le dosage du FVIII chez les hémophiles A traités par Efmorotocog (Elocta®/Elocate®) mais*

l'utilisation de la méthode chromométrique est acceptable.

Ruriotocog alfa pégol: Adynovi®/Adynovate®

Selon les caractéristiques du fabricant, l'activité du FVIII : C chez les patients sous Adynovi® peut être surveillée aussi bien par la méthode chromogénique que chromométrique. Cette proposition s'appuie sur une étude multicentrique réalisée avec des échantillons surchargés en Adynovi®, qui montre que la méthode chromométrique permet d'obtenir des résultats très proches des valeurs cibles et ce, quel que soit l'activateur du TCA utilisé (silice, kaolin, acide ellagique ou polyphénol). La méthode chromogénique donne des résultats supérieurs à la valeur cible d'environ 14 % [17].

Cependant, une étude Suisse et indépendante ne soutient pas ces résultats [18]. En effet, les auteurs constatent une surestimation des taux de FVIII : C par rapport aux valeurs cibles que les dosages soient réalisés par méthode chromométrique (+27 à + 113 %) ou chromogénique (+11 à + 83 %). Les différences sont d'autant plus importantes que les valeurs cibles sont élevées. Seule l'utilisation d'un calibrant spécifique de l'Adynovi® a permis d'obtenir des taux de FVIII proches des valeurs cibles et ce uniquement par méthode chromogénique.

■ *Proposition 2 : contrairement aux instructions du fabricant, seule la méthode chromogénique doit être recommandée pour le dosage de FVIII chez les patients traités avec de l'Adynovi®, les données publiées concernant les dosages chronométriques étant insuffisantes et/ou contradictoires ne permettent pas de réaliser de propositions objectives.*

Damotocog alfa pégol (Jivy®)

La présence de groupements pégylés au sein de cette molécule pourraient perturber les tests d'activation à base de silice entraînant une sous-estimation des taux de FVIII : C [11]. Il est ainsi préconisé d'utiliser des réactifs à base d'acide ellagique (SynthAFax, Actin) ou de polyphénol (Cephascree). Une autre étude plus récente semble indiquer que l'activateur n'est pas le seul responsable des variabilités du dosage du damotocog alfa pégol valide l'utilisation de différents réactifs de TCA contenant des activateurs différents (SynthASil et Actin FSL) [19]. De plus, alors que l'Actin FS et l'Actin FSL possèdent le même activateur et ne diffèrent que par leur composition en phospholipides (PL), l'Actin FS induit une surestimation de plus de 40 % du taux de FVIII : C alors que l'Actin FSL permet d'obtenir des taux proches des valeurs cibles. Par ailleurs, le CK Prest et le Pathromtin SL entraînent une surestimation du taux de FVIII : C lorsque ce dernier est inférieur à 0,5 UI/ml. Plusieurs trousse de dosage chromogénique sont validées dans l'étude de Church et al.

(FVIII chromogenic, Coamatic FVIII et Electrachrome FVIII) [19].

■ *Proposition 3 : le dosage du FVIII : C par méthode chromogénique est recommandé pour la surveillance des patients traités par Jivy®. Face aux données insuffisantes ou contradictoires, la méthode chromométrique n'est pas validée pour la surveillance de ces patients.*

Turoctocog alfa pégol (Esperoct®)

Une étude réalisée par Pickering et al. a rapporté de bonnes performances lors du dosage du FVIII : C par méthode chromogénique réalisés avec 4 trousse différentes (Coamatic FVIII, Coatest SP FVIII, Biophen FVIII et FVIII chromogenic) [20]. Cependant, ces résultats sont contredits par l'étude d'Hillarp et al. qui met en évidence une surestimation du taux de FVIII : C allant de 10 à 40 % en fonction de la trousse chromogénique utilisée [21]. Dans cette même étude, les auteurs valident l'utilisation de l'Actin, l'Actin FS et du Pathromtin SL qui permettent d'obtenir des résultats proches des valeurs cibles alors qu'une sous-estimation de plus de 25 % est observée avec l'Actin FSL, le SynthASil et le SynthAFax pour des valeurs cibles supérieures ou égales à 0,2 UI/ml. Cet effet est plus prononcé avec l'APTT-SP.

Ces résultats confirment les instructions du fabricant selon lesquelles, le FVIII : C obtenu par dosage chronométrique varie en fonction du réactif de TCA et de l'étalon utilisé pour la calibration du test.

■ *Proposition 4 : les données sont insuffisantes pour émettre des propositions concernant l'utilisation de la méthode chromométrique pour la surveillance des patients traités par Esperoct®. Seule la méthode chromogénique utilisant les trousse validées par l'étude de Pickering et al. est donc recommandée pour la surveillance de ces patients.*

Lonotocog alfa Afstyl®

Lors de la surveillance biologique des patients traités par Afstyl®, le fournisseur recommande d'utiliser un dosage chromogénique ou de multiplier par 2 le résultat obtenu par méthode chromométrique. En effet, l'étude multicentrique réalisée par 23 laboratoires sur des plasmas surchargés en Afstyl® a montré une sous-estimation systématique du taux de FVIII : C lorsque le dosage était réalisé par la méthode chromométrique et ce, quelque soit le domaine de mesure ou le type de réactifs activateurs utilisé [22]. Cependant, selon Bowyer et al., le facteur de correction de 2 conduit à une surestimation relative très importante (> 100 %) des faibles taux de FVIII : C proche de 0,02 UI/ml et peut induire, selon la zone de mesure, une surestimation des taux avec l'APTT-SP, le SynthAFax ou l'Actin FS et une sous-estimation avec le SynthASil [23].

■ *Proposition 5 : la méthode chromogénique est donc recommandée pour la surveillance des patients sous Afstyla®. Il a été retenu que si la méthode chromométrique devrait être utilisée pour surveiller un patient traité par Afstyla®, elle doit avoir été comparée à la méthode chromogénique réalisée localement.*

Surveillance biologique des patients traités par rFIX-EHL

Eltrenonacog Alprolix®

Les concentrés d'Alprolix® sont titrés par l'industriel en méthode chromométrique avec de l'Actin. Selon les instructions du fabricant, les taux de rFIX-Fc dosés par méthode chromométrique varient en fonction du réactif de TCA et de l'étalon utilisé lors de la calibration du test. Il est de plus souligné que l'utilisation d'un test à base de Kaolin entraîne une sous-estimation des taux circulants de rFIX-Fc. Une étude multicentrique comptant 142 laboratoires et réalisée sur des plasmas surchargés en Alprolix® (0,05-0,20 et 0,80 UI/ml), a évalué 11 réactifs de TCA. Les dosages du rFIX-Fc effectués avec le Kaolin sous-estiment de 50 % les valeurs attendues mesurées initialement avec l'Actin. Les taux moyens mesurés avec des réactifs contenant de l'acide ellagique sont très proches des valeurs cibles à 0,80 UI/ml mais surestiment les valeurs basses. Avec les réactifs à base de silice, les résultats varient d'un réactif à l'autre et selon le taux de rFIX-Fc mesuré. Quatre réactifs de TCA semblent être validés dans cette étude et ce quel que soit le taux de rFIX-Fc. Il s'agit du Cephascreen, du SynthASil, de l'APTT-SP et du PTTA [24]. Dans cette même étude, différentes trousse de dosage chromogénique du FIX : C ont été validées (Hyphen Biophen et Rossix FIX). Ces derniers résultats ont cependant été contredits par Bowyer lors d'une communication orale au congrès de l'EAHAD en 2018 durant laquelle il a souligné que seule la trousse RossixFIX était validée dans cette indication.

■ *Proposition 6 : plusieurs réactifs de TCA (Cephascreen, du SynthASil, de l'APTT-SP et du PTTA) doivent être privilégiés lors du suivi thérapeutique d'un patient traité par Alprolix®. A ce jour, la trousse Rossix FIX doit être privilégiée si un dosage chromogénique est réalisé.*

Albutre penonacog (Idelvion®)

Les concentrés d'Idelvion® sont titrés par l'industriel en méthode chromométrique avec le Pathromtin SL®. Dans l'état actuel des connaissances, aucune méthode

chromogénique n'est validée pour le dosage de cette molécule et seules les méthodes chromométriques sont recommandées. Un grand nombre de réactifs de TCA ont été validés : Pathromtin SL, SynthASil, Actin, APTT-SP, PTT-A, Platelins LS. Il est important de noter que les réactifs à base de kaolin et l'Actin FS entraînent une sous-estimation d'environ 50 % du taux de FIX et d'environ 30 % avec l'Actin FSL, le SynthASil et le PTT-A [25].

■ *Proposition 7 : la méthode chromométrique est donc recommandée pour la surveillance des patients sous Idelvion®. L'utilisation du CK prest ou de l'Actin FS doit être évitée.*

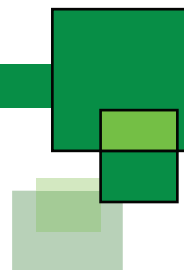
Nonacog beta pegol (Refixia® ; Rebinyn®)

Le Refixia® est un facteur IX recombinant pégylé dont le PEG réagit fortement avec les réactifs de TCA. Les flacons sont titrés avec le Synthafax. L'étude publiée par Bowyer et al. valide l'utilisation des 2 trousse chromogéniques Rox FIX et Biophen FIX (Bowyer 2016). Le fournisseur recommande cette méthode pour la surveillance des patients traités et précise que si la méthode chromogénique n'est pas disponible, un test chromométrique réalisé avec le Cephascreen peut être utilisé, ce réactif a été validé dans 2 études indépendantes [26, 27]. Comme attendu, l'utilisation du SynthAFax est validé dans les études de Young et d'Ezban M [27, 28].

■ *Proposition 8 : la méthode chromogénique doit être privilégiée lors de la surveillance d'un patient traité par Refixia®. Une méthode chromométrique utilisant le Cephascreen ou le Synthafax peut également être utilisée.*

Conclusion

La disponibilité des facteurs anti-hémophiliques à demi vie prolongée est une avancée majeure pour la prise en charge des hémophiles, mais constitue une réelle difficulté pour les laboratoires qui utilisaient jusqu'à nos jours les méthodes chromométriques pour le dosage des FVIII : C et les FIX : C dans le cadre de la surveillance des patients traités. La méthode chromogénique est maintenant recommandée pour la surveillance de tous les patients traités par rFVIII qu'ils aient une demi-vie classique ou prolongée. En ce qui concerne le dosage des rFIX-EHL, les résultats varient beaucoup selon les réactifs du TCA utilisés et les méthodes chromogéniques ne sont pas systématiquement validées. Une grande vigilance doit donc être apportée lors de l'utilisation d'une méthode chromométrique pour le dosage des facteurs anti-hémophiliques recombinants à demi vie prolongée. Les



études citées dans ce document n'ont pas toutes la même méthodologie et les propositions retenues pourront être modifiées en fonction des futures publications ou innovations dans le domaine.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Références

- 1- Collins P et al. The use of enhanced half-life coagulation factor concentrates in routine clinical practice: guidance from UKHCDO. *Haemophilia*. 2016;22(4):487-98.
- 2- Lasne D et al. Dosage de l'activité du facteur VIII chez les patients hémophiles A substitués. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2019;77(1):53-65.
- 3- Pouplard C et al. Dosage de l'activité du facteur IX chez les patients hémophiles B substitués. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2019;77(1):41-52.
- 4- Jean pierre E et al. Factor VIII and IX assays for post-infusion monitoring in hemophilia patients: guidelines from the French BIMHO group (GFHT). *Eur J Haematol*. 2020. doi:10.1111/ejh.13423.
- 5- Lambert T et al. Practical aspects of extended half-life products for the treatment of haemophilia. *Ther Adv Hematol*. 2018;9(9):295-308.
- 6- Dumont JA et al. Prolonged activity of a recombinant factor VIII-Fc fusion protein in hemophilia A mice and dogs. *Blood*. 2012;119(13):3024-30.
- 7- Favaloro EJ et al. Laboratory testing for factor inhibitors. *Haemophilia*. 2014;20 (Suppl 4):94-8.
- 8- Pouplard C et al. Discrepancies between one stage assay and chromogenic substrate assay in patients treated with recombinant or plasma-derived FVIII and usefulness of a specific standard in ReFacto AF®-treated patients. *Haemophilia*. 2016;22(2):101-3.
- 9- Kitchen S et al. Current laboratory practices in the diagnosis and management of haemophilia: a global assessment. *Haemophilia*. 2015;21(4):550-7.
- 10- Kitchen S et al. Factor Activity Assays for Monitoring Extended Half-Life FVIII and Factor IX Replacement Therapies. *Semin Thromb Hemost*. 2017;43(3):331-7.
- 11- Gu JM et al. Evaluation of the activated partial thromboplastin time assay for clinical monitoring of PEGylated recombinant factor VIII (BAY 94-9027) for haemophilia A. *Haemophilia*. 2014;20(4):593-600.
- 12- Poret E et al. Mise en place de la mesure de l'activité du facteur VIII par méthode chromogénique au laboratoire d'hémostase de l'Établissement Français du Sang de Besançon. Comparaison avec la méthode chronométrique en un temps. *Spectra Biologie*. 2014;33(208):63-71.
- 13- Barrowcliffe TW et al. Coagulation and chromogenic assays of factor VIII activity: general aspects, standardization, and recommendations. *Semin Thromb Hemost*. 2002;28(3):247-56.
- 14- Powell JS et al. Safety and prolonged activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in hemophilia A patients. *Blood*. 2012;119(13):3031-7.
- 15- Pouplard C et al. Multicentre pharmacokinetic evaluation of rFVIII-Fc (efmoroctocog alfa) in a real life and comparison with non-extended half-life FVIII concentrates. *Haemophilia*. 2020;26(2):282-9.
- 16- Sommer JM et al. Comparative field study evaluating the activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in plasma samples at clinical haemostasis laboratories. *Haemophilia*. 2014;20(2):294-300.
- 17- Turecek PL et al. A world-widesurvey and field study in clinical haemostasis laboratories to evaluate FVIII:C activity assay variability of ADYNOVATE and OBIZUR in comparison with ADVATE. *Haemophilia*. 2016;22(6):957-65.
- 18- Bulla O et al. Impact of aproduct-specific reference standard for the measurement of a PEGylated rFVIII activity: the Swiss Multicentre Field Study. *Haemophilia*. 2017;23(4):335-9.
- 19- Church N et al. Factor VIII activity of BAY 94-9027 is inaccurately measured with most commonly used assays: Results from an international laboratory study. *Haemophilia*. 2018;24(5):823-32.
- 20- Pickering W et al. Factor VIII chromogenic assays can be used for potency labeling and post administration monitoring of N8-GP. *J Thromb Haemost*. 2016;14(8):1579-87.
- 21- Hillarp A et al. Measuring FVIII activity of glycopegylated recombinant factor VIII, N8-GP, with commercially available one-stage clotting and chromogenic assay kits: a two-centre study. *Haemophilia*. 2017;23(3):458-65.
- 22- St Ledger K et al. International comparative field study evaluating the assay performance of AFSTYLA in plasma samples at clinical hemostasis laboratories. *J Thromb Haemost*. 2018;16(3):555-64.
- 23- Bowyer A et al. The coagulation laboratory monitoring of Afstyl single-chain FVIII concentrate. *Haemophilia*. 2017;23(5):469-70.
- 24- Sommer JM et al. Real-world assay variability between laboratories in monitoring of recombinant factor IX Fc fusion protein activity in plasma samples. *Int J Lab Hematol*. 2020;00:1-9.
- 25- Pouplard C et al. Multicentre evaluation of CK Prest® for assaying plasma levels of factor IX fused with albumin (Idelvion®). *Haemophilia*. 2019;25(5):327-30.
- 26- Tiefenbacher S et al. Qualification of a select one-stage activated partial thromboplastin time-based clotting assay and two chromogenic assays for the post-administration monitoring of nonacog beta pegol. *J Thromb Haemost*. 2017;15(10):1901-12.
- 27- Ezban M et al. FIXingpostinfusion monitoring: Assay experiences with N9-GP (nonacog beta pegol; Refixia®; Rebiny®). *Haemophilia*. 2019;25(1):154-61.
- 28- Young G et al. Chromogenic analysis of FIX activity in haemophilia B patients treated with nonacog beta pegol. *Haemophilia*. 2017;23(6):528-30. ■