

Sysmex Educational Enhancement & Development

Développement et perfectionnement des connaissances Sysmex

Bulletin d'information SEED-Afrique | No 8 | 2011

L'hémophilie: méthode de diagnostic en laboratoire

Coagulation

L'objectif de ce bulletin d'information est de donner un aperçu de l'hémophilie et du rôle que le laboratoire joue dans la prise en charge de cette maladie.

Mots-clés:

Hémophilie, facteur VIII, facteur IX, inhibiteurs, hémorragie

Qu'est-ce que l'hémophilie ?

L'hémostase est l'équilibre biologique entre la coagulation et l'hémorragie. Un déficit d'un des facteurs de coagulation crée un déséquilibre à tendance hémorragique. L'hémophilie est un trouble hémorragique héréditaire lié au sexe et provoquée par des déficits en facteur VIII (FVIII) et IX (FIX) de coagulation, appelés respectivement hémophilie A et B. Les gènes des FVIII et FIX sont situés sur le chromosome X, ce qui signifie qu'à quelques rares exceptions près, seuls les hommes sont touchés. Comme les femmes ont deux chromosomes X, même si un chromosome porte la mutation responsable de l'hémophilie, le second chromosome normal est capable de produire des quantités suffisantes de facteur pour que les femmes porteuses restent cliniquement asymptomatiques. Le schéma de transmission de l'hémophilie est représenté sur la figure 1. Toutefois, pour jusqu'à un

tiers des hémophiles, l'hémophilie n'est pas le résultat d'une transmission héréditaire, mais d'une mutation spontanée.

Quelle est la fréquence de l'hémophilie ?

L'hémophilie A est la déficience héréditaire des facteurs de coagulation la plus fréquente et concerne environ la naissance d'un homme sur 5 000. L'hémophilie B est moins fréquente avec une prévalence d'environ la naissance d'un homme sur 30 000. La présentation clinique, le diagnostic en laboratoire et la prise en charge des hémophilies A et B sont les mêmes. À des fins de lisibilité, le présent bulletin d'information traitera essentiellement de l'hémophilie A et de FVIII car ce sont les plus fréquents. Néanmoins, toutes les références au FVIII peuvent être remplacées par le FIX applicable à l'hémophilie B.

Quand peut-on suspecter une hémophilie ?

On doit suspecter une hémophilie chez les patients hommes présentant les signes suivants :

- Antécédents d'épisodes hémorragiques marquants en bas âge quand l'enfant est devenu mobile
- Antécédents d'hématomes fréquents depuis l'enfance
- Hémorragie spontanée dans les articulations et les tissus mous sous-cutanés
- Antécédents familiaux d'hémorragie, en particulier chez les hommes, même si ce critère n'est pas toujours présent.

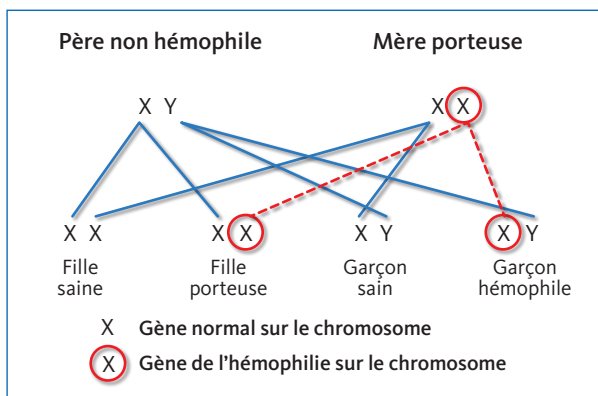


Figure 1 Schéma de transmission de l'hémophilie

Quelles sont les manifestations cliniques de l'hémophilie ?

Les principaux symptômes cliniques de l'hémophilie sont des épisodes récurrents d'hémorragie. La gravité de l'hémorragie est directement liée au taux plasmatique de FVIII. Par conséquent, plus le taux de FVIII est faible, plus les hémorragies du patient seront graves et son tableau clinique péjoratif. Les patients souffrant d'hémophilie sévère saignent plus souvent et les complications de leur maladie atteignent un degré et une sévérité supérieurs. Inversement, les patients présentant une hémophilie légère saignent beaucoup moins et présentent peu, voire pas de complications. Les patients avec une hémophilie modérée présentent un tableau clinique intermédiaire. Les nourrissons peuvent présenter une hémorragie post-circoncision abondante ainsi que des hémorragies des tissus mous et développer facilement des hématomes, en particulier quand ils commencent à marcher à quatre pattes. Les hémorragies spontanées récurrentes des articulations et les hématomes musculaires constituent une complication fréquente qui, si elle n'est pas traitée, risque d'évoluer vers une arthrite chronique conduisant progressivement à une infirmité. Les complications découlant d'hémorragies incontrôlables peuvent survenir lors d'un important trauma ou d'une intervention chirurgicale.

Tableau 1 Classification clinique de l'hémophilie en fonction de l'activité factorielle

Activité du facteur VIII	Gravité de l'hémophilie	Manifestations cliniques
<1%	Hémophilie sévère	<ul style="list-style-type: none"> ■ Fréquentes hémorragies spontanées
>1% - à < 5%	Hémophilie modérée	<ul style="list-style-type: none"> ■ Hémorragie post-traumatique ■ Hémorragies spontanées occasionnelles
5% - à 30%	Hémophilie légère	<ul style="list-style-type: none"> ■ Hémorragie post-traumatique ■ Rares hémorragies spontanées

Comment diagnostique-t-on l'hémophilie ?

La prolongation des tests initiaux de dépistage de la coagulation permet d'identifier un déficit en facteur de coagulation. Des analyses spécifiques sur des facteurs de coagulation ciblés doivent être réalisées pour déterminer quel facteur est en déficit. Le tableau 2 présente les résultats attendus des tests de coagulation chez un hémophile.

Tableau 2 Résultats attendus aux tests de laboratoire initiaux chez un hémophile

Temps de Quick (TQ)	Normal
Temps de thromboplastine partielle activée (APTT)	Prolongé
Temps de thrombine (TT)	Normal
Fibrinogène	Normal
Numération plaquettaire	Normal

Quand l'APTT est prolongé, des études de correction doivent être réalisées en mélangeant le plasma du patient à des groupes de plasmas normaux selon un rapport de 50:50. On a recours à ce « mélange » ou cette étude de correction pour déterminer si la prolongation de l'APTT est due au déficit factoriel ou à un inhibiteur tel que l'héparine. L'ajout de groupes de plasmas normaux remplace les facteurs manquants dans le plasma du patient, quels qu'ils soient, et, par conséquent, « corrige » l'APTT et le ramène dans la plage normale si la prolongation originale était due à un déficit factoriel. En revanche, si l'APTT prolongé est dû à un inhibiteur, il n'y aura pas de « correction ».

Comment confirme-t-on un diagnostic d'hémophilie ?

Il faut effectuer des analyses sur les différents facteurs pour confirmer un diagnostic d'hémophilie. Comme l'hémophilie A est cinq fois plus fréquente que l'hémophilie B, il est plus rentable de réaliser d'abord une analyse du FVIII, puis une analyse du FIX si le taux de FVIII est normal. Le principe et la méthode de test sont les mêmes pour les deux facteurs, à la seule différence qu'on utilise du plasma en déficit de FIX pour l'analyse du FIX.

a) Principe de test de l'analyse du FVIII

L'APTT évalue la fonction collective des facteurs de coagulation constituant la voie intrinsèque et la voie commune de coagulation (FXII, FXI, FIX, FVIII, FX, FV, FII, fibrinogène). Pour que l'APTT se situe dans la plage normale, tous les facteurs participant doivent être présents en

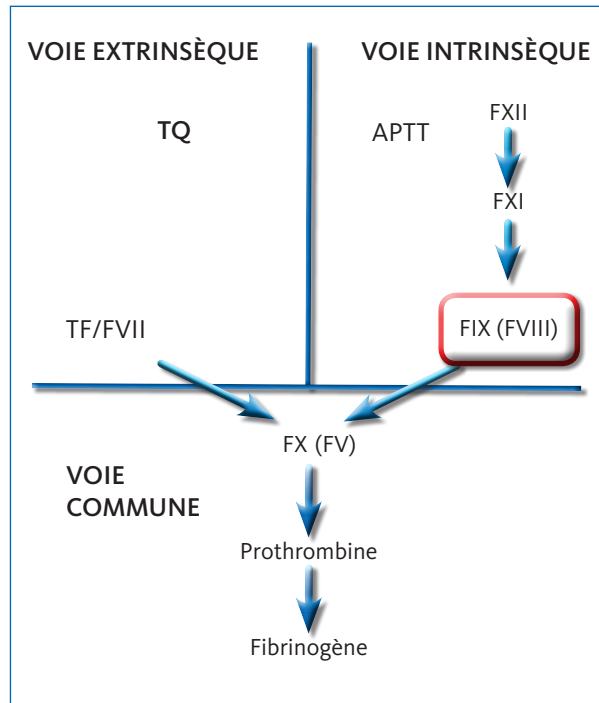


Figure 2 Voie de coagulation présentant les facteurs mesurés par l'APTT et le rôle joué par le FVIII. Un déficit en FVIII prolonge le temps de coagulation de l'APTT qui dépasse alors la plage normale.

quantités normales ou presque normales. Puisque tous les facteurs sont essentiels à la génération finale d'un caillot de fibrine, un déficit en l'un d'entre eux prolonge l'APTT. Le temps de coagulation de l'APTT est prolongé en proportion directe avec le déficit, autrement dit que plus le taux de facteur est faible, plus le temps de coagulation est long. Par conséquent, si la seule variable influant sur l'APTT de l'échantillon d'un patient est le taux d'un facteur de coagulation précis, on peut utiliser la valeur de l'APTT pour calculer la concentration du facteur manquant. Dans le cadre de l'analyse du FVIII, l'échantillon du patient à taux de FVIII inconnu est mélangé avec un plasma de référence contenant des quantités normales de tous les facteurs de coagulation à l'exception du facteur à mesurer, en l'occurrence le FVIII. On appelle ce plasma le « plasma déficitaire en FVIII ».

La réalisation de ce mélange permet de normaliser tous les taux de facteurs de coagulation, sauf le FVIII qui correspond à la quantité inconnue qu'on cherche à déterminer. Ainsi, toute prolongation de l'APTT peut uniquement être attribuée à la concentration du FVIII dans l'échantillon du patient.

b) Réactifs et témoins nécessaires pour l'analyse du FVIII

- Réactifs pour la détermination de l'APTT : les mêmes réactifs que ceux utilisés pour les tests initiaux de l'APTT sont utilisés pour le facteur de coagulation de la voie intrinsèque, à savoir un réactif pour la détermination de l'APTT (Actin FS[®]) et du chlorure de calcium.
- Plasma de référence: ce plasma de référence (Standard Human Plasma[®]), qui contient une quantité connue de FVIII, sert à générer une courbe standard (courbe d'étalonnage) par rapport à laquelle le temps de coagulation du patient sera comparé puis converti en valeur absolue (%).
- Plasma déficitaire en facteur VIII: ce plasma contient des quantités normales de tous les facteurs de coagulation, mais il est complètement déficitaire en FVIII.
- Témoins normaux et anormaux: Control Plasma N[®] et Control Plasma P[®]
(Les noms ci-dessus suivis de «[®]» sont les noms de marque Siemens des réactifs utilisés pour l'analyse du FVIII sur analyseurs Sysmex.)

c) Analyse automatisée du FVIII sur analyseurs Sysmex

Les analyses du facteur de coagulation peuvent être réalisées sur tous les analyseurs de coagulation Sysmex. L'analyseur doit être calibré au moyen de Standard Human Plasma[®] à chaque changement du numéro de lot de réactifs. Veuillez consulter le mode d'emploi ou vous adresser au représentant Sysmex de votre pays.

d) Interprétation des résultats

Les résultats de l'analyse du FVIII sont exprimés en pourcentage. La plage de référence normale peut être assez large (env. 50 à 150 %), mais cela n'est pas pertinent pour diagnostiquer l'hémophilie. Comme indiqué dans le tableau 1, un diagnostic d'hémophilie nécessite un taux de FVIII isolé inférieur à 30 % chez un patient homme. Le taux de facteur détermine la sévérité clinique et, par conséquent, l'approche thérapeutique.

Comment les épisodes hémorragiques sont-ils traités chez les hémophiles ?

a) Restaurer l'équilibre hémostatique

Les saignements chez les hémophiles sont provoqués par l'absence partielle ou totale d'un seul facteur de coagulation, à savoir le FVIII ou le FIX. Par conséquent, il n'est pas surprenant que le traitement des épisodes hémorragiques consiste essentiellement à remplacer le facteur de coagulation manquant. Cela prend habituellement la forme d'un concentré de facteur simple (FVIII ou FIX) qui est soit dérivé du sang humain par procédé de purification, soit fabriqué par génie génétique (facteur recombinant). On privilégie l'utilisation de produits recombinants car ceux-ci sont complètement dénués de risque infectieux associées à la transfusion, telles que le VIH ou l'hépatite B et C qui, bien qu'extrêmement rares, ne peuvent pas être entièrement éliminées des produits dérivés du sang, même dans les pays veillant le mieux au respect des normes de sécurité en matière de transfusion sanguine. Cependant, les produits recombinants sont chers et peu disponibles ; il en résulte que, pour le traitement, la plupart des pays utilisent des concentrés factoriels ou même du plasma frais congelé, tous deux obtenus auprès des services de transfusion sanguine.

La quantité de facteur à fournir dépend de l'intensité de l'hémorragie. Pour les hémorragies spontanées, un taux de FVIII entre 30 et 50 % est habituellement adéquat, mais pour tout trauma ou intervention chirurgicale important(e), un taux de 100 % EST NECESSAIRE. Une fois l'hémorragie stoppée, le taux de FVIII doit être maintenu à environ 50 % jusqu'à cicatrisation.

b) Mesures générales

Comme pour les non-hémophiles, des mesures standard de compression externe au point d'hémorragie sont mises en œuvre, l'extension de l'hémorragie est minimisée par le repos et l'élévation de la zone.

c) Mesures préventives

Il est conseillé aux hémophiles de ne prendre ni aspirine, ni anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pour soulager leurs douleurs. Ces médicaments peuvent aggraver l'hémorragie car ils ont un impact sur la fonction plaquettaire. Les injections intramusculaires doivent aussi être évitées car elles peuvent précipiter l'hémorragie.

d) Traitement prophylactique par facteur de remplacement

Dans l'idéal, les hémophiles devraient recevoir préventivement et régulièrement un facteur de remplacement, pour prévenir l'hémorragie, plutôt qu'au moment où l'hémorragie survient. Cette méthode s'est avérée très efficace pour prévenir les complications à long terme, mais dans la pratique cela revient excessivement cher. Il s'agit donc d'un but inatteignable pour la grande majorité des hémophiles, même dans les pays développés.

Quel est le rôle du laboratoire dans les soins aux hémophiles ?

Non seulement l'analyse du FVIII est essentielle pour confirmer le diagnostic, mais c'est également une composante déterminante dans les soins constants aux hémophiles. Comme indiqué ci-dessus, la perfusion de concentré factoriel est le pilier du traitement, mais les taux doivent atteindre un certain seuil minimal pour que l'hémostase soit restaurée efficacement. Par conséquent, il est impératif de vérifier les taux factoriels à intervalles de temps précis après administration du facteur. Il existe des algorithmes qui aident à déterminer la quantité d'unités de FVIII à perfuser. La formule reprend le taux initial de FVIII et le poids corporel. On l'utilise pour déterminer la dose de départ, mais il faut confirmer la réponse au traitement en répétant l'analyse factorielle post-perfusion. Si le rétablissement du taux factoriel est sous-optimal, une dose supérieure doit être administrée, en particulier en cas de signes cliniques d'hémorragie. Si les patients ne répondent pas comme attendu ou ont besoin de doses toujours plus élevées pour contrôler l'hémorragie, il convient de chercher à déterminer si des inhibiteurs ne se sont pas développés.

Qu'est-ce que les inhibiteurs ?

L'une des complications les plus graves découlant d'un traitement contre l'hémophilie est le développement d'anticorps (inhibiteurs) agissant contre le FVIII perfusé. Cela a tendance à se produire uniquement chez les patients présentant une hémophilie sévère ayant moins de 1 %, voire une absence totale, de FVIII. Comme le patient n'a presque pas de FVIII endogène, l'organisme considère tout FVIII exogène perfusé comme une substance étrangère contre laquelle des anticorps sont produits. On appelle ces anticorps des inhibiteurs car

ils se lient au facteur perfusé et l'empêche de participer à la cascade de la coagulation. Cela signifie qu'il faut plus de facteur perfusé pour entretenir la coagulation. Cela se produit chez environ 5 à 10 % des patients présentant une hémophilie A sévère et 2 à 4 % des patients souffrant d'hémophilie B sévère.

Comment déceler les inhibiteurs en laboratoire ?

Les inhibiteurs du FVIII ont tendance à être temps-dépendants. Par conséquent, un mélange de plasma normal et du plasma du patient contenant un inhibiteur est incubé, l'inhibiteur neutralise progressivement le FVIII au fil du temps. Si l'on connaît l'activité du FVIII contenu dans le plasma normal et le délai d'incubation, on peut déterminer la puissance de l'inhibiteur. Les analyses du FVIII sont réalisées sur un lot d'échantillons de plasma du patient dilués en série avec du plasma normal à quantité définie de FVIII. C'est la valeur de dilution de l'échantillon qui génère le taux de FVIII résiduel le plus proche de 50 % qui sert à calculer la quantité d'inhibiteur présente, exprimée en unités Bethesda. Une unité Bethesda représente la quantité d'inhibiteurs qui peut désactiver 50 % d'une unité de FVIII dans un groupe de plasmas normaux au bout de 10 minutes d'incubation à 37 °C. Le graphique permet alors de lire l'activité inhibitrice au

moyen de la valeur de FVIII résiduel (cf. figure 3).

Les unités Bethesda finales sont ensuite calculées en multipliant l'activité inhibitrice par le facteur de dilution des résultats. Toutes les valeurs supérieures à 80 % de FVIII résiduel sont considérées négatives aux inhibiteurs.

En quoi la présence d'inhibiteurs influe-t-elle sur le traitement ?

La règle d'or consiste à dire qu'un patient avec une unité Bethesda d'inhibiteur a besoin d'une de facteur deux fois supérieure à la quantité dont il aurait besoin s'il n'avait pas d'inhibiteurs. Quand le taux d'inhibiteurs augmente, les concentrés de facteurs deviennent progressivement inefficaces dans la prise en charge des épisodes hémorragiques. Le cas échéant, il faut avoir recours à des produits différents, tels que le facteur VIIa recombinant, qui agit directement sur le facteur X, contournant ainsi le besoin en FVIII (veuillez consulter le schéma de la cascade de coagulation dans le bulletin d'information SEED n° 1). Malheureusement ce produit est vendu à un prix prohibitif et il n'est pas disponible à grande échelle. Par conséquent, la seule alternative à la portée de la majorité des patients consiste à utiliser des quantités massives de concentrés factoriels tout en ciblant la production d'inhibiteurs au moyen de traitements auto-immuns et occasionnellement de chimiothérapie.

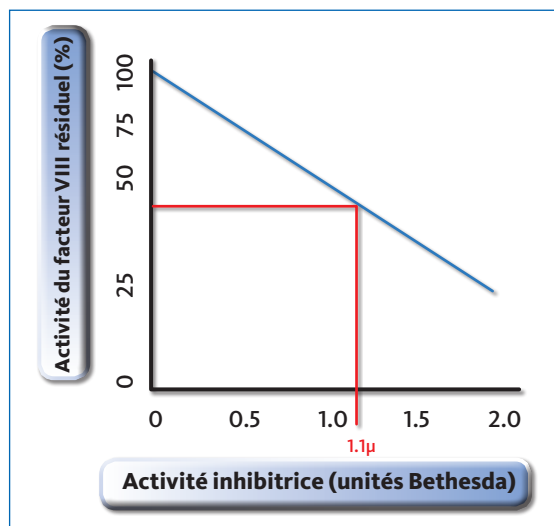


Figure 3 On utilise le facteur VIII résiduel le plus proche de 50% pour lire l'activité inhibitrice sur le graphique

À retenir

Bien que l'hémophilie soit relativement rare en termes de nombre de patients touchés, la demande en analyses du FVIII et du FIX est forte pour deux raisons: d'une part parce que ces patients ont tendance à subir tout au long de leur vie de fréquents événements hémorragiques, et d'autre part parce que leurs échantillons sanguins doivent être testés dans les 2 heures suivant le prélèvement pour que les taux de FVIII soient exacts. La disponibilité très étendue de services de laboratoire fiables capables de réaliser des tests sur le FVIII et le FIX est donc une composante essentielle de tout programme de soin pour les hémophiles, et ce même dans les pays manquant de ressources.

Compilé par
Sylvia Mothabeng



Sysmex South Africa (Pty) Ltd.

Fernridge Office Park – Block 2, 5 Hunter Avenue, Ferndale, Randburg 2194 · Phone +27 11 329 9480 · Fax +27 11 789 9276 · info@sysmex.co.za · www.sysmex.co.za