

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université de Mouloud Mammeri
Faculté de médecine

Département de Pharmacie
Tizi-Ouzou



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري

كلية الطب

قسم الصيدلة

تيزي وزو

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

N° D'ORDRE

Présenté et soutenu publiquement

Le : 30 juillet 2019

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème

La recherche des inhibiteurs anti-facteur VIII et anti-facteur IX chez les hémophiles diagnostiqués au niveau du CHU de Tizi Ouzou

Réalisé par :

- ALLALI Tassadit
- ATTOUCHE Rime
- ABDELAZIZ Fatma

Encadré par : Dr. S. ARBANI
Co-Encadré par : Dr. R. CHERRAD
Dr. M. A. AKLI

MAHU UMMTO
Assistant CHU TO
Assistant CHU TO

Composition du jury

Dr. F. KESSAL	MAHU	UMMTO	Présidente
Dr. S. AGOURNAZ	Assistante	CHU TO	Examinatrice
Dr. S. OUZID	Assistante	CHU TO	Examinatrice

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

On exprime d'abord nos profonds remerciements à Dieu tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Au terme de ce travail,

- ❖ *Nous tenons à remercier notre promotrice **Dr ARBANI**,
Maitre Assistante Hospitalo-universitaire au niveau du CHU de TIZI -
OUZOU/UMMTO.*
- ❖ *Merci également au **Dr KESSAL**, Maitre Assistante Hospitalo-universitaire en
hémobiologie au CHU « NEDDIR MOHAMMED » de TIZI-OUZOU pour
l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.*
- ❖ *Nous remercions vivement **Dr AKLI** pour son aide précieuse, et aussi d'avoir
accepté d'examiner ce travail.*
- ❖ *Nous ne manquerons pas l'occasion de remercier chaleureusement **Dr
CHERRAD** pour son incontestable contribution à
l'accomplissement de ce travail. Son caractère très accueillant ainsi
que sa disponibilité nous a permis de surmonter les difficultés
rencontrées.*
- ❖ *Un grand merci également, au **Pr AIT ALI** et au **Dr OUAMRANE** du
service d'hématologie du CHU de TIZI-OUZOU.*
- ❖ *A tout le personnel du laboratoire d'Hémobiologie du CHU de TIZI-
OUZOU, notamment **Dr TACHOU**, **Dr AIT ALI**, **Dr ARHAB** et **Dr
BERDOUS** merci pour votre accueil chaleureux et votre aide. Veuillez
trouver ici l'expression de toute notre gratitude et notre considération.*

A Tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail, on vous dit.

Merci

Rime, Tassadit & Fatma

Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant :

*A mon très cher père **Arezki**, source d'amour, d'affection, de générosité et de sacrifices. Tu étais toujours là près de moi pour me soutenir, m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Que ce travail soit le témoignage des sacrifices que vous n'avez cessé de déployer pour mon éducation et mon instruction. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'admiration que je porte au grand homme que vous êtes. Puisse Dieu le tout puissant, vous préserver et vous accorde santé, longue vie et bonheur.*

*A ma très chère mère **Karima**, source de ma vie, mon exemple, la femme idéale, le symbole du courage, de l'amour, la tendresse et le sacrifice, qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vous m'avez toujours poussée à devenir meilleure chaque jour. Que vous trouvez ici le témoignage de ma gratitude et ma profonde affection. Puisse Dieu le tout puissant t'accorde santé, longue vie et bonheur.*

*A mon fiancé **Ali**, qui a toujours été présents à mes côtés pour les bons conseils, ton soutien m'a été un grand secours*

*A mes très chers frères **Ahmed** et **Nassim** pour leur appui et leur encouragement.*

A mes tantes, oncles, cousins, cousines et amis(es) pour leur soutien.

*A mes deux binômes **Fatma & Rime**. Merci pour les très bons moments qu'on avait partagés ensemble, je vous aime.*

TASSADIT

Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à DIEU tout puissant à :

Mes chers parents

“Mustapha & Houria”

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l’immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et sacrifices que vous n’avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

Mille merci pour votre soutien et pour tout ce que vous avez fait pour moi ; j’espère avoir réalisé ce que vous attendiez de moi.

Que Dieu le tout puissant, vous préserve et vous accorde santé, longue vie et bonheur.

A ma chère sœur

“Nassima”

Je ne peux t’exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d’amour et de tendresse ; je te souhaite un avenir radieux plein de réussite ma chérie.

A mon cher époux

“Walid”

Merci pour ta patience, ton soutien, tes conseils et ta compréhension, tout au long de mes études.

Tu es pour moi une source de joie et de force pour affronter l’avenir en toute sérénité.

Aux personnes qui m’ont toujours aidé et encouragé, qui ont toujours été là pour moi, et à mes aimables amies, collègues d’études et sœurs de cœur

Tassadit & Fatma

Rime

Dédicace

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu Tout Puissant.

*À la plus belle créature que Dieu a créé sur terre, cette source de tendresse, de patience et de générosité, l'exemple du dévouement qui n'a jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi, je t'aime **Maman**.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi **Papa**.*

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

*A mon adorable et unique sœur **Lamia** pour son amour, humour et soutien moral aux moments les plus difficiles. Je te souhaite plein de succès et de joie. Que Dieu te garde et illumine ton chemin, je t'aime.*

*A mes frères **Slimane & Mohammed** qui ont toujours été présents à mes côtés pour les bons conseils, votre soutien m'a été un grand secours au long de ma vie, veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.*

*A mon cher ami **MADJID** pour ta compréhension, ta confiance, ta patience et ta tendresse. Tu m'as toujours soutenu et réconforté, tu es et tu resteras ma source de courage.*

A mes chers cousins, cousines, tantes, oncles, amies et amis, merci pour vos conseils, aides, et encouragements.

*A mes deux binômes **RIME & ROZA** merci pour les très bons moments qu'on avait partagés ensemble, je vous aime.*

Fatma

Table des matières

Table des matières	i
Liste des abréviations	vi
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xii

Introduction générale	01
------------------------------------	----

PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE

CHAPITRE I : FACTEURS ANTI-HEMOPHILIQUES

1. Rôle des facteurs anti-hémophiliques dans la coagulation plasmatique	03
1. Structure et métabolisme	04
1.1.Facteur VIII	04
1.2.Facteur IX.....	06
2. Gènes et biosynthèse des facteurs anti-hémophiliques	07
2.1.Facteur VIII	07
2.2.Facteur IX.....	08
3. Activation et inactivation des facteurs anti-hémophiliques	09
3.1.Activation et inactivation du FVIII	09
3.2.Activation et inactivation du FIX.....	09
4. Conséquences du déficit en facteur anti-hémophilique sur l'hémostase.....	10

CHAPITRE II : HEMOPHILIE

2. Définition de l'hémophilie	12
3. Epidémiologie	12
4. Classification des hémophilies A et B.....	12
5. Physiopathologie et bases moléculaires	13
5.1.Mode de transmission.....	13
5.2.Bases moléculaires	15
5.2.1. Hémophilie A	15
5.2.1.1.Remaniements géniques	15
5.2.1.2.Mutations ponctuelles	16
5.2.1.3.Délétions – insertions / duplications	16

Table des matières

5.2.2. Hémophilie B	17
6. Clinique de l'hémophilie	18
6.1.Hémophilie sévère	18
6.1.1. Hémorragies caractéristiques	18
6.1.2. Hémorragies moins spécifiques.....	19
6.2.Hémophilie modérée et mineure	19
7. Diagnostic biologique	20
7.1.Diagnostic positif	20
7.1.1. Bilan biologique d'orientation	20
7.1.2. Confirmation	20
7.2.Diagnostic des conductrices d'hémophilie.....	21
7.2.1. Diagnostic phénotypique	21
7.2.2. Diagnostic génotypique	21
7.3.Diagnostic prénatal.....	22
7.4.Diagnostic différentiel.....	22
8. Traitement et prise en charge de l'hémophilie	23
8.1.Traitements adjuvants spécifiques	23
8.2.Le traitement substitutif	23
8.2.1. Posologie	23
8.2.2. La périodicité des injections et la durée totale du traitement	24
8.2.3. Les complications du traitement substitutif.....	24
9. Thérapie génique	24
10. Règles de conduite en milieu médical	25

CHAPITRE III : LES INHIBITEURS ANTI-FACTEURS ANTI-HEMOPHILIQUES

1. Définition des inhibiteurs	27
2. Les caractéristiques des anti-facteurs anti-hémophiliques	27
2.1.Les allo anticorps anti FVIII	27
2.1.1. Les isotypes et sous-classes des anticorps anti-hémophiliques.....	27
2.1.2. Classification des inhibiteurs anti FVIII	27
2.1.3. Mécanisme d'action de l'inhibiteur anti FVIII.....	28
2.2.Les allo anticorps anti FIX	30
3. Facteurs de risque	31

Table des matières

3.1. Les facteurs de risque intrinsèques liés au patient	31
3.2. Les facteurs de risque extrinsèques liés au patient.....	31
4. Diagnostic des inhibiteurs anti-hémophiliques	32
4.1. Circonstances de découverte	32
4.1.1. Découverte systématique.....	32
4.1.2. Découverte lors d'une complication.....	32
4.2. Diagnostic biologique	32
4.2.1. Diagnostic de suspicion.....	33
4.2.2. Diagnostic de confirmation	33
5. Traitement de l'hémophilie avec inhibiteurs.....	33
5.1. Les agents by passants.....	34
5.1.1. Le facteur VII activé recombinant.....	34
5.1.2. Les concentrés de complexe prothrombinique.....	35
5.2. Induction de la tolérance immune	35
5.3. La plasmaphérèse	36

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

RAPPEL DES OBJECTIFS	37
-----------------------------------	-----------

CHAPITRE I : PATIENTS, MATERIELS ET METHODES

1. Matériels	38
1.1. Type d'étude.....	38
1.2. Lieu d'étude.....	38
1.3. Période d'étude.....	38
1.4. Population cible.....	38
1.4.1. Critères d'inclusion	38
1.4.2. Critères d'exclusion.....	38
1.5. Déroulement de l'étude	39
1.5.1. Matériel utilisé.....	39
1.5.2. Fiche de renseignements	41
2. Méthodes	42
2.1. Phase pré-analytique.....	42
2.1.1. Modalités de prélèvement	42
2.1.2. Conservation, traitement et délai de traitement des échantillons	43
2.2. Phase analytique	43

Table des matières

2.2.1. Tests globaux.....	43
2.2.1.1.Temps de Céphaline plus Activateur (TCA).....	43
2.2.1.2.Temps de Quick (TQ)	45
2.2.1.3.Dosage du fibrinogène	46
2.2.2. Dosage des facteurs anti-hémophiliques FVIII et FIX.....	46
2.2.3. Recherche des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.....	48
2.2.3.1.Dépistage d'un inhibiteur du facteur VIII ou IX.....	48
2.2.3.2.Titrage d'un inhibiteur du facteur VIII ou IX	51
2.3.Saisie et analyse statistique des données.....	53

CHAPITRE II : RESULTATS

1. Caractéristiques démographiques	55
1.1.Répartition en fonction de l'âge	55
1.2.Répartition en fonction du lieu de résidence	56
2. Caractéristiques de l'hémophilie	57
2.1.Répartition en fonction du type d'hémophilie.....	57
2.2.Répartition en fonction de la sévérité de l'hémophilie.....	58
2.3.Répartition en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie.....	59
2.4.Répartition en fonction des circonstances de découverte de l'hémophilie.....	60
2.5.Répartition en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie	62
2.6.Répartition en fonction des co-morbidités.....	64
2.7.Répartition en fonction des antécédents personnels de transfusion	65
2.8.Répartition en fonction du type de traitement	66
3. Recherche des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques	67
3.1.Fréquence brute de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.....	67
3.2.Fréquences spécifiques de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques	67
3.2.1. Fréquence en fonction du type d'hémophilie	67
3.2.2. Fréquence en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie	68
3.2.3. Fréquence en fonction du degré de sévérité de l'hémophilie	68
3.2.4. Fréquence en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie	69

Table des matières

CHAPITRE III : DISCUSSION

1. Méthodologie.....	70
1.1.Biais	70
1.2.Limites de l'étude	70
2. Résultats	71
2.1.Type d'hémophilie.....	71
2.2.Age de découverte de l'hémophilie.....	71
2.3.Inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques	72
2.4.Hémophilie et hépatite virale C	72
2.5.Alternatives thérapeutiques chez les patients ayant développé des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.....	73
Conclusion et recommandations	75
Références	77
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

a : activé

AA : acide aminé

ACC : Anticoagulants Circulants

Acs : Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFASSAP : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

Ag : Antigène

AG : appareil de golgie

Arg : Arginine

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : Acide Ribonucléique message

ATCD : Antécédents

bp : paires de bases

C : conduction

C/ EBP α : Enhancer-binding Protein alpha

CaCl₂ : Chlorure de calcium

CPG : Cytosine-Phosphate-guanine

dDAVP : La 8-déamino-D-arginine vasopressine

EGF: Epidermal Growth Factor

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

ERGIC P53: Endoplasmic Reticulum Golgi Intermediate Compartment Protein

F : Facteur

Facteur II : Facteur II (prothrombine)

Facteur IIa : Facteur II activé (thrombine)

FG : fibrinogène

FIX : Facteur IX

FIXa : Facteur IX activé

FIXc : Facteur IX coagulant

FT : Facteur tissulaire

FVII : Facteur VII

FVIII : Facteur VIII

FVIIIa : Facteur VIII activé

FVIIIc : Facteur VIII coagulant

FX : Facteur X

FXa : Facteur X activé

FXI : Facteur XI

FXII : Facteur XII

FXIII : Facteur XIII

FXIIIa : Facteur XIII activé

Gla : Acide gamma carboxyglutamique

HLA : Human Leukocyte Antigen (Complexe Majeur d'Histocompatibilité)

HNF4 α : Hepatocyte Nuclear Factor-4

HNF6: Hepatocyte Nuclear Factor

HPM : haut poids moléculaire

Ig : Immunoglobuline

IR: Indice de Rosner

ISTH: International Society on Thrombosis and Haemostatic

ITI : Induction de la Tolérance Immune

IV : Intraveineuse

JCPA (ou CED) : Journées Cumulées en Présence de l'Antigène

Kb : kilobase

Kbp : Kilo paires de bases

Kd : Constante de dissociation

Kda : Kilo Dalton

KHPM: kininogène haut poids moléculaire

LCR: low density receptor protein

LMAN1: Mannose binding Lectin

LRP: low density receptor-related protein

M: Malade

MCFD2: Multiple Combined Factor Deficiency Protein

OK : Owren Koller (tampon)

PAI-1 : Inhibiteur de l'activateur du plasminogène

Pb : Paire de base

PCa : protéin C activé

PET : plastique type polyéthylénetétraphtalate

pFVIII : Facteur VIII d'origine plasmatique

PGHS : Proteoglycane d'héparine sulfatée

pH : potentiel hydrogène

PK : Prékallitréine

PL : phospholipides

PM : poids moléculaire

PP : polypropylène

PPP : plasma pauvre en plaquettes

RE : Réticulum endoplasmique

rFVIIa : Facteur VII activé recombinant

rFVIIa : Facteur VII activé recombinant

rFVIII : Facteur VIII recombinant

SSC : Scientific and standarization committee

T : Témoin

T° : Température

TCA : Temps de Céphaline Activé

TFPI : Inhibiteur du facteur tissulaire

TFPI : Inhibiteur Facteur tissulaire

TI : Inhibiteur de la trypsine

TM : thrombomoduline

TP : Taux de prothrombine

t-PA : Activateur tissulaire du plasminogène

TQ : Temps de Quick

UB : Unité Bethesda

UI : Unités Internationales

u-PA : Activateur du plasminogène de type urokinase

V : Volume

Vac : Volume anticoagulant

VHC : Virus de l'Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VN : Valeur normale

vWF: von Willebrand Factor

α 2-M : α 2 macroglobuline

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification du sous-comité sur le facteur VIII et le facteur IX du Scientific and Standardization Committee (SSC) de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH).

Tableau 02 : Préparation et conservation des réactifs.

Tableau 03 : Les différentes dilutions du plasma du malade à réaliser

Tableau 04 : Fréquence brute de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques, CHU de Tizi Ouzou, Février 2019- Juin 2019.

Tableau 05 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction du type d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février 2019- Juin 2019.

Tableau 06 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février 2019- Juin 2019.

Tableau 07 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction de la sévérité de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février 2019- Juin 2019.

Tableau 08 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février 2019- Juin 2019.

Liste des figures

Figure 01 : Cascade de la coagulation.

Figure 02 : Facteur VIII (FVIII) et FVIII activé. Représentation schématique de la structure.

Figure 03 : Facteur VIII. Structure et régions impliquées dans les principales interactions moléculaires.

Figure 04 : Gène du facteur IX (FIX) et FIX activé.

Figure 05 : Mode de transmission de l'hémophilie.

Figure 06 : Pathologie moléculaire du gène FVIII : inversions.

Figure 07 : Pathologie moléculaire du gène FVIII : délétions et mutations ponctuelles.

Figure 08 : Les principaux représentants des anticorps (Acs) anti-FVIII et leurs mécanismes d'inhibition.

Figure 09 : Mécanisme d'action schématique du facteur VII activé recombinant au sein d'une lésion vasculaire.

Figure 10 : Coagulomètre Star4.

Figure 11 : Courbe d'étalonnage.

Figure 12 : STA compact Max2.

Figure 13 : Sysmex CA-600 series.

Figure 14 : Répartition des hémophiles en fonction de l'âge, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 15 : Répartition des hémophiles en fonction de l'âge, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 16 : Répartition des hémophiles en fonction du type d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 17 : Répartition des hémophiles en fonction de la sévérité de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 18 : Répartition des hémophiles en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 19 : Répartition des hémophiles en fonction des circonstances de découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 20 : Répartition des hémophiles en fonction du type d'hémorragie ayant conduit à la découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 21 : Répartition des hémophiles en fonction de l'origine de l'hémorragie ayant conduit à la découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 22 : Répartition des hémophiles en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 23 : Répartition des hémophiles aux antécédents familiaux d'hémophilie en fonction du lien de parenté, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 24 : Répartition des hémophiles en fonction des maladies associées, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 25 : Répartition des hémophiles en fonction des antécédents personnels de transfusion, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Figure 26 : Répartition des hémophiles en fonction du type de traitement anti-hémophilique, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

*Revue de la
Littérature*

Introduction générale

Introduction

L'hémophilie est une maladie hémorragique grave et contraignante, transmise de manière héréditaire selon un mode récessif lié au chromosome X, cette anomalie génétique se traduit par un déficit en un facteur de coagulation, le FVIII qui définit le type A de l'hémophilie, ou le FIX qui définit le type B de la maladie.

Il n'existe pas de traitement curatif, le traitement est substitutif, et il repose sur la perfusion d'un concentré de haute pureté du facteur VIII ou IX (selon le type de l'hémophilie), ayant préalablement subi un traitement Solvant-Détergent pour l'inactivation virale (surtout le VIH - Hépatites). Cependant ces traitements présentent le risque d'une double complication ; d'abord les complications infectieuses, mais surtout la complication devenue le problème majeur de la prise en charge de ces patients, il s'agit de l'apparition d'allo-anticorps anti-FVIII ou anti-FIX appelés aussi anticorps inhibiteurs. Ces inhibiteurs compliquent la prise en charge transfusionnelle du sujet hémophile ; ils entraînent une résistance à la thérapie habituelle de l'hémophile. Les facteurs influençant le risque de survenue d'inhibiteurs chez un hémophile sont d'une part intrinsèque et donc propre au patient lui-même, et d'autre part extrinsèque et donc dépendants des modalités choisies pour le traiter. Ces allo-anticorps ont des propriétés catalytiques et celles d'hydrolyser les antigènes pour lesquels ils sont spécifiques. Les patients hémophiles avec inhibiteurs sont plus largement sujets à des complications orthopédiques ou à des accidents hémorragiques graves. Le diagnostic biologique est simple ; leur dépistage doit être systématique chez tout patient ayant reçu un traitement substitutif.

Le développement d'inhibiteurs est, de nos jours, la préoccupation principale des médecins. De nombreux travaux de recherche se sont concentrés sur ce domaine et de nombreuses études ont été effectuées à ce propos.

Compte tenu de ce qui a été dit précédemment, nous avons fixé pour notre étude les objectifs suivants :

Introduction

Objectif principal :

Mesurer la fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.

Objectifs secondaires :

- Mesurer la fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction du type d'hémophilie, de l'âge de découverte, du degré de sévérité, des antécédents familiaux, des antécédents personnels de transfusion sanguine, et des traitements anti-hémophiliques.
- Identifier les co-morbidités des hémophiles.
- Evaluer l'effet des agents de contournement sur les titres des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.

Chapitre I

Facteurs
Anti-Hémophiliques
(FVIII ET FIX)

1. Rôle des facteurs anti-hémophiliques dans la coagulation plasmatique

- Rappel sur la coagulation

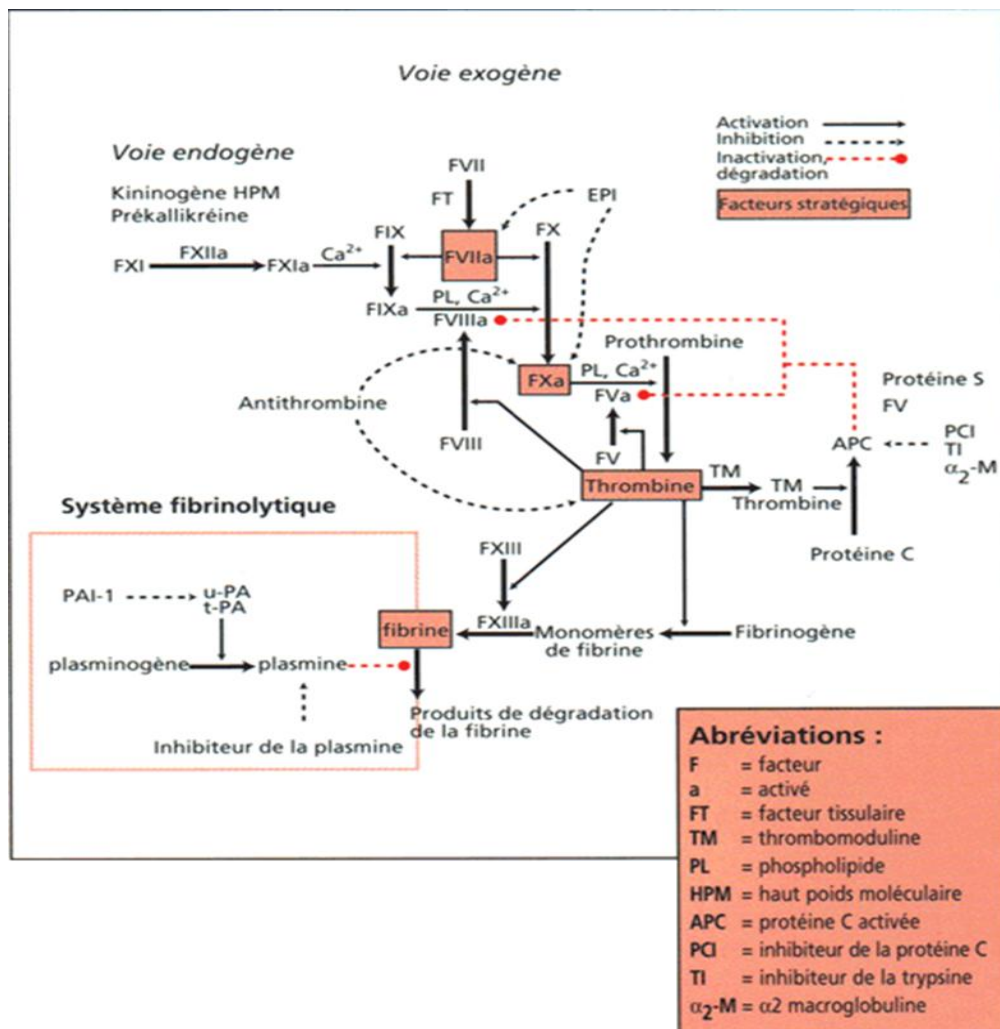


Figure 01 : Cascade de la coagulation

La coagulation se déroule en 3 étapes :

- Phase d'initiation

Conduit à la génération de faibles traces de thrombine à la surface plaquettaire. Le complexe [FT-FVIIa] est l'initiateur de cette étape → activation directe du FX en FXa et du FIX en FIXa mais reste en quantité faible car elle est limitée par le TFPI (inhibiteur du FT) [10].

- **Phase d'amplification**

- Nécessite la présence de cofacteur : le FVIII. Ce dernier est activé par les 1^{ères} traces de thrombines et FX générés lors de l'initiation. Le FIXa se lie au FVIIIa en présence de Ca^{2+} au sein d'un complexe appelé ténase intrinsèque → le FVIIIa augmente la catalyse de la réaction de transformation du FX → FXa par le FIXa d'un facteur $>10^5$ → génération de quantité importante de FXa, qui va générer à son tour la thrombine → fibrine.

- la thrombine active le FV → FVa qui se fixe sur les PL et forme avec le FXa la prothrombinase → de la prothrombine en thrombine → active de nouveau le FVIII en FVIIIa → boucle d'amplification au sein de laquelle les facteurs anti-hémophiliques A et B en sont les acteurs principaux [8].

- **La phase de propagation**

Génération de manière explosive de IIa ce qui implique :

- Activation en boucle du FXI en XIa → activation du FIX ;
- Protéolyse du Fibrinogène en fibrine ;
- Activation du FXIII en XIIIa → stabilisation du réseau de fibrine ;
- Activation des plaquettes par la thrombine.

2. Structure et métabolisme

2.1. Facteur VIII [1,3]

Le FVIII est une protéine plasmatique de la coagulation de 2 332 acides aminés comportant trois domaines homologues A, un domaine B et deux domaines C organisés suivant la séquence A1-A2-B-A3-C1-C2 (Fig.1 et 2). Entre ces domaines ont été identifiées des régions acides : a1 entre A1 et A2, a2 entre A2 et B, et a3 entre B et A3. Les trois domaines A, essentiels pour l'activité cofacteur, présentent une homologie avec ceux du facteur V de la coagulation et de la céruloplasmine. Une grande partie du domaine B peut être délitée sans perte de l'activité. Avant sa sécrétion, le FVIII est clivé à la jonction B-A3 puis à l'intérieur du domaine B. Ceci génère une chaîne lourde comportant A1, A2, et B et une chaîne légère composée des domaines A3, C1 et C2. L'association entre les chaînes lourdes et légères est médiée par un cation divalent. Immédiatement après sa libération dans la circulation, il forme un complexe non covalent avec

le facteur von Willebrand (vWF) pour lequel il a une très forte affinité ($k_d < 0,5 \text{ nM}$). Deux régions de la chaîne légère du FVIII sont impliquées dans la liaison avec le vWF : la région a3, qui précède le domaine A3, et une ou plusieurs régions des domaines C1 et C2. Dans le complexe [vWF-FVIII], le facteur VIII est protégé de l'action catalytique de la protéine C activée, du FIXa et du facteur X activé (FXa), permettant de maintenir un taux de FVIII normal dans le plasma avant son activation. Le taux plasmatique est faible : 0,10 à 0,20 mg/l.

Chez le sujet normal, la demi-vie du facteur FVIII est comprise entre 8 et 12 heures, la molécule dépourvue de facteur Von Willebrand a une demi-vie raccourcie environ 2 à 4 heures.

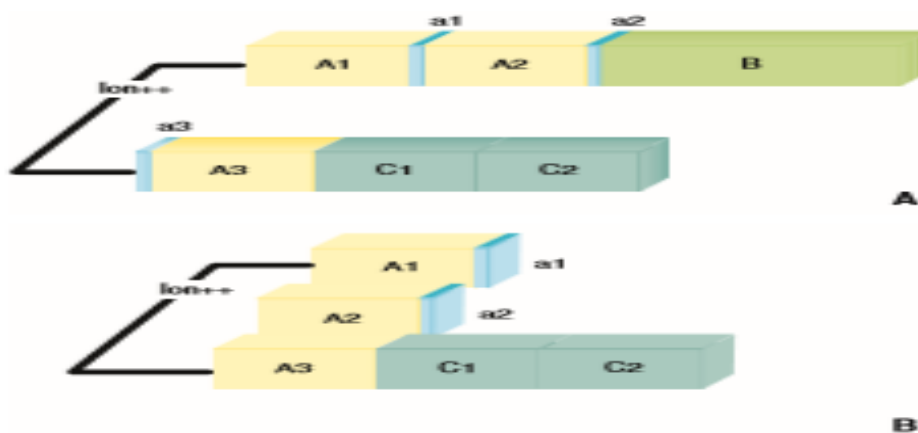


Figure 02 : Facteur VIII (FVIII) et FVIII activé(FVIIIa). Représentation schématique de la structure [1,3].

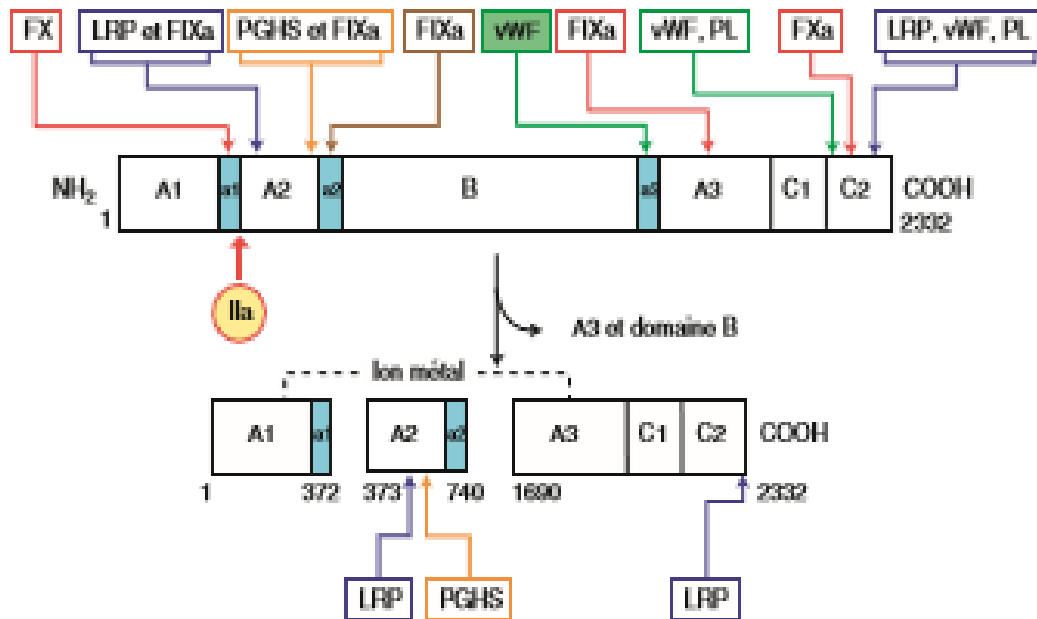


Figure 03 : Facteur VIII. Structure et régions impliquées dans les principales interactions moléculaires [1,3].

2.2. Facteur IX

Le FIX est une sérine protéase plasmatique circulante composée de 415 acides aminés [5]. Son poids moléculaire est de 57 kDa. Il comporte certains domaines ou structures caractéristiques : vers la partie N-terminale se trouvent 12 résidus gammacarboxylés (domaine GLA) qui permettent la liaison du FIX aux phospholipides par l'intermédiaire d'ions calcium (Fig. 4). Cette propriété est commune à tous les facteurs vitamine K-dépendants: FII, FVII, FIX, FX, protéine C et protéine S. Les deux domaines suivants sont de type epidermal growth factor (EGF). Le premier domaine, de type B, contient des résidus impliqués dans la liaison de haute affinité avec le calcium ; le second domaine, de type A, pourrait jouer un rôle dans la liaison du FIX avec les plaquettes et dans l'interaction du FIXa avec son cofacteur, le FVIII. Après les domaines EGF-like se situe un peptide d'activation de 35 acides aminés qui précède le domaine sérine protéase, avec la triade catalytique histidine-aspartate-sérine.

Le FIXa une concentration de 3 à 5 mg/L, sa demi-vie est d'environ 25 heures.

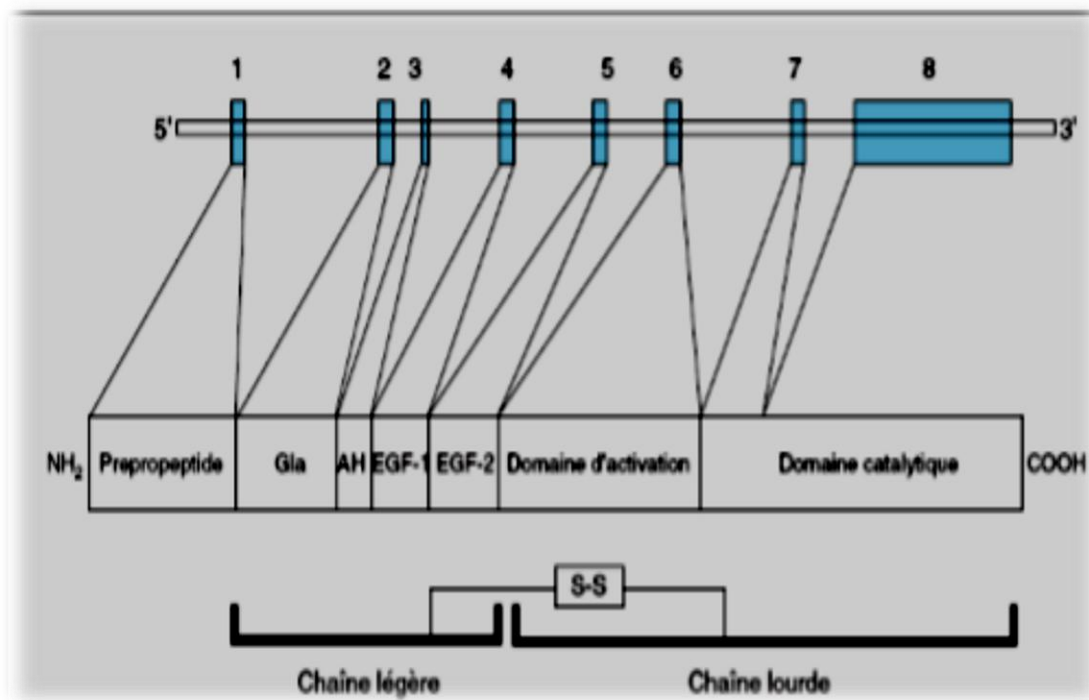


Figure 04 : Gène du facteur IX (FIX) et FIX activé [5].

3. Gène et biosynthèse des facteurs anti-hémophiliques

3.1. Facteur VIII

Le gène du FVIII est situé sur l'extrémité distale du bras long du chromosome X (Xq28). Il a une longueur de 186 Kilo paires de bases (Kbp).

L'ADN codant pour l'ARNm de la protéine est constituée de 26 exons contenant 69 à 3106 bp. Les 25 introns se répartissent entre 207 à 32 400 bp. L'ARNm a une longueur de 9 Kbp (8 860 nucléotides) traduit en une protéine de 2351 aa dont est détaché, lors de la sécrétion, un peptide signal de 19 aa. L'ARNm de ce facteur a été mis en évidence au niveau d'autres organes que le foie, en particulier, le rein, la rate et au niveau des lymphocytes.

L'ARNm est transcrit en un polypeptide de 2351 acides aminés comportant un peptide signal de 19 AA et trois domaines homologues A, un domaine B et deux domaines C organisés suivant la séquence A1-A2-B-A3-C1-C2 comme pour le facteur V. Au niveau du réticulum endoplasmique (RE), la protéine perd son peptide signal de 19 aa et subit une série de

glycosylation. La molécule finale a un poids moléculaire de 265 à 330 KDa, et contient 2 332 aa.

Les protéines de transport (binding protein) vont se détacher de la molécule. Celle-ci, toujours monomérique, transite dans l'appareil de golgi (AG) où s'effectuent les modifications post-traductionnelle. Ce transit est assuré grâce à des molécules chaperonnes très importantes qui interviennent également dans le transfert du facteur V du RE vers l'AG, Deux molécules chaperonnes connues : Endoplasmic Reticulum Golgi Intermediate Compartment Protein = Mannose binding Lectin ERGIC P53 ou LMAN1, et Multiple Combined Factor Deficiency Protein = MCFD2. Leur déficit est responsable du déficit combiné V-VIII.

Durant la sécrétion, le domaine B est clivé au niveau de 02 sites ce qui est à l'origine du caractère labile de la molécule, selon le site de clivage, on obtient des molécules dimériques formées d'une chaîne lourde comportant A1, A2, et B ayant un PM variant de 90 à 200 KDa, et d'une chaîne légère composée des domaines A3, C1 et C2 et ayant un PM de 80 KDa.

Il résulte ainsi une collection hétérogène d'hétéro-dimères. Sous cette forme la molécule est rapidement détruite par les sérines protéases : Protein C, FXa, FIXa.

Ainsi, avant sa sécrétion le dimère est stabilisé par le facteur vonWillebrand. Le FVIII circule dans le plasma associé de façon non covalente au facteur vonWillebrand (vWF) qui le protège d'une rapide dégradation protéolytique par les sérines protéases permettant de maintenir un taux de F VIII normal dans le plasma avant son activation , augmente sa synthèse et le concentre dans les zones dans lesquelles une hémostasie est requise.

L'utilisation de la vasopressine et ses analogues, peut entraîner une augmentation du taux du facteur VIII chez le sujet normal ou chez un hémophile modéré [5].

3.2.Facteur IX

Le gène du FIX est situé sur le bras long du chromosome X en position Xq29, en un endroit distinct du gène du FVIII, près du site de l'X fragile. Sa longueur est de 34 Kb et il est formé de 9 exons et 7 introns.

L'ARNm de 2,8 Kb comporte une portion 3' non traduite de 1,4 Kb.

L'extrémité amino-terminale débute par le peptide signal hautement hydrophobe codé par l'exon 1. Les exons 2 et 3 codent pour un propeptide qui est un site de reconnaissance pour la carboxylase vitamine-K dépendante et une région comprenant 12 résidus acides glutamiques. Les 4ème et 5ème exons codent pour les structures EGF et le premier des deux est essentiel à l'activité biologique. L'exon 6 code pour le peptide d'activation. Les deux derniers exons codent pour le domaine catalytique.

FIX est synthétisé dans l'hépatocyte et circule sous la forme d'une mono chaîne zymogène 57000 KDa [5].

4. Activation et inactivation des facteurs anti-hémophiliques

4.1.Activation et inactivation du FVIII

La forme active du FVIII, ou FVIIIa, est formée sur le site où se déroule le processus de coagulation par l'action sur le FVIII de deux enzymes : la thrombine (facteur II activé : FIIa) et le FXa. Ces deux sérines protéases clivent la molécule FVIII au niveau des résidus Arg372 et Arg740 dans la chaîne lourde et Arg1689 dans la chaîne légère. Il y a perte du domaine B et a3 (le vWF se détache du complexe). Ceci forme le FVIIIa, hétérotrimère A1, A2, A3-C1-C2.

L'inactivation du facteur VIII peut se faire par dégradation protéolytique : clivage du FVIIIa par la protéine C activée (PCa) ou par le FXa. En fait, cette voie n'est pas majoritaire : il se produit aussi une inactivation par dissociation spontanée du domaine A2-a2 du dimère.

Le catabolisme du FVIIIa fait intervenir une protéine apparentée aux récepteurs des lipoprotéines de faible densité (low density receptor related protein : LRP), facilité par des protéoglycanes d'héparine sulfatée. Le FVIII délité du domaine B subirait une inactivation par la PCa deux à trois fois plus rapide que celle du FVIII plasmatique ou recombinant [6].

4.2.Activation et inactivation du FIX

L'excision du peptide d'activation génère le FIXa, qui comporte une chaîne légère de 145 acides aminés, liée par un pont disulfure (C132-C289) à une chaîne lourde de 234 acides aminés. L'inactivation plasmatique du FIXa est due à l'antithrombine, qui forme un complexe stœchiométrique 1: 1 avec le FIXa. Le mécanisme, bien que plus lent, est identique pour les FXa et FIIa. Il peut être accéléré par la présence d'héparines ou d'héparines sulfates

5. Conséquences du déficit en facteur anti-hémophilique sur l'hémostase

En présence de quantités réduites de FVIII ou de FIX, la phase d'initiation est modérément ralentie [8]. Les plaquettes n'expriment pas de FT.

La thrombine est générée, mais avec retard et en quantité moindre [13].

En l'absence d'une ténase intrinsèque fonctionnelle, il n'y aura pas l'activation du FX.

Un ralentissement de la génération du facteur V activé, avec une activation des plaquettes qui est ralentie mais non réduite [12]: la formation initiale du caillot plaquettaire est normale, permettant à l'hémophile d'avoir un temps de saignement normal ; en revanche, le caillot hémostatique secondaire, composé normalement en périphérie du caillot plaquettaire et en son centre d'un caillot riche en fibrine, est anormal chez l'hémophile, ne contenant que peu de fibrine.

En l'absence d'un complexe anti-hémophilique fonctionnel, il ne peut pas y avoir cette « explosion de thrombine » nécessaire à la phase de propagation et indispensable pour conférer une structure stable au caillot [14].

Chapitre : II

Hémophilie

1. Définition de l'hémophilie

L'hémophilie est une maladie hémorragique héréditaire liée à un déficit en facteur VIII (FVIII – facteur anti-hémophilique A) pour l'hémophilie A ou en facteur IX (FIX - facteur anti-hémophilique B) pour l'hémophilie B. La transmission de l'hémophilie est récessive liée à l'X, c'est-à-dire que, classiquement, les hommes sont atteints de la maladie et les femmes en sont conductrices, ces dernières pouvant parfois présenter une symptomatologie hémorragique. La prévalence de la maladie est globalement d'un cas pour 5000 naissances de garçons pour l'hémophilie A et d'un cas pour 30 000 naissances de garçons pour l'hémophilie B. Etant donné que les FVIII et FIX sont des glycoprotéines plasmatiques essentielles dans le processus de coagulation, un déficit en l'un de ces facteurs est responsable d'une génération de thrombine diminuée ou retardée, avec des anomalies de la formation du caillot de fibrine rendant compte du syndrome hémorragique clinique. La sévérité de la maladie est directement proportionnelle à la sévérité du déficit. Les épisodes hémorragiques touchent préférentiellement les articulations et les muscles. L'histoire naturelle de la maladie est la répétition des saignements avec, pour les formes sévères, le risque d'une arthropathie chronique (arthropathie hémophilique) [15].

2. Epidémiologie

L'incidence de l'hémophilie A congénitale est d'environ un cas pour 10 000 naissances par an et celle de l'hémophilie B d'environ un pour 60 000 [18]. En France, en 2010, le registre français FranceCoag comportait 4330 patients atteints d'une hémophilie A et 950 atteints d'une hémophilie B, toutes sévérités confondues [19]. L'hémophilie constitutionnelle affecte tous les groupes ethniques et son incidence est similaire partout dans le monde [20].

La première étude portant sur l'épidémiologie de l'hémophilie en Algérie a été publiée en 1996, et a fait recenser alors 596 hémophiles. En 2017, 2362 cas sont déjà recensés [21]

3. Classification des hémophilies A et B

La sévérité de l'hémophilie, qu'elle soit de type A ou B, est classée selon le taux de FVIII pour l'hémophilie A et de FIX pour l'hémophilie B. On distingue ainsi la forme sévère, avec des taux de facteur anti-hémophilique inférieurs à 1 % du taux normal, la forme modérée de 1 à 5 % et la forme mineure de 5 à 40 % [16]. La valeur normale est définie par un taux de

FVIII « coagulant » (FVIII : C) ou de FIX (FIX : C) entre 60 et 150 %, sachant que 100% correspond à 1UI/ml.

Cette classification est corrélée, dans la plupart des cas, aux manifestations cliniques des patients, comme l'illustre le Tableau 1. Cependant, il existe des cas pour lesquels les événements cliniques ne sont pas complètement en lien avec le taux de facteur [17].

Classification	Sévère	Modérée	Mineure
FVIII :C ou FIX :C (% de la normale)	< 1 %	1 à 5 %	> 5 % à < 40 %
Nombre d'événements hémorragiques par an	24 à 48	4 à 6	Variable
Cause des saignements	Spontanés	Traumatismes mineurs	Traumatismes majeurs ou chirurgie

Tableau 01 : Classification du sous-comité sur le facteur VIII et le facteur IX du Scientific and Standardization Committee (SSC) de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH).

4. Physiopathologie et bases moléculaires

4.1. Mode de transmission

L'hémophilie est une maladie génétique et héréditaire qui se transmet selon le mode récessif lié au chromosome X. Les garçons portent un chromosome Y donné par leur père et un chromosome X donné par leur mère, tandis que les filles reçoivent deux chromosomes X, l'un provenant de leur père et l'autre de leur mère. X et Y sont des chromosomes sexuels car ils déterminent le sexe de l'enfant. Les gènes du facteur VIII et du facteur IX sont portés par l'un des chromosomes sexuels : le chromosome X. Ces gènes peuvent être absents (délétion) ou endommagés (mutation), ce qui provoque l'absence ou le déficit du facteur de la

coagulation. Chez les filles, qui ont deux chromosomes X, l’anomalie du gène situé sur un chromosome X est en général compensée complètement ou partiellement par l’autre chromosome X, sain. Elles ne seront pas malades mais conductrices de l’anomalie, qu’elles pourront transmettre à leur descendance. Les garçons ne peuvent pas compenser l’anomalie du gène situé sur le chromosome X, puisqu’il est unique. Ils manifestent donc la maladie. Dans 30% des cas, il n’y a pas d’antécédents familiaux d’hémophilie : on parle alors d’une néo-mutation. Cette mutation nouvellement apparue peut avoir eu lieu dans l’ovule de la mère ou dans le spermatozoïde du père, ou plus tard chez le fœtus lui-même. Cette mutation sera transmissible à la descendance [22].

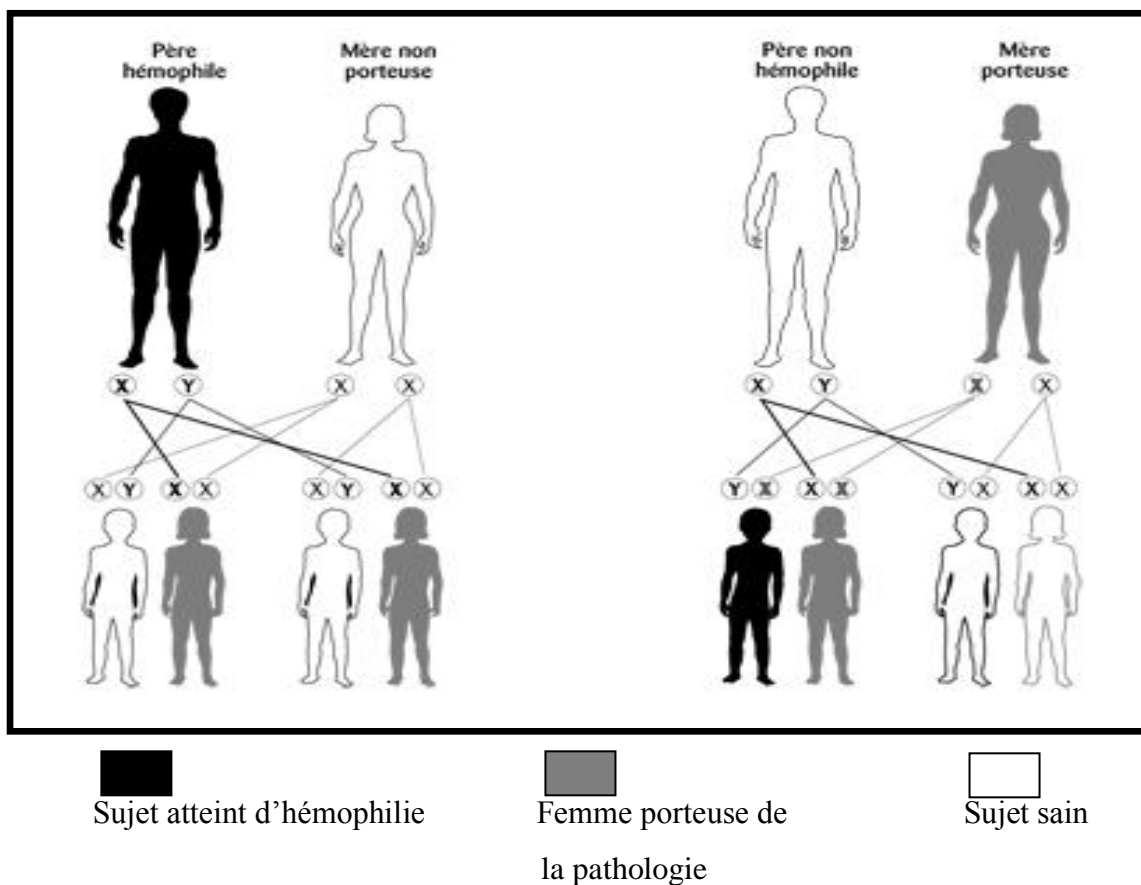


Figure 05 : Mode de transmission de l'hémophilie [22].

On peut distinguer deux types de conductrices [23] :

- Les conductrices obligatoires (filles d’un homme atteint d’hémophilie, mères d’au moins deux enfants atteints, mères d’un enfant atteint avec antécédent familial d’hémophilie) ;

- Les conductrices potentielles (sœurs d'un homme atteint d'hémophilie ou filles de conductrice avec probabilité génétique de 50 % d'être conductrice, cousines de femmes conductrices ou d'homme atteint avec une probabilité de 12,5 %...)

4.2. Bases moléculaires

A ce jour, il existe des bases de données informatiques qui recensent l'ensemble des mutations génétiques retrouvées dans l'hémophilie A ou B.

Les anomalies génétiques responsables de l'hémophilie A ou B peuvent être globalement divisées en quatre catégories :

- Les grands remaniements ;
- Les substitutions d'un seul nucléotide, aboutissant soit au remplacement d'un acide aminé (mutation faux-sens), soit à la création d'un codon stop et à la synthèse d'une protéine tronquée (mutations non-sens) ou à des anomalies d'épissage de l'ARNm ;
- Les délétions d'une séquence génique, qui aboutissent généralement à un décalage du cadre de lecture (*frameshift*) et/ou à un codon stop et donc à une protéine tronquée ;
- Les insertions ou duplications d'acide désoxyribonucléique de taille variable, avec les mêmes conséquences que les délétions.

4.2.1. Hémophilie A

4.2.1.1. Remaniements géniques

Dans l'hémophilie A, les grands remaniements géniques consistent essentiellement en une inversion unique, l'inversion de l'intron 22, identifiée dans les années 1990 et considérée aujourd'hui comme responsable d'environ 40% de l'ensemble des mutations responsables d'hémophilie A sévère [24,25]. Un mécanisme similaire a été décrit pour l'intron 1 et pourrait être responsable d'environ 2 à 5 % des hémophilies A sévères [26]. Certains auteurs classent les grandes délétions ou insertions (concernant les grandes régions géniques de plusieurs exons) dans cette catégorie.

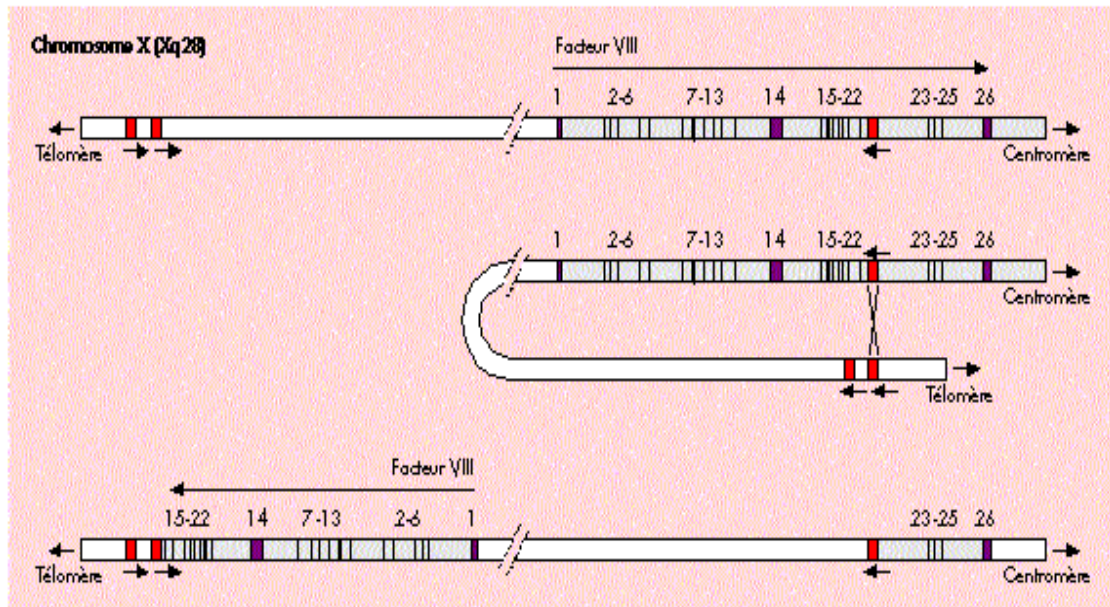


Figure 06 : Pathologie moléculaire du gène FVIII : inversions [24, 25].

4.2.1.2. Mutations ponctuelles

A ce jour, plus de 2000 mutations ponctuelles (substitutions d'un seul nucléotide) sont rapportées [17]. Environ 75% d'entre elles induisent une mutation faux-sens tandis que 15% conduisent à la création d'un codon stop et sont donc responsables d'une chaîne protéique anormalement courte. Les 10% restants sont responsables d'altération ou d'absence de sites d'épissage. Ces mutations peuvent être retrouvées dans tous les types d'hémophilie (sévère, modérée ou atténuée).

4.2.1.3. Délétions – insertions / duplications

Les délétions peuvent être considérées comme grandes (en général > 50 pb) ou petites (< 50 pb). Les grandes délétions sont responsables d'environ 5% des hémophilies A sévères. En effet, la protéine qui résulte de cette anomalie génétique est le plus souvent tronquée et le

FVIII est soit non synthétisé, soit le plus souvent inactif. Les petites délétions sont distribuées de façon homogène sur tous les exons et sont également le plus souvent associées à des hémophilies A sévères.

Les insertions peuvent varier considérablement. Le plus souvent, il s'agit d'une duplication d'une adénine (A) dans une série de A. La grande majorité des insertions est associée à une hémophilie A sévère.

Enfin, les anomalies moléculaires peuvent être complexes, associant délétions et insertions/duplications ; ces anomalies sont très majoritairement associées à des hémophilies A sévères [27].

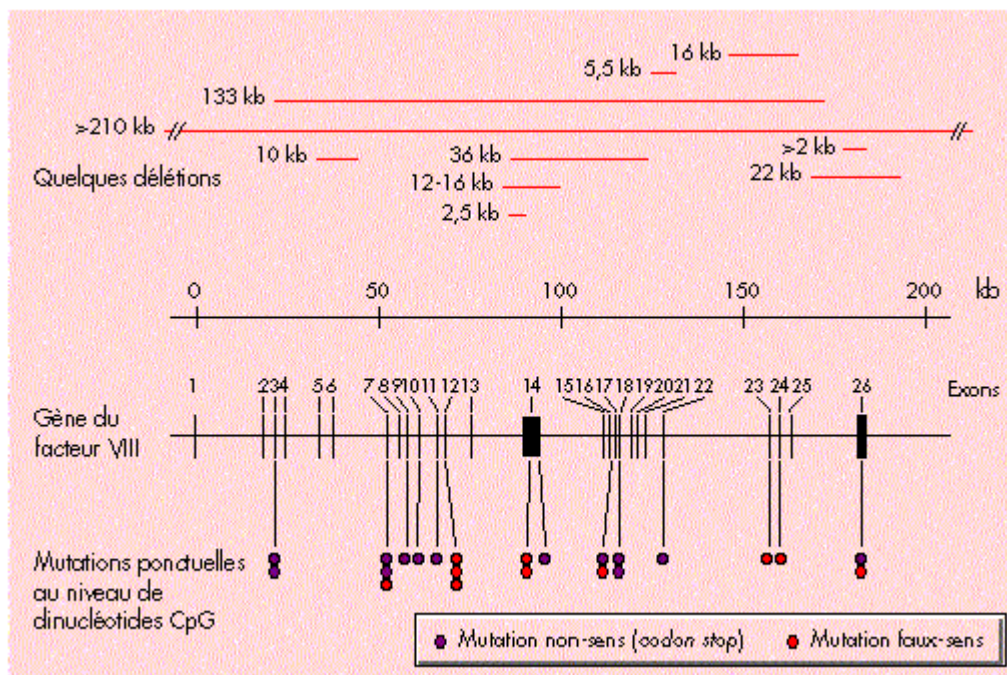


Figure 07 : Pathologie moléculaire du gène FVIII : délétions et mutations ponctuelles [27].

4.2.2. Hémophilie B

Les mutations ponctuelles représentent 70% des anomalies génétiques retrouvées dans l'hémophilie B. Comme pour l'hémophilie A, ces mutations peuvent être présentes dans tous les types d'hémophilie (sévere, modérée ou atténuée). Les grandes délétions et les mutations sont plus rares, représentant globalement respectivement 3% et 2% de l'ensemble des mutations identifiées [17].

Une mutation particulière du promoteur peut donner un phénotype distinctif d'hémophilie B appelé hémophilie B Leyden. Cette mutation implique les sites de liaison d'autres facteurs transcriptionnels (HNF4 α , C/EBP α et HNF6). Ce génotype induit une hémophilie B sévère/modérée à la naissance qui se corrige à la puberté, avec des taux de FIX normaux à l'âge adulte [28].

5. Clinique de l'hémophilie :

Le tableau clinique est identique dans les deux types d'hémophilie A ou B.

La fréquence des manifestations hémorragiques et leur intensité dépendent de la sévérité du déficit biologique [29].

5.1.Hémophilie sévère

Les premières manifestations hémorragiques apparaissent le plus souvent à la suite de traumatismes minimes, dans la première année de vie, le nouveau-né ne saignant habituellement pas.

5.1.1. Hémorragies caractéristiques

- **Les hémarthroses** : elles atteignent les articulations soumises à des pressions importantes (chevilles, genoux, hanches) ou peu protégées (poignets, coudes).
- **Les hématomes** : ils peuvent être superficiels et s'accompagnent d'ecchymoses ; ils se résorbent spontanément plus ou moins vite. Plus dangereux sont les hématomes profonds [30,31].
- **Les hématuries** : Les hématuries spontanées et récidivantes sont moins fréquentes mais peuvent poser des problèmes de traitement et se compliquer de coliques néphrétiques.

5.1.2. Hémorragies moins spécifiques

- **Les hémorragies provoquées** : cutanées par coupure, buccales par morsure de langue, postopératoires même pour des gestes minimes (avulsion dentaire).
- **Les hémorragies viscérales** : elles sont moins fréquentes.
- **Les formes digestives** : elles doivent faire rechercher une lésion préexistante.
- **Les localisations intracrâniennes post-traumatiques** : elles doivent être diagnostiquées et traitées en urgence, une de leurs complications est la survenue d'une épilepsie.
- **Hémorragies cérébrales** : les symptômes sont très variables mais on peut citer : des maux de tête inhabituels, une somnolence, des douleurs au niveau de la nuque, une faiblesse subite d'une jambe ou d'un bras, des vomissements répétés, un comportement inhabituel, perte d'équilibre, vision double.

5.2. Hémophilie modérée et mineure

Selon l'importance du déficit, les patients présenteront un tableau hémorragique plus ou moins caractéristique. Les manifestations hémorragiques sont moins graves que celles observées au cours de l'hémophilie sévère. Les hémarthroses sont rares (mais possibles) en cas d'hémophilie modérée et absentes dans l'hémophilie mineure. Les hématomes restent superficiels et font suite à des traumatismes généralement reconnus. En revanche le risque d'hémorragie est bien réel en cas d'intervention chirurgicale ou d'avulsion dentaire. Ce risque est majeur en cas d'amygdalectomie. Lorsque le contexte familial n'est pas connu, ce sont fréquemment ces hémorragies postopératoires qui constituent la circonstance (parfois dramatique en cas d'hémophilie modérée) de diagnostic. Les hémophilies mineures peuvent être diagnostiquées fort tard dans l'existence [32].

6. Diagnostic biologique

6.1. Diagnostic positif

Il repose sur deux types de tests :

6.1.1. Bilan biologique d'orientation

Il permet de suspecter devant :

- Une hémostase primaire normale, explorée par le Temps de Saignement normal (avec une numération plaquettaire normale).
- Un temps de Quick normal, temps de prothrombine normal.
- Un temps de Céphaline plus Activateur allongé, corrigé par l'addition de plasma témoin.

6.1.2. Confirmation

La confirmation se fait par le dosage des facteurs VIII et IX qui permet de préciser :

- Le type de l'hémophilie A (déficit en FVIII) ou B (déficit en FIX).
- Le degré ou la sévérité de l'hémophilie :
 - Hémophilie majeure : F VIII ou IX < 1 %
 - Hémophilie modérée : F VIII ou IX compris en 1 et 5 %
 - Hémophilie mineure : F VIII ou IX > 5 % et < 40 %

Après confirmation sur un deuxième prélèvement, un dossier doit être créé pour le malade et une carte d'hémophile (Annexe IV) doit lui être remise. Elle présente les caractéristiques suivantes :

- Structure de suivi (adresse et numéro de téléphone) ;
- Informations sur le patient (nom, prénom, date de naissance, adresse, numéro de téléphone et une photo) ;
- Le type de l'hémophilie (avec le taux de facteur) ;
- Anticoagulants circulants (la première recherche et les recherches ultérieures) ;

- Le traitement substitutif à administrer en urgence ;
- Les gestes et traitements contre-indiqués ;
- Les gestes autorisés.

6.2.Diagnostic des conductrices d'hémophilie

La reconnaissance du statut de conductrice est importante pour permettre à ces femmes d'évaluer le risque qu'elles courent de mettre au monde un enfant hémophile.

6.2.1. Diagnostic phénotypique

- Conductrice d'hémophilie A

Le taux de FVIII, qui varie chez les sujets normaux de 50 à 200 %, est en théorie, de 50 % chez les conductrices d'hémophilie A. En réalité de grandes variations sont observées selon le degré de lyonisation c'est-à-dire d'inactivation au hasard de l'un des deux chromosomes X dans les cellules somatiques synthétisant le FVIII.

- Conductrice d'hémophilie B

Les conductrices d'hémophilie B ont en théorie un taux de FIX : C de 50 % de la normale mais de grandes variations sont également possibles. En outre le taux de FIX : Ag est normal dans 50 % environ des hémophilies B rendant difficile voire ininterprétable l'analyse du rapport FIX : C/FIX : Ag.

6.2.2. Diagnostic génotypique

Le diagnostic génotypique utilise deux approches :

- Une approche directe, par mise en évidence directe du défaut génétique responsable de l'anomalie ;
- Une approche indirecte par étude de l'association entre le défaut causal et des marqueurs polymorphes situés à proximité ou au sein du gène ; cette approche est plus lourde car elle impose l'étude de plusieurs membres de la famille [33].

6.3.Diagnostic prénatal

Toute démarche de diagnostic prénatal doit s'inscrire obligatoirement dans le cadre des consultations de conseil génétique propres à donner aux couples demandeurs toute information relative aux possibilités diagnostiques offertes dans leur situation particulière ainsi qu'aux risques associés.

La pratique du diagnostic prénatal d'hémophilie par ponction de sang foetal au deuxième trimestre de la grossesse a été introduite en Angleterre en 1978 [34].

6.4.Diagnostic différentiel

Il peut se discuter dans deux contextes nosologiques [29] :

- **Dans le cadre d'un syndrome hémorragique avec allongement du TCA**

On évoquera :

- Une maladie de Willebrand de transmission autosomale donc atteignant les deux sexes qui associe dans sa forme classique une diminution du Facteur von Willebrand entraînant un allongement du temps de Saignement plus ou moins important (méthode d'Ivy).
- Un déficit en Facteur XI, également de transmission autosomale. Le TCA est corrigé par l'addition de plasma témoin. Le diagnostic est affirmé par le dosage spécifique du FXI.
- Un auto-anticorps anti FVIII survenant dans le post-partum, au cours de certains néoplasies, de lymphomes ou chez le sujet âgé.

- **Dans le cas d'un allongement isolé du TCA sans syndrome hémorragique**

On évoquera :

- Un déficit en facteur XII qui sera éliminé par le dosage spécifique du FXII. Ce déficit n'entraîne aucun risque hémorragique même lors d'intervention chirurgicales majeures.
- Un Anticoagulant Circulant de type antiprothrombinase survenant dans de nombreuses affections auto-immunes (Lupus érythémateux), néoplasiques, infectieuses, ou en dehors de

toute pathologie connue. L'addition de plasma témoin au plasma du patient ne corrige pas le TCA. Cet anticoagulant Circulant ne s'accompagne pas d'un risque hémorragique mais s'observe paradoxalement chez les patients présentant des thromboses à répétition.

7. Traitement et prise en charge de l'hémophilie

7.1. Traitements adjuvants spécifiques

Quelques situations particulières justifient des traitements adjuvants spécifiques :

- Les hémarthroses seront ponctionnées si besoin, immobilisées le plus brièvement possible, puis rééduquées.
- Les hématomes volumineux pourront nécessiter une corticothérapie.
- Les hématuries imposent un repos strict et une diurèse importante. Le traitement substitutif, souvent peu efficace, n'est jamais utilisé en première intention. Les antifibrinolytiques sont contre-indiqués du fait du risque de colique néphrétique.
- Utilisation de la Desmopressine : La 8-déamino-D-arginine vasopressine ou dDAVP (Minirin® - laboratoires Ferring), n'est efficace que s'il existe une synthèse même minime de FVIII et de vWF [35].

7.2. Le traitement substitutif

Il repose sur la perfusion de "concentré de F. VIII ou F.IX", dérivés plasmatiques (FVIII : Factane, Monoclote P ; FIX : Betafact, Mononine) ou obtenus par recombinaison génétique (FVIII : Kogenate Bayer, HelixateNexGen, Recombinate, Refacto ; FIX : Benefix). Il sera toujours entrepris le plus précocement possible, avant tout examen complémentaire [29].

7.2.1. Posologie

Elle dépend de :

- Du poids du malade
- Du taux de facteur initial

- De la sévérité de l'accident hémorragique donc du taux de facteur désiré après substitution.
- Ultérieurement, les injections seront adaptées en fonction :
 - du taux obtenu réellement après perfusion
 - du taux résiduel avant l'injection suivante

7.2.2. La périodicité des injections et la durée totale du traitement

Elles dépendent :

- De la durée de vie du facteur injecté.
- De la nature de l'accident ou de l'intervention chirurgicale.

7.2.3. Les complications du traitement substitutif

- Les complications infectieuses, en particulier les transmissions virales.
- L'apparition d'un allo-anticorps anti FVIII (10 % des patients) ou beaucoup plus rarement anti FIX (1% des patients) impose l'utilisation d'autres schémas de substitution, utilisant notamment le facteur VII activé recombinant (rFVIIa) [29].

8. Thérapie génique

L'espoir ultime de guérir l'hémophilie passerait par la possibilité d'introduire dans l'organisme du patient le gène normal du FVIII ou du FIX. Dans ces conditions, l'hémophilie peut être considérée comme une affection bonne candidate aux procédés de thérapie génique [36] : elle est liée à l'anomalie d'un gène précis (FVIII ou FIX).

L'introduction d'un gène étranger dans le génome d'une cellule (transduction) est en général envisagée au moyen de vecteurs viraux : rétrovirus ou adénovirus [37].

La difficulté majeure de ces méthodes tient à la relative brièveté d'expression du facteur de coagulation. Aussi, l'une des incertitudes concerne également l'immunogénicité de la molécule produite.

9. Règles de conduite en milieu médical

Elles sont nombreuses [29] :

- Interdiction des injections intramusculaires ;
- Interdiction de l'Aspirine et des autres drogues inhibant l'hémostase primaire ;
- Interdiction de prise de la température rectale ;
- Eviction des voies d'abord veineuses centrales, sous clavières ou fémorales, la voie veineuse périphérique doit être privilégiée ;
- Interdiction des gestes invasifs sans couverture substitutive et sans compression locale ;
- Eviction d'une anesthésie tronculaire en chirurgie dentaire ;
- Eviction d'une immobilisation prolongée (≥ 3 jours) en cas de traumatisme sans lésions osseuses ;
- Vaccination contre l'hépatite B dès le diagnostic.

Chapitre III :

*Les inhibiteurs
Anti-facteurs
Anti-hémophiliques*

1. Définition des inhibiteurs

Les inhibiteurs sont une complication majeure du traitement de l'hémophilie ce sont en effet des anticorps qui neutralisent les facteurs VIII ou IX administrés. Ce sont des immunoglobulines G dirigées contre les domaines des chaînes légères ou des chaînes lourdes du facteur VIII (ou facteur IX). De tels anticorps se développent chez 10 à 30 % des hémophiles A sévères [41] et chez 1 à 3% des hémophiles B sévères [42]. Bien que cela soit beaucoup plus rare, des inhibiteurs peuvent également apparaître chez des hémophiles modérés ou mineurs [38].

2. Les caractéristiques des anti-facteurs anti-hémophiliques

2.1. Les allo anticorps anti F VIII

2.1.1. Les isotypes et sous-classes des anticorps anti-hémophiliques

La majorité des anti-FVIII est constituée d'anticorps d'isotypes IgG. Les travaux de Gilles et al [39], étudiant des préparations polyclonales d'anti-FVIII, ont montré que la distribution isotypique des anti-FVIII présente une prédominance pour la sous-classe des IgG4, puis à un moindre degré des IgG1 [40, 41]. La contribution prédominante des IgG4 s'expliquerait par les administrations répétées de FVIII.

Van Helden et al ont montré que la contribution relative des sous classes d'IgG était similaire chez la majorité des patients en cours d'induction de la tolérance immune (ITI), et que chez les patients avec de faibles titres d'inhibiteurs, les anticorps anti-FVIII sont essentiellement de classe IgG1, alors que ceux des classes IgG4 sont plus importants chez les patients forts répondeurs [44]. Ces résultats suggèrent que l'intensité du traitement peut accroître le changement de classe des anticorps anti-FVIII vers le type IgG4.

2.1.2. Classification des inhibiteurs anti FVIII

On distingue deux types d'inhibiteurs en fonction de leur cinétique :

Les inhibiteurs de cinétique type I : Inhibent complètement, de manière dose dépendante, l'activité du FVIII.

Les inhibiteurs de cinétique type II : présentent une inactivation du FVIII incomplète.

Cette différence s'expliquerait par une spécificité épitopique différente. Les inhibiteurs de type I reconnaîtraient des régions antigéniques essentielles à l'activité procoagulante tandis que les types II reconnaîtraient des épitopes distants de ces mêmes régions. En pratique, les inhibiteurs de type I sont le plus souvent observés chez des hémophiles congénitaux sévères, les inhibiteurs de type II étant observés préférentiellement chez les hémophiles modérés ou dans l'hémophilie acquise [43]. La réponse thérapeutique au FVIII est meilleure avec les inhibiteurs de type I.

2.1.3. Mécanisme d'action de l'inhibiteur anti-FVIII

Les inhibiteurs bloquent la fonction procoagulante du FVIII en perturbant sa liaison à l'un de ses partenaires : phospholipides, vWF, FIX, ou FX. Il est établi, à l'échelle moléculaire, que les épitopes essentiellement reconnus par les inhibiteurs sont localisés au niveau des domaines A2, C2 et A3, et que cette réponse est additive [45,46]. En fonction de leur localisation épitopique, plusieurs mécanismes permettant de rendre compte de leur activité inhibitrice sur l'activité procoagulante du FVIII ont été décrits.

- **L'inhibiteur anti-domaine A2**

Ces inhibiteurs affectent l'interaction entre le domaine A2 et le FIX activé (FIXa) de manière non compétitive, la résultante est donc la formation d'un complexe FVIIIa /FIXa/Phospholipides et FX inactif [47,48].

- **L'inhibiteur anti-domaine C2**

En fonction de sa localisation épitopique, deux mécanismes d'inactivation sont possibles. Le premier est fondé sur l'inhibition de la liaison FVIIIa /vWF [12] et celle du FVIIIa avec les phospholipides [50], d'autres inhibiteurs dirigés contre le domaine C2 sont exclusifs de la liaison FVIIIa-vWF.

- **Les inhibiteurs anti-régions acides a1 et a 3**

Plusieurs mécanismes d'action des inhibiteurs anti-régions a1 sont possibles, étant donné le rôle stratégique de cette région ; contrairement aux inhibiteurs dirigés contre la région acide a3, sont faiblement représentés, ont un mécanisme d'action fondé sur l'inhibition de la liaison FVIII-Vwf.

- **Les inhibiteurs anti-domaines C1**

Très peu d'anticorps anti-FVIII dirigés contre le domaine C1, certains d'entre eux ont été principalement retrouvés chez des patients hémophiles A modéré [51], ces inhibiteurs sont reconnus mais leurs mécanisme d'action reste encore inconnu.

- **Les anticorps anti-FVIII « non fonctionnels »**

Certains auteurs ont décrit la présence d'anticorps anti-FVIII dénués d'activité inhibitrice du FVIII et sont donc non détectables par la technique Bethesda [52,53] ; ils sont mis en évidence par la technique ELISA et peuvent exister chez des patients hémophiles avec ou sans inhibiteurs [54,55].

- **Les anticorps anti-idiotypes**

Ces anticorps anti-idiotypes existent chez les patients sains, comme chez les patients en cours d'ITI.

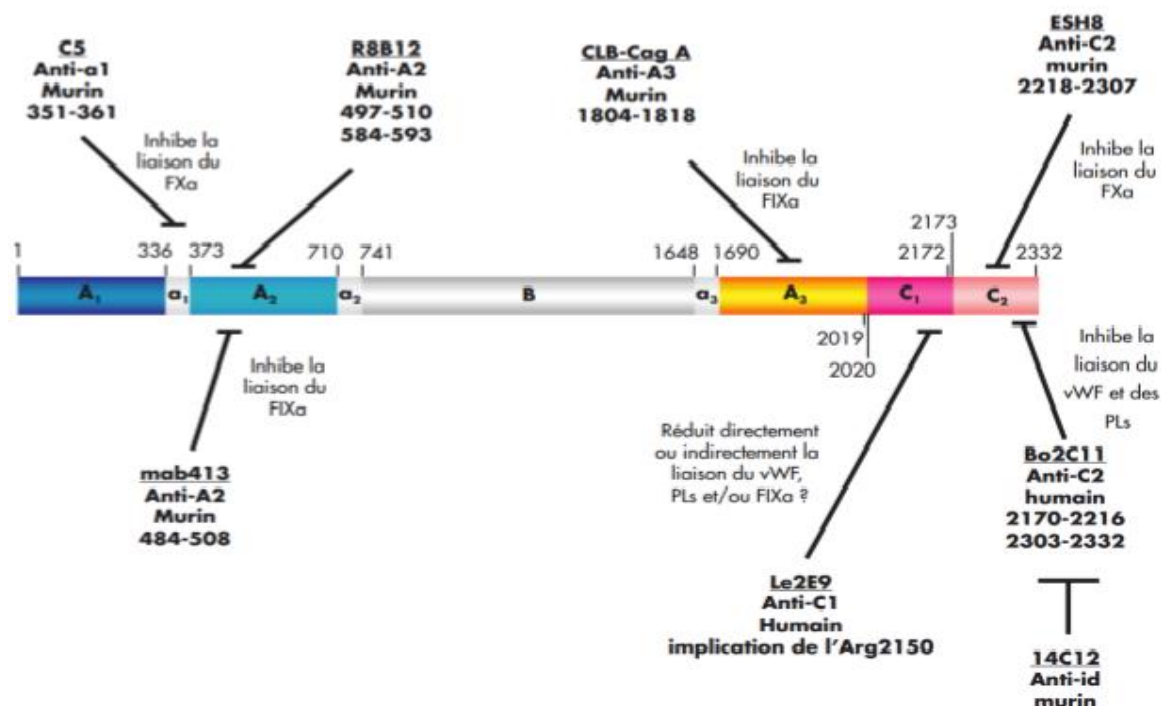


Figure 08 : Les principaux représentants des anticorps (Acs) anti-FVIII et leurs mécanismes d'inhibition [45, 46].

2.2. Allo anticorps anti FIX

Les Allo Acs anti FIX sont relativement rares. Ils se développent chez 3% des hémophiles B (9 à 23% des hémophiles B sévères) [56]. La faible incidence des anti FIX s'explique par des mutations non-sens dans l'hémophilie B, mutations qui, comme les grandes délétions, induisent l'absence de traces de FIX circulant.

D'autres facteurs ont été évoqués. On constate en effet que dans les formes liées à une mutation non-sens, la prévalence d'inhibiteurs est moindre dans l'hémophilie B : 6% contre 30% dans l'hémophilie A. D'autre part la grande homologie du FIX avec les autres facteurs vitamine K-dépendants et la plus large distribution extravasculaire du FIX, du fait de son faible poids moléculaire, pourraient aussi être des facteurs de protection contre la réponse immune. L'origine ethnique ou le type de produit, plasmatique ou recombinant, ne semble pas modifier la prévalence des anti IX chez l'hémophile B. Enfin, cliniquement, la réponse immune anti IX s'accompagne fréquemment de réactions allergiques sévères, témoignant probablement d'une réponse immune particulière [57].

3. Facteurs de risque

La survenue d'inhibiteurs est régie par des facteurs de risque propres au patient et d'autres liés à son environnement. Ces facteurs de risque sont surtout connus pour l'hémophilie A bien plus fréquente que l'hémophilie B.

3.1. Les facteurs de risque intrinsèques liés au patient

- Le caractère sévère de l'hémophilie [58] ;
- L'existence d'antécédents familiaux d'inhibiteurs [59] ;
- Certaines anomalies génétiques (larges délétions, mutations non-sens et inversions), exemple : Dans le cas des mutations type délétion étendue, codon stop ou inversion de l'intron 22, il n'y a pas de synthèse de FVIII. Dans le cas des autres mutations il y a synthèse d'une molécule de FVIII, non fonctionnelle mais néanmoins présente, d'où un type de réponse immune probablement différent [60] ;
- L'origine ethnique : fréquence 2 à 4 fois plus élevée chez les populations noires [61], certaines variations génétiques ou polymorphismes concernant le FVIII, pourraient contribuer à cette prédisposition ;
- Certains polymorphismes sur les gènes du système HLA de classe II et certaines cytokines (TNF alpha, IL-10) pourraient également influencer ce risque [62] ;
- L'âge : le jeune âge au premier traitement semble constituer un facteur de risque plus élevé d'inhibiteur.

3.2. Les facteurs de risque extrinsèques liés au patient

- Un traitement intensif par concentrés de facteur VIII au décours d'une chirurgie. A l'inverse, une prophylaxie régulière diminuerait de 60% le risque de survenue (Etude CANAL) ;
- Le type de concentré de facteur (plasmatique ou recombinant) donne toujours lieu à un vaste débat quant au risque de développer des inhibiteurs chez les hémophiles A sévères. Certains auteurs rapportent une incidence plus faible avec les produits plasmatiques [58]. D'autres équipes n'ont en revanche mis en évidence aucune différence significative avec les deux types de concentrés [57,59,60]. Pour

l'hémophilie B, le choix du type de concentré de facteur IX n'influence pas sur la fréquence de survenue d'inhibiteurs ;

- Prophylaxie : le traitement prophylactique chez l'enfant lors des premières expositions pourrait induire la disparition d'un inhibiteur [61] ;
- Allaitement maternel : Il a été suggéré par certains auteurs que l'allaitement maternel exerçait un effet protecteur vis-à-vis de l'apparition d'inhibiteurs car le lait maternel contient une protéine (human milk fat globulin) homologue au FVIII et au FIX ;
- Intensité de traitement et les modalités d'administration : changement de concentré, administration par perfusion continue, un traitement intensif et les chirurgies augmentent le risque de survenue des inhibiteurs.

4. Diagnostic des inhibiteurs anti-hémophiliques

4.1. Circonstances de découverte

4.1.1. Découverte systématique

- Lors d'un bilan de surveillance et systématiquement après toute perfusion de facteur VIII pendant les premiers jours cumulés de présence d'antigène(JCPA) ;
- Devant une mauvaise récupération après perfusion de facteur VIII et/ou si la demie vie du facteur VIII perfusé est anormalement raccourcie (<8 heures) [62].

4.1.2. Découverte lors d'une complication

Classiquement, il s'agit de manifestations hémorragiques importantes, inattendues, d'apparition brutale, d'intensité inhabituelle chez un hémophile sous traitement. Leur localisation est variable : Hémarthrose, Gingivorragies après extraction dentaire, Hémorragie digestive, Hématome musculaire, Hémothorax, Hématome intracérébral et après circoncision ne répondant pas après l'injection des facteurs anti-hémophiliques [63,64].

4.2. Diagnostic biologique

Au laboratoire, le diagnostic biologique d'un inhibiteur est en général basé sur la mise en évidence de son effet inhibiteur sur les fonctions pro-coagulantes du FVIII et FIX.

Prélèvement : sang prélevé sur citrate de sodium, centrifugé à 2500 tr/min, 15 min. Plasma déplaqué conservé à -20°C ou -80°C.

4.2.1. Diagnostic de suspicion

Le premier test à réaliser est un temps de céphaline avec activateur (TCA) [65]. Ce test sera naturellement allongé chez un hémophile. Soupçonne la présence d'une certaine forme d'inhibiteurs en cas de TCA allongé qui n'est pas complètement corrigé en mélangeant le plasma des patients avec un pool de plasma témoin.

4.2.2. Diagnostic de confirmation

L'épreuve du mélange est un test simple, disponible dans tous les laboratoires, permettant de donner une orientation sur l'étiologie de l'allongement du TCA. Pour aider à l'interprétation de ce mélange, l'indice de Rosner sera systématiquement calculé il correspond au :

$$IR = \frac{\text{TCA mélange (T+M)} - \text{TCA témoin}}{\text{TCA Malade}} \times 100$$

Les temps étant exprimés en secondes.

- Un indice de Rosner inférieur à 12 évoque un déficit en facteur.
- Un indice de Rosner supérieur à 15 évoque un inhibiteur (anticoagulant Lupique, Acs anti-facteur...).
- Entre 12 et 15, l'indice de Rosner est douteux.

Chez un hémophile, une absence de correction doit systématiquement faire évoquer et rechercher un inhibiteur.

La détection et le titrage de l'inhibiteur sont réalisés par la méthode Nijmegen. Cette méthode est dérivée de la méthode Bethesda [66].

5. Traitement de l'hémophilie avec inhibiteurs

La présence d'inhibiteurs anti-facteur VIII ou anti-facteur IX complique grandement la prise en charge des patients hémophiles puisque les inhibiteurs neutralisent les concentrés de facteur VIII ou IX administrés. Lorsque le titre d'inhibiteurs est < 5UB (faible répondeurs), il est possible d'administrer des doses élevées de concentrés de facteurs VIII ou IX pour saturer l'inhibiteur. En revanche, cette stratégie s'avère inefficace chez les patients hémophiles forts répondeurs ≥ 5 UB. Ces patients sont traités avec des agents dépourvus de FVIII, tels que des

facteurs activés du complexe prothrombinique, ou du facteur VII activé recombinant. Enfin, un protocole d'induction de tolérance immunitaire (ITI) est également proposé au patient associé à un traitement immunosuppresseur pour la déplétion des lymphocytes et réduire la synthèse des anticorps. Ces traitements font disparaître les inhibiteurs chez 65-70% des patients.

5.1. Les agents by passants

5.1.1. Le facteur VII activé recombinant

Le facteur VII activé est l'initiateur physiologique de la coagulation. C'est un agent prohémostatique initialement développé pour le traitement des hémophiles allo-immunisés. Induit à forte dose une activation de la coagulation, permettant la génération de thrombine puis la formation du caillot même en absence de facteurs antihémophiliques A ou B, que son mode d'action court-circuite. Ce traitement est donc utilisé dans la prévention et le traitement des hémorragies chez les hémophiles A ou B avec inhibiteurs.

La posologie initiale recommandée est de 90 µg/kg/jour. En cas d'inefficacité clinique, la posologie sera adaptée à la réponse clinique en augmentant la dose par palier la posologie à ne pas dépasser est de : 270 µg/kg/j [67].

Mécanisme d'action le rFVIIa induit l'hémostase à l'endroit du traumatisme indépendamment de la présence de FVIII et de FIX en formant des complexes avec le facteur tissulaire (FT) (Figure 9). Le complexe rFVIIa-FT agit en activant directement le FX présent à la surface des plaquettes activées. Le FXa permet alors l'activation de la prothrombine (FII) en thrombine (FIIa). En outre, le rFVIIa est également capable d'activer le FX directement à la surface des plaquettes activées. Le rFVIIa permet une hémostase ciblée au site hémorragique.

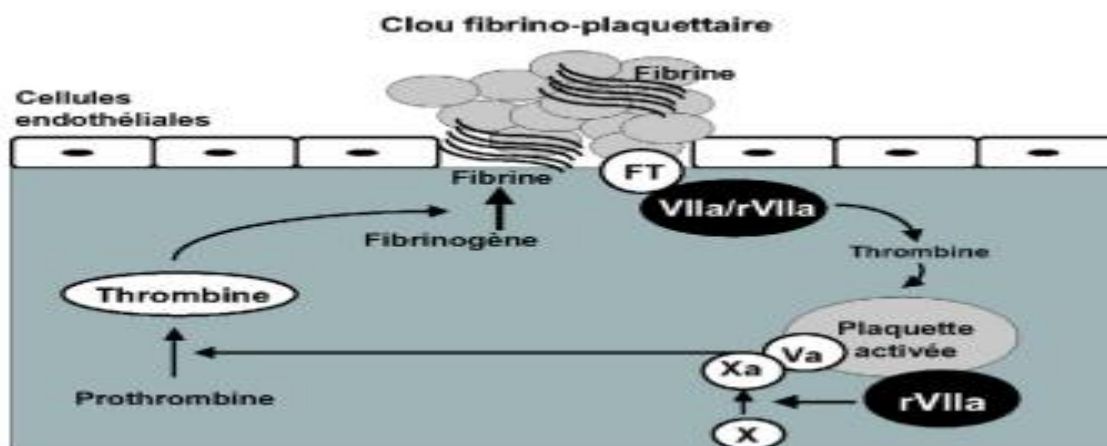


Figure 09 : Mécanisme d'action schématique du facteur VII activé recombinant au sein d'une lésion vasculaire [67].

Les réactions indésirables les plus fréquemment rapportées par le facteur VII activé recombinant : diminution de la réponse thérapeutique, pyrexie, rash, événements thromboemboliques veineux, prurit et urticaire.

5.1.2. Les concentrés de complexe prothrombinique

Produits plasmatiques contenant des facteurs de coagulation II, VII, IX et X sous forme partiellement activée. Ils permettent de court-circuiter le besoin en facteur VIII dans la cascade de coagulation.

Leur efficacité clinique est démontrée depuis plus de vingt-cinq ans. Cependant, ils présentent plusieurs inconvénients. D'abord, leur action est très limitée, ce qui peut rendre nécessaire jusqu'à trois injections par jour. De plus, il présente un risque de thrombose. En fin la présence de trace de FVIII dans ces complexes est susceptible de relancer la production d'inhibiteurs [68].

5.2. Induction de la tolérance immune

L'éradication d'un inhibiteur fait appel à des protocoles d'induction de tolérance immune. Cette stratégie, pratiquée depuis plus de trente ans consiste à administrer des concentrés de facteur VIII ou IX de façon très régulière et dont les doses varient selon les protocoles. L'objectif est d'induire une anergie immunitaire pour que le système immunitaire finisse par tolérer le facteur VIII (ou facteur IX) administré. Pour l'hémophilie A, le choix des

protocoles est orienté par des recommandations (AFSSAPS 2006). Les schémas comprennent 3 à 14 injections intraveineuses par semaine de concentrés de facteur VIII pendant plusieurs mois. Une fois l'inhibiteur disparu, les doses de facteurs administrées sont progressivement diminuées. Pour l'hémophilie B, il n'y a pas de recommandation et les réponses à l'induction de tolérance immune sont le plus souvent mauvaises. De plus, compte tenu des risques allergiques et du risque de syndrome néphrotique associés, le rapport bénéfice / risque doit être méthodiquement évalué.

5.3. La plasmaphérèse

Consiste à prélever le sang total, à « épurer » le plasma des inhibiteurs et à réadministrer le sang sans inhibiteur au donneur. Cette méthode diminue significativement le titre d'inhibiteurs et restaure ainsi temporairement l'efficacité des concentrés de FVIII ou IX. Elle peut par exemple être pratiquée efficacement avant une chirurgie non urgente.

Partie pratique

RAPPEL DES OBJECTIFS

Le développement des inhibiteurs est une complication redoutable du traitement chez les hémophiles. Ces inhibiteurs neutralisent les facteurs administrés (FVIII, FIX), ce qui rend le traitement inefficace.

On observe plus fréquemment la présence d'inhibiteurs chez les personnes atteintes d'hémophilie sévère par rapport à celles atteintes d'hémophilie légère ou modérée.

L'incidence cumulative de formation d'un inhibiteur dans le cas de l'hémophilie A sévère est de 10 à 30 % [41] et d'environ 5 à 10 % dans le cas de l'hémophilie modérée ou légère. Les inhibiteurs sont beaucoup moins fréquents dans le cas de l'hémophilie B, survenant chez 1 à 3% des personnes atteintes [42].

Objectif principal :

Mesurer la fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.

Objectifs secondaires :

- Mesurer la fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction du type d'hémophilie, de l'âge de découverte, du degré de sévérité, des antécédents familiaux, des antécédents personnels de transfusion sanguine, et des traitements anti-hémophiliques.
- Identifier les co-morbidités des hémophiles.
- Evaluer l'effet des agents de contournement sur les titres des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.

Chapitre I :

*Patients, Matériels
et Méthodes*

1. Matériels

1.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive transversale, prospective.

1.2. Lieu d'étude

Nous avons réalisé notre étude au niveau du laboratoire d'hémodiagnostic du CHU de Tizi Ouzou, sur un échantillon de 24 patients.

1.3. Période d'étude

Nous avons réalisé notre étude durant une période allant du 02 février 2019 au 16 juin 2019.

1.4. Population cible

Afin de constituer la population de notre étude, nous avons contacté les services d'hématologie -pédiatrie et d'hématologie adulte du CHU de Tizi Ouzou, et l'association des hémophiles de la wilaya de Tizi Ouzou.

1.4.1. Critères d'inclusion

Tous les patients atteints d'hémophilie A ou B ayant accepté de participer à notre étude étaient éligibles.

1.4.2. Critères d'exclusion

Nous avons exclu de notre étude les patients atteints d'hémophilie mineure et n'ayant jamais reçu de traitement substitutif.

Sont exclus également, les patients qui ne se sont pas présentés pour la recherche des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.

Chez l'hémophile sévère, la recherche des inhibiteurs se fait systématiquement avant et après tout traitement intensif (plus 6 jours consécutifs de traitement), après tout changement de concentré de facteur anti-hémophilique, et devant une inefficacité ou une efficacité partielle d'une perfusion de facteur anti-hémophilique.

Chez l'hémophilie modéré ou mineur, la recherche des inhibiteurs se fait systématiquement après tout traitement intensif (plus 6 jours consécutifs de traitement), 2 à 3 semaines suivant la dernière injection, selon les recommandations.

1.5. Déroulement de l'étude

1.5.1. Matériel utilisé

- **Produits non consommables**

- Pipettes réglables de 5-10 µl, 10-100 µl et 100-1000 µL.
- Centrifugeuse.
- Bain marie à 37°C.
- Chronomètre.
- Coagulomètre STart4 (stago).
- Coagulomètre sysmex CA600 séries.
- Etuve à 58° C.
- Vortex.
- Congélateur -30°C,-35°C.
- Chambre froide à +4°C, +8°C.
- Micro-ordinateur pour la saisie et le traitement des données.

- **Produits consommables**

- Cupules pour STart compact.
- Billes magnétiques.
- Tubes à essai en plastique 5 ml.
- Bouchons en plastique pour tube à 5 ml.
- Embouts.
- Aliquotes.
- Gants et compresses.
- Conteneur de déchets contaminés.
- Epicrâniennes 19 à 22 gauge (0.7 à 1 mm).
- Tubes contenant l'anticoagulant citrate tri-sodique.
- Tubes contenant l'héparine.
- Coton, alcool et sparadrap.

- Eau distillée.

- **Réactifs pour la réalisation des tests de coagulation**

- Plasma standard humain (STA@- Unicalibrator*) stago
- Plasma exempt de facteur VIII de la coagulation (STA@-déficient VIII*) stago
- Plasma exempt de facteur IX de la coagulation (STA@-déficient IX *) stago
- FS ACTINE (siemens) et CK prest (stago)
- CaCl₂ 0.025 M.
- Tampon Owren-Koller Ph=7.35 (STA@- owren-koller)

- **Préparation et conservation des réactifs**

Nom	Reconstitution	Composition	Stabilisation avant utilisation	Stabilité après reconstitution	Remarque
Plasma standard humain	1 ml d'eau distillée	Plasma humain normal citaté lyophilisé	30 min à T° ambiante 18-25°C	4 heures	Homogénéiser avant emploi
Plasma exempt de FVIII de la coagulation	1 ml d'eau distillée	Plasma humain normal citaté lyophilisé dépourvu de facteur FVIII	30 min à T° ambiante 18-25°C	4 heures	Homogénéiser avant emploi
Plasma exempt de FIX de la coagulation	1 ml d'eau distillée	Plasma humain normal citaté lyophilisé dépourvu de facteur FIX	30 min à T° ambiante 18-25°C	4 heures	Homogénéiser avant emploi
ACTINE FS	Prêt à l'emploi	Céphaline extraite de la cervelle de	Immédiate	Après ouverture 7 jours à 2-15 °C	Avant 1 ^{er} emploi remettre en

		lapin et acide ellagique comme activateur			suspension en retournant le flacon 5 à 8 fois
CaCl ₂ 0,025 M	Prêt à l'emploi		Immédiate	Après ouverture 7 jours à 2-15°C	Avant 1er emploi remettre en suspension en retournant le flacon 5 à 8 fois
CK prest	Renverser le contenu de R2 dans le flacon R1	Céphaline obtenue à partir du tissu cérébral de lapin et du kaolin comme activateur	30 min à T° Ambiante 18-25°C	2 jours à 15-25°C 7 jours à 2-8°C	Homogénéiser Avant l'emploi
Owren-Koller	Prêt à l'emploi		Immédiate		

Tableau 02 : préparation et conservation des réactifs.**1.5.2. Fiche de renseignements**

La fiche de renseignements renferme 3 volets (Annexe I). Le premier volet comporte l'identité du patient, à savoir le nom, le prénom, l'âge et la région.

Le deuxième volet regroupe les caractéristiques de l'hémophilie, notamment, le type, la sa sévérité, les circonstances de découverte de l'hémophilie, l'âge de découverte, les antécédents familiaux d'hémophilie et les antécédents personnels de transfusion.

Quant au troisième volet, il comporte le traitement et la recherche des inhibiteurs.

2. Méthodes

2.1. Phase pré-analytique

Cette étape est primordiale pour assurer la fiabilité des résultats et un rapport optimal du laboratoire. Elle comprend le prélèvement, la conservation, l'acheminement et les délais de traitement de l'échantillon.

Une journée par semaine a été consacrée pour la réception au sein du service d'hémodiagnostic des hémophiles non hospitalisés. Concernant les hémophiles hospitalisés, le recueil d'informations et les prélèvements se sont fait durant tous les jours de la semaine.

2.1.1. Modalités de prélèvement

- Pour chaque patient nous avons prélevé 02 tubes contenant du citrate tri-sodique pour les tests de l'hémostase, un tube citraté pour le dosage des facteurs anti-hémophiliques et l'autre tube pour la recherche des inhibiteurs anti-facteurs hémophiliques.
- Le prélèvement doit être fait de préférence à jeun de matière grasse, au repos (10 minutes en position allongée).
- Par ponction veineuse franche, sans garrot ou garrot peu serré et laissé moins de 1 minute.
- Respecter le remplissage du tube jusqu'au trait.
- Agiter par retournement 2 à 5 fois le tube.
- Tube de préférence en verre siliconé. Cependant l'usage des tubes en plastique est acceptable sous réserve du respect strict des dates de péremption et des conditions de conservation préconisées par le fabricant, plastique type polyéthylénetétraphtalate (PET) ou polypropylène (PP) doublé de PET.
- La seringue est contre indiquée.
- L'anticoagulant de référence préconisé pour les tests d'hémostase est une solution de citrate tri-sodique 0.105 M ou 0.109 M utilisée dans un rapport anticoagulant/sang total = 1 volume pour 9 volumes. Ces conditions sont valables pour un hémocrite compris entre 30-55%, sinon le volume d'anticoagulation doit être adapté à l'hémocrite.

2.1.2. Conservation, traitement et délais de traitement des échantillons

- L'échantillon destinés pour les tests d'hémostase : Délai de conservation avant le test : 2 à 4 heures au maximum, à température ambiante 20 à 25°C.
- Ne jamais conserver l'échantillon à +4°C (risque d'activation du facteur VII)
- Le tube citraté bouché est centrifugé le plus rapidement possible après son arrivé au laboratoire pour obtenir un plasma pauvre en plaquette (PPP) : centrifugation 10 min à 4000 tours/mn.
- L'aspect du plasma est noté (aspect ictérique, lactescent, hémolyse, présence d'un caillot).

Si le plasma est jugé conforme il est soumis à l'étape analytique.

2.2. Phase analytique

2.2.1. Tests globaux

2.2.1.1. Temps de Céphaline plus Activateur

- **Principe**

Il s'agit du temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes recalcifié en présence de céphaline (phospholipides), de substitut des plaquettes sanguines, et d'un activateur de la phase contact (silice, kaolin, acide Ellagique ou céliste).

Il explore les facteurs de la voie endogène de la coagulation, à savoir VIII, IX, XI, XII, prékallikréine (PK), kininogène de haut poids moléculaire (KHPM), et les facteurs de la voie commune, II, V, X, et fibrinogène, lorsque leur déficit est important.

Le résultat est exprimé en seconde ou en ratio par rapport au témoin (mélange de plasma provenant de sujets normaux).

Les valeurs normales se situent entre 25 et 40 secondes, en fonction du réactif et de l'instrument utilisé.

L'allongement du TCA est significatif pour un rapport Malade(M)/Témoin(T) supérieur à 1,20.

- **Mode opératoire**

Les TCA ont été réalisés en semi-automatique sur STart4 en utilisant 2 réactifs différents, soit CK PREST5 soit ACTINE FS.

- **Principe de fonctionnement du semi automate STart4**

Le Start4 est un analyseur de coagulation semi-automatique doté de 16 puits d'incubation à 37°C, 4 canaux de mesure, minuteries intégrées indépendantes et alarmes sonores pour minuteries. Cet appareil utilise un système de détection électromagnétique qui met à profit l'augmentation de la viscosité due à la formation progressive du caillot en détectant l'arrêt de rotation d'une bille d'acier placée dans le mélange PPP/réactif.

Dans une cupule contenant une bille magnétique, mettre 100 µl de plasma à tester et 100 µl d'ACTINE FS, incuber pendant 2 minutes, rajouter 100 µl de CaCl₂ en déclenchant le chronomètre et noter le temps de coagulation.

Procéder de la même manière pour le plasma témoin et les plasmas contrôle normal et pathologique.



Figure 10 : Coagulomètre STart4.

- **Causes d'erreur**

- Contamination par l'héparine (erreur de tube, transvasement, cathéter hépariné...).
- Rapport volume sang/volume anticoagulant non respecté.
- Délai et température de conservation non respectés.
- Présence de micro-caillots ou d'agrégats.
- Hémolyse.
- Variation importante de l'hématocrite.

2.2.1.2. Temps de Quick

- **Principe**

Il s'agit d'un test chronométrique utilisé dans l'exploration de la coagulation de première intention.

Le temps de Quick est le temps de coagulation d'un plasma citraté déplaqueté, recalifié en présence d'un excès de thromboplastine (mélange de PL et de facteur tissulaire) et de calcium. La thromboplastine est capable de déclencher la voie exogène de la coagulation par activation du facteur VII.

Il explore la voie exogène (facteur VII) et la voie commune de la coagulation (facteurs II, V, X et fibrinogène) et permet le dépistage des déficits constitutionnels ou acquis de ces différents facteurs.

Ce test est souvent exprimé en taux de prothrombine (TP) après établissement de la courbe de Thivolle.

- **Interprétation**

Le temps de Quick est considéré comme pathologique s'il est supérieur à 2 secondes par rapport à celui du témoin, les valeurs normales se situent entre 12 et 14 secondes.

Le taux de prothrombine est considéré comme pathologique quand il est inférieur à 70%, les valeurs normales sont comprises entre 70% et 100%.

2.2.1.3. Dosage du fibrinogène

- **Principe**

Le dosage du fibrinogène fonctionnel se fait en présence d'un excès de thrombine. Le temps de coagulation d'un plasma dilué dans des proportions adéquates est directement en fonction du taux de fibrinogène plasmatique.

La dilution usuelle d'un plasma normal est de 1/10e ou de 1/20e.

- **Interprétation**

Les valeurs normales sont comprises entre 2 et 4 g/L.

2.2.2. Dosage des facteurs anti-hémophiliques FVIII et FIX

- **Principe des dosages**

Les dosages des facteurs VIII et IX ont un intérêt double. Ils permettent de confirmer et de quantifier l'importance d'un déficit suspecté devant l'allongement isolé du temps de céphaline plus activateurs. Ils sont également utilisés dans le suivi des patients sous traitement substitutif de facteur VIII ou IX.

Il consiste à mesurer le temps de céphaline plus activateur (TCA) d'un système où tous les facteurs sont présents et en excès, à l'exception du facteur à doser (VIII ou IX) apporté par le plasma du patient.

- **Mode opératoire**

On utilise pour le dosage des facteurs VIII et IX la technique fonctionnelle chronométrique, soit manuellement au bain marie, ou sur le semi automate STart4.

Préparer à partir d'un plasma standard de référence en tampon Owren-Koller pH=7.35 les dilutions 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 et 1/160 dans une série de tubes secs. De même prévoir 02 dilutions, 1/10 et 1/20, pour le plasma du malade.

Les dilutions de plasma ne sont pas stables. Il faut les faire extemporanément et les conserver à +4°C (glace pilée).

Mettre un même volume (100µl) de dilution appropriée du plasma standard ou du plasma du patient, du plasma déficient en facteur VIII et de céphaline plus activateur (ACTINE FS) dans un tube sec ou dans une cupule pour STart4.

Incuber 2 minutes à 37°C.

Ajouter le même volume de chlorure de calcium et mesurer le temps de coagulation.

Etablir la courbe d'étalonnage et la courbe du dosage du plasma à tester sur papier bilogarithmique en portant en abscisses les pourcentages d'activité correspondant aux différentes dilutions et en ordonnées les temps de coagulation obtenus. Les 02 droites doivent être parallèles. Il existe une relation linéaire en coordonnées bilogarithmiques entre le temps mesuré et les taux du facteur dosé.

Généralement la dilution au 1/10 correspond à 100% d'activité.

Les résultats des dilutions de plasma à tester au 1/10 sont lus directement, ceux des dilutions 1/20 sont multipliés par 2.

Procéder de la même manière et dans les mêmes conditions pour les plasmas contrôle normal et pathologique.

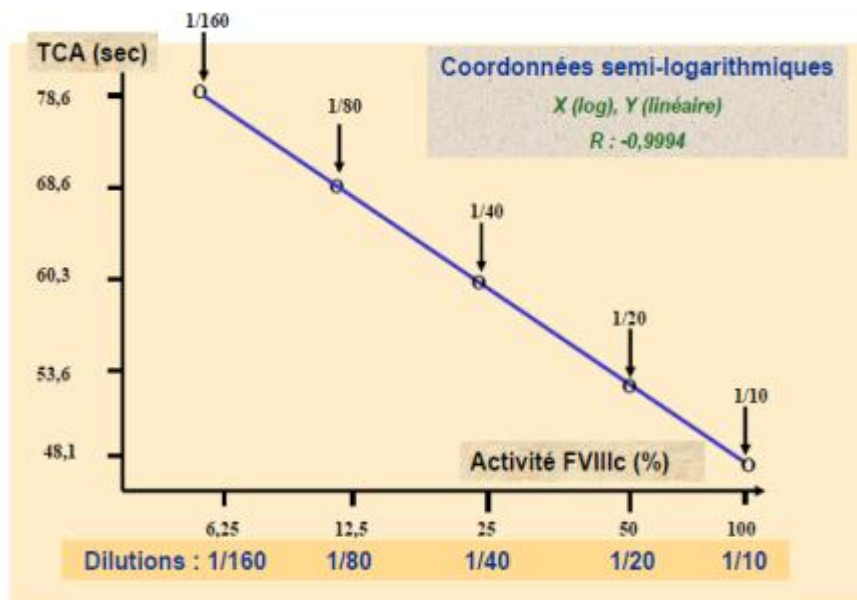


Figure 11: Courbe d'étalonnage

- **Interprétation**

Les résultats sont exprimés en % d'activité. Les valeurs normales sont comprises entre 36-185% chez l'enfant âgé de 1 à 5 ans, et entre 60% et 150% après cet âge.

- **Fonctionnement du STA Compact Max2**

Le STA Compact ® est un automate de laboratoire conçu pour réaliser des tests *in vitro* destinés au diagnostic des pathologies liées à l'hémostase ainsi que pour aider à la surveillance des traitements anticoagulants. Il permet de réaliser des tests de chronométrie (mesure d'un temps de coagulation) sur des échantillons de plasma. Son principe de fonctionnement est basé sur un système de détection viscosimétrique unique (mécanique) grâce à des capteurs électromagnétiques, ainsi que sur un principe de détection chromogénique par mesure de la densité optique.

Cet automate est caractérisé par une grande autonomie de fonctionnement et une exécution rapide des dosages, ce qui permet une véritable gestion des urgences.



Figure 12 : STA Compact Max2

2.2.3. Recherche des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques

2.2.3.1. Dépistage

- **Principe**

Les anticoagulants spécifiques dirigés contre le facteur VIII et/ou IX sont mis en évidence par la diminution du pourcentage du facteur concerné effectué sur le dosage d'un mélange Témoin + Malade par rapport à un mélange Témoin + Owren-Koller.

La méthode adoptée dans notre travail est la méthode de Bethesda.

Dans la méthode de Bethesda, la source du facteur VIII est un plasma normal mélangé volume à volume avec le plasma du malade. Le mélange est incubé à 37°C pendant 2 heures

en même temps qu'un mélange contrôle (1 volume plasma normal/1 volume tampon imidazole).

Toutefois, la méthode de Bethesda présente deux écueils identifiés en 1995 par un groupe hollandais et susceptible d'expliquer la fréquence élevée d'inhibiteurs de titre faible sans corrélation clinique constatée par les utilisateurs :

- Une élévation du pH dans le mélange plasmatique durant les 2 heures d'incubation avec comme conséquence une dégradation du facteur VIII ;
- Et une différence de concentration protéique entre le mélange "test" plasmatique et le mélange "contrôle" comportant 1 volume de tampon pour 1 volume de plasma.

La variante Nijmegen comprend deux modifications par rapport à la méthode Bethesda :

- Un tamponnement par l'imidazole du plasma normal utilisé comme source de facteur VIII dans le mélange "test" ou "contrôle" ;
- Et le recours à un plasma déplété en facteur VIII dans le mélange "contrôle" en remplacement du tampon imidazole.

En 1995, une comparaison des deux méthodes, Bethesda et Nijmegen, a été faite. Plus tard une large étude canadienne montre que des titres faibles d'inhibiteurs, dépistés par la méthode Bethesda (0.5-0.9 UB) et sans expression clinique apparente, ne sont pas détectés par la méthode Nijmegen. La méthode Bethesda a dès lors été proposée comme la méthode de référence par l'ISTH en 1996.

- **Mode opératoire**

Le dépistage a été effectué soit par méthode semi-automatique "STart4", ou par méthode automatique "Sysmex CA-600 séries".

- **Principe du fonctionnement du Sysmex CA-600 series**

Sysmex CA-600 series est un automate de coagulation compact dont le principe est photo-optique, continu et séquentiel, capable de doser simultanément plusieurs paramètres en utilisant la chronométrie, la chromogénie et l'immunologie.

Il dispose d'un lecteur de code-barres permettant l'identification positive des échantillons et d'un lecteur externe de code-barres 2 D pour l'intégration automatique des valeurs assignées

des calibrants et des contrôles. Les types d'échantillons utilisés sont des tubes primaires et les coupes échantillons, le mécanisme d'échantillonnage est automatisé avec pré-dilution.



Figure 13: Sysmex CA-600 series

Préparation des mélanges Témoin + Owren-Koller (T+OK) et Témoin + Malade (T+M) :

Dans des tubes secs on prépare :

T + OK, en constituant un mélange à parties égales de témoin pur et de tampon Owren-Koller : 100 µl de plasma standard humain (plasma témoin) + 100 µl de tampon Owren-Koller.

T + M, en constituant un mélange à parties égales de témoin pur et de plasma malade : 100 µl de plasma standard humain (plasma témoin) + 100 µl de plasma malade.

On bouche ces tubes, et on les place au bain marie à 37° C pendant 02 heures.

Après cette incubation, on récupère les tubes et on prépare les dilutions en tampon Owren-Koller.

On dilue le T + OK sur 4 points, 1/20, 1/40, 1/80 et 1/160, et on dilue le T + M sur 3 points, 1/20, 1/40 et 1/80.

Dosage au CK prest 5 sur STart4

Mettre dans des cupules différentes, 100 µl de chaque dilution du T+OK et T+M, 100 µl de facteur déficient VIII ou IX et 100 µl de CK prest 5.

Incuber pendant 02 minutes à 37° C puis ajouter 100 µl de CaCl₂ à 0.025 M.

- **Résultats**

Sur papier Bilogarithmique, on porte en abscisses le pourcentage d'activité de chaque point de la gamme T+OK qui sert de témoin et en ordonnées le temps de coagulation correspondant en secondes (Annexe II).

De la même façon, tracer la droite du T+M. Ces deux droites doivent être parallèles.

En déduire le taux, en pourcentage, du T+M par rapport au T+OK.

Le taux du facteur VIII ou IX résiduel doit être supérieur à 66%. Si ce taux est inférieur à 66% cela est synonyme de présence d'inhibiteurs, il faut donc passer à l'étape du titrage.

2.2.3.2. Titrage d'un inhibiteur du facteur VIII ou IX

- **Principe**

Le principe consiste à incuber différentes dilutions du plasma malade ne contenant pas de facteur VIII ou IX (<1%) avec un plasma témoin contenant 100% de facteur VIII ou IX. Le taux résiduel de facteur VIII ou IX dosé dans ce mélange après incubation permet la détermination du titre de l'inhibiteur.

L'activité anticoagulante de l'inhibiteur est exprimée en Unité Bethesda (UB). Une UB par millilitre de plasma correspond à la neutralisation de 0.5 unité de facteur VIII ou IX par millilitre de plasma, soit 50 %.

- **Mode opératoire**

Préparer le mélange T+ OK, à parties égales : 100 µl de plasma standard humain (plasma témoin) + 100 µl de tampon Owren-Koller.

Préparer les mélanges T+M/X qui consiste à diluer le plasma du malade X fois en tampon Owren-Koller avant de la mélanger à partie égales avec du plasma standard humain : 100 µl de plasma standard humain (plasma témoin) + 100 µl de plasma malade dilué X fois.

Selon le titre d'anti facteur VIII ou IX attendu (en fonction des antécédents), on effectue plusieurs systèmes de dosage avec différentes dilutions du plasma malade.

Titre antérieur	1-2	3-7	8-15	16-30	31-60	100
	Pur	Pur	Pur	Pur	Pur	Pur
Dilutions du plasma	1/2-1/4	1/2-1/4-	1/2-1/4-	1/2 -1/4-1/8-	1/5	1/10
du malade :	1/3	1/8	1/8-1/16	1/16-1/32-	1/10	1/70-1/80-
-à préparer	1/5	1/3-1/6-	1/3-1/6-	1/3-1/6-1/12-	1/30-1/40-	1/90-1/100-
		1/12	1/12	1/24	1/50-1/60-	1/110-
-à tester*		1/5-1/10	1/5-1/10-	1/5-1/10-1/20-1/40	1/70	1/120-1/130
			1/20		1/35-1/45-	
					1/55-1/65	

Tableau 03 : Les différentes dilutions du plasma du malade à réaliser

Seules les dilutions indiquées en gras seront à tester en première intention dans un mélange à parties égales de la dilution du malade et du témoin pur (T+M/X).

On réalise systématiquement le mélange avec le malade pur (T+M) quelque soit le titre attendu, y compris si une recherche a déjà été effectuée sur ce prélèvement.

Incuber au bain-marie à 37°C tous les mélanges réalisés (M/X+T) pendant 02 heures pour faciliter la réaction antigène-anticorps.

Doser le taux résiduel du facteur VIII ou IX :

Une fois les 02 heures d'incubation achevées, le taux résiduel de facteur VIII ou IX de chaque mélange est déterminé par la technique de dosage habituelle, mais au lieu de réaliser la droite d'étalonnage avec le témoin pur, celle-ci est réalisée avec le mélange T+OK qui est défini comme contenant 100% de facteur.

Etablir la droite d'étalonnage, dilution du mélange T+OK en tampon Owren-Koller sur 4 points, 1/20, 1/40, 1/80 et 1/160, le 1/20 correspond à 100% d'activité.

Déterminer le taux de facteur VIII ou IX dans chaque mélange T+M/X sur une seule dilution au 1/20 en tampon Owren-Koller.

- **Détermination du titre d'inhibiteur en fonction du taux résiduel de facteur VIII ou IX présent dans les mélanges**

Le titre en UB est déterminé à partir d'une droite de titrage tracée sur papier semi-log de la façon suivante. En ordonnées, sont reportés les taux de facteur VIII ou IX en % et en abscisse, les titres en UB.

Positionner le point correspondant à 100% de facteur VIII ou IX en ordonnée et 0 UB en abscisse, et l'autre point correspondant à 50% de facteur VIII ou IX en ordonnée et 1 UB en abscisse.

La zone de lecture se situe entre 31% et 70% de facteur VIII. Lorsque les taux de facteur VIII des mélanges sont compris entre 31 et 70%, ils sont reportés sur cette droite (Annexe III) pour en déduire les titres en UB.

Le titre du plasma pur est obtenu en multipliant le résultat par l'inverse de la dilution du plasma utilisé dans le mélange. Par exemple, si pour le mélange T+M/4, le taux de facteur VIII résiduel est de 50%, on lira sur la droite de titrage 1 UB qu'il faut multiplier par 4 pour obtenir le titre du plasma pur.

Pour pouvoir rendre un résultat, il faut qu'il y ait au moins 2 points situés dans la zone de lecture qui donnent un titre semblable. Le titre sera la moyenne des résultats obtenus. Si moins de 2 points se situent dans la zone de lecture, recommencer sur d'autres dilutions.

- **Interprétation du titre d'inhibiteur trouvé**

- 0 UB : Absence d'inhibiteur.
- [0,6 – 5] UB : Inhibiteurs à taux faible.
- [5 - 10] UB : Inhibiteurs à taux modéré.
- ≥ 10 UB : Inhibiteurs à taux fort.

2.3. Saisie et analyse statistique des données

Nous avons saisi et analysé les données moyennant le logiciel IBM SPSS Statistics version 20. Quant aux figures, nous les avons conçues sur le logiciel Excel 2007. Afin d'atteindre certains objectifs de notre étude, notamment l'objectif principal, nous avons calculé certaines fréquences.

La fréquence globale de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques est calculée comme suit :

$$\text{Fréquence globale} = \frac{\text{Nombre d'hémophiles ayant développé des inhibiteurs}}{\text{Nombre total des hémophiles}} * 100$$

Quant aux fréquences spécifiques, le principe de calcul est le même, mais le numérateur et le dénominateur correspondent tous les deux au même sous groupe, par exemple, la fréquence de développement des inhibiteurs anti-facteur VIII est calculée comme suit :

$$\text{Fréquence} = \frac{\text{Nombre d'hémophiles A ayant développé des inhibiteurs}}{\text{Nombre des hémophiles A}} * 100$$

Pour déterminer le degré de signification lors de la comparaison des pourcentages de notre étude, entre eux et avec ceux d'autres études, nous avons utilisé le test de Chi 2.

Le seuil de signification statistique α est fixé à 5%.

Chapitre II :

Résultats

Résultats

Au total, nous avons inclus 24 patients dans notre étude.

1. Caractéristiques démographiques

1.1. Répartition en fonction de l'âge

L'âge médian des patients de notre étude est 13.28 ans, avec des âges minimal et maximal de 15 mois et 73 ans respectivement.

Nous remarquons que chez 17 patients (70.8%), l'âge ne dépasse pas 20 ans (Figure 14).

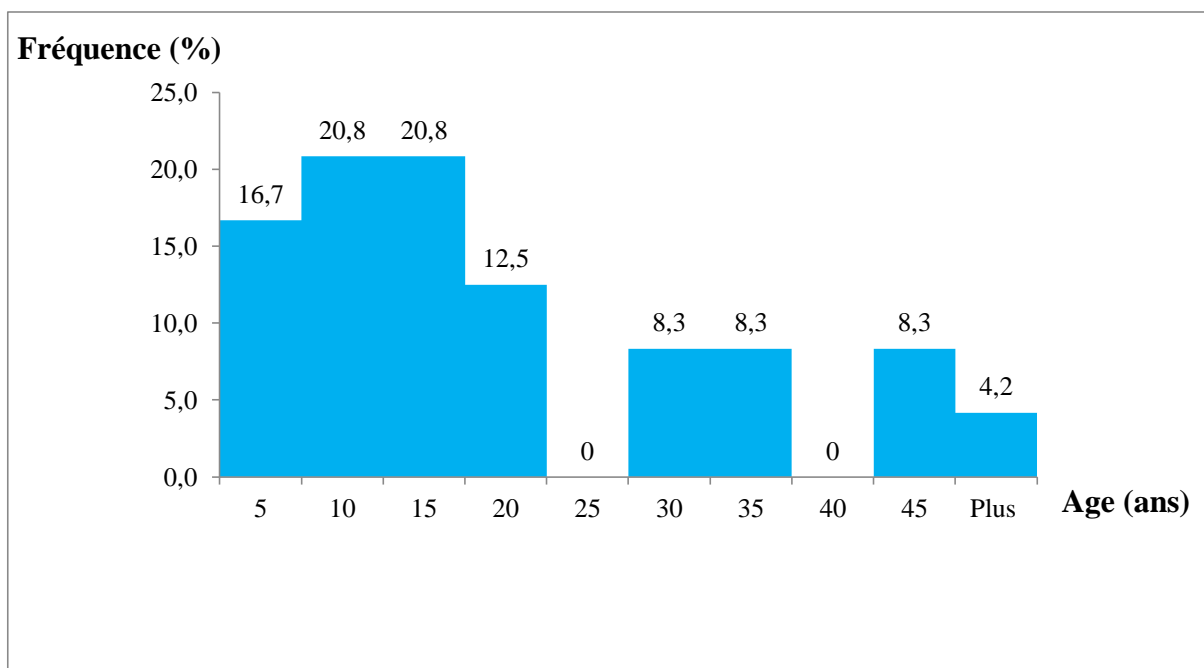


Figure 14 :Répartition des hémophiles en fonction de l'âge,CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

1.2. Répartition en fonction du lieu de résidence

Parmi les patients de notre étude, 87.5% résident dans la wilaya de Tizi Ouzou. Seuls 03 patients résident en dehors de Tizi Ouzou, 01 patient à Boumerdès et 02 à Bouira (Figure 15).

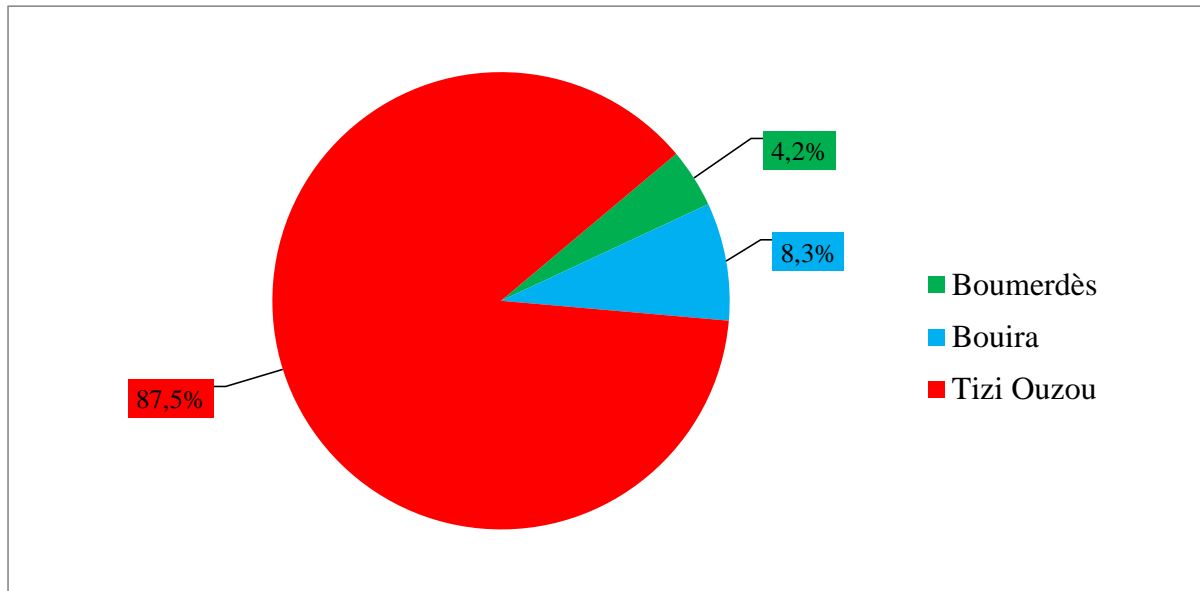


Figure 15 : Répartition des hémophiles en fonction du lieu de résidence, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2. Caractéristiques de l'hémophilie

2.1. Répartition en fonction du type d'hémophilie

Il y'a une nette prédominance de l'hémophilie A. Seuls 04 patients sont atteints d'hémophilie B, soit une fréquence de 16.7% (Figure 16).

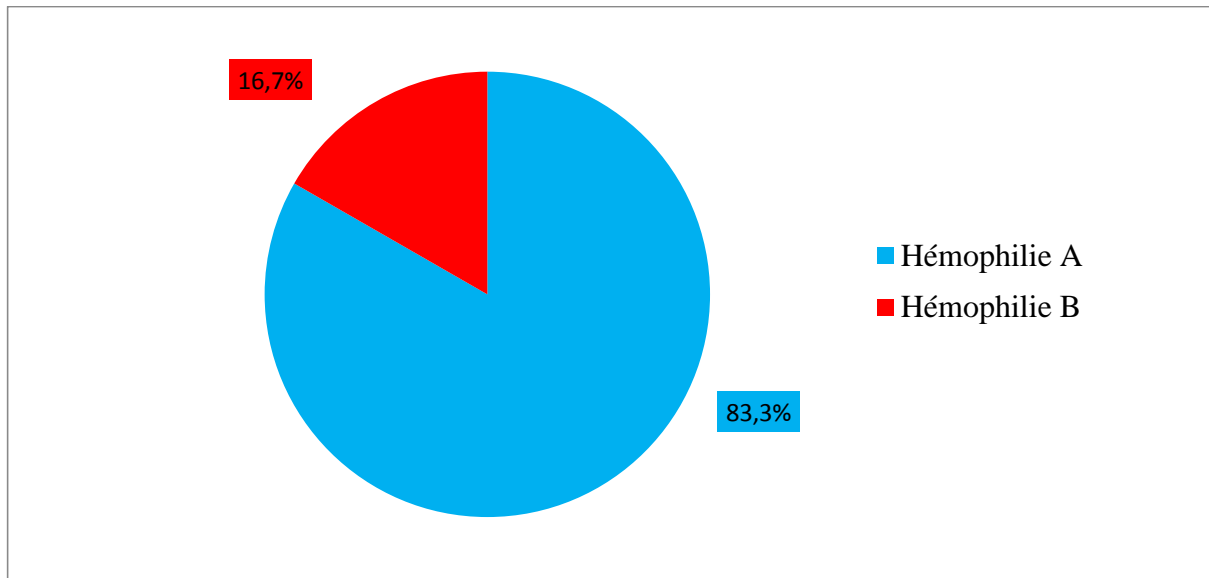


Figure 16 : Répartition des hémophiles en fonction du type d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.2. Répartition en fonction de la sévérité de l'hémophilie

En matière de sévérité de l'hémophilie, avec 70.8%, la forme sévère est la plus fréquente, suivie par les formes modérée et mineure avec 25% et 4.2 % respectivement (Figure 17).

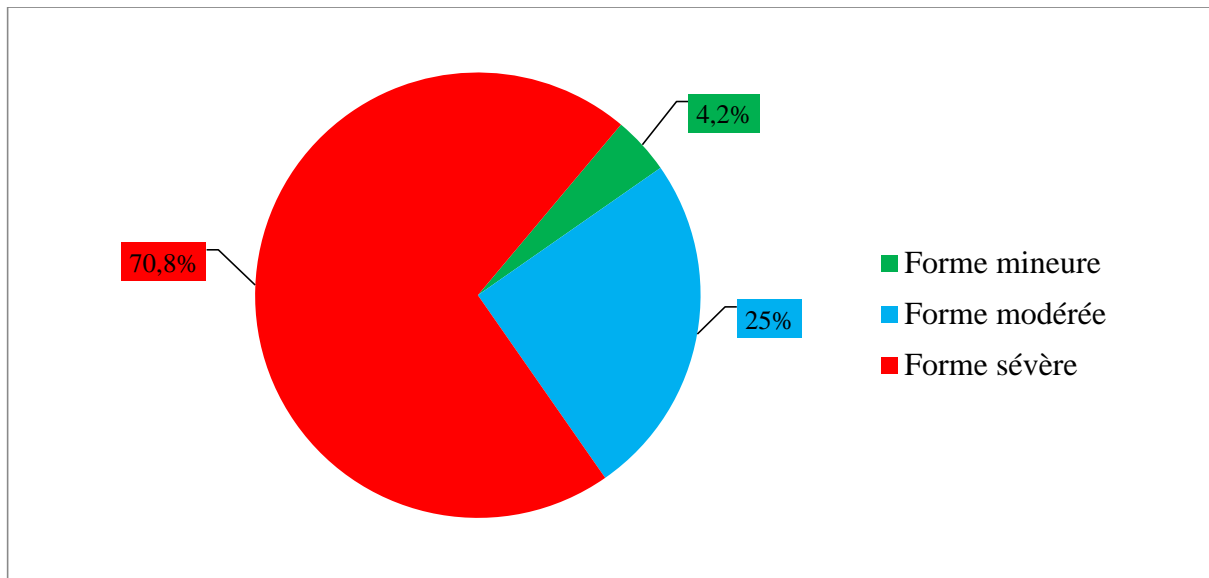


Figure 17 : Répartition des hémophiles en fonction de la sévérité de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.3. Répartition en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie

L'hémophilie est découverte durant la première année de vie chez la moitié (50%) des patients de l'étude.

L'âge de découverte de l'hémophilie ne dépasse pas 02 ans chez 79.2% des patients (Figure 18).

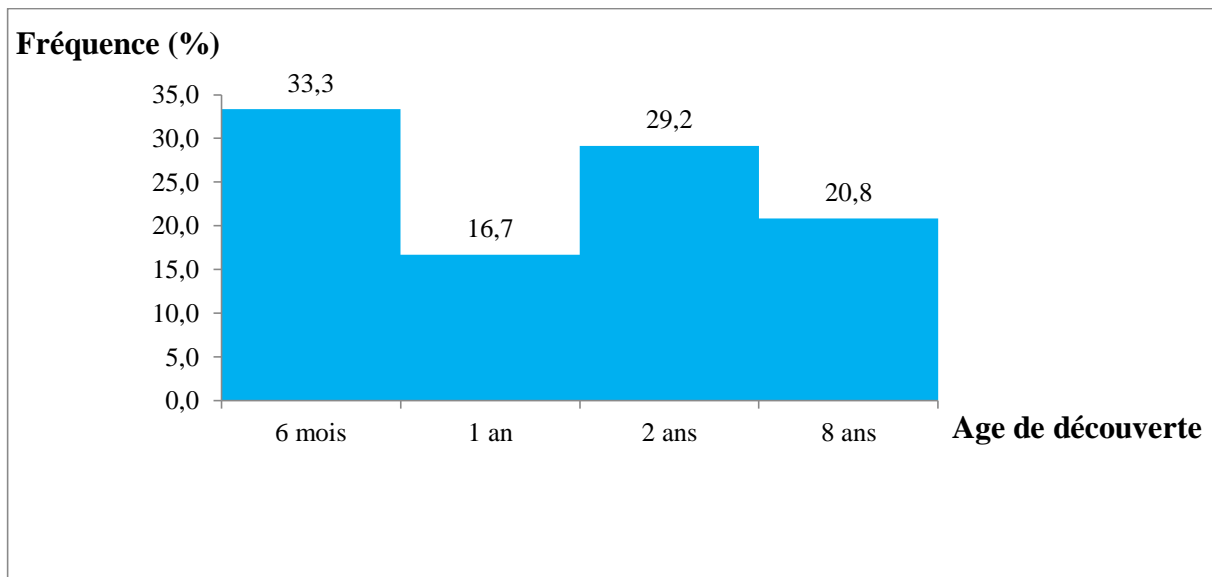


Figure 18 : Répartition des hémophiles en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.4. Répartition en fonction des circonstances de découverte de l'hémophilie

La principale circonstance de découverte de l'hémophilie est la survenue d'une hémorragie, cette notion est évoquée par 19 patients (79.2%).

L'hémophilie est découverte dans le cadre d'une enquête familiale chez 03 patients et fortuitement à l'occasion d'un bilan biologique chez 02 patients (Figure 19).

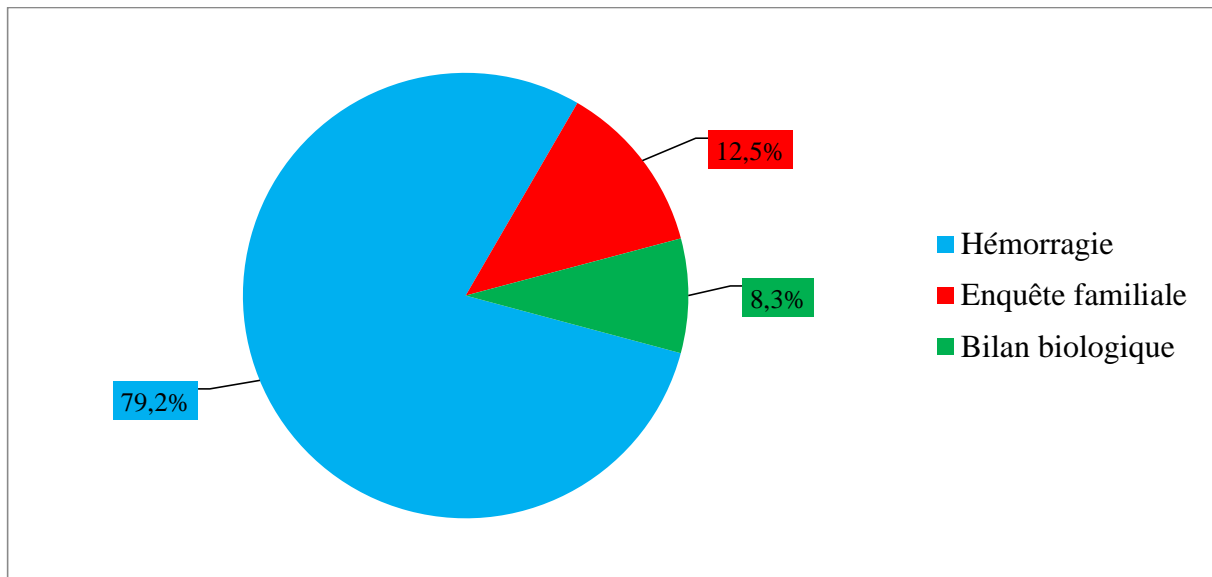


Figure 19 : Répartition des hémophiles en fonction des circonstances de découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Chez les 19 patients dont l'hémophilie est découverte suite à la survenue d'une hémorragie, la gingivorragie est le site le plus fréquent, elle est évoquée par 09 patients (47.7%). Les hématomes des parties molles viennent en seconde position, ils sont cités par 07 patients (Figure 20).

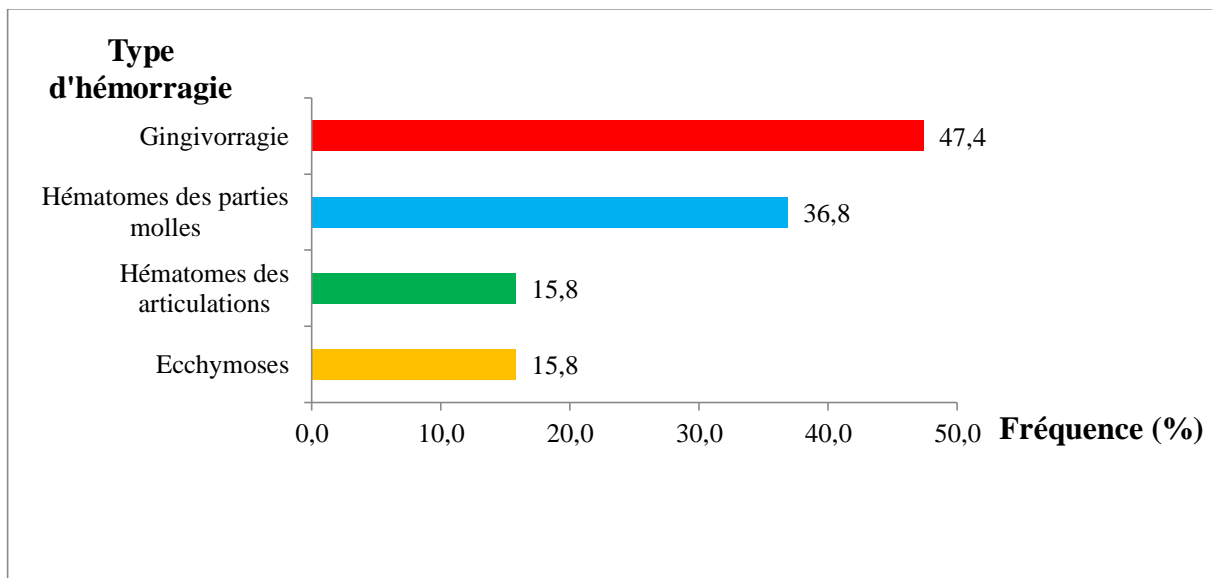


Figure 20 : Répartition des hémophiles en fonction du type d'hémorragie ayant conduit à la découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Chez les 19 patients dont l'hémophilie est découverte suite à la survenue d'une hémorragie, la notion de traumatisme, y compris la vaccination, est évoquée par 16 patients (84,2%). Chez 03 patients (15,8%), l'hémorragie est spontanée (Figure 21).

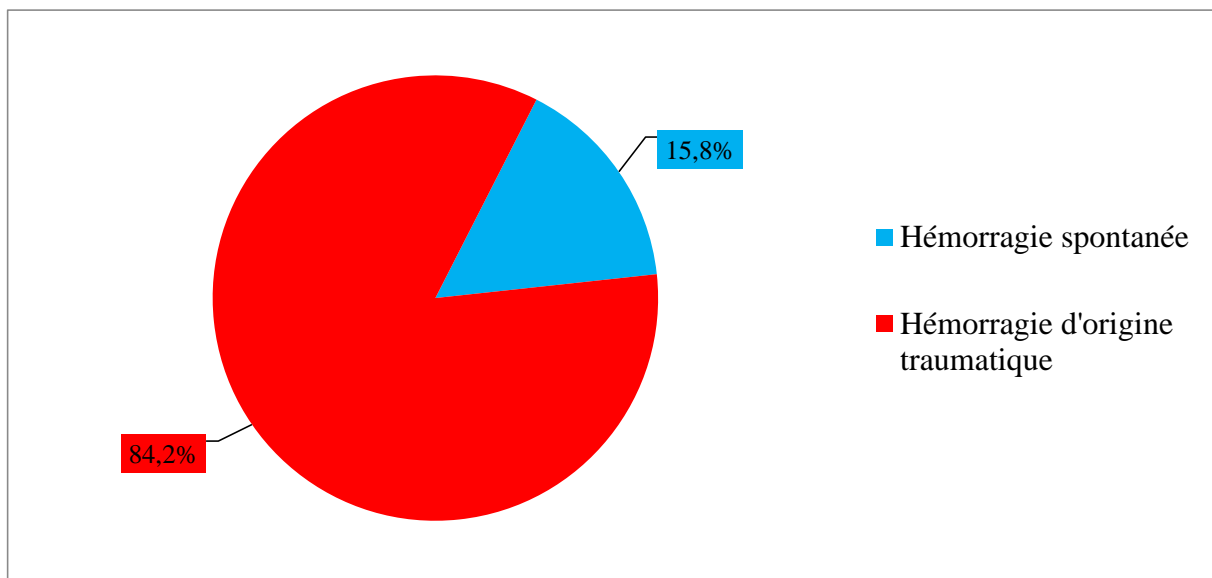


Figure 21 : Répartition des hémophiles en fonction de l'origine de l'hémorragie ayant conduit à la découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.5. Répartition en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie

Chez 15 patients, soit une fréquence de 62.5%, il existe un ou plusieurs cas d'hémophilie dans leurs familles (Figure 22).

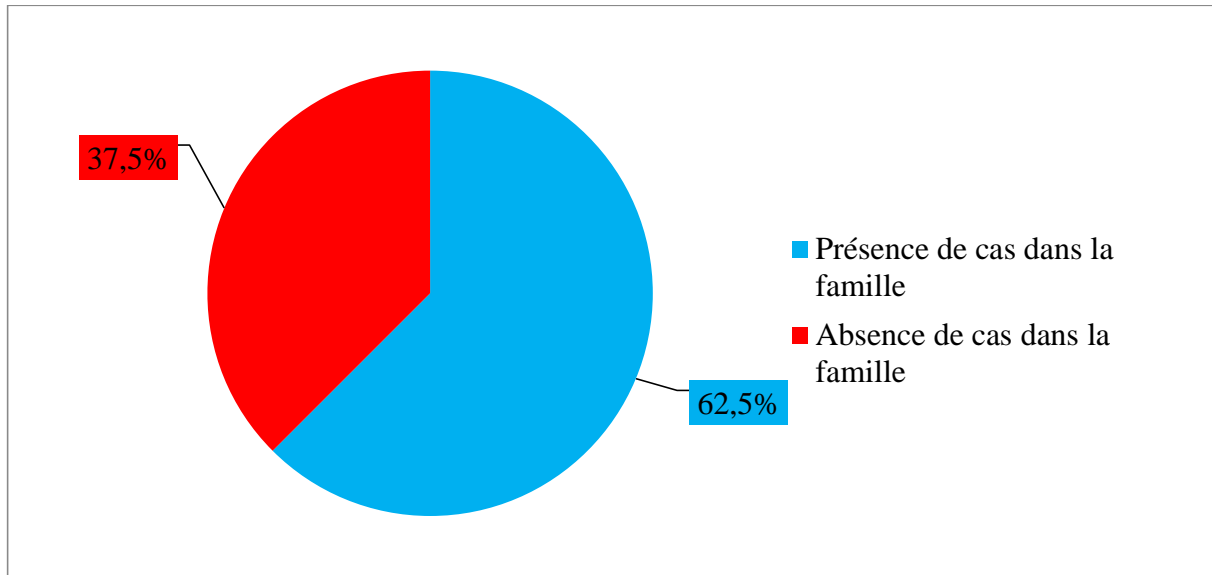


Figure 22 : Répartition des hémophiles en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

Pour 11 patients (73.3%), Il s'agit de fratrie, 09 d'entre eux ont un frère atteint d'hémophilie et 02 autres patients ont 02 frères hémophiles.

L'hémophilie est présente chez l'oncle maternel pour 03 patients, et chez le grand-père maternel pour 02 patients (Figure 23).

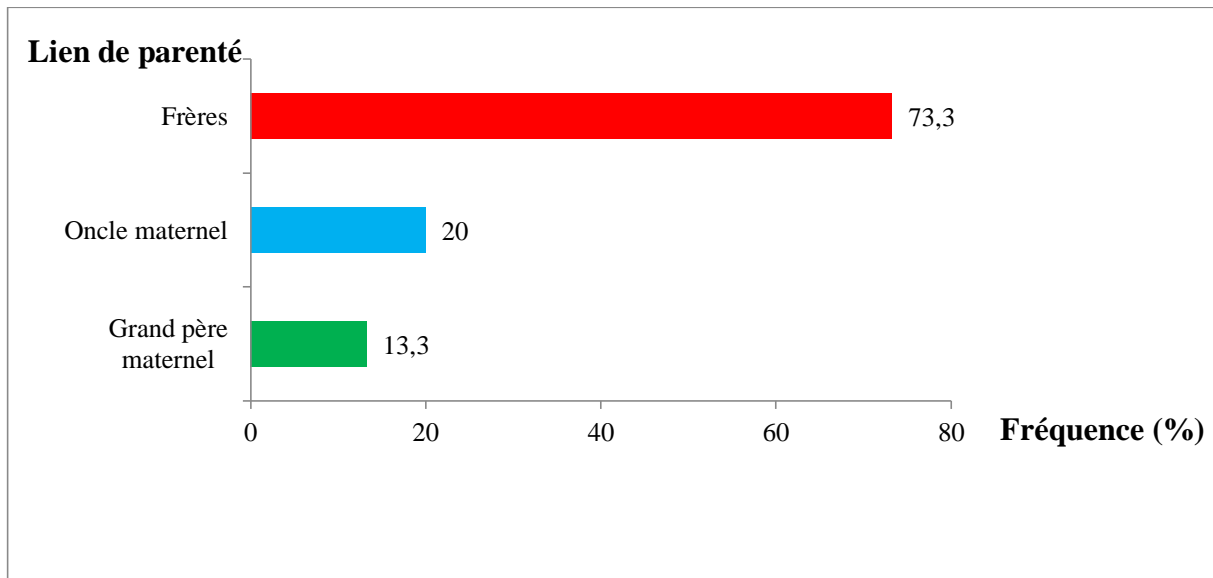


Figure 23 : Répartition des hémophiles aux antécédents familiaux d'hémophilie en fonction du lien de parenté, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.6. Répartition en fonction des co-morbidités

En matière de co-morbidités, 21 patients ne présentent pas de maladies associées à l'hémophilie, soit une fréquence de 87.5%. L'hépatite virale C est présente chez 02 patients et l'anémie chez un patient (Figure 24).

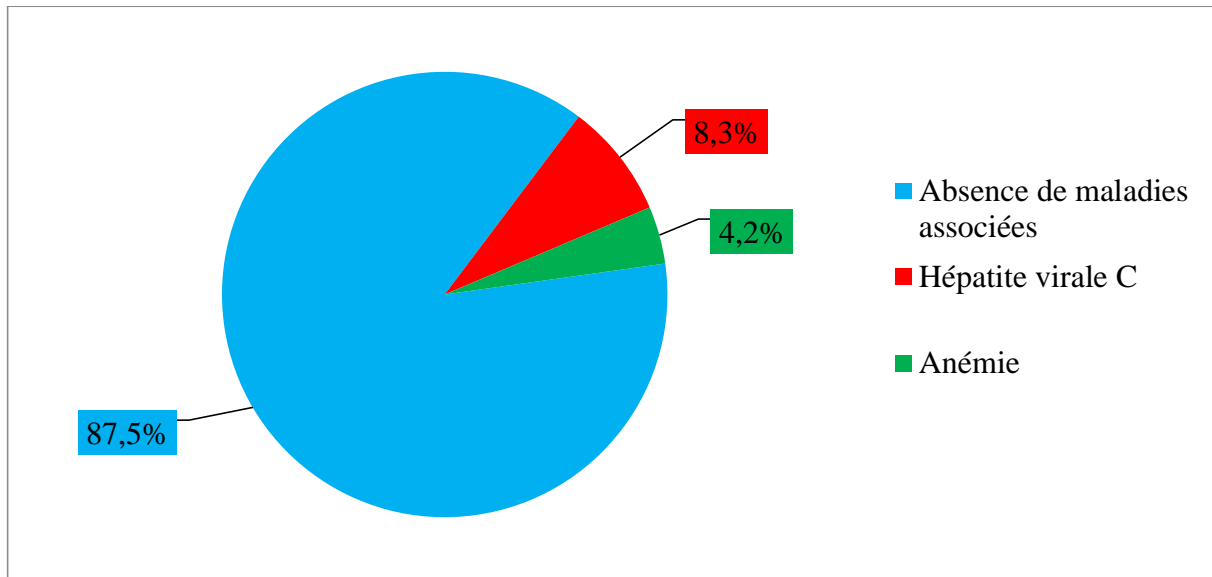


Figure 24 : Répartition des hémophiles en fonction des maladies associées, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.7. Répartition en fonction des antécédents personnels de transfusion

En matière d'antécédents transfusionnels, 15 patients affirment qu'ils n'ont jamais été transfusés, soit une fréquence de 62.5% (Figure 25).

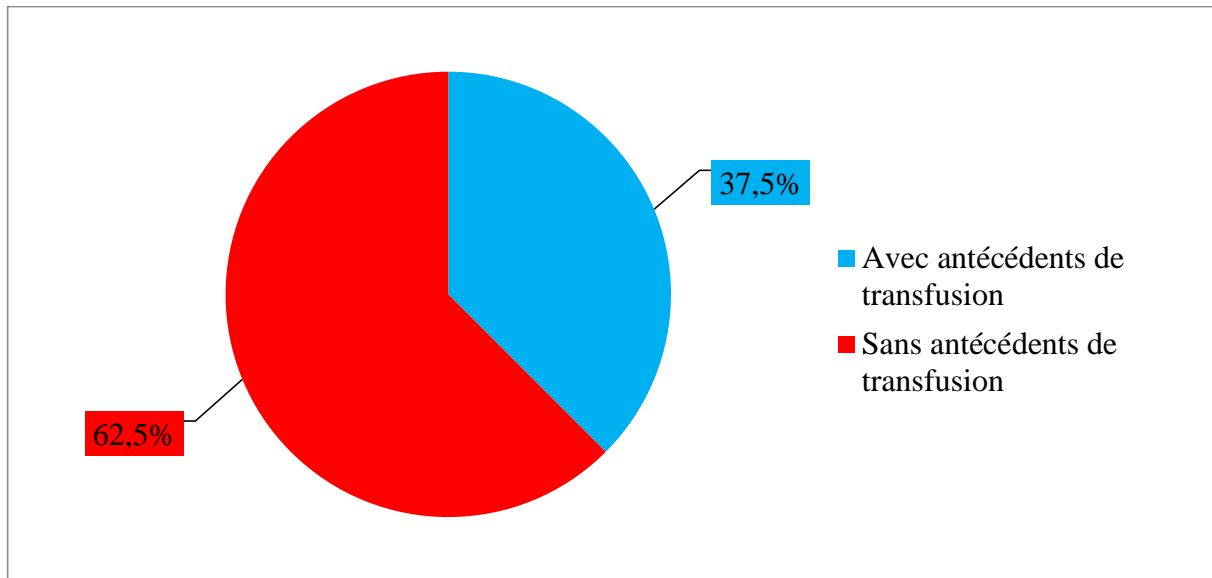


Figure 25 : Répartition des hémophiles en fonction des antécédents personnels de transfusion, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

2.8. Répartition en fonction du type de traitement

Concernant le traitement anti-hémophilique, 22 patients ont reçu ou reçoivent des facteurs de substitution des deux types, plasmatique et recombinant, soit une fréquence de 91.7%.

Deux patients sont mis sous un agent bypassant, de type Novoseven, soit une fréquence de 8.3% (Figure 26).

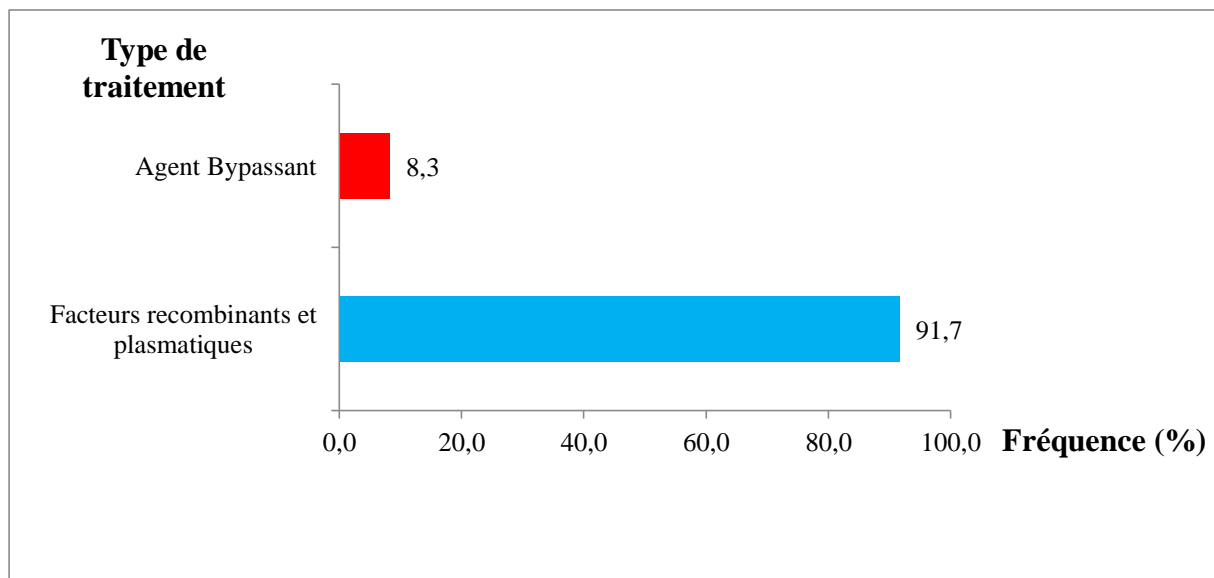


Figure 26 : Répartition des hémophiles en fonction du type de traitement anti-hémophilique, CHU de Tizi Ouzou, Février-Juin 2019.

3. Recherche des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques

3.1. Fréquence brute de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques

Effectifs	Développement des inhibiteurs des facteurs anti hémophiliques		Intervalle de confiance à 95 % (%)
	Nombre	Fréquence (%)	
24	07	29.17	10.98-47.35

Tableau 04 : Fréquence brute de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques, CHU de Tizi Ouzou, Février- Juin 2019.

3.2. Fréquences spécifiques de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques

3.2.1. Fréquence en fonction du type d'hémophilie

Les fréquences de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques ne diffèrent pas significativement ($p=0.26$) en fonction du type d'hémophilie, elles sont de 35% et 00% pour l'hémophilie A et l'hémophilie B respectivement (Tableau 5).

Type d'hémophilie	Effectifs	Développement des inhibiteurs des facteurs anti hémophiliques		p valeur
		Nombre	Fréquence (%)	
A	20	07	35	0.26
B	04	00	00	

Tableau 05 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction du type d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février- Juin 2019.

3.2.2. Fréquence en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie

Les fréquences de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques ne diffèrent pas significativement ($p=0.18$) en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie. La fréquence est de 41.67% chez les patients ayant découvert l'hémophilie avant l'âge de 12 mois, et de 16.67% chez ceux l'ayant découverte après cet âge (Tableau 6).

Age de découverte (mois)	Effectifs	Développement des inhibiteurs des facteurs anti hémophiliques		p valeur
		Nombre	Fréquence (%)	
<12	12	05	41.67	0.18
≥12	12	02	16.67	

Tableau 06 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février- Juin 2019.

3.2.3. Fréquence en fonction du degré de sévérité de l'hémophilie

La fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques ne diffère pas significativement ($p=0.61$) en fonction de la sévérité de l'hémophilie, elle est de 14.28% pour les patients atteints d'hémophilie mineure ou modérée, et 35.29% pour les patients atteints d'hémophilie sévère (Tableau 7).

Sévérité de l'hémophilie	Effectifs	Développement des inhibiteurs des facteurs anti hémophiliques		p valeur
		Nombre	Fréquence (%)	
Mineure ou modérée	07	01	14.28	0.61
Sévère	17	06	35.29	

Tableau 7 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction de la sévérité de l'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février- Juin 2019.

3.2.4. Fréquences en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie

La fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques ne diffère pas significativement ($p=0.92$) en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie, elle est de 33.33% pour les patients ayant des hémophiles dans leurs familles, et 22.22% pour les patients sans antécédents familiaux d'hémophilie (Tableau 8).

Antécédents familiaux d'hémophilie	Effectifs	Développement des inhibiteurs des facteurs anti hémophiliques		p valeur
		Nombre	Fréquence (%)	
Présents	15	05	33.33	0.92
Absents	09	02	22.22	

Tableau 8 : Fréquence de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction des antécédents familiaux d'hémophilie, CHU de Tizi Ouzou, Février- Juin 2019.

Discussion

1. Méthodologie

1.1. Biais

La taille de notre population d'étude est réduite, elle est de 24, ce qui se traduit par un manque de puissance statistique et, par conséquent, pourrait expliquer l'absence de différence significative et une largeur importante des intervalles de confiance.

1.2. Limites de l'étude

- Notre étude est particulièrement affectée par un biais de sélection du fait de la technique d'échantillonnage utilisée et du lieu de résidence des patients.

En effet, en termes de représentativité de l'échantillon par rapport à la population cible, qui est dans notre étude représentée par tous les hémophiles de la wilaya de Tizi Ouzou, seul l'échantillonnage aléatoire en est garant. Une telle technique n'a pu être utilisée vu l'absence de liste exhaustive de tous les hémophiles de la wilaya de Tizi Ouzou : base de sondage.

Les patients de notre étude sont sélectionnés de manière non aléatoire, en fonction de la possibilité de les contacter et, surtout, leur consentement à participer à l'étude et à se présenter au laboratoire d'hémodiagnostic du CHU de Tizi Ouzou afin de remplir la fiche d'enquête et de rechercher les inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques.

- Un autre type de biais a affecté notre étude, le biais d'information. En effet, du fait de l'absence de dossier médical établi spécialement pour l'hémophilie et correctement entretenu, des caractéristiques décrites comme étant en relation avec le développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques, autres que l'origine ethnique, n'ont pu être documentées, il s'agit du nombre de fois où l'hémophile a reçu des facteurs de coagulation durant sa vie et des augmentations des doses et/ou des fréquences d'administration des traitements [69].

- Concernant les antécédents familiaux de développement des inhibiteurs, autre facteur de risque de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques [69], vu l'absence d'informations, nous avons remplacé cette caractéristique par les antécédents familiaux d'hémophilie pour comparer les fréquences de développement des inhibiteurs, une telle approche n'est pas incontestable mais n'est pas erronée non plus.

- Le biais d'information concerne également le type de traitement, plasmatique ou recombinant. En effet, les informations concernant cette caractéristique, toujours à cause de l'absence de dossier médical d'hémophilie, sont anamnestiques. Les patients affirment tous

qu'ils ont reçu les deux types de traitement, mais sans préciser les circonstances des changements ; selon les médecins, le type de traitement reçu par le patient dépend tout simplement de la disponibilité de celui-ci au niveau de la structure de santé, et non pas de consensus particulier. Par conséquent, nous n'avons pas pu évaluer la relation entre le développement des inhibiteurs et le type de traitement substitutif.

- Afin de connaître le risque de développer les inhibiteurs en fonction de la durée d'exposition au traitement, et comparer les résultats avec ceux d'autres études pour mieux documenter le profil des hémophiles de notre région, une étude cohorte, avec la mesure de l'incidence, aurait été le type d'étude idéal. L'étude cohorte nécessite d'inclure au début des hémophiles qui n'ont pas développé d'inhibiteurs et de suivre le développement de ces derniers dans le temps en tenant compte avec précision des journées cumulées de présence d'antigène (JCPA). Cette période de suivi aurait été donc beaucoup plus longue que celle de la réalisation de notre mémoire, par conséquent l'étude cohorte était irréalisable.

2. Résultats

2.1. Type d'hémophilie

La répartition en fonction du type d'hémophilie de notre étude ne diffère pas significativement ($p=0.5$) de celle retrouvée dans une étude réalisée au CHU de Constantine en 2016 ayant inclus 155 patients où l'hémophilie A en représente 87.1% [70]. Ceci rejoint également ce qui est décrit dans plusieurs pays dans le monde, notamment aux USA, où en 2014, selon les données du registre de surveillance des troubles de la coagulation (*Registry for Bleeding Disorders Surveillance*), 79.3% des hémophiles étaient atteints d'hémophilie A [71].

2.2. Age de découverte de l'hémophilie

Dans notre étude, seuls 33.3% des patients ont découvert l'hémophilie avant l'âge de 06 mois. La répartition en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie de notre étude diffère significativement ($p=0.000125$) de celle issue de l'analyse des données du registre de surveillance des troubles de la coagulation aux USA où l'hémophilie est découverte avant l'âge de 06 mois chez 85.3% des patients [71]. Les données sur l'âge de découverte de l'hémophilie dans notre étude, du fait de l'absence de dossier médical d'hémophilie, sont purement anamnestiques, par conséquent, les patients et/ ou les parents peuvent ne pas se souvenir exactement de l'âge de découverte. Nous ne pouvons savoir avec certitude si cette différence

est due à un réel retard de diagnostic, stigmata d'une prise en charge non optimale des troubles de la coagulation dans notre région, ou à un biais d'information.

2.3. Inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques

La fréquence du développement des inhibiteurs chez les patients atteints d'hémophilie A de notre étude, 35%, ne diffère pas significativement ($p=0.46$) de celle retenue par les sociétés savantes, notamment, Centers for Disease Control and Prevention, qui est égale à 20% [72]. Concernant l'hémophilie B, la fréquence du développement des inhibiteurs de notre étude, 00%, ne diffère pas significativement ($p=0.73$) de celle retrouvée dans la littérature, qui est égale à 3% [73]. Le manque de puissance statistique, du fait de la faible taille de la population de notre étude, ne nous permet de conclure.

Concernant le développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques en fonction de l'âge de découverte de l'hémophilie, bien que nous ne puissions comparer nos résultats à ceux des autres études, du fait que nous avons mesuré des fréquences et non pas des incidences cumulées, nos résultats, malgré la différence non significative, rejoignent ceux de la littérature. En effet, selon les résultats de deux études ayant concerné des patients atteints d'hémophilie A sévère, plus l'administration du facteur VIII est débutée à un âge précoce, plus grand est le risque de développer des inhibiteurs [74,75].

2.4. Hémophilie et hépatite virale C

Dans notre étude, 02 patients sont atteints, en plus de l'hémophilie A, d'hépatite virale C. Il s'agit d'un des patient âgé de 41 ans, avec une hémophilie A modérée et ayant découvert l'hémophilie à la naissance, et d'un autre, âgé de 44 ans, avec une hémophilie A sévère et ayant découvert l'hémophilie à l'âge de 05 ans. Les deux patients ont reçu et/ou reçoivent les deux types de traitement, recombinant et plasmatique, et ont des antécédents de transfusion. La transmission du virus de l'hépatite virale C (VHC) peut être liée à l'administration de facteur VIII plasmatique ou aux transfusions, surtout si ces dernières ont été effectuées avant 1990. Mais le VHC peut également être transmis à l'occasion d'autres soins, notamment les soins dentaires, ou par voie sexuelle. De ce fait, nous ne pouvons déterminer avec certitude les circonstances de la transmission du VHC aux deux patients.

La fréquence de l'hépatite virale C de notre étude est significativement ($p<10^{-9}$) inférieure à celle retrouvée dans une étude réalisée en 1993 aux USA, où la fréquence était de 89% [76],

et est significativement ($p < 10^{-9}$) inférieure à celle retrouvée dans une autre étude réalisée en 1995 aux Pays Bas, où la fréquence était de 98% [77]. Les deux études ont inclus respectivement 727 et 179 hémophiles ayant bénéficié de transfusion sanguine durant l'ère avant la découverte du VHC et l'introduction du dépistage systématique des dons de sang. Bien que la taille de la population de notre étude soit petite, cette différence significative est en faveur de l'efficacité optimale des mesures de prévention de la transmission du VHC en milieu de soins en Algérie, en particulier, le dépistage des dons de sang et l'utilisation de matériel médical à usage unique.

La prise en charge d'éventuels épisodes d'hémorragie chez les deux patients ne poserait normalement pas de problème particulier puisqu'à ce jour ils n'ont pas développé d'inhibiteurs, cependant, l'évolution de l'hépatite virale C vers la chronicité, voire même vers la cirrhose ou le cancer du foie, rendrait la prise en charge de tout saignement extrêmement difficile du fait de l'équilibre fragile du système de coagulation en cas d'atteinte hépatique avancée.

2.5. Alternatives thérapeutiques chez les patients ayant développé des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques

- **Induction de la tolérance immune**

Aucun patient ayant développé des inhibiteurs de notre étude n'a bénéficié d'une induction de la tolérance immune malgré l'existence de nombreuses preuves de son efficacité. En effet, après Brackmann et Gormsen qui ont rapporté, il y'a plus de 40 ans, que l'administration régulière de fortes doses de facteur VIII permettait d'éradiquer un inhibiteur anti-facteur VIII [78], d'autres études ont démontré que l'induction d'une tolérance immune éradiquait l'inhibiteur anti-facteur VIII chez plus de 80% des patients atteints d'hémophilie A sévère [79-82].

La non initiation de la tolérance immune chez les hémophiles au CHU de Tizi Ouzou, selon les médecins, est liée, d'une part, aux couts importants des traitements, et d'autre part, à la non adhésion des patients et des parents du fait de la durée longue des protocoles.

- **Traitement par un agent de contournement (Bypassing agent) :**

Dans notre étude, 02 patients atteints d'hémophilie A, après avoir développé des inhibiteurs à des titres élevés, sont mis sous Novoseven. Pour l'un des patients, âgé de 10 ans et ayant découvert l'hémophilie à l'âge de 08 mois, l'hémophilie est modérée ; les titres des inhibiteurs

sont passés de 5.0 UB à 2.1 UB. Pour l'autre patient, âgé de 03 ans et ayant découvert l'hémophilie à l'âge de 18 mois, l'hémophilie est sévère ; les titres des inhibiteurs sont passés de 13.0 UB à 5.0 UB.

Nous ne pouvons pas évaluer l'efficacité de cet agent de contournement chez les deux patients car nous n'avons pas suffisamment d'informations, en particulier sur les dates de début de traitement, les posologies et les fréquences d'administration et les éventuels changements, et surtout, la fréquence et la gravité des épisodes d'hémorragie. Néanmoins, nous savons que les titres des inhibiteurs ont considérablement décru. Ceci est très utile en pratique. En effet, dans le cas où de tels patients, suite à l'apparition de saignements, se présentent à une structure de santé ne disposant pas de Novoseven, l'administration du facteur VIII peut parfaitement être envisagée, surtout si les titres des inhibiteurs continuent à décroître d'avantage. Cependant, ceci doit être réservé uniquement à cette situation, prise en charge d'un épisode hémorragique en l'absence de Novoseven, une fois l'urgence est levée, les patients doivent impérativement reprendre leur traitement prophylactique avec Novoseven car les titres des inhibiteurs pourraient augmenter rapidement, rendre le facteur VIII inefficace comme traitement prophylactique et exposer les patients à des risques hémorragiques majeurs.

Conclusion

Et

Recommandations

Conclusion et recommandations

Notre mémoire, bien que modeste, nous a permis de relever certaines anomalies dans la prise en charge de l'hémophile au CHU de Tizi Ouzou. Ces anomalies concernent à la fois les professionnels de santé, les patients et les parents.

A propos du suivi des patients, seuls les résultats des examens réalisés durant l'hospitalisation, en cas d'hémorragie, et les informations sur les traitements intensifs instaurés sont accessibles ; ces informations sont reportées sur le dossier médical.

Les traitements prophylactiques sont souvent administrés à domicile et les hémophiles disposent de cartes contenant très peu d'informations, par conséquent, les informations sur ces traitements prophylactiques, en particulier, les fréquences, les doses, les types de traitement et les éventuels changements, sont quasiment inexistantes.

Nous n'avons pas non plus trouvé d'informations concernant la recherche des anomalies articulaires chez les patients, ce genre de complications, pourtant considérablement décrit dans la littérature, semble être négligé.

Lors de l'entretien avec les patients inclus dans notre étude, nous avons constaté qu'ils sont très peu informés sur leur maladie, voire même inconscients des dangers potentiels. En effet, certains patients affirment ne pas recevoir le traitement prophylactique, pourtant préconisé par le médecin traitant, sous prétexte que l'éviction de tout traumatisme, le sport ou autre activité violente, est suffisante pour prévenir les saignements.

En vue d'améliorer la prise en charge des hémophiles, il est indispensable de mettre en place un registre régional afin d'identifier d'abord les patients atteints d'hémophilie dans la région concernée. La création d'un tel registre permettra de constituer une équipe de professionnels qui travaillera en concertation et conformément aux consensus et aux recommandations des sociétés savantes, notamment sur la recherche des inhibiteurs, l'évaluation de l'efficacité des traitements et la prévention des complications.

L'hémophilie est bien plus qu'un trouble hémorragique, elle a des répercussions sur tous les aspects de la vie du patient, médical, mais également d'ordre émotionnel et social. Il est essentiel de pouvoir compter sur une équipe soignante hautement qualifiée pouvant offrir des soins au patient et un soutien à sa famille.

Conclusion et recommandations

Autrefois, les médecins ne recommandaient aucune activité physique aux personnes atteintes d'hémophilie. Ceci est révolu. L'exercice, accompagné de bonnes mesures de sécurité, est une composante saine et vitale de la prise en charge de l'hémophilie. Il procure des bienfaits tant physiques, par l'amélioration de la force, de l'équilibre et de la coordination, que psychologiques, par une meilleure estime de soi.

La Fédération Mondiale de l'Hémophilie (FMH) a élaboré une liste des activités sportives les plus recommandées, ainsi qu'une liste de celles à éviter. Elle recommande de pratiquer notamment la marche, la natation, le tennis de table et la bicyclette. Par contre, elle considère certains sports comme les arts martiaux, le rugby et le football comme très dangereux, donc à proscrire.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Insight into form and function. Br J Haematol 2002.Saenko E, Ananyeva NM, Tuddenham EG, Kemball-Cook G. Factor VIII. Novel.
2. Thompson AR. Structure and function of the actor VIII gene and protein. Semin Thromb Hemost 2003.
3. Peake I. The molecular basis of haemophilia A. Haemophilia 1998.
4. Lillicrap D. The molecular basis of hemophilia B. Haemophilia 1998.
5. EMC ; Hémophilie : physiopathologie et bases moléculaires, 2008.
6. Khrenov AV, Ananyeva NM, Saenko EL. Role of the B domain in proteolytic inactivation of activated coagulation factor VIII by activated protein C and activated factor X. Blood Coagul Fibrinolysis 2006.
7. Butenas S, van't Veer C, Mann KG. "Normal" thrombin generation. Blood 1999.
8. Mann KG. Biochemistry and physiology of blood coagulation. Thromb Haemost 1999.
9. Cawthern KM, van't Veer C, Lock JB, DiLorenzo ME, Branda RF, Mann KG. Blood coagulation in hemophilia A and hemophilia C. Blood 1998.
10. Schved JF, Giansily-Blaizot M. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor: from fundamental to clinic. In: Pathophysiological, clinical and laboratory aspects of thromboembolic disease. Proceedings of the 8th Advanced Teaching Course of the European Thrombosis Research Organization (ETRO), 2001.
11. Ovanesov MV, Lopatina EG, Saenko EL, Ananyeva NM, Ul'yanova LI, Plyushch OP, et al. Effect of factor VIII on tissue factor-initiated spatial clot growth. Thromb Haemost 2003.
12. Sixma JJ, van den Berg A. The haemostatic plug in haemophilia A: a morphological study of haemostatic plug formation in bleeding time skin wounds of patients with severe haemophilia A. Br J Haematol 1984.
13. Monroe DM, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006.

Références bibliographiques

14. Hathcock JJ, Nemerson Y. Platelet deposition inhibits tissue factor activity: in vitro clot are impermeable to factor Xa. *Blood* 2004.
15. 2017 Elsevier Masson SAS.
16. White 2nd GC, Rosendaal F, Aledort LM, Lusher JM, Rothschild C, Ingerslev J. Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb Haemost* 2001.
17. Lillicrap D. A complex substitute : antibody therapy for hemophilia. *Nat Med* 2012.
18. Miller CH, Benson J, Ellingsen D, Driggers J, Payne A, Kelly FM, et al. F8 and F9 mutations in US haemophilia patients : correlation with history of inhibitor and race/ethnicity. *Haemophilia* 2012.
19. Chambost H, Suzan F. Epidémiologie des maladies hémorragiques : apport de la cohorte nationale. *Arch Pediatr* 2010.
20. WFH. World Federation of Hemophilia. Report on the annual global survey. 2015, 2016.
21. MSPRH : Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.
22. WFH world federation haemophilia.
23. AFH association française des hémophiles.
24. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia : diagnosis, treatments, and its complications. *Lancet* 2016.
25. Antonarakis SE, Rossiter JP, Young M, Horst J, de Moerloose P, Sommer SS, et al. Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A : results of an international consortium study. *Blood* 1995.
26. Keeling DM, Sukhu K, Kembell-Cook G, Waseem N, Bagnall R, Lloyd JV. Diagnostic importance of the two-stage factor VIII : C assay demonstrated by a case- of mild haemophilia associated with His 1954-Leu substitution in the factor VIII A3 domain. *Br J Haematol* 1999.

Références bibliographiques

27. Kembali-Cook G, Tuddenham EG, Wacey AI. The factor VIII structure and mutation resource site : HAMSTeRS version 4. *Nucleic Acids Res* 1998.
28. Funnell AP, Crossley M. Hemophilia B Leyden and once mysterious cis-regulatory mutations. *Trends Genet* 2014.
29. Docteur Gilles PERNOD – Décembre 2002 (Mise à jour Janvier 2005).
30. LEROY J.-POTRON G. – SAMAMA M. – GUILLIN M.C. – TOBELEM G. Hémostase et thrombose – 4^{ème} Ed. 1994.
31. JONESP. – L'hémophilie et la vie- 1992, Ed Frison Roche – Paris.
32. Jenny Goudemand: Professeur des Universités, praticien hospitalier Laboratoire d'hématologie, hôpital Claude-Huriez, centre hospitalier régional universitaire de Lille, place de Verdun, 59037 Lille cedex France.
33. Girodon E, Ghanem N, Goossens M Les bases moléculaires de l'hémophilie A : possibilités actuelles du diagnostic et du conseil génétique. *Hematologie* 1996.
34. Rodeck CH, Campbell S Sampling pure fetal blood by fetoscopy in second trimester of pregnancy. *Br Med J* 1978.
35. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitano A DDAVP, a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrand's disease. *Lancet* 1977.
36. Negrier C Le traitement de l'hémophilie : des dérivés du plasma à la thérapie génique. *Hematologie* 1996.
37. Peake J The role of gene therapy in haemophilia. *Haemophilia* 1995.
38. Hay, C.R., et al., Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. UK Haemophilia Centre Directors Organisation. *Thromb Haemost*, 1998.
39. Gilles JG, Arnaut J, Vermynen J, Saint-Remy JM. Anti-factor VIII antibodies of hemophiliac patients are frequently directed towards nonfunctional determinants and do not exhibit isotypic restriction. *Blood* 1993.

Références bibliographiques

40. Algiman M, Dietrich G, Nydegger UE, Boieldieu D, Sultan Y, Kazatchine MD. Natural antibodies to factor VIII (antihemophilic factor) in healthy individuals. Proc Natl Acad Sci USA 1992.
41. Shapiro SS. The immunologic character of acquired inhibitors of antihemophilic globulin (factor VIII) and the kinetics of their interaction with the factor VIII. J Clin Invest 1967.
42. Aalbers RC, van des Gaag R, van Leeuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies.I. Prolonged immunization results in an IgG4restricted response. J immunol 1983.
43. Gawryl MS, Hayer LW. Inactivation of factor VIII coagulant activity by two different types of human antibodies. Blood 1982.
44. Van Helcen PM, Van den Berg HM, GOUW SC, et al. IgG subclasses of anti-FVIII antibodies during immune tolerance induction in patients with hemophilia A. Br J Haematol 2008.
45. Scandella D, Mondorf W, Klinge J. the natural history of the immune response to exogenous factor VIII in severe haemophilia A. Haemophilia 1998.
46. Scandella D. human anti-factor VIII antibodies: epitope localization and inhibitory function. Vox Sang 1996.
47. Fay PJ, Koshibu K, Mastri M. The A1 and A2 subunits of factor VIIIa synergistically stimulate factor IXa catalytic activity. J Biol Chem 1999.
48. Scandella D. Epitope specificity and inactivation mechanisms of factor VIII inhibitor antibodies. Vox sang 1999.
49. Saenko EL, Shima M, Rajalakshmi KJ, Scandella D. A role for the C2 domain of factor VIII in binding to von Willebrand factor . J Biol Chem 1994.
50. Foster PA, Fulcher CA, Houghten RA, Zimmerman TS. Synthetic factor VIII peptides with amino acid sequences contained within the C2 domain of factor VIII inhibit factor VIII binding to phosphatidylserine. Blood 2004.
51. Hay CRM, Ludlam CA, Calvin BT, et al. On behalf of of the UK Haemophilia Centre Directors Organisation and Berntrop E, Mauser-Bunschoten EP, Fijnvandraat K, Kasper CK,

Références bibliographiques

- White G, Santagostino E. Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. *Thromb Haemost.*
52. Gilles JG, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. Factor VIII inhibitors. *Thromb Haemost.*
53. Lavigne-Lissalde G, Lacroix-Desmazes S, Wootla B, et al. Molecular characterization of human B domain-specific anti-factor VIII monoclonal antibodies generated in transgenic mice. *Thromb Haemost* 2007.
54. Gilles JG, Lavendhomme R, Peerlinck K, et al. Some factor VIII (FVIII) inhibitors recognise a FVIII epitope(s) that is present only on FVIII-vWF complexes. *Thromb Haemost.*
55. Kazatchkine MD, Sultan Y, Burton-Kee EJ, Mowbray JF. Circulating immune complexes containing anti-VIII antibodies in multi-transfused patients with haemophilia A. *C.*
56. DiMichele, D. Inhibitor development in haemophilia b : an orphan disease in need of attention. *British journal of haematology* 2007.
57. Hématologie hémophile : pathologie et base moléculaire j.f.schved 12.
58. Hay, C.R., et al., Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. UK Haemophilia Centre Directors Organisation. *Thromb Haemost*, 1998.
59. Hay, C.R., The epidemiology of factor VIII inhibitors. *Haemophilia*, 2006.
60. Pavlova, A., et al, Impact of polymorphisms of the major histocompatibility complex class II, interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha and cytotoxic Tlymphocyte antigen-4 genes on inhibitor development in severe hemophilia A. *J Thromb Haemost*, 2009. 2006-2015.
61. Kreuz, W., Gill, J. C., Rothschild, C., Manco-Johnson, M. J., Lusher, J. M., Kellermann, E., Gorina, E., et al. Full-length sucrose-formulated recombinant factor viii for treatment of previously untreated or minimally treated young children with severe haemophilia a results of an international clinical investigation. *Thrombosis and haemostasis* (2005)
62. Carcao, M., Re, W., and Ewenstein, B. The role of previously untreated patient studies in understanding the development of fviii inhibitors. *Haemophilia* 2016.
63. Bray, G., Gomperts, E., Courter, S., Gruppo, R., Gordon, E., Manco-Johnson, M., Shapiro, A., Scheibel, E., Lee, M., et al. A multicenter study of recombinant factor viii (recombinate) :

Références bibliographiques

safety, efficacy, and inhibitor risk in previously untreated patients with hemophiliaa .there combinate study group. Blood.

64. Assani, K., Karboubi, L., and Dakhama, B. S. B. Afibrinogénémie congénitale : à propos d'une observation. The Pan African Medical Journal 25 (2016).

65. Kher, A., Gouin, I., and Samama, M.-M. Surveillance du traitement par les inhibiteurs directs de la thrombine : Temps de céphaline avec activateur ou temps d'écarine. In Annales de biologie clinique (2000), vol. 58, John Libbey Eurotext.

66. Revue francophone des laboratoires juin 2012 N 443.

67. HAS - Direction de l'Evaluation Médicale, Economique et de Santé Publique 3/8RTU – 2017.

68. Srin Kaveri et Sébastien Iacox-Desmazes. Les inhibiteurs : état des lieux et perspectives Juin 2004.

69. Witmer C, Young G. Factor VIII inhibitors in hemophilia A: rationale and latest evidence. Therapeutic Advances in Hematology. 2013; 4(1):59-72.

70. Salhi C. Epidémiologie et génétique des hémophilies dans la région de Constantine: Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en génétique moléculaire. CHU de Constantine. 2016.

71. Centers for Disease Control and Prevention. 2014 Community Counts Registry Report. Published August 2018.

72. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. Haemophilia. 2003; 9(4):418-435.

73. Puetz J, Soucie JM, Kempton CL, Monahan PE, and Hemophilia Treatment Center Network Investigators. Prevalent inhibitors in hemophilia B subjects enrolled in the Universal Data Collection database. Haemophilia. 2015; 20(1):25-31.

Références bibliographiques

74. Lorenzo JL, Lopez A., Altisent C., Aznar JA. Incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia: the importance of patient age, *Br J Haematol.* 113 (2001), 600-603.
75. Van der Bom JG., Mauser-Bunschoten EP., Fischer K., van den Berg HM. Age at first treatment and immune tolerance to factor VIII in severe hemophilia, *Thromb Haemost.* 89 (2003).
76. Troisi CL, Hollinger BF, Hoots WK, Contant C, Gill J, Ragni M, et al. A multicenter study of viral hepatitis in a United States hemophilic population. *Blood* 1993 },81:412-8.
77. Mauser-Bunschoten EP, Bresters D, Van Drimmelen AA, Roosendaal G, Cuypers HT, Reesink HW, et al. Hepatitis C infection and viremia in Dutch hemophilia patients. *J Med Virol* 1995 },45:241-6.
78. Brackmann HH., Gormsen J. Massive factor-VIII infusion in haemophiliac with factor-VIII inhibitor, high responder, *Lancet.* 2 (1977), 933.
79. Kreuz W., Ehrenforth S., Funk M., Auerswald G., Mentzer D., Joseph-Steiner J., Beeg T., Klarmann D., Scharrer I., Kornhuber B. Immune tolerance therapy in paediatric haemophiliacs with factor VIII inhibitors: 14 years follow-up, *Haemophilia.* 1 (1995), 24-32.
80. Mauser-Bunschoten EP., Nieuwenhuis HK., Roosendaal G., van den Berg HM. Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors, *Blood.* 86 (1995), 983-988.
81. Brackmann HH., Oldenburg J., Schwaab R. Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors--twenty years' 'bonn protocol', *Vox Sang.* 70 Suppl 1 (1996), 30-35.
82. DiMichele DM., Kroner BL. Analysis of the North American Immune Tolerance Registry (NAITR) 1993-1997: current practice implications. ISTH Factor VIII/IX Subcommittee Members, *Vox Sang.* 77 Suppl 1 (1999), 31-32.

Annexes

Annexe I

FICHE DE RENSEIGNEMENTS : RECHERCHE DES INHIBITEURS CHEZ LES HEMOPHILES

1. Identité :

Nom :

Prénom :

Age :

Date de naissance :

Région :

Numéro de téléphone :

2. Type de diathèse :

Hémophilie :

A

B

Degré :

modérée

sévère

3. Age de découverte :

4. Circonstances de découverte :

a. Hémorragie : Oui

Non

Si oui, Site :

Caractère : Spontané

Provoqué

b. Bilan biologique :

Préopératoire : Oui

Non

Fortuitement : Oui

Non

c. Enquête familiale : Oui

Non

5. Antécédents :

-cas d'hémophilie dans la famille : Oui

Non

Si c'est oui Qui ?

-antécédents transfusionnels : Oui

Non

6. Traitement suivi par l'hémophile :

Recombinant

Plasmatique

Autre

7. Type de traitement :

Curatif

Prophylactique

8. Date de la dernière injection et la dose reçue :

9. Recherche d'inhibiteurs : Oui

Non

Si oui, Titrage Oui

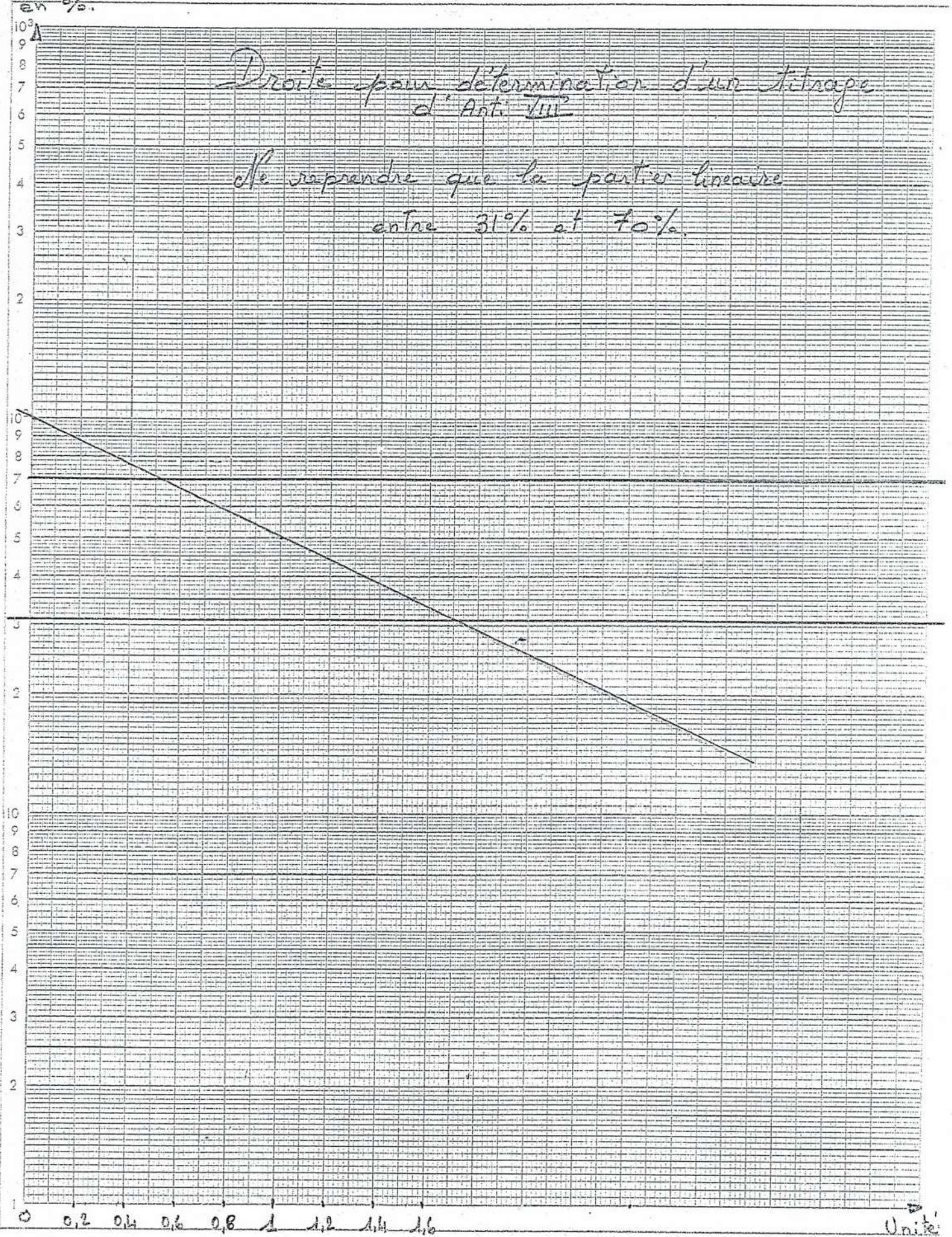
Non

Annexe III

Niveau résiduel de F VIII
en %.

Droite pour détermination d'un titrage
d'Anti VIII

elle reprendre que la partie linéaire
entre 31% et 70%.



Unité
Bethesda

Annexe IV

Gestes et traitements contre-indiqués

- Injection intramusculaire.
- Traitement par l'acide acétylsalicylique et dérivés ou par les anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- Prise de la température rectale.
- Eviter les voies d'abord veineuses centrales, sous clavières ou fémorales, la voie veineuse périphérique doit être privilégiée.
- Gestes invasifs sans couverture substitutive et sans compression locale.
- Plâtres circulaires.
- Anesthésie tronculaire en chirurgie dentaire.
- Immobilisation prolongée (> = 3 jours) en cas de traumatisme sans lésions osseuses.

Gestes à faire ou autorisés

- Vaccination en sous cutanée stricte avec compression pendant au moins 10 minutes.
- Ponction veineuse, injection en sous cutanée suivies de compression manuelle.
- Paracétamol en cas de fièvre.

وزارة الصحة، السكان وإصلاح المستشفيات
 MINISTRE DE LA SANTE, DE LA POPULATION
 ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

Carte pour hémophiles et autres troubles héréditaires de l'hémostase

STRUCTURE DE SUIVI

Adresse :

.....

N° de téléphone :

N° de fax :



Association Algérienne
 des Hémophiles

Nom :

Prénom :

Date de naissance : □ □ □ □ □ □ □ □

Adresse :

.....

Tél. :

Trouble de l'hémostase

Hémophilie : A B Taux de facteur

Autre déficit : Taux de facteur

Photo

Anticoagulants circulants :

Première recherche :

Positive titre :

Négative

Recherches ultérieures :

.....

Traitement substitutif à administrer en urgence,
 plusieurs doses peuvent être nécessaires :

.....

.....

.....

Résumé

L'apparition d'inhibiteurs anti-facteur VIII et anti-facteur IX au cours de l'hémophilie A ou B est une complication très grave mettant en jeu la vie des patients hémophiles. En effet, ces inhibiteurs anti facteurs VIII et IX représentent aujourd'hui la complication la plus redoutable du traitement de l'hémophilie, puisque l'apparition de ces anticorps va modifier profondément le régime thérapeutique du patient, diminuer sa qualité de vie et augmenter le risque de séquelles graves à court, moyen et long terme. Sur un échantillon de 24 hémophiles, 20 patients présentaient une hémophilie A. L'âge moyen des patients était de 13.28 ans ; la forme sévère présentait 70.8%, la forme modérée 25% et mineure 4.2 %. L'hémophilie est découverte durant la première année de vie chez la moitié (50%) des patients de l'étude. La principale circonstance de découverte de l'hémophilie est la survenue d'une hémorragie, cette notion est évoquée par 19 patients (79.2%) : la gingivorragie 47.7%, un traumatisme y compris la vaccination 84.2 %. Chez 62.5% des patients il existe un ou plusieurs cas d'hémophilie dans leurs familles ; 62.5% des patients affirment qu'ils n'ont jamais été transfusés. Les fréquences de développement des inhibiteurs des facteurs anti-hémophiliques sont respectivement de 35% et 00% pour l'hémophilie A et l'hémophilie B. La fréquence de développement des inhibiteurs en fonction de la sévérité de l'hémophilie, est de 14.28% pour l'hémophilie mineure et modérée et de 35.29% pour l'hémophilie sévère ; cette fréquence de développement est de 33.33% pour les patients ayant des hémophiles dans leurs familles, et 22.22% pour les patients sans antécédents familiaux d'hémophilie. Les patients hémophiles avec inhibiteurs posent des difficultés thérapeutiques, mettant ainsi, en péril l'efficacité des traitements substitutifs.

Abstract

The appearance of inhibitors anti-factor VIII and anti-factor IX during haemophilia A or B is a very serious complication which puts in danger life of patients with haemophilia. In fact, these anti-factor VIII and IX today represent the most formidable complication of the treatment of haemophilia, the appearance of these antibodies will profoundly modify the patient's therapeutic regimen and increase the quality of life. Risk of serious sequelae in the short, medium and long term. Among 24 haemophiliacs, 20 patients had haemophilia A. The mean age of the patients was 13.28 years, the severe form had 70.8%, the moderate form 25% and the minor 4.2%. Haemophilia is uncovered during the first year of life in half (50 %) of the patients in the study. The main circumstance of discovery of haemophilia is the occurrence of haemorrhage, this notion is evoked by 19 patients (79.2%): gingivorragie 47.7%, trauma including vaccination 84.2 %. In 62.5% of patients there are one or more cases of haemophilia in their families; 62.5% patients claim that they have never been transfused. Frequencies of development of inhibitors of the antihemophilic factors are respectively 35% and 00% for haemophilia A and haemophilia B. The frequency of development of the inhibitors according to the severity of the haemophilia is of 14.28 % for minor and moderate haemophilia and of 35.29 % for severe haemophilia; this frequency of development is 33.33% for patients with haemophilia in their families, and 22.22% for patients with no family history of haemophilia. Patients with haemophilia with positive inhibitors pose therapeutic difficulties, thus perished the efficacy of replacement therapy.