



ROYAUME DU MAROC  
*Université Mohammed V - Rabat*  
*Faculté de Médecine et de Pharmacie*  
RABAT



Année : 2022

MSN°158/22

*Mémoire de fin d'études*  
*Pour L'obtention du Diplôme National de Spécialité*  
*en* **ANALYSES BIOLOGIQUES**  
**MEDICALES**  
**MONITORING DES HEMOPHILES SOUS**  
**EMICIZUMAB**

Réalisé par :

**Dr M'HAMDI ALAQUI Aziza**

Encadré par

**Professeur MASSARAR Azlarab**

Année : 2022

# *Remerciements*

**Notre Maitre et Encadrant Monsieur le Professeur**  
**Azlarab MASSRAR**  
**Professeur D'hématologie Biologique**

*Nous vous remercions de ce travail riche d'intérêt que vous nous aviez confié et nous remercions d'avoir veillé à chaque étape de sa réalisation avec beaucoup de patience et tout autant de rigueur.*

*Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles.*

*Votre bienveillance, votre sens de l'écoute et votre confiance nous ont profondément marqués.*

*Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

## **ABREVIATIONS**

**TCA** : Temps de Céphaline avec Activateur

**CHIS** : Centre Hospitalier Ibn Sina

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**FVIII** : Facteur VIII

**FAH** : Facteur anti hémophilique A

**FVIII a** : Facteur VIII activé

**FIX** : Facteur IX

**TP** : Taux de prothrombine

**M** : Molaire

**V et vol** : Volume

**TQ** : Temps de Quick

**PFA** : Platelet Function Analyzer

**IR** : Indice de Rosner

**UB** : Unité Bethésda

**VWF** : Facteur Willebrand

**rFVIIa** : facteur VII activé recombinant

**TS** : Temps de saignement

**ADP** : adénosine diphosphate

**FIIa** : Facteur II activé ou la thrombine activé

**FT** : Facteur Tissulaire

**FVIIa** : Facteur VII activé

**FXa** : Facteur X activé

**FVa** : Facteur V activé

**FXIa** : Facteur XI activé

**FXIIIa** : Facteur XIII activé

**ATIII** : Antithrombine

**t-PA** : L'activateur tissulaire du plasminogène

**PDF** : Produits de Dégradation de la Fibrine

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ARNm** : Acide Ribonucléique messenger

**kDa** : kilo Dalton

## **LISTE DES FIGURES TABLEAUX ET GRAPHES**

Figure 1 : schéma de la coagulation

Figure 2 : mode d'action de l'Emicizumab

Tableau 1 : comparaison des propriétés de l'emicizumab et du facteur VIII

Figure 3 : Droite théorique de l'unité Bethesda.

Tableau 2 : Résultats d'hémostase chez le patient WN traité par Emicizumab et rFVIII

Graphe 1 : Evolution du taux des inhibiteurs chez le patient N.W par méthode chronométrique

Tableau 3 : interférences de l'emicizumab avec les techniques de dosages

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>10</b>
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :</b> .....	<b>13</b>
<b>I. PHYSIOLOGIE DE LA COAGULATION</b> .....	<b>14</b>
1. Facteurs impliqués : .....	14
1.1. Eléments cellulaires : .....	14
1.2. Eléments non cellulaires.....	14
1.2.1. Facteurs de coagulation .....	14
1.2.2. Calcium : .....	15
1.2.3. Les inhibiteurs des facteurs de coagulation.....	15
2. Mécanisme .....	15
2.1 Initiation de la coagulation .....	15
2.2. Amplification de la coagulation .....	16
2.3. Propagation de la coagulation .....	16
<b>II. L'HEMOPHILIE :</b> .....	<b>16</b>
A.DEFINITION .....	16
B.ÉPIDEMIOLOGIE .....	16
C.DIAGNOSTIC CLINIQUE.....	17
D.DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE ET GENETIQUE .....	17
E. COMPLICATIONS .....	18
F.PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE .....	19
1.Objectifs .....	19
2.Outils thérapeutiques :.....	19
2.1 - Facteurs anti-hémophiliques (FAH) .....	19
2.2. Produits non spécifiques.....	21
2.2.1 Desmopressine .....	21
2.2.2.Acide tranexamique.....	21
2.3.Agents by-passant .....	21
2.4 Nouvelles approches thérapeutiques .....	22
<b>III. EMICIZUMAB</b> .....	<b>23</b>

A.DEVELEOPPEMENT DE L'EMICIZUMAB .....	23
1 - Substance active Emicizumab.....	24
2 – Mécanisme d'action : .....	25
3 - Indications thérapeutiques .....	26
4 - Présentation du produit .....	26
5 - Posologie et mode d'administration.....	27
6 - Durée du traitement : .....	28
7 - Ajustement des doses:.....	28
8 - Contre-indications.....	28
B.FVIII ET EMICIZUMAB : SIMILITUDES ET DIFFÉRENCES.....	28
1 - Interactions enzyme substrat.....	29
C.EFFETS SECONDAIRES LIÉS AU TRAITEMENT PAR EMICIZUMAB .....	32
D.RECOMMANDATIONS RELATIVES À D'UTILISATION DES AGENTS BY-PASSANTS CHEZ LES PATIENTS RECEVANT UNE PROPHYLAXIE PAR HEMLIBRA .....	33
E.APPLICATIONS POTENTIELLES DE L'EMICIZUMAB AU DELA DE L'HEMOPHILIE A SEVERE.....	35
On a suivi le protocole de dépistage et de titrage des anti-FVIII tel pratiqué au laboratoire : .....	37
<b><i>DISCUSSION</i></b> .....	<b>41</b>
<b><i>CONCLUSION</i></b> .....	<b>47</b>
<b><i>CONCLUSION</i></b> .....	<b>49</b>
<b><i>REFERENCES</i></b> .....	<b>53</b>

# INTRODUCTION

L'hémophilie A (HA) est une maladie hémorragique héréditaire liée à l'X causée par un déficit de l'activité du facteur de coagulation (F VIII). Dans des conditions physiologiques, le FVIII est activé par la thrombine et agit ensuite comme cofacteur du FIX activé (FIXa) pour faciliter l'activation du FX. Par conséquent, une activité réduite du FVIII entraîne une diminution de la génération de FXa, entraînant un potentiel de coagulation insuffisant et des complications hémorragiques. On classe l'HA selon les niveaux d'activité du FVIII :

- ✓ HA légère (5 à < 40 % d'activité du FVIII);
- ✓ HA modérée (1 à < 5 %) ;
- ✓ HA sévère (< 1 %).

Le traitement de l'hémophilie A diffère selon la sévérité clinique mais, depuis environ trois décennies, il repose essentiellement sur une thérapie de substitution avec l'utilisation de concentrés de FVIII dérivés du plasma ou recombinants. L'administration de facteur recombinant est nécessaire tous les 2 à 3 jours en raison de la demi-vie d'environ 12 heures du FVIII [1].

Cette approche a largement démontré son efficacité dans la prise en charge de la maladie et, si elle est administrée de manière prophylactique, elle réduit significativement la survenue d'épisodes hémorragiques. Malheureusement, la thérapie de substitution est également associée à un certain nombre d'inconvénients qui limitent sa généralisation. En premier lieu, elle requiert des injections intraveineuses répétées, ce qui peut s'avérer compliqué chez les patients avec un accès veineux difficile, en particulier chez les plus jeunes ou au contraire les plus anciens. Le coût des traitements prophylactiques est très élevé, ce qui entraîne un défaut de prise en charge dans une majorité de pays. L'importance de ces coûts est partiellement déterminée par la demi-vie relativement courte du FVIII injecté (12 h en moyenne, ce qui impose de multiplier les injections de FVIII pour maintenir un taux stable et efficace de protéine circulante (2-3 infusions/semaine) [1,2].

### **Énoncé du problème**

Le développement d'inhibiteurs est la complication la plus grave liée au traitement de l'hémophilie A. l'apparition d'anticorps neutralisants survient chez 25-30 % des patients

hémophiles A sévères, lesquels rendent souvent le traitement totalement inefficace. Chez les patients hémophiles modérés, de tels inhibiteurs apparaissent chez 5-13 % des patients, et leur présence est associée à une morbidité augmentée. L'option thérapeutique actuelle pour les patients atteints d'hémophilie A qui ont développé des inhibiteurs est l'induction de tolérance immunitaire (ITI). Cependant, l'ITI ne parvient pas à éradiquer les inhibiteurs chez environ 20 à 40 % des patients traités. Il est également long et fastidieux, en particulier pour les enfants, qui nécessitent fréquemment l'implantation chirurgicale de cathéters veineux centraux [2,3,4].

Jusqu'à très récemment, les saignements des patients avec inhibiteurs étaient gérés par l'utilisation d'agents dits de contournement, qui fonctionnent indépendamment du FVIII, tels que le facteur VII activé recombinant (rFVIIa) ou un concentré de complexe prothrombinique activé (aPCC). Toutefois, ces molécules actives sont caractérisées par une demi-vie (2-4 h) encore plus courte que celle du FVIII, rendant le traitement prophylactique extrêmement compliqué [4,5].

Mais ces produits ne sont pas aussi efficaces que le FVIII, les patients souffrant de saignements fréquents, principalement dans les articulations cibles, qui sont difficiles à contrôler même avec de gros doses d'agents de contournement. L'augmentation des saignements résultant d'une prise en charge sous-optimale de la maladie entraîne douleur et invalidité par la progression de la maladie articulaire, malgré l'impact sur la qualité de vie

Une autre approche a été développée, qui fera l'objet de ce travail : un anticorps bispécifique, appelé emicizumab – aussi connu sous le nom d'ACE910, commercialisé sous le nom Hemlibra par Chugai Pharmaceutical Co./F. Hoffmann-La Roche [6].

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :

## **I. PHYSIOLOGIE DE LA COAGULATION**

La coagulation est un processus physiologique qui permet la consolidation du thrombus blanc formé fragile lors de l'hémostase primaire. Elle se déroule sous forme d'une cascade de réactions enzymatiques à la surface des plaquettes activées et aboutissant à la transformation par la thrombine, du fibrinogène soluble en fibrine insoluble, véritable armature du caillot [6,7].

### **1. Facteurs impliqués :**

#### *1.1. Eléments cellulaires :*

- Cellules endothéliales et monocytes qui une fois activés expriment à leur surface le facteur tissulaire (FT) (l'élément déclenchant majeur de la coagulation).
- Plaquettes
- Fibroblastes

#### *1.2. Eléments non cellulaires*

##### **1.2.1. Facteurs de coagulation**

Il s'agit de glycoprotéines dont la synthèse se fait essentiellement au niveau hépatique sous forme de pro enzymes avec nécessité ou non de l'intervention de la vitamine K. Ils sont indiqués en chiffres romains, accompagnés d'un "a" lorsqu'ils sont activés.

Les facteurs II, VII, IX et X possèdent des domaines Gla riches en résidus gamma-carboxylés, ces résidus sont indispensables à la fixation de ces facteurs à la surface des plaquettes activées. En effet, la carboxylation des acides glutamiques en acides gamma-carboxyglutamiques permet à ces résidus de se lier aux phosphatidylsérines des membranes plaquettaires. Les deux molécules étant chargées négativement, la liaison est possible par la capture d'ion  $Ca^{2+}$ . Le cofacteur de la gammacarboxylase est la vitamine K réduite  $KH_2$ . La synthèse des facteurs II, VII, IX et X est ainsi vitamine K-dépendante. Cette maturation des protéines a lieu dans le réticulum endoplasmique des hépatocytes [5,6,7].

### 1.2.2. Calcium :

- le calcium est un électrolyte indispensable à l'activation des cascades de la coagulation en dehors du système contact qui peut être activé en son absence[1,4].

### 1.2.3. Les inhibiteurs des facteurs de coagulation

- Il s'agit de l'antithrombine, du système protéine C-protéine S, du TFPI(tissue factor pathway inhibitor) ainsi que ZPI [5,6]

## 2. Mécanisme

### 2.1 Initiation de la coagulation

Le facteur tissulaire FT est une glycoprotéine transmembranaire exprimée à la surface des cellules musculaires lisses et des fibroblastes présents dans le sous-endothélium. C'est l'élément déclenchant de la coagulation lorsqu'il entre en contact avec le plasma suite à une lésion vasculaire, en formant un complexe avec le facteur VII activé plasmatique (FVIIa) pour lequel il a une très forte affinité. Cela a pour conséquence de libérer le site actif du FVIIa. De faibles taux de FVIIa plasmatique existent naturellement dans la circulation mais la protéine, en absence de FT, présente une très faible activité enzymatique. Le complexe FVIIa-FT exerce préférentiellement son activité sur le FX, il porte donc le nom de complexe tenase « extrinsèque ». Cependant, il peut rapidement être régulé par l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor) ou l'antithrombine (AT). Dans ce cas, ou en présence de faibles quantités de FT, le complexe FVIIa-FT exerce alors son action, néanmoins plus lente, sur le facteur IX. Contrairement au FIXa qui, une fois activé, a la capacité de migrer sur une plaquette, le FXa libre est inhibé par le TFPI ou l'AT ce qui crée une limitation spatiale du phénomène. Le FXa persiste donc à la surface des cellules exprimant le FT et va alors former les premiers complexes prothrombinases avec le facteur Va (FVa) en présence de calcium. Lors de cette phase d'initiation, le FVa provient alors soit de l'activation du FV circulant par le FXa, soit il est libéré des granules de plaquettes activées. La formation du complexe prothrombinase initial va permettre d'activer la prothrombine et de générer les premières traces de thrombine (de l'ordre du picomolaire) [3,5,6,7] .

### *2.2. Amplification de la coagulation*

La thrombine générée en surface des cellules exprimant le FT a de multiples fonctions. Elle permet l'activation des plaquettes, l'activation du FV, du facteur VIII et du facteur XI à la surface des plaquettes. L'activation de ces facteurs permet la formation des complexes qui interviennent lors de la phase de propagation [4,7].

### *2.3. Propagation de la coagulation*

Elle a lieu à la surface des plaquettes activées. Le FIXa formé lors de la phase d'initiation lie son cofacteur : le FVIIIa généré pendant la phase d'amplification. Des molécules de FIXa supplémentaires sont alors fournies par l'activation de FXI à la surface des plaquettes. Le complexe tenase « intrinsèque » constitué du FIXa, du FVIIIa, du FX, de phospholipides anioniques et de calcium va alors générer du FXa directement à la surface des plaquettes. Le complexe tenase intrinsèque permet d'activer le FX cinquante fois plus efficacement que le complexe tenase extrinsèque [24]. Le FXa s'associe ensuite rapidement avec le FVa à la surface des plaquettes formant le complexe prothrombinase qui produit de grandes quantités de thrombine nécessaires à la génération de fibrine. La formation de thrombine à ce stade est jusqu'à un million de fois plus élevée que lors de la phase d'initiation [5,6].

## **II. L'HEMOPHILIE :**

### **A.DEFINITION**

L'hémophilie est une maladie hémorragique le plus souvent héréditaire de transmission récessive liée au chromosome X causée par un déficit en facteur de la coagulation, un déficit en FVIII définit l'hémophilie A alors qu'un déficit en FIX définit l'hémophilie B[8,9].

### **B.ÉPIDEMIOLOGIE**

L'hémophilie A est plus fréquente que l'hémophilie B avec une prévalence mondiale estimée à 24,6 pour 100 000 naissances masculines pour toute forme d'hémophilie A et 5 pour 100 000 naissances masculines pour toute forme d'hémophilie B. Ainsi, l'hémophilie affecterait environ 1 125 000 d'hommes dans le monde.

La prévalence de l'hémophilie sévère est plus importante en cas d'hémophilie A (50%) que d'hémophilie B (30%)[8,9,10].

### **C.DIAGNOSTIC CLINIQUE**

Les saignements profonds constituent les principaux signes d'appel rencontrés dans l'hémophilie. Il s'agit surtout d'hémarthroses ou d'hématomes. Les hémarthroses représentent 80% de l'ensemble des saignements et touchent plus particulièrement les articulations porteuses comme les genoux et les chevilles. Le phénotype hémorragique de chaque patient est le plus souvent bien corrélé avec la sévérité de la maladie. Ainsi les hémophiles sévères auront tendance à faire des saignements spontanés alors que les hémophiles modérés et mineurs auront le plus souvent des saignements provoqués par un traumatisme plus ou moins important. Il existe néanmoins, pour la même sévérité de la maladie, une variabilité inter-individuelle parfois importante en terme de phénotype hémorragique [11,12].

### **D.DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE ET GENETIQUE**

Le diagnostic de l'hémophilie est suspecté devant un allongement isolé du TCA avec un rapport malade/témoin supérieur à 1,2. Par ailleurs, la sensibilité du TCA au dépistage de l'hémophilie est très variable selon la méthode et les réactifs utilisés, ainsi un résultat de TCA normal n'exclut pas le diagnostic.

Le dosage spécifique de l'activité fonctionnelle du FVIII ou du FIX permettra de confirmer le diagnostic d'hémophilie si le taux de FVIII ou de FIX est inférieur à 40% (soit 0,4 UI/mL).

La sévérité de l'hémophilie sera définie en fonction du taux de FVIII ou de FIX comme mentionné précédemment[12,13]

Il est recommandé de compléter le diagnostic phénotypique par une analyse génétique moléculaire à la recherche des mutations du gène du FVIII (F8) ou du FIX (F9) situés sur le bras long du chromosome X ; afin d'optimiser la prise en charge à long terme (conseil génétique, diagnostic des femmes conductrices, évaluation du risque de développement d'un inhibiteur).

L'anomalie génétique responsable de l'hémophilie A sévère retrouvée dans plus de 50% des cas est une inversion de l'intron [7,10].

## **E. COMPLICATIONS**

Les complications à long terme de l'hémophilie comprennent des complications en lien avec la maladie elle-même ou des complications en lien avec le traitement.

### **i. Arthropathie hémophilique**

Malgré l'accès aux traitements par concentrés de FVIII, les hémarthroses répétées au sein de la même articulation peuvent conduire au développement d'une arthropathie hémophilique. En effet l'accumulation de fer dans l'articulation va être toxique et entraîner des dommages du cartilage, de l'os sous-chondral et la membrane synoviale.<sup>16</sup> Il s'agit de l'une des complications les plus handicapantes de l'hémophilie où la destruction du cartilage et les atteintes osseuses associées entraînent des douleurs invalidantes et des limitations significatives des amplitudes articulaires [4,13].

### **ii. Infectieuses**

Aujourd'hui, selon de nombreuses études, le risque de transmission du VIH, du VHB et du VHC par des concentrés de facteurs est presque complètement éliminé [14].

### **iii. Développement des Inhibiteurs**

On dit par « inhibiteurs » les anticorps IgG neutralisant les facteurs de coagulation dans le cadre de l'hémophilie. L'apparition d'un allo-anticorps anti-FVIII ou anti-FIX est une complication majeure et sévère du traitement par concentrés de FVIII ou FIX car elle rend l'administration de ces traitements inefficace avec un risque hémorragique accru.

L'inhibiteur peut être transitoire ou permanent, causant d'importants problèmes de prise en charge avec un taux important de morbi-mortalité et une altération de la qualité de vie du patient.

L'incidence cumulative de formation d'un inhibiteur dans le cas de l'hémophilie A sévère est de 20 à 30%, 5 à 10% dans le cas de l'hémophilie A modérée ou mineure et moins de 5% dans le cas d'une hémophilie B toute sévérité confondue[13,14].

## **F. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE**

L'amélioration du traitement et de la prise en charge des patients hémophiles s'est traduite par une augmentation de l'espérance de vie, se rapprochant de celle des individus non hémophiles.

### *1. Objectifs*

La prise en charge des patients hémophiles est fondée sur une amélioration constante de la qualité de vie de la personne. Elle comprend:

- L'identification des situations à risque hémorragique et le traitement précoce des saignements,
  - La discussion des modalités thérapeutiques adaptées au type et à la sévérité de l'hémophilie
  - La prévention, le dépistage et le traitement précoce de l'arthropathie hémophilique et des douleurs
  - La prévention, le dépistage et le traitement des complications liées au traitement
  - L'organisation de la prise en charge des gestes invasifs
  - L'accompagnement éducatif et psychologique au patient et/ou parents
- La réalisation de l'ensemble de ces objectifs nécessite une prise en charge multidisciplinaire [9,10,12].

### *2. Outils thérapeutiques :*

#### *2.1 - Facteurs anti-hémophiliques (FAH)*

##### **a) Produits plasmatiques:**

Les produits dérivés du plasma, qui sont de très haute pureté depuis la fin des années 1980, subissent au cours de leur processus de leur fabrication deux étapes de réduction virale afin de limiter au maximum les risques de transmission d'agents infectieux dérivés du sang humain. Cette sécurisation des produits, associée à une meilleure maîtrise des dons, a augmenté de façon considérable la sécurité à l'égard des virus et à titre d'exemple aucune transmission de virus enveloppé potentiellement dangereux (VIH, hépatites B et C) n'a été relevée depuis que ces critères réglementaires de fabrication ont été mis en œuvre [15,16].

##### **b) Produits recombinés:**

Les produits recombinés sont apparus vers la fin des années 1980. Ces Produits sont fabriqués sur cellules de mammifères (lignées CHO ou BHK). L'utilisation de cellules de

mammifères est essentielle pour assurer les modifications post-traductionnelles nécessaires à l'activité coagulante de la molécule. A l'heure actuelle, des produits recombinants de deuxième et de troisième génération existent. Ces générations successives s'accompagnent d'une élimination progressive des différents composants humains ou animaux du processus de fabrication industrielle [15,16,17].

**c) Produits à demi-vie prolongée:**

Plusieurs techniques ont été innovées afin de prolonger l'effet des perfusions de facteur de remplacement en augmentant la demi-vie de ce dernier, ce qui réduirait la fréquence des perfusions pour les personnes hémophiles. On distingue:

➤ **Fusion Fc**

La technique de Fusion a déjà été utilisée dans d'autres domaines, maintenant utilisée dans la mise au point de perfusions de facteur de remplacement à durée d'action prolongée. Certaines protéines plasmatiques ont une très longue demi-vie. De ce fait, les scientifiques ont élaboré une procédure consistant à fixer le facteur VIII ou IX à l'une de ces molécules. La molécule IgG, a été utilisée pour prolonger la demi-vie des facteurs VIII et facteur IX dans le sang. Cette procédure est appelée Fusion Fc parce que le facteur est fusionné avec la fraction Fc de la molécule d'IgG [15,16,17].

Dans cette méthode, un « nuage » protecteur est créé autour du médicament (ou dans le cas du traitement de l'hémophilie, du facteur VIII ou IX) pour empêcher l'organisme de le décomposer. Ce nuage protecteur est composé d'une substance appelée polyéthylène glycol, ou PEG. Le PEG prolonge donc la durée de prévention des saignements [14,15].

➤ **Fusion avec l'albumine**

De façon similaire à la fusion Fc, le facteur VIII ou IX est ici fixé, ou fusionné avec l'albumine. L'albumine est une protéine toujours présente dans le sang, et l'une de ses fonctions est le transport : elle transporte des hormones et d'autres substances dans l'organisme. Dans cette méthode, une molécule de facteur IX est attachée (fusionnée) à une molécule d'albumine créée en laboratoire (albumine recombinante) de sorte que, une fois injectée dans une veine, l'albumine et le facteur IX restent tous deux dans le sang. Comme il est fixé à l'albumine qui a une longue durée de vie, le facteur IX reste longtemps dans l'organisme pour prévenir les saignements [15,16]

## *2.2. Produits non spécifiques*

### **2.2.1 Desmopressine**

La Desmopressine est un analogue synthétique de la vasopressine, hormone antidiurétique, utilisée dans le traitement de l'hémophilie A mineure et modérée ainsi que dans la maladie de Willebrand de type 1. Elle agit en augmentant les taux circulants de facteur VIII et de facteur Willebrand en mobilisant les stocks présents au niveau des cellules endothéliales. Des modifications structurales au niveau de la vasopressine ont permis d'augmenter sa durée d'action et de diminuer ses effets secondaires (vasoconstriction, hypertension artérielle...). Elle peut être administrée par voie intraveineuse, nasale ou sous-cutanée mais son utilisation requiert une restriction hydrique au vu de ses propriétés antidiurétiques et un suivi biologique strict du fait du phénomène de tachyphylaxie pouvant apparaître dès la première injection ou après quelques jours de traitement [16,17].

### **2.2.2. Acide tranexamique**

C'est un antifibrinolytique de synthèse, analogue de la lysine, qui bloque les récepteurs à la lysine du plasminogène, de la plasmine et de l'activateur tissulaire du plasminogène. Il inhibe donc la formation de plasmine, limitant ainsi la dégradation de la fibrine ce qui retarde la dégradation naturelle du caillot formé. Il peut être utilisé seul quand le risque hémorragique est très faible ou en tant que thérapie adjuvante pour obtenir une action synergique avec les concentrés de facteurs devant des saignements muqueux ou des chirurgies avec effraction muqueuse [16,17].

## *2.3. Agents by-passant*

Les agents by-passant induisent la formation d'une activité procoagulante via la formation de thrombine tout en court-circuitant l'action des FVIII et FIX. Deux médicaments peuvent être utilisés :

- **Le Complexe Prothrombinique Activé ou CPPa (FEIBA®)**

D'origine plasmatique contenant les facteurs II, VII, IX et X sous forme activée et non activée

- **L'Eptacog alpha (rFVIIa) (NOVOSEVEN®)**

Ou facteur VII activé d'origine recombinante L'efficacité de ces traitements dans le traitement d'accident hémorragique ou dans un contexte chirurgical chez un patient hémophile avec inhibiteur est comparable.

Néanmoins il a été montré que ces traitements pouvaient favoriser la survenue d'évènements thromboemboliques de type coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), thrombose veineuse, embolie pulmonaire, infarctus du myocarde et accident vasculaire cérébral, en particulier chez les patients recevant des doses élevées de FEIBA®. Le suivi clinique et biologique de ces patients traités est primordial [15,16,17].

#### *2.4 Nouvelles approches thérapeutiques*

L'avènement des concentrés de facteurs à demi-vie allongée a amélioré l'efficacité et la faisabilité de la prophylaxie. Néanmoins, la voie d'administration intraveineuse, le risque de développement d'inhibiteurs et la nécessité d'individualiser le traitement représentent toujours un fardeau pour les patients et les cliniciens.

À la lumière de ces défis, ces nouvelles approches thérapeutiques ont pour objectif d'améliorer la qualité de vie des patients hémophiles tout en permettant une meilleure prévention des accidents hémorragiques et donc des complications articulaires. L'objectif est d'obtenir un ABR le plus faible possible, correspondant à des taux de FVIII le plus élevé le plus longtemps possible. Certains de ces nouveaux traitements sont en cours d'étude, d'autres ont obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) récente [17,18].

#### **❖ FITUSIRAN:**

Un ARN interférent dirigé contre le gène de l'AT (L'antithrombine) est donc actuellement en cours d'essai dans le traitement de l'hémophilie. Il s'agit du Fitusiran, qui cible spécifiquement l'ARN messager de l'antithrombine afin d'en inhiber la production hépatique. Des études non cliniques sur le Fitusiran ont montré une diminution dose dépendante des taux d'AT chez plusieurs espèces. Dans les modèles d'hémophilie murine, cette réduction des taux d'AT est associée à une production accrue de thrombine et à une hémostase améliorée, suggérant un bénéfice thérapeutique potentiel. Cependant des complications thrombotiques ont été observées pendant l'essai clinique de phase 2 avec un cas de thrombose cérébrale

mortelle survenue chez un patient sous prophylaxie par le Fitusiran ayant reçu une perfusion de concentrés de FVIII [17,18].

#### ❖ **CONCIZUMAB :**

Il s'agit d'un anticorps monoclonal visant à bloquer l'interaction inhibitrice du TFPI avec le site actif du FXa et donc d'obtenir une coagulation efficace par augmentation de la génération de thrombine. Des évènements indésirables à type de thromboses non mortelles ont été rapportés [17,18].

#### ❖ **EMICIZUMAB (HEMLIBRA®)**

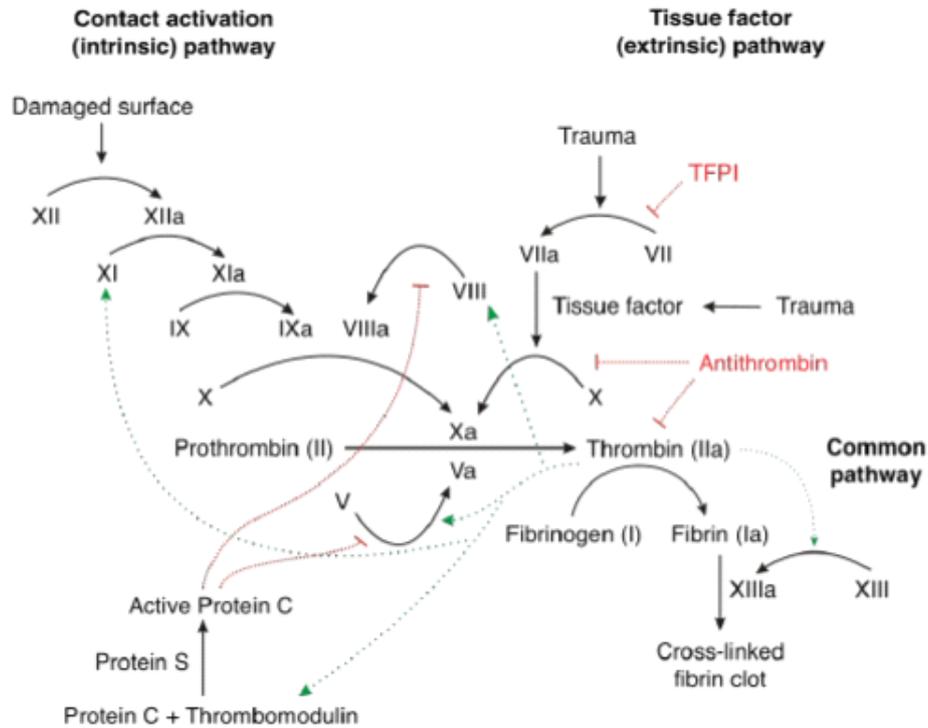
### **III. EMICIZUMAB**

#### **A.DEVELEOPPEMENT DE L'EMICIZUMAB**

##### **Rappel : rôle du FVIII**

Le FVIII est une glycoprotéine présente dans le plasma qui, sous sa forme activée, sert de cofacteur pour le FIXa et le FX, facilitant la réaction par laquelle le FX est catalysé en FXa. Après que la coagulation est initiée par le complexe du facteur tissulaire exposé (TF) et du facteur VII activé (FVIIa) dans le plasma et qu'une petite quantité de thrombine est produite, le FVIII subit un clivage enzymatique par la thrombine et est converti en FVIII activé (FVIIIa). Parce qu'il améliore la réaction d'activation de FX induite par le FIXa de 200 000 fois ; Le FVIIIa joue un rôle essentiel dans l'accélération de la réaction explosive de coagulation pendant la phase de propagation du processus de réaction de coagulation sanguine. Un dysfonctionnement à ce point central de l'hémostase est donc associé à des complications hémorragiques sévères d'un large spectre de localisations. Une vue d'ensemble du système de coagulation avec son activation (lignes pleines et pointillées à tête de flèche) et les voies d'inhibition (lignes à tête barrée) est présentée dans la figure 1

**Figure 1: Coagulation Pathway**



TFPI=tissue factor pathway inhibitor.  
Image by [J. Dunckley, 2007].

*Figure 1: schéma de la coagulation*

### *1 - Substance active Emicizumab*

Le développement de l'emicizumab a impliqué l'analyse de 200 anticorps monoclonaux contre chacune des protéines cibles (FIXa et FX), anticorps produits dans diverses espèces animales : rats, lapins et souris. Sur les 40 000 combinaisons potentielles (200 × 200), 94 (0,24 %) ont conduit à une augmentation plus ou moins importante de la génération de FIXa, et une molécule candidate (BS15L) a été sélectionnée pour une optimisation plus poussée. BS15L se compose d'une région variable de chaîne lourde anti-FIX produite chez le rat et d'une région variable de chaîne lourde anti-FX produite chez la souris. Ces deux régions sont greffées sur une ossature d'immunoglobuline G4 (IgG4) humaine, en combinaison avec une région variable de chaîne légère hybride rat/souris, elle-même greffée sur une chaîne kappa humaine. Après avoir été humanisée, cette molécule a subi un certain nombre d'étapes

d'optimisation visant à améliorer sa pharmacocinétique, sa stabilité, sa solubilité et sa capacité à stimuler la génération de FXa. Ces différentes étapes ont conduit à l'obtention de l'anticorps ACE910, désormais connu sous le nom d'emicizumab [14,16,17,18].

Donc Il s'agit d'un anticorps monoclonal humanisé d'immunoglobuline G4 (IgG4) modifié produit par la technologie de l'ADN recombinant dans des cellules d'ovaire de hamster chinois et se compose d'une chaîne lourde anti-FIXa nommée en interne chaîne Q, d'une chaîne lourde anti-FX nommée en interne chaîne J et de deux chaînes légères. (appelée chaîne L). La région Fc des deux chaînes lourdes (chaîne Q et chaîne J) a été conçue pour s'hétérodimériser préférentiellement par des mutations de direction électrostatique. Comme d'autres glycoprotéines complexes, l'emicizumab présente une certaine micro-hétérogénéité en termes de différents degrés de glycosylation et de modifications des acides aminés. Les deux chaînes lourdes, la chaîne Q et la chaîne J, ont également un seul site de glycosylation conservé

L'activité cofacteur de l'emicizumab a été évaluée dans des systèmes *in vitro* utilisant des protéines purifiées (FIXa, FX et vésicules de phospholipides). Il a ainsi été montré que la capacité de l'emicizumab à améliorer l'efficacité catalytique ( $k_{cat}/K_M$ ) de génération de FXa par le FIXa, est dix fois moindre que celle du FVIIIa [12,13,17].

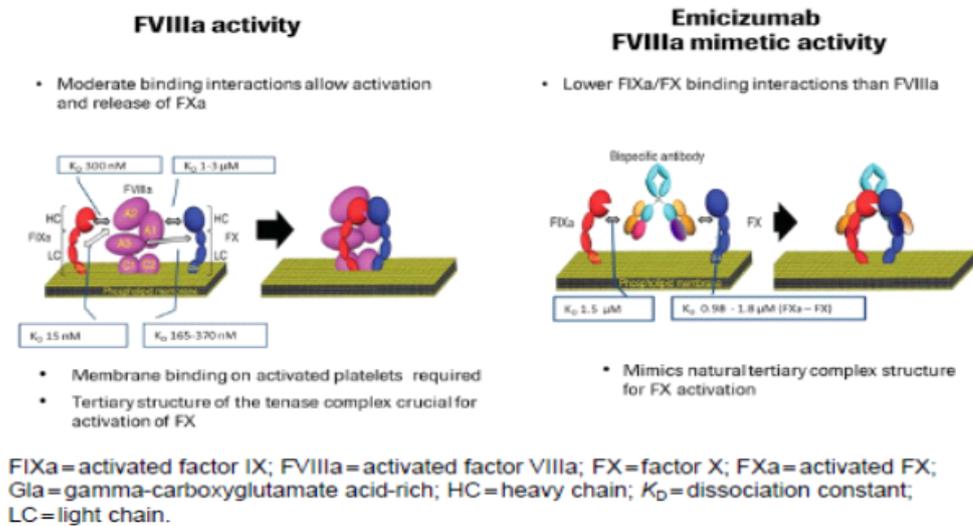
## **2 – Mécanisme d'action :**

L'emicizumab est un anticorps bispécifique contenant deux entités différentes se liant chacune à un antigène spécifique, l'une reconnaissant le facteur IX (FIX) de la coagulation ainsi que sa forme active, le FIXa, et l'autre reconnaissant le substrat du FIXa, le facteur X (FX) et son dérivé actif, le FXa. En reconnaissant ainsi à la fois l'enzyme (FIXa) et son substrat (FX), l'emicizumab mime partiellement l'activité cofacteur du FVIII en rapprochant physiquement les deux molécules

L'emicizumab en imitant le facteur VIII de coagulation est capable de favoriser l'activation du FX par le FIXa restaurant ainsi la fonction du facteur VIII activé manquant qui est nécessaire pour une hémostase efficace. L'emicizumab n'a pas de relation structurelle ni d'homologie de séquence avec le facteur VIII. Par conséquent, il n'induit pas ni ne favorise le développement d'inhibiteurs dirigés contre le facteur VIII.

Le mode d'action de l'emicizumab et sa comparaison avec celui du FVIIIa sont illustrés à la figure 2. [2,5,9,18].

**Figure 2: Schematic Illustration of the Mode of Action of FVIIIa and Emicizumab**



*Figure 2: mode d'action de l'Emicizumab*

### 3 - Indications thérapeutiques

Hemlibra est indiqué en prophylaxie pour prévenir les épisodes hémorragiques

- chez les patients atteints d'hémophilie A (déficit congénital en facteur VIII) avec inhibiteurs anti-facteur VIII.
- chez les patients atteints d'hémophilie A sévère (déficit congénital en facteur VIII, FVIII < 1%) sans inhibiteur anti-facteur VIII.

Hemlibra peut être utilisé dans toutes les tranches d'âge [6, 8, 11,15].

### 4 - Présentation du produit

Le produit fini est fourni sous forme de solution stérile à usage unique, incolore à légèrement jaune pour injection sous-cutanée et ne contient aucun conservateur.

Le produit fini est formulé à 30 mg/mL (dosage à 30 mg) ou 150 mg/mL (contenant 60 mg, 105 mg et 150 mg d'emicizumab).

Les excipients sont la L-histidine, l'acide L-aspartique, la L-arginine et le poloxamère 188 et l'eau pour préparations injectables [3,4,5,7,14].

### *5 - Posologie et mode d'administration*

Le traitement doit être instauré sous la surveillance d'un médecin expérimenté dans le traitement de l'hémophilie et/ou des troubles de l'hémostase.

Le traitement (incluant la prophylaxie) par des agents by-passants (ex : aPCC et rFVIIa) doit être interrompu la veille de l'instauration du traitement par Hemlibra .

La prophylaxie par facteur VIII (FVIII) peut être poursuivie durant les 7 premiers jours de traitement par Hemlibra [17,18].

La posologie recommandée est de 3 mg/kg une fois par semaine au cours des quatre premières semaines (dose de charge), suivie d'une dose d'entretien soit de 1,5 mg/kg une fois par semaine:

soit de 3 mg/kg toutes les 2 semaines,

soit de 6 mg/kg toutes les 4 semaines,

Toutes les doses étant administrées par injection sous-cutanée.

La dose de charge est la même, quel que soit le schéma posologique choisi pour la dose d'entretien. Le schéma posologique pour la dose d'entretien doit être choisi en fonction de la préférence du médecin et du patient/aidant afin de favoriser l'observance.

La dose (en mg) et le volume (en mL) doivent être calculés comme suit :

Le volume total d'Hemlibra à injecter par voie sous-cutanée est calculé comme suit : Quantité totale (mg) d'emicizumab à administrer ÷ concentration du flacon (mg/mL) = volume total d'Hemlibra (mL) à injecter[11,15,18].

Des flacons de concentrations différentes d'Hemlibra (30 mg/mL et 150 mg/mL) ne doivent pas être combinés dans la même seringue lors de la préparation du volume total à administrer.

Ne pas administrer un volume supérieur à 2 mL par injection.

Hemlibra doit être uniquement administré par voie sous-cutanée et doit être administré en utilisant une technique aseptique appropriée.

L'administration doit être limitée aux sites d'injection recommandés : abdomen, parties supérieures externes des bras et cuisses.

L'administration d'Hemlibra par injection sous-cutanée dans la partie supérieure externe du bras doit être réalisée par un aidant ou un professionnel de santé [6,17,19].

Varié le site d'injection peut contribuer à prévenir ou réduire les réactions au site d'injection. Éviter l'injection sous-cutanée sur les zones où la peau est rouge, contusionnée, sensible ou indurée, ni dans les régions qui présentent des nævi ou des cicatrices.

Pendant la durée du traitement par Hemlibra, les autres médicaments administrés par voie sous cutanée doivent de préférence être injectés à des sites anatomiques différents [7,10,19].

#### ***6 - Durée du traitement :***

Hemlibra est destiné à un traitement prophylactique à long terme.

#### ***7 - Ajustement des doses:***

Aucun ajustement posologique n'est recommandé pour Hemlibra.

Si un patient oublie une injection sous-cutanée programmée d'Hemlibra, il doit être indiqué au patient de s'injecter la dose oubliée dès que possible, au plus tard la veille de la dose suivante initialement programmée.

Le patient devra s'injecter la dose suivante le jour initialement programmé.

Le patient ne doit pas s'injecter deux doses le même jour pour compenser une dose oubliée [17,18,19].

#### ***8 - Contre-indications***

Hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients mentionnés [6,18].

### **B.FVIII ET EMICIZUMAB : SIMILITUDES ET DIFFÉRENCES**

Alors que l'emicizumab imite l'activité du FVIIIa, les deux molécules n'ont pas d'homologie structurelle et ont plusieurs différences biochimiques et fonctionnelles .

Les essais cliniques sur l'émicizumab ont mis en évidence d'autres différences entre l'émicizumab et le FVIII.

L'émicizumab a une demi-vie d'environ 30 jours et il a été démontré qu'il a atteint des concentrations plasmatiques moyennes stables à la semaine de traitement 4 dans les études cliniques.

Inversement, le FVIII a une demi-vie d'environ 12 heures dépendant de plusieurs facteurs inter- et intra-individuels.

En raison de la demi-vie prolongée de l'émicizumab, des concentrations plasmatiques moyennes stables d'environ 40 g/mL sont atteintes même avec l'administration de 6 mg/kg d'émicizumab une fois toutes les quatre semaines, offrant aux patients atteints d'HA une protection prolongée contre les événements hémorragiques traumatiques et spontanés.

De plus, aucune association entre l'émicizumab et le développement d'inhibiteurs de novo du FVIII n'a été trouvée dans aucun des essais cliniques pivots de phase III.

L'activité de l'émicizumab n'est pas affectée par la présence d'inhibiteurs du FVIII.

Toutes les différences ci-dessus entre le FVIII et l'émicizumab influencent les résultats de plusieurs tests de laboratoire standard [19,20].

De plus, le taux de saignement au cours de la prophylaxie par émicizumab observé dans les études cliniques pourrait suggérer une réversion vers un phénotype d'hémophilie légère.

Cependant, nous ne savons pas si cette corrélation est valable dans toutes les situations (pendant une intervention chirurgicale, après un traumatisme) ;

Le mécanisme d'action de l'émicizumab est distinct du FVIII, par conséquent, la corrélation directe avec l'activité du FVIII n'est pas concluante et peut conduire à une mauvaise interprétation [17,18,20].

## *1 - Interactions enzyme substrat*

### **a - Sites d'interaction**

Les modalités d'interactions mises en jeu lorsque le FVIII ou l'émicizumab se lient à leurs ligands (FIXa et FX) sont très différentes.

Les interactions FVIIIa/FIXa et FVIIIa/FX font intervenir une surface importante à la fois dans la chaîne lourde et la chaîne légère de chaque partenaire. L'émicizumab, quant à lui, ne

se lie qu'à un seul site au niveau du domaine EGF1 du FIX/FIXa et du domaine EGF2 du FX/FXa [5,7,13].

### **b - Affinité des interactions**

Il existe une différence substantielle dans l'affinité avec lesquelles le FVIII ou l'emicizumab se lient à leurs cibles. L'affinité du FVIIIa pour le FIXa (2 nmol/L en présence de phospholipides, 15 nmol/L sinon) est au moins 100 fois supérieure à celle qui sous-tend la formation du complexe FIXa/emicizumab (1,5 µmol/L).

De même, l'affinité du FVIIIa pour le FX est de 0,3 µmol/L, soit six fois plus élevée que celle de l'emicizumab pour le FX (1,8 µmol/L).

Ces différences ne sont pas anodines puisqu'elles vont influencer la quantité de chaque complexe qui sera formé, ainsi que l'identité du composant qui sera le facteur limitant dans la formation de ces complexes [14,16].

### **c- Reconnaissance de la forme zymogène versus la forme activée**

Le FVIII et le FIX zymogène circulent sous forme inactive et doivent être activés par protéolyse contrôlée afin de s'assembler pour former le complexe activateur du FX. Une fois activé, le FVIIIa montre une très forte préférence pour le FIXa et pour le FX (par rapport au FIX et au FXa).

Cette activation du FVIII représente une étape de régulation qui n'existe pas dans le cas de l'emicizumab, cet anticorps reconnaissant le FIX et le FIXa ou le FX et le FXa avec la même affinité (1,6 µmol/L et 1,5 µmol/L pour FIX/FIXa et 1,9 µmol/L et 1,0 µmol/L pour FX/FXa). Cette absence de distinction de l'emicizumab entre les zymogènes ou les formes activées du FIX et du FX implique que l'anticorps est toujours prêt à exercer son action, dès que du FIXa est présent. Une augmentation des taux de FIXa peut donc s'accompagner d'une accélération de la génération de FXa [20,21].

### **d - Comparaison avec la fonction du facteur VIIIa**

Le FVIIIa induit l'activation du FXa par un mécanisme à plusieurs étapes. En premier lieu, le FVIIIa sert d'ancrage pour la formation du complexe d'activation du FX à la surface des

phospholipides membranaires. Ensuite, il permet de stabiliser et de positionner correctement le site actif du FIXa. Enfin, il établit un pont entre l'enzyme (FIXa) et le substrat (FX), les rapprochant dans l'espace.

De son côté, l'emicizumab n'a ni la possibilité d'augmenter la liaison de l'enzyme et de son substrat aux phospholipides, ni la capacité de moduler l'orientation ou la stabilité du site actif du FIXa. Sa fonction est donc restreinte au rapprochement physique du FIXa et du FX. Cette activité partielle de cofacteur explique probablement que l'activation du FXa en présence d'emicizumab soit 10 fois moindre qu'en présence de FVIIIa [8,9,14].

### **e- Régulation de l'activité**

L'activité du complexe FVIIIa/FIXa peut être régulée de plusieurs manières. Le FIXa peut être inhibé par les anticoagulants naturels comme l'antithrombine ou la protéase nexine-2. Que le FIXa soit en complexe avec le FVIIIa ou avec l'emicizumab ne fera pas de différence à ce niveau. En revanche, il existe un second niveau de régulation du complexe FVIIIa/FIXa, qui tient à la nature même du FVIIIa. En effet, ce dernier est une molécule relativement instable, qui perd son activité en quelques minutes. De plus, le FVIIIa est sensible à une inactivation protéolytique par des protéases comme la protéine C activée. Puisque le FVIIIa est l'élément limitant au sein du complexe FVIIIa/FIXa, la régulation de son activité est déterminante pour contrôler la génération de FXa. Pour le complexe emicizumab/FIXa, le contrôle de la génération de FXa dépendra quant à elle exclusivement de l'inactivation du FIXa, un processus moins efficace que l'inactivation du FVIIIa [6,17,18].

**Table 1** A comparison of the properties of FVIII and emicizumab

FVIII	Emicizumab
FVIII is a heterodimeric protein with a molecular weight of ~280 kDa and a normal plasma concentration of ~0.4 nM. <sup>44</sup> The half-life of FVIII is ~12 hours	Emicizumab is a humanized bispecific monoclonal antibody with a molecular weight of ~150 kDa. The target plasma concentration for prophylactic treatment of HA patients is ~0.4 μM. The half-life of emicizumab is ~30 days <sup>35,36</sup>
FVIII must be activated by thrombin-mediated proteolysis to obtain its cofactor activity. The activity of FVIIIa is regulated by spontaneous dissociation of the A2 domain as well as inactivation by activated protein C. Thus, FVIII exhibits on/off mechanisms <sup>44</sup>	Emicizumab does not require an activation step to facilitate its activity and there is no inactivation of the molecule. Thus, there are no on/off mechanisms for emicizumab <sup>36,44</sup>
FVIIIa has high affinity for its target factors. In the absence of a phospholipid bilayer, FVIIIa binds to FIXa with an affinity of ~15 nM, and to FX with an affinity of ~0.3 μM. In contrast, FVIIIa shows only weak-to-no binding to FIX <sup>64</sup> and FXa. <sup>65,66</sup> FVIIIa binds as well to human as to bovine FIXa and FX	Emicizumab does not distinguish between the precursor and activated forms of its target factors. This is to say that emicizumab has a similar affinity for the precursors FIX and FX and for the activated factors FIXa and FXa (1.6 and 1.9 μM vs. 1.5 and 1.0 μM, respectively). <sup>35</sup> Emicizumab binds to human but not to bovine FIX(a) and FX(a)
FVIIIa shows full cofactor activity; it promotes binding of FIXa to phospholipids, stabilizes the active site of FIXa, and finally bridges FIXa to FX <sup>44</sup>	Emicizumab shows partial cofactor activity by bridging FIXa to FX. The process also depends on properly aligned target proteins on the phospholipid surface <sup>44</sup>
The plasma concentration of FVIII (~0.4 nM) is significantly lower than the concentrations of FIX and FX (~90 and 135 nM, respectively). This implies that tenase activity is limited by the amount of FVIIIa generated <sup>44</sup>	Prophylactic treatment with emicizumab aims for a target concentration of ~0.4 μM, much greater than the plasma concentrations of endogenous FX and FIXa. With emicizumab in excess of its target proteins, the rate-limiting step for activation of FX is the amount of FIXa generated <sup>10,44</sup>
As a cofactor, FVIIIa facilitates the activation of FX by FIXa by a factor of ~10 <sup>6</sup> . <sup>44</sup> Thus, the catalytic efficiency of FIXa in the presence of FVIIIa is ~11-fold higher than that of FIXa in the presence of emicizumab	As a cofactor, emicizumab facilitates the activation of FX by FIXa by a factor of ~9 × 10 <sup>4</sup> . Thus, the catalytic efficiency of FIXa in the presence of emicizumab is ~11-fold lower than that of FIXa in the presence of FVIIIa <sup>35</sup>

Abbreviations: F, coagulation factor; HA, hemophilia A.

*Tableau 1: comparaison des propriétés de l'emicizumab et du facteur VIII [22].*

### C.EFFETS SECONDAIRES LIÉS AU TRAITEMENT PAR EMICIZUMAB

Au-delà de son efficacité, les essais cliniques évaluant l'emicizumab ont également révélé un certain nombre d'effets secondaires.

Les plus fréquents sont des réactions cutanées aux sites d'injection, observés chez 15 % des patients. Du fait de leur nature bénigne, la plupart des patients sont restés sous traitement prophylactique.

Des cas de microangiopathies thrombotiques (MAT) ont été rapportés chez des patients recevant une prophylaxie par Hemlibra, lorsqu'une dose cumulée moyenne > 100 U/kg/24 heures de concentrés prothrombiniques activés type aPCC a été administrée pendant 24 heures ou plus.

Cette survenue de microangiopathies thrombotiques semble être spécifique de l'utilisation de fortes doses d'aPCCC, aucune complication de ce type n'ayant été rapportée avec la

combinaison emicizumab- FVII activé recombinant (rFVIIa). Le mécanisme pathologique sous-jacent n'a pas été clairement identifié ; il pourrait être lié aux concentrations élevées de FIX/FIXa et de FX/FXa présentes dans l'aPCC. Un excès de FIXa pourrait contribuer à une génération excessive de thrombine au niveau local et donc aux complications thrombotiques observées [6,17,22].

Le traitement des MAT comporte un traitement symptomatique avec ou sans plasmaphérèse et hémodialyse. Des signes d'amélioration de la MAT ont été observés dans la semaine ayant suivi l'arrêt d'aPCC et l'interruption d'Hemlibra.

La prise en charge doit être adaptée aux circonstances cliniques individuelles, en considérant que : La décision de modification posologique doit tenir compte de la demi-vie d'élimination des médicaments ; en particulier, l'interruption d'emicizumab peut ne pas avoir d'effet immédiat.

La surveillance à l'aide d'un dosage chromogénique du FVIII peut guider l'administration de facteurs de coagulation, et la recherche de marqueurs de thrombophilie peut être envisagée.

La reprise de la prophylaxie par Hemlibra après résolution complète des événements thrombotiques doit être discutée au cas par cas.

Des précautions doivent être prises lors du traitement des patients qui sont à haut risque de MAT (patients ayant des antécédents médicaux ou des antécédents familiaux de MAT), ou ceux qui reçoivent des médicaments concomitants connus pour être un facteur de risque de développement d'une MAT (par exemple ciclosporine, quinine, tacrolimus) [20,22].

#### **D.RECOMMANDATIONS RELATIVES À L'UTILISATION DES AGENTS BY-PASSANTS CHEZ LES PATIENTS RECEVANT UNE PROPHYLAXIE PAR HEMLIBRA**

Le traitement par des agents by-passants doit être interrompu la veille de l'instauration du traitement par Hemlibra. Les médecins doivent discuter systématiquement avec leurs patients et/ou les aidants de la dose exacte et du schéma d'administration des agents by-passants à utiliser, s'ils s'avéraient nécessaires pendant la prophylaxie par Hemlibra.

Hemlibra augmente la capacité de coagulation du patient. La dose d'agent by-passant nécessaire peut par conséquent être inférieure à celle utilisée en l'absence de prophylaxie par Hemlibra. La posologie et la durée du traitement par agents by-passants dépendront de la localisation et de la sévérité du saignement et de l'état clinique du patient.

L'utilisation d'un concentré de facteurs du complexe prothrombique activé (aPCC) doit être évitée, sauf si aucune autre option ou alternative thérapeutique n'est disponible. Si l'aPCC est utilisé chez un patient recevant une prophylaxie par Hemlibra, la posologie initiale ne doit pas dépasser 50 U/kg [6,18].

Si le saignement n'est pas contrôlé avec une dose initiale d'aPCC  $\leq 50$  U/kg, les doses supplémentaires d'aPCC doivent être administrées sous surveillance ou contrôle médical, incluant la surveillance biologique afin de diagnostiquer une MAT ou tout événement thrombotique.

La dose totale d'aPCC ne doit pas dépasser 100 U/kg au cours des premières 24 heures de traitement. Les médecins doivent évaluer avec précaution les risques de MAT et de thromboembolie par rapport au risque hémorragique s'ils envisagent de poursuivre le traitement par aPCC au-delà de la dose maximale de 100 U/kg au cours des 24 premières heures.

Il est suggéré de doser de manière rapprochée (24 à 48 heures suivant l'état clinique du patient) les paramètres biologiques suivants [6,17,22].

**En première intention :**

- ✓ Protéinurie sur bandelette urinaire
- ✓ NFS, plaquettes
- ✓ Réticulocytes
- ✓ Schizocytes
- ✓ Créatinine
- ✓ LDH
- ✓ Haptoglobine
- ✓ Troponine

**En seconde intention :**

si suspicion de microangiopathie thrombotique :

- ✓ Test de Coombs

**IMPORTANT**

**La recherche de schizocytes devra être répétée sur 3 jours consécutifs (pour en augmenter la sensibilité).**

Au cours des études cliniques, aucun cas de MAT ni d'événements thrombotiques n'a été observé avec la seule utilisation du facteur VII humain recombinant activé (rFVIIa) chez les patients recevant une prophylaxie par Hemlibra. Les recommandations posologiques des agents by-passants doivent continuer à être respectées pendant au moins six mois après l'arrêt de la prophylaxie par Hemlibra [6,20].

## **E.APPLICATIONS POTENTIELLES DE L'EMICIZUMAB AU DELA DE L'HEMOPHILIE A SEVERE**

Le profil clinique très favorable de l'emicizumab a conduit à des discussions relatives à son utilisation en dehors de l'hémophilie A sévère, avec ou sans inhibiteurs. La première population qui vient à l'esprit est celle des patients avec une hémophilie A modérée et/ou mineure.

Un essai clinique évaluant cette possibilité est en cours. Un des aspects intéressants de cet essai est que des femmes conductrices d'hémophilie y ont été incluses, ce qui permettra d'évaluer l'effet de l'emicizumab sur les saignements menstruels.

Une autre application possible pour l'emicizumab concerne la prise en charge de l'hémophilie A acquise. Toutefois, cette pathologie est complexe et diffère de l'hémophilie A congénitale

sur plusieurs aspects. Tout d'abord, et contrairement à l'hémophilie A congénitale, il existe une production et une sécrétion constante de FVIII normal. Deuxièmement, la tendance hémorragique est différente, et une étude récente a montré que des taux de FVIII supérieurs à 50 % sont nécessaires pour prévenir les saignements spontanés, soit un taux bien plus élevé que pour l'hémophilie A congénitale. La capacité de l'emicizumab à atteindre l'équivalence d'un tel taux de FVIII est très incertaine, et son efficacité dans l'hémophilie A acquise pourrait donc être limitée [4,15,22].

Des taux réduits de FVIII sont également observés chez les patients souffrants de maladie de Willebrand sévère caractérisés par une quasi-absence de facteur Willebrand ou chez les patients avec un sous-type 2N de la maladie de Willebrand. Lorsque les taux de FVIII sont inférieurs à 5 %, ces patients peuvent développer une arthropathie très similaire à celle observée chez les patients hémophiles A. Bien qu'une prophylaxie à base de concentrés de facteur Willebrand reste la thérapie de première intention chez ces patients, il peut être intéressant de considérer l'emicizumab comme traitement alternatif, en particulier chez certains patients ayant développé des auto-anticorps contre le facteur Willebrand. Un tel exemple a d'ailleurs été récemment décrit dans la littérature.

Finalement, la question qui peut se poser est celle de l'utilité de l'emicizumab dans des conditions où le FVIII est présent en quantité normale mais où il existe un déficit d'autres protéines de la coagulation. Des analyses *in vitro* ont en effet montré que l'emicizumab pouvait s'avérer utile pour stimuler la génération de thrombine dans le plasma de patients avec un déficit quantitatif en FIX ou en facteur XI. Il est pour l'instant difficile de prédire si ces données peuvent être extrapolées à une situation *in vivo*. L'utilisation de modèles animaux dédiés pourrait nous éclairer sur cet aspect avant d'envisager des essais chez l'homme [22,23].

Il s'agit d'un patient N.W né le 10 octobre 2002, qui avait développé un choc hémorragique lors de sa circoncision pour laquelle il a été hospitalisé et fut diagnostiqué hémophile A.

Actuellement il est sous Emicizumab et il présente une hémarthrose des deux genoux avec inhibiteurs positifs.

Dans le cadre du suivi thérapeutique pour son hémophilie, le patient N.W bénéficie d'une surveillance régulière de son bilan d'hémostase avec dosage du :

- ❖ Temps de Quick, Temps de céphaline activateur, dosage de fibrinogène
- ❖ Dosage chronométrique FVIII : FVIII basal, titrage des anti-FVIII
- ❖ Dosage chromogénique FVIII : FVIII basal et titrage des anti-FVIII : en utilisant des réactifs d'origine humaine et des réactifs d'origine bovine.

Tous ces tests sont réalisés en utilisant la méthode optique: Sysmex CS-5100/ Siemens.

On a suivi le protocole de dépistage et de titrage des anti-FVIII tel pratiqué au laboratoire :

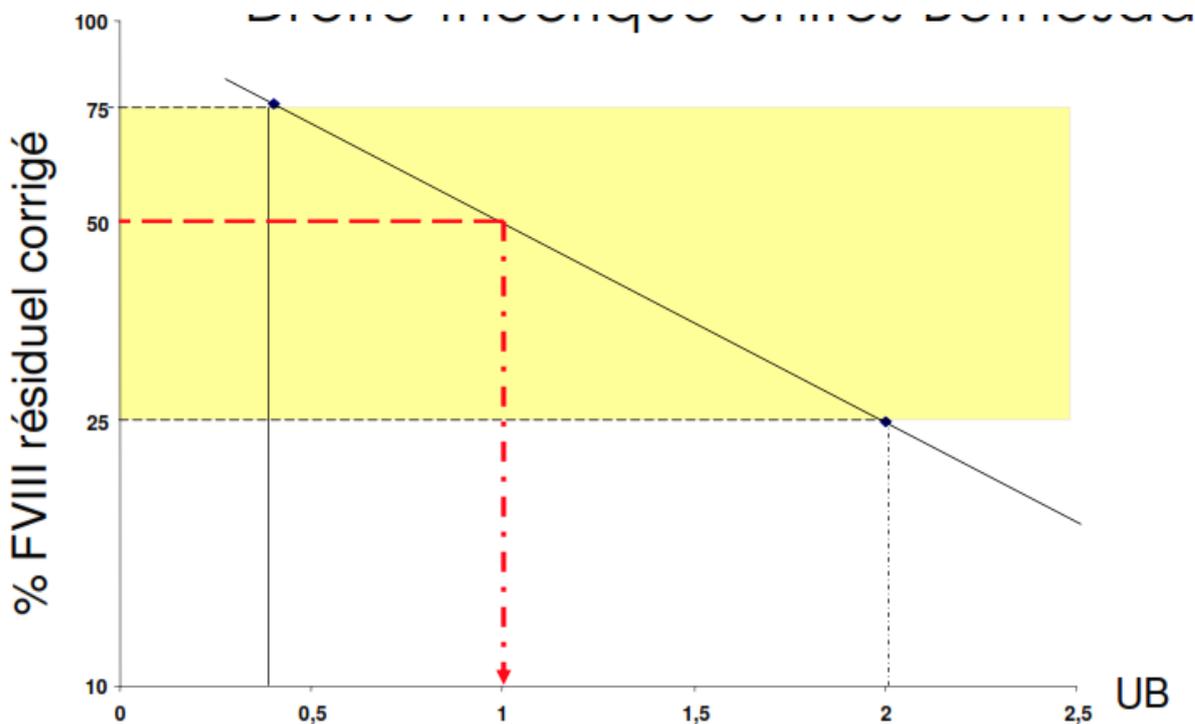
### **Etape 1 : dépistage des anti FVIII**

- mélanger dans deux tubes à volume égale, 200µl de plasma patient (P) et 200µl de plasma témoin (T) à 100% de FVIII : P+T. (c'est le mélange test)
- Réaliser parallèlement en deux tubes , un mélange de 200µl de plasma témoin et 200µl de plasma déficient FVIII : T1/2. (c'est le mélange contrôle)
- Incubation 2heures à 37°C.
- Effectuer les dosages des activités FVIII sur les plasmas natifs, les mélanges P+T et sur T1/2.

□ Résultats : un dépistage des inhibiteurs est positif s'il y a un taux d'inhibition de 25% d'activité de FVIII du plasma témoin. Le FVIII résiduel « corrigé » permet de titrer le taux d'inhibiteur en Unité Bethesda [24].

### **Etape 2 : titrage des anti FVIII**

1 Unité Bethesda correspond à la quantité d'anticorps neutralisant 50% de facteur VIII dans un plasma en contenant 100%



*Figure 3: Droite théorique de l'unité Bethesda.*

Lorsque le FVIII résiduel corrigé est  $< 75\%$  le plasma à tester est dilué en tampon imidazole au  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/10$  etc...

Sur le plan pratique à notre laboratoire, on procède comme suit :

- Mélanges tests:  $200\mu\text{l}$  plasma étalon +  $200\mu\text{l}$  plasma patient à différentes dilutions : pur, au  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/16$ ,  $1/32$  (P+T).

- >>>> Dilution du plasma patient est faite par le tampon pH7,35.

- Mélange témoin :  $200\mu\text{l}$  plasma étalon +  $200\mu\text{l}$  plasma déficient FVIII (T1/2).

- >>> NB : Le tampon peut être utilisé à la place du plasma déficient.

- Laisser incuber les mélanges 2H à  $37^{\circ}\text{C}$ .

- Dosage du FVIII des mélanges :

- FVIII des mélanges tests (P+T : patient à différentes dilutions + étalon) sont notés R2.

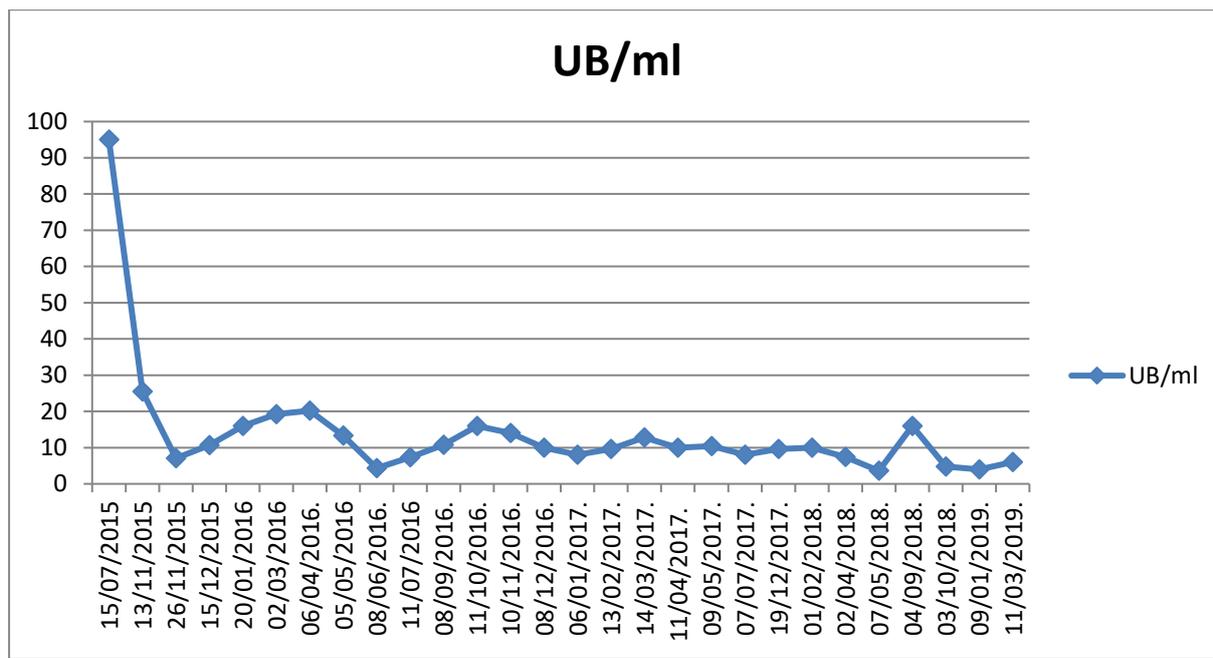
- FVIII du mélange T1/2 est noté R1.

- Taux FVIII résiduel:  $R2 \times 100 / R1$ .

- Choisir la dilution qui donne un taux FVIII résiduel voisin de 50%.
- Lire le nombre d'unité Bethesda/ml sur la courbe théorique d'étalonnage sachant que 50% de FVIII résiduel correspond à 1UB/ml [24].

Date	13/07/ 20	15/07/2020				16/07/ 20
Horaire prélèvement	ND	0	5mn	3H	6H	24H
TP %	96	73	100	82	77	71
TCA/TCA témoin	1	1	1	1	1	1
FVIII chromométrique %	192	401,7	392,6	380	397,1	480
FVIII chromogénique %	1	1,1	1,2	1,1	1,2	1,2
UB/ml (chromométrique)	0,9	ND	ND	ND	ND	ND
UB/ml (chromogénique)	3,8	ND	ND	ND	ND	ND

*Tableau 2: Résultats d'hémostase chez le patient WN traité par Emicizumab et rFVIII*



**Graph 1 : Evolution du taux des inhibiteurs chez le patient N.W par méthode chronométrique**

# DISCUSSION

La thérapie de substitution par le FVIII est généralement évaluée par un certain nombre de tests chromogéniques et chromométriques principalement le dosage du TCA, du FVIII et la recherche d'un anticorps anti-FVIII. Cependant, l'interférence de la molécule d'Emicizumab avec ces tests rend les résultats d'hémostase faussement rassurants.

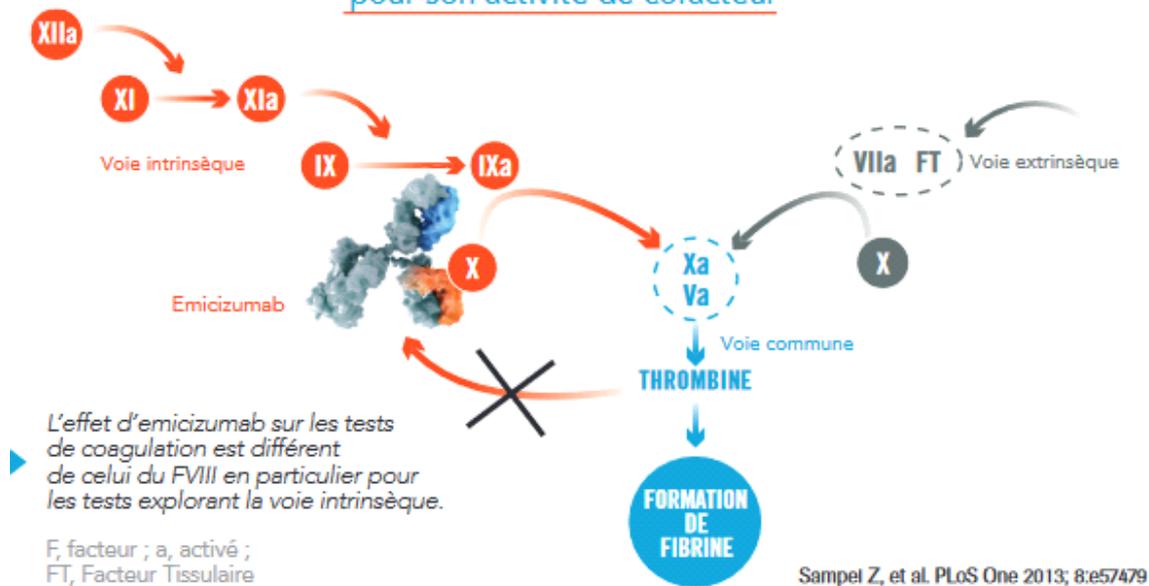
Les soignants doivent être conscients de l'influence de l'emicizumab sur le TCA. Une mauvaise interprétation des résultats des tests augmenteraient les risques de sécurité tels que la réalisation d'interventions chirurgicales lorsqu'il n'est pas sûr de le faire, et le traitement insuffisant des événements hémorragiques graves[6,22]..

En effet, l'aPTT (temps de thromboplastine partielle activée), mesure le temps entre l'activation standardisée de la voie intrinsèque de la coagulation par un activateur de phase de contact (acide ellagique, silice ou kaolin) jusqu'à la formation d'un caillot de fibrine après l'addition finale d'une solution de chlorure de calcium comme réactif de démarrage.

Comme l'émicizumab ne nécessite pas d'activation par la thrombine pour faciliter la propagation de la cascade de coagulation, une étape limitante majeure est éliminée et l'aPTT semble se normaliser à des concentrations sous-thérapeutiques d'émicizumab quel que soit le type de réactif utilisé. Compte tenu de la longue demi-vie de l'emicizumab, l'interférence résiduelle sur le TCA peut persister jusqu'à 6 mois après l'arrêt du traitement.

Ce raccourcissement est dose-dépendant jusqu'à 10 µg/mL. Cependant, ce TCA court ne signifie pas une génération normale de thrombine. En effet, la génération de thrombine mesurée dans un échantillon dopé avec 50 µg/mL d'emicizumab correspond à celle mesurée chez un patient atteint d'hémophilie A mineure. Le fort impact de l'emicizumab sur la réduction du TCA s'explique par son mécanisme d'action. En effet contrairement au FVIII, cet anticorps monoclonal humanisé bispécifique ne nécessite pas d'activation préalable par la thrombine et est donc immédiatement efficace. L'aPTT est donc un test très sensible mais sa normalisation n'implique en rien une hémostase efficace. De plus, une interférence de l'emicizumab sera observée avec tous les tests basés sur l'aPTT [6,7,19,20].

Contrairement au FVIII, l'emicizumab ne nécessite pas d'activation pour son activité de cofacteur



Dans ce travail le cas du patient N.W illustre les variations significatives entre les différents tests d'hémostase réalisé.

Le TCA était raccourci et resté inchangé dans les différents dosages, à noter aussi la variation flagrante de l'ordre de(400 fois) entre les 2 techniques du dosage du facteur VIII impliquant soit une surestimation de l'une ou une sous estimation de l'autre ce qui devrait impacter la décision thérapeutique chez ce patient.

En effet l'Emicizumab affecte les tests chronométriques de mesure du TCA et toutes les analyses basées sur le TCA comme la mesure de l'activité du facteur VIII en un temps.

Ces tests ne doivent pas être utilisés pour surveiller l'activité d'Emicizumab. Cependant le dosage des facteurs de coagulation (ou titrage d'inhibiteur anti-FVIII) utilisant des méthodes chromogéniques avec réactifs bovins ou méthodes immunologiques ne sont pas perturbés par Emicizumab et peuvent donc être utilisés pour surveiller les paramètres de la coagulation pendant le traitement.

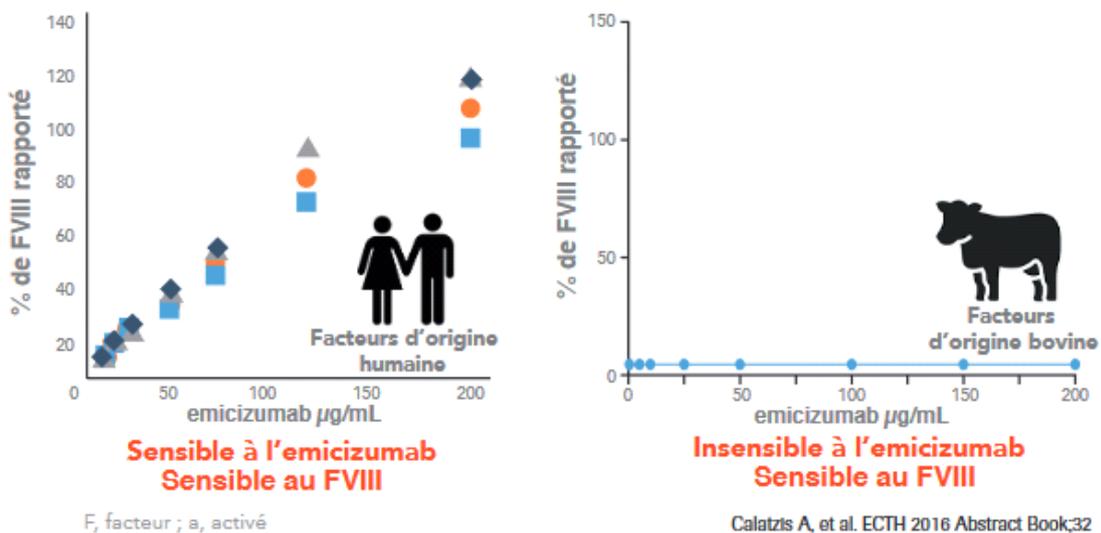
L'utilisation d'un kit de réactifs recombinants humains détecte l'activité du FVIII qui augmente avec l'emicizumab de manière concentration-dépendante. Cet anticorps humanisé reconnaît efficacement le FIXa et le FX présents dans ces réactifs. De plus, une variabilité

considérable est observée entre les lots de réactifs, et la méthode chromogénique avec des réactifs humains ne permet pas un suivi ou une évaluation fiable du statut hémostatique chez les patients traités par emicizumab [22,23].

Comme aucune liaison entre emicizumab et les facteurs de coagulation animaux n'est efficace, aucune activité détectable existe lorsque des réactifs humains/animaux combinés (contenant un réactif FIXa humain et des réactifs FX bovins) ou uniquement des réactifs animaux sont utilisés pour le dosage chromogénique du FVIII.

Un tel test est cependant très utile si la thérapie de remplacement du concentré de FVIII est administrée en association avec l'émicizumab, pour le suivi du traitement par le FVIII exogène. C'est également la seule méthode disponible pour déterminer le titre d'un inhibiteur anti-FVIII chez les patients recevant l'émicizumab [6,22,23].

**L'émicizumab interfère dans les dosages chromogéniques du FVIII utilisant des réactifs d'origine humaine mais pas ceux d'origine bovine.**



## En synthèse : Interférences d'HEMLIBRA® avec les tests de coagulation

Tests dont les résultats sont MODIFIÉS par HEMLIBRA®	Tests dont les résultats NE SONT PAS MODIFIÉS par HEMLIBRA®
<ul style="list-style-type: none"><li>- Temps de céphaline avec activateur (TCA)</li><li>- Recherche et titrage de l'inhibiteur anti-FVIII par la méthode Bethesda (basée sur la mesure du FVIII:C en 1 temps)</li><li>- Dosages chronométriques des facteurs de coagulation en un temps basé sur le TCA</li><li>- Résistance à la protéine C activée (RPCa) basée sur le TCA</li><li>- Temps de coagulation activé (ACT)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Recherche et titrage de l'inhibiteur anti-FVIII par la méthode de Bethesda chromogénique utilisant un réactif d'origine bovine</li><li>- Temps de thrombine (TT)</li><li>- Dosages chronométriques des facteurs de coagulation en un temps basé sur le taux de prothrombine</li><li>- Dosages chromogéniques d'un seul facteur, autre que le FVIII</li><li>- Dosages immunologiques (ex : ELISA, méthodes immunoturbidimétriques)</li><li>- Analyse moléculaire des facteurs de coagulation (exemple : Facteur V Leiden, Prothrombin G20210A)</li></ul>

Tableau 3: interférences de l'emicizumab avec les techniques de dosages [6].

### IMPORTANT

**Compte tenu de la demi-vie prolongée d'emicizumab, son interférence sur les tests de coagulation peut persister jusqu'à 6 mois après la dernière dose.**

#### Détection et titrage de l'inhibiteur anti-facteur VIII : adaptation de la méthode Bethesda

Dans certaines situations cliniques telles que les interventions/chirurgies invasives ou les hémorragies, le choix du traitement des patients atteints d'hémophilie A avec inhibiteur et traités par Emicizumab repose sur une évaluation précise du titre d'inhibiteur.

Le dosage des inhibiteurs est connue sous le nom de dosage Bethesda : une méthode standardisée qui définit une unité Bethesda comme la quantité d'inhibiteur nécessaire dans 1

ml d'échantillon de plasma pour réduire l'activité du FVIII dans 1 ml d'un pool de plasma normal de 50 % en 2 heures à 37 °C [18,22,24].

Emicizumab reste actif en présence d'inhibiteurs anti-facteur VIII, et entraînera ainsi un résultat faussement négatif dans les tests utilisant la méthode de Bethesda basée sur le dosage chromométrique du FVIII: (dosage en 1 temps). En revanche, la méthode de Bethesda adaptée à la mesure de l'activité chromogénique du FVIII avec des réactifs d'origine bovine est insensible à Emicizumab et pourra être utilisée.

Ce qui est bien évident chez notre patient qui présente des inhibiteurs avec un taux de 3.8 UB/ml alors que la méthode chromométrique donne un résultat sous estimé à 0.9 UB/ ml

Enfin les tests de génération de thrombine (TGT), pourraient avoir un intérêt dans le suivi thérapeutique chez ces patients. Les premières études de TGT chez les patients hémophiles A avec inhibiteurs traités par Emicizumab ont montré que la capacité de génération de thrombine induite par la prophylaxie par Emicizumab était plus élevée que celle observée en l'absence de traitement procoagulant avec une augmentation dose-dépendante du potentiel de thrombine endogène (ETP) après ajout d'agents by-passants. les tests de génération de thrombine pourraient aider à la personnalisation du traitement en cas d'accident hémorragique ou d'intervention chirurgicale nécessitant l'utilisation de ces traitements au cours de la prophylaxie par Emicizumab [18,20,23].

# CONCLUSION

Le traitement par emicizumab a considérablement amélioré la qualité de vie des patients inhibiteurs atteints d'hémophilie sévère en simplifiant la prophylaxie, avec une administration sous-cutanée hebdomadaire du médicament, et aussi en réduisant voire en supprimant les tests de laboratoire réguliers pour surveiller l'hémostase. Les tests d'hémostase, qui étaient indispensables chez les patients recevant un traitement substitutif en facteur VIII, pour l'ajustement posologique ou lorsque les patients développaient des inhibiteurs, ne peuvent être interprétés avec les méthodes habituelles chez les patients recevant un traitement par emicizumab. La normalisation du TCA avec emicizumab offre une fausse assurance car cela ne reflète qu'une augmentation modérée de la capacité hémostatique, plutôt qu'une normalisation. La connaissance de l'impact de l'emicizumab sur les tests d'hémostase est essentielle. Des précautions doivent être prises si des tests basés sur la voie intrinsèque de la coagulation sont utilisés

Enfin, le développement de nouveaux tests, adaptés au suivi des patients dans ces situations particulières où la co-administration d'un agent de dérivation peut être nécessaire pour éviter le risque hémorragique ou thrombotique, représente un nouveau défi pour les biologistes dans le domaine de l'hémostase.

# CONCLUSION

## Résumé

**TITRE** : Monitoring des hémophiles sous émicizumab

**AUTEUR** : Docteur M'HAMDI ALAOUI Aziza

**ENCADRANT** : Professeur MASSRAR Azlarab

**Mots clés** : hémophilie, Emicizumab, facteur VIII, hémostase

Emicizumab est un nouvel anticorps thérapeutique qui a prouvé son efficacité et sa bonne tolérance dans plusieurs essais cliniques, ce qui a détourné la prise en charge des patients atteints de l'hémophilie A.

Bien que le traitement par emicizumab offre aux patient hémophiles A une meilleure prise en charge thérapeutique, son usage clinique nécessite quelques ajustements aux techniques de surveillance bien établies. L'emicizumab interfère avec les techniques chronométriques de de mesure du TCA et toutes les analyses basées sur ce test telles que la mesure de l'activité du facteur VIII en un temps. En revanche, les techniques chromogéniques utilisant des réactifs bovins ou combinés constituent une alternative restent insensibles à cette molécule constituant ainsi une alternative de dosage. De même, le titrage des inhibiteurs doit faire appel à la technique Bethesda chromogénique comme sus cité.

A travers ce travail, nous sensibilisons les soignants sur les techniques valables pour la surveillance des patients afin d'éviter une fausse assurance par les bilans d'hémostase de routine habituellement demandés impactés par l'emicizumab.

## **Abstract**

**TITLE:** Monitoring of hemophiliacs under emicizumab

**AUTHOR:** Doctor M'HAMDI ALAOUI Aziza

**SUPERVISOR:** Professor MASSRAR Azlarab

**Keywords:** hemophilia, Emicizumab, factor VIII, hemostasis

Emicizumab is a new therapeutic antibody that has proven its efficacy and good tolerance in several clinical trials, which has diverted the management of patients with hemophilia A. Although treatment with emicizumab offers patients with hemophilia A better therapeutic management, its clinical use requires some adjustments to well-established monitoring techniques. Emicizumab interf

## ملخص

**العنوان:** مراقبة مرضى الهيموفيليا تحت إيميسيزوماب

**الكاتبة:** الدكتورة محمد علوي عزيزة

**المشرف:** البروفيسور مسرار عز العرب

**الكلمات المفتاحية:** الهيموفيليا ، الإيميسيزوماب ، العامل الثامن ، الإرقاء

الإيميسيزوماب هو جسم مضاد علاجي جديد أثبتت فعاليته وتحمله الجيد في العديد من التجارب السريرية ، مما أدى إلى تحويل إدارة مرضى الهيموفيليا أ

على الرغم من أن العلاج باستخدام الإيميسيزوماب يوفر للمرضى المصابين بالهيموفيليا إدارة علاجية أفضل ، فإن استخدامه السريري يتطلب بعض التعديلات على تقنيات المراقبة الراسخة. يتداخل الإيميسيزوماب مع تقنيات قياس توقيت سيفالين والمنشط وجميع التحليلات القائمة على هذا الاختبار مثل قياس نشاط العامل الثامن في المرحلة الواحدة. من ناحية أخرى ، فإن تقنيات الكروموجينيك التي تستخدم الكواشف البقرية و الكواشف المختلطة تشكل بديلاً لا يتفاعل مع هذا الدواء ، وبالتالي يشكل مقايسة بديلة. وبالمثل ، يجب أن تستخدم معايرة المثبطات تقنية بيثيسدا الكروموجينيك من خلال هذا العمل ، نقوم بتثقيف مقدمي الرعاية حول التقنيات الصحيحة لمراقبة المريض من أجل تجنب الطمأنينة الزائفة من خلال تقييمات الإرقاء الروتينية المطلوبة عادةً المتأثرة بالإيميسيزوماب -

# REFERENCES

- 1- Franchini M, Mannucci PM. Hemophilia A in the third millennium. *Blood Rev* 2013;27(04):179–184
- 2- Lai JD, Lillicrap D. Factor VIII inhibitors: advances in basic and translational science. *Int J Lab Hematol* 2017;39(Suppl 1):6–13
- 3 -Berntorp E. Differential response to bypassing agents complicates treatment in patients with haemophilia and inhibitors. *Haemophilia* 2009;15(01):3–10
- 4 -Food and Drug Administration. HEMLIBRA® (emicizumab-kxwh) injection for subcutaneous use, prescribing information. Initial U.S. approval: 2017. Available at: [https://www.access-data.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2017/761083s000lbl.pdf](https://www.access-data.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/761083s000lbl.pdf). Accessed January 9, 2019
- 5- European Medicines Agency. HEMLIBRA® solution for injection: emicizumab piIEa. Initial EU approval: 2018. Available at: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information_en.pdf). Accessed January 9, 2019
- 6 - European Medicines Agency. HEMLIBRA® solution for injection: emicizumab piIEa. Initial EU approval: 2018. Available at: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information_en.pdf). Accessed January 9, 2019
- 7 Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. *Nat Med* 2012;18(10):1570–1574
- 8 - Friedman KD, Powell JS, Bensen-Kennedy D. Response: the coagulation laboratory monitoring of AFSTYLA single-chain FVIII concentrate. *Haemophilia* 2018;24(03):e129–e131
- 9- Badle S, Barrie A, Spires J, et al. Use of rotational thromboelastometry to monitor boys with severe haemophilia A and inhibitors
- 10- Moser KA, Adcock Funk DM. Chromogenic factor VIII activity assay. *Am J Hematol* 2014;89(07):781–784
- 11- Kitchen S, Kershaw G, Tiefenbacher S. Recombinant to modified factor VIII and factor IX - chromogenic and one-stage assays issues. *Haemophilia* 2016;22(Suppl 5):72–77
- 12- Amiral J, Seghatchian J. Usefulness of chromogenic assays for potency assignment and recovery of plasma-derived FVIII and FIX concentrates or their recombinant long acting

therapeutic equivalents with potential application in treated pediatric hemophiliac patients.

*Transfus Apheresis Sci* 2018;57(03): 363–369

13- Al-Samkari H, Croteau SE. Shifting landscape of hemophilia therapy: implications for current clinical laboratory coagulation assays. *Am J Hematol* 2018;93:1082–1090

14- Sampei Z, Igawa T, Soeda T, et al. Identification and multidimensional optimization of an asymmetric bispecific IgG antibody mimicking the function of factor VIII cofactor activity. *PLoS One* 2013;8(02):e57479

15- Spiezia L, Bertini D, Boldrin M, et al. Reference values for thromboelastometry (ROTEM®) in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Thromb Res* 2010;126(04):e294–e297

16- Durila M. Nonactivated thromboelastometry able to detect fibrinolysis in contrast to activated methods (EXTEM, INTEM) in a bleeding patient. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2016;27(07):828–830

17- Mancuso ME, Fasulo MR. Thrombin generation assay as a laboratory monitoring tool during bypassing therapy in patients with hemophilia and inhibitors. *Semin Thromb Hemost* 2016;42(01): 30–35

18- Knight T, Callaghan MU. The role of emicizumab, a bispecific factor IXa- and factor X-directed antibody, for the prevention of bleeding episodes in patients with hemophilia A. *Ther Adv Hematol* 2018;9(10):319–334

19- Shima M, Hanabusa H, Taki M, et al. Factor VIII-mimetic function of humanized bispecific antibody in hemophilia A. *N Engl J Med* 2016;374(21):2044–2053

20- Adamkewicz JI, Chen DC, Paz-Priel I. Effects and interferences of emicizumab, a humanised bispecific antibody mimicking activated factor VIII cofactor function, on coagulation assays. *Thromb Haemost* 2019. Doi: 10.1055/s-0039-1688687

21- Adamkewicz JI, Soeda T, Kotani N, et al. Effect of emicizumab (ACE910) – a humanized bispecific antibody mimicking FVIIIa cofactor function – on coagulation assays commonly in use for monitoring of hemophilia A patients. Scientific Symposium of the

Hemostasis and Thrombosis Research Society (HTRS) April 6–8,  
2017; Scottsdale, AZ

22- Jens Müller, Isabell Pékrl , Bernd Pöttsch , Beate Berning  
Johannes Oldenburg , Michael Spannagl Laboratory Monitoring  
in Emicizumab-Treated Persons with Hemophilia A

DOI [https://doi.org/ 10.1055/s-0039-1692427](https://doi.org/10.1055/s-0039-1692427). ISSN 0340-6245.

February 8, 2019 accepted after revision April 28, 2019

23- Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, et al. Anti-factor IXa/X bispecific  
antibody (ACE910): hemostatic potency against ongoing bleeds in  
a hemophilia A model and the possibility of routine supplemen-  
tation. *J Thromb Haemost* 2014;12:206–213

24- Titrage des inhibiteurs anti facteur VIII dans l'hémophilie A:  
à propos de 28 cas THÈSE 85/2018 Y.EL AISSAOUI, A. MASRAR, S. BENKIRANE  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE –RABAT

