

Protocole Pups

Version 1.2 – octobre 2004

Plan

Résumé.....	2
1. Contexte et objectifs.....	3
2. Plan de l'étude.....	4
3. Critères d'inclusion dans la <i>Sous-cohorte Pups</i>	4
4. Modalités de suivi des patients	5
5. Organisation des recherches de l'anomalie génétique - volet "Loi Huriet".....	5
6. Transmission des données, contrôle de leur qualité et confidentialité	6
7. Critères de jugement, analyses statistiques et puissance.....	7
8. Calendrier de mise en œuvre et évaluation d'exhaustivité	8
9. Cadre légal et information des patients.....	9
10. Cadre administratif et financement	10
11. Références.....	10

Ce protocole présente les objectifs de recherche constitutifs du Réseau FranceCoag et les méthodes correspondantes. Il complète ainsi le Protocole général sans reprendre les points suivants communs à l'ensemble du Réseau FranceCoag :

- . Partenaires, coordination et communication interne
- . Projets de recherche et publications

Centre coordinateur

InVS (Saint-Maurice)
Tél. 01 55 12 53 32
Fax 01 41 79 68 11
Mail fc@invs.sante.fr

Laboratoire de recherches génétiques

Christine Vinciguerra (Lyon)
Tél. 04 72 11 73 72
Fax 04 72 11 73 40
Mail christine.vinciguerra@chu-lyon.fr

Résumé

Le Réseau FranceCoag est un projet mis en place par les pouvoirs publics et coordonné par l'Institut de veille sanitaire (InVS). Ses objectifs de recherche principaux sont les suivants :

1. Mieux connaître les facteurs de risque d'inhibiteur chez les enfants atteints d'une hémophilie sévère et les modalités de prise en charge des inhibiteurs chez ces patients.
2. Évaluer la faisabilité, l'observance, la tolérance et l'impact de traitements prophylactiques standardisés, et en particulier de la prophylaxie primaire chez les enfants atteints d'une hémophilie sévère.

Pour répondre à ces objectifs, une sous-cohorte prospective multicentrique (*Sous-cohorte Pups*) d'enfants hémophiles (avec un taux de facteur VIII ou IX < 2 %) inclus lors de l'initiation du traitement (avant la 4^e JCPA et/ou à moins d'1 mois de la date d'initiation du premier traitement) est mise en œuvre. Cette sous-cohorte s'insère dans le cadre du suivi clinique habituel des enfants sans aucun traitement contrôlé, examen spécifique ou modification du rythme des visites. Il est néanmoins souhaitable que des visites de suivi aient lieu tous les 3 mois jusqu'à 150 JCPA, puis au minimum une fois par an conformément à la pratique clinique recommandée.

Une collecte d'échantillons de plasma et de cellules mononucléées est envisagée. Cependant, les modalités de sa mise en œuvre restent encore à définir dans le respect de la nouvelle réglementation européenne relative aux transports des produits dangereux par voie de route. Les échantillons de plasma, sérum et cellules mononucléées antérieurement collectés dans le cadre du SNH sont intégrés à la Biothèque du Réseau FranceCoag et sont conservés à l'EFS de Rhône-Alpes (Annemasse). Une fois définis, l'organisation de la Biothèque et son cadre légal seront décrits dans le Protocole général.

Tous les centres de traitement spécialisés français sont appelés à participer en incluant l'ensemble des enfants répondant aux critères d'inclusion.

L'anomalie génétique responsable de l'hémophilie est un facteur de risque d'inhibiteur et doit donc être connue pour l'ensemble des enfants pour mener à bien l'objectif 1. Lorsque la recherche de l'anomalie génétique n'a pu être réalisée dans le cadre des soins, il est proposé aux titulaires de l'autorité parentale d'inclure leur enfant dans une recherche avec bénéfice individuel direct relevant de la loi Huriet afin de connaître la nature de cette anomalie génétique.

Conformément à la loi du 6 janvier 1978 modifiée relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, le Protocole Pups du Réseau FranceCoag a reçu une autorisation de la CNIL le 11 septembre 2003.

1. Contexte et objectifs

L'hémophilie A et l'hémophilie B sont des maladies hémorragiques rares dues à un déficit constitutionnel en protéines coagulantes (respectivement en facteur VIII et en facteur IX) transmises sur le mode récessif lié au chromosome X. Ces maladies ont en commun le recours itératif à des injections intraveineuses de préparations de facteurs de coagulation, base du traitement substitutif. Au début des années 80, du fait de leur préparation à partir de pools de plasmas provenant de plusieurs milliers de donneurs, les préparations de facteurs de coagulation comportaient un risque majeur de transmission virale. Depuis 1985, l'amélioration de la sélection des donneurs, les dépistages microbiologiques sur les dons et les étapes d'inactivation/réduction virale durant le fractionnement ont éliminé les risques de transmission de virus enveloppés tels les virus des hépatites B et C et le virus de l'immunodéficience humaine. En 1993, les préparations de facteurs antihémophiliques disponibles en France ont été diversifiées, avec en particulier la mise à disposition de préparations de facteur VIII recombinant [1, 2]. À ce jour, aucune contamination virale par ces produits n'a été observée. Dans les années 90, la survenue d'un inhibiteur est devenue l'effet indésirable le plus fréquent et le plus grave chez les patients hémophiles. Certains de ces anticorps dirigés contre des épitopes du facteur de coagulation déficitaire entraînent une perte d'efficacité des traitements substitutifs. Dans cette situation, les traitements à visée anti-hémorragique font appel à des médicaments d'utilisation plus difficile, avec souvent une efficacité moindre et dans tous les cas un coût significativement plus élevé. Des traitements substitutifs intensifs appelés régimes d'induction de tolérance immune peuvent être proposés pour les patients qui développent une réponse inhibitrice [3]. Leur but est de moduler l'expression de l'anticorps inhibiteur afin de restaurer l'efficacité des médicaments conventionnels. Classiquement les inhibiteurs apparaissent chez des jeunes enfants atteints d'une hémophilie sévère durant les 50 premières JCPA (*journées cumulées de présence de l'antigène* ou journées cumulées de traitement par préparations de facteur VIII ou IX). Chez ces patients, des incidences cumulées comprises entre 2 et 52% ont été rapportées [4-6]. Cette très grande variabilité peut être expliquée par des différences de populations étudiées, de seuil utilisé pour définir un inhibiteur et de plan d'étude (en particulier de rythme des recherches d'inhibiteur). Dès 1993, l'hypothèse d'une plus forte incidence d'inhibiteur sous produits d'origine recombinante versus produits d'origine plasmatique a été évoquée. D'emblée, la recherche de cette différence a été assignée au Suivi thérapeutique National des Hémophiles (SNH) comme objectif prioritaire. Malheureusement, faute d'un nombre suffisant d'enfants inclus lors de l'initiation du traitement, aucune conclusion formelle n'a encore pu être apportée sur cette question dans le cadre du SNH. Cet échec est d'autant plus regrettable que cette question n'a pas trouvé plus de réponse dans les études menées à l'étranger et que la France, du fait d'une position très dominante sur le marché d'un facteur VIII d'origine plasmatique unique, est probablement un des rares pays où une approche observationnelle était en mesure de répondre à cette question. Les calculs de puissance présentés plus loin montrent qu'avec les niveaux de risques attendus, cette question peut être explorée par une approche épidémiologique classique. Outre l'origine des produits, d'autres facteurs de risque contrôlables ont été évoqués tels : l'âge à la mise sous traitement, les modalités thérapeutiques (notamment prophylaxie versus traitement à la demande, traitement intensif), l'existence de vaccinations ou d'infections récentes. Enfin, le rôle de facteurs génétiques notamment la nature de l'anomalie génétique responsable du déficit est aujourd'hui reconnu. Les anomalies majeures (larges délétions, inversions, présence d'un codon stop) qui s'accompagnent d'une absence totale de facteur VIII ou de facteur IX sont associées à une forte incidence d'inhibiteur. En revanche, les anomalies qui laissent persister un facteur VIII ou IX non fonctionnel (petites délétions, mutations ponctuelles) sont associées à une plus faible incidence d'inhibiteur [7-10]. Pour un même type de mutation, il semble que selon la chaîne et le domaine de la molécule atteints, des différences d'incidences d'inhibiteur puissent aussi être observées. La recherche des effets propres de ces différents facteurs de risque doit s'appuyer sur des techniques d'analyses statistiques multivariées.

Outre l'existence éventuelle d'un anticorps inhibiteur à titre élevé, le facteur essentiel du pronostic à long terme chez l'hémophile est la survenue et la répétition d'hémarthroses qui déterminent le pronostic fonctionnel des patients. Ces hémarthroses peuvent maintenant être en partie prévenues par la mise en œuvre d'un traitement prophylactique dès l'enfance. En effet, les résultats obtenus à l'étranger et les recommandations d'instances internationales (OMS, Fédération mondiale de l'hémophilie) incitent à traiter les enfants hémophiles sévères selon des régimes de

substitution systématique appelés prophylaxie de longue durée [11, 12]. Les modalités optimales de ces traitements (moment de l'initiation et de l'éventuel arrêt, intensité de traitement) et les enjeux médico-économiques à long terme sont mal connus [13, 14] alors que le surcoût immédiat a été évalué à une majoration par un facteur 2 à 3 [15]. Des essais prospectifs randomisés qui posent ces questions sont en cours dans plusieurs pays (États-Unis, Canada, Italie), mais leurs conclusions définitives ne sont attendues que dans plusieurs années.

En 2002, les spécialistes français regroupés au sein de la Coordination Médicale pour l'Etude et le Traitement des Maladies Hémorragiques (Cometh) ont émis des Recommandations Thérapeutiques pour la prophylaxie primaire de longue durée débutée précocement et progressivement intensifiée pour les enfants hémophiles sévères.

En 2002, les pouvoirs publics ont mis en place, dans le cadre d'une convention entre la DGS et l'Inserm, un projet intitulé Réseau FranceCoag. Depuis 2004, l'Institut de veille sanitaire (InVS) remplace l'Inserm dans sa coordination. Ce projet comprend des objectifs de surveillance et de recherche. Suite à un 1^{er} avis en juillet 2002 du Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé, le protocole initial a été scindé en deux : un Protocole général décrivant les objectifs de surveillance, les méthodes correspondantes et l'organisation du Réseau et un Protocole Pups, document présent, décrivant les objectifs de recherche et les méthodes correspondantes.

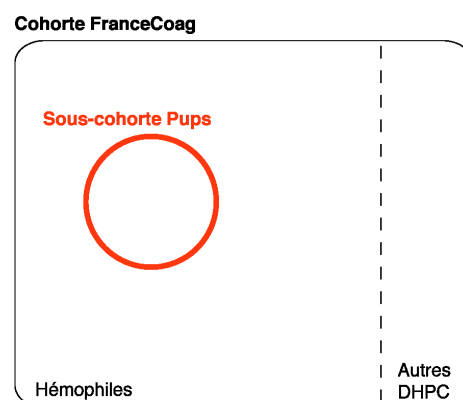
Les deux objectifs de recherche, constitutifs du Réseau FranceCoag, décrits ici sont donc les suivants :

1. Mieux connaître les facteurs de risque d'inhibiteur chez les enfants atteints d'une hémophilie sévère et les modalités de prise en charge des inhibiteurs chez ces patients. L'étude portera à la fois sur les facteurs de risque contrôlables et les facteurs de risque génétiques permettant d'identifier des sous-groupes plus particulièrement exposés.
2. Évaluer la faisabilité, l'observance, la tolérance et l'impact de traitements prophylactiques standardisés, et en particulier de la prophylaxie primaire chez les enfants atteints d'une hémophilie sévère.

L'intégration de ces deux objectifs très différents dans un même protocole est entièrement justifiée par le fait qu'ils nécessitent l'inclusion d'enfants répondant à des critères pratiquement identiques, que l'hémophilie est une maladie rare et que les recommandations cliniques de suivi de ces patients permettent de répondre à ces objectifs.

2. Plan de l'étude

Le Protocole Pups s'appuie sur une sous-cohorte prospective multicentrique d'enfants hémophiles appelée : *Sous-cohorte Pups*. Cette *Sous-cohorte Pups* est comprise dans la *Cohorte FranceCoag* décrite dans le Protocole général et qui a démarré le 27 janvier 2003. Ce suivi purement observationnel s'insère dans le cadre du suivi clinique habituel des enfants sans aucun traitement contrôlé, examen spécifique ou modification du rythme des visites. Tous les centres de traitement spécialisés français sont appelés à participer en incluant dans la *Sous-cohorte Pups* l'ensemble des enfants répondant aux critères d'inclusion.



3. Critères d'inclusion dans la Sous-cohorte Pups

Les enfants atteints d'hémophilie sévère doivent être inclus dans la *Sous-cohorte Pups* avant la 1^{re} injection de facteur VIII ou IX. Si un traitement a dû être instauré dans l'urgence, cette inclusion peut être réalisée avant la 4^e JCPA et/ou si le traitement a été initié depuis moins d'1 mois. Ces enfants sont suivis dans cette sous-cohorte jusqu'à l'âge de 15 ans. Selon la définition de l'*International Society on Thrombosis and Haemostasis*, l'hémophilie sévère correspond à un taux de facteur VIII ou IX < 1 %. Cependant, pour la *Sous-cohorte Pups* un taux < 2 % a été choisi pour tenir compte des incertitudes du dosage initial et de l'intérêt que représente le suivi des enfants ayant un taux de facteur compris entre 1 et 2 %. Au total en France, le nombre d'enfants correspondant à ces critères est

estimé entre 30 et 40 par an. Ainsi, après 15 ans, le nombre de patients inclus dans cette sous-cohorte pourrait atteindre un plateau compris entre 450 et 600 patients.

4. Modalités de suivi des patients

Inclusion des patients

L'inclusion dans la *Sous-cohorte Pups* doit être réalisée aussi rapidement que possible après le diagnostic d'hémophilie sévère chez un enfant. Le même *Formulaire Pups* doit être utilisé pour les visites d'inclusion et les visites de suivi. Un numéro d'anonymat doit être attribué tel que défini dans le Protocole général. Lors de l'inclusion, la période décrite est comprise entre la date de naissance et la date de la visite.

Visites de suivi

Il n'y a pas de calendrier de suivi prédéfini. Néanmoins, à partir de la 1^{re} injection (ou de l'inclusion si elle a été faite après), il est souhaitable que les enfants soient vus tous les 3 mois jusqu'à 150 JCPA conformément à la pratique clinique recommandée et que les formulaires Pups soient complétés à ce rythme.

Au-delà de 150 JCPA, les centres de traitement doivent transmettre au moins une fois par année civile (de préférence lors de la 1^{re} rencontre avec le patient dans l'année civile) des données sur chaque enfant suivi.

Les évènements survenus et les traitements reçus depuis la précédente visite doivent être décrits ainsi que les résultats des examens d'hémostase réalisés. Les modalités de changement de centre et la participation de ces enfants à la Biothèque sont décrites dans le Protocole général.

Cas des enfants suivis antérieurement dans le SNH et/ou dans la *Cohorte FranceCoag*

Les enfants suivis antérieurement dans le SNH et/ou dans la *Cohorte FranceCoag* et répondant aux critères d'inclusion définis pour la *Sous-cohorte Pups* (taux de facteur VIII ou IX < 2 % et inclusion avant la 4^e JCPA et/ou à moins d'1 mois de la date de leur premier traitement) peuvent poursuivre leur suivi dans la *Sous-cohorte Pups* jusqu'à l'âge de 15 ans. Ils doivent effectuer une visite d'inclusion dans la *Sous-cohorte Pups* en conservant leur numéro d'anonymat. Le Protocole Pups doit être présenté et la Note d'information Pups communiquée aux titulaires de l'autorité parentale. La période à décrire lors de la visite d'inclusion dans la *Sous-cohorte Pups* remonte à la dernière visite réalisée dans le cadre du SNH ou dans la *Cohorte FranceCoag*.

5. Organisation des recherches de l'anomalie génétique - volet "Loi Huriet"

Contexte

L'hémophilie A et l'hémophilie B sont dues à des anomalies génétiques diverses qui affectent respectivement le gène du facteur VIII et le gène du facteur IX. Dans l'hémophilie A sévère, l'anomalie génétique la plus fréquente est le phénomène d'inversion de l'intron 22 du gène du facteur VIII, qui est retrouvée chez 45% des patients. On mentionne aussi l'existence d'une inversion beaucoup moins fréquente au niveau de l'intron 1. Des techniques standardisées de Southern blot et de PCR permettent d'identifier spécifiquement ces mutations [16-18]. Pour les patients hémophiles A sévères non porteurs d'une inversion, des anomalies génétiques très variées réparties sur la totalité des 26 exons du gène du facteur VIII peuvent être identifiées par séquençage. Dans l'hémophilie B sévère, les anomalies décrites recouvrent les 8 exons et la région promotrice du gène du facteur IX. L'approche directe du diagnostic génétique chez ces patients nécessite aussi le recours aux techniques de séquençage [19].

La caractérisation de la mutation spécifique pour un patient hémophile sévère peut participer, dans le cadre du soin, à une étude familiale destinée à détecter les femmes conductrices de cette pathologie et répondre aux éventuelles demandes de diagnostic prénatal. Cependant, cet examen biologique n'est pas actuellement effectué de manière

systématique pour tous les patients. En effet, dans certains centres, les cliniciens rencontrent des difficultés pour réaliser cet examen en raison notamment de l'absence de prise en charge financière ou de délais excessifs pour le rendu des résultats. Pour pouvoir intégrer l'anomalie génétique à la recherche concernant les facteurs de risque d'inhibiteur chez tous les patients de la *Sous-cohorte Pups* il a donc été nécessaire de prévoir un volet "loi Huriet" à l'intérieur du Protocole Pups.

Objectif

Connaître l'anomalie génétique responsable de l'hémophilie pour tous les patients de la *Sous-cohorte Pups* afin d'intégrer cette donnée dans la recherche des facteurs de risque d'inhibiteur.

Patients concernés

Tous les patients de la *Sous-cohorte Pups* pour lesquels l'anomalie génétique responsable de l'hémophilie n'a pas été identifiée au préalable et pour lesquels l'accès à la recherche de cette anomalie n'est pas prévue dans le cadre des soins.

Recherches de l'anomalie génétique

Pour les patients hémophiles A sévères, une approche directe est privilégiée et systématisée :

- Recherche systématique en priorité de l'inversion dans l'intron 22 du gène du facteur VIII par technique de Southern blot [16] et par PCR longs fragments [17].
- Recherche du phénomène d'inversion dans l'intron 1 du gène du facteur VIII en deuxième intention selon la technique décrite [18].
- En l'absence de ces phénomènes d'inversion et conformément aux recommandations de *l'International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH)*, l'analyse directe des mutations responsables de l'hémophilie A est réalisée par séquençage systématique et automatique des régions codantes du gène du facteur VIII. Les amorces et les conditions d'amplification ont été établies en collaboration entre le laboratoire de Lyon et les équipes parisiennes des hôpitaux de Cochin et du Kremlin-Bicêtre, afin d'assurer un contrôle de qualité national pour les centres impliqués en France dans cette pathologie.

Pour les patients hémophiles B sévères, l'intégralité des études génétiques est réalisée par une approche directe par séquençage systématique des régions codantes et du promoteur du gène du facteur IX sur le séquenceur LICOR.

Pour tous les patients, si la mutation responsable de l'hémophilie a été identifiée chez un membre de la famille, elle sera recherchée en priorité.

Rendus des résultats

Le résultat de la recherche de mutation sera communiqué au Centre coordinateur sur un formulaire spécifique et au médecin prescripteur qui l'intégrera au dossier médical. Le formulaire de résultat comportera les éléments complets de caractérisation de la mutation de façon standardisée (type, localisation, taille de délétion, éventuel codon stop...) conformément à la nomenclature internationale [20].

6. Transmission des données, contrôle de leur qualité et confidentialité

Contrôle de la qualité des données

La validité des données est sous la responsabilité du clinicien qui a effectué la visite et signé le formulaire et du médecin coordonnateur régional qui organise au niveau régional la participation au Réseau FranceCoag. Une des principales missions du Centre coordinateur est d'aider les cliniciens à améliorer la qualité des données par une

relecture des formulaires reçus au Centre coordinateur et par la comparaison des données reçues aux données sources (dossiers cliniques des patients) lors des visites de monitoring (au moins une par an dans chaque centre de traitement). Compte tenu des objectifs Protocole Pups, ces comparaisons sont réalisées systématiquement sur tous les *formulaires Pups*. Les modalités destinées à assurer la traçabilité des modifications de données de même que les garanties de confidentialité sont décrites dans le Protocole général.

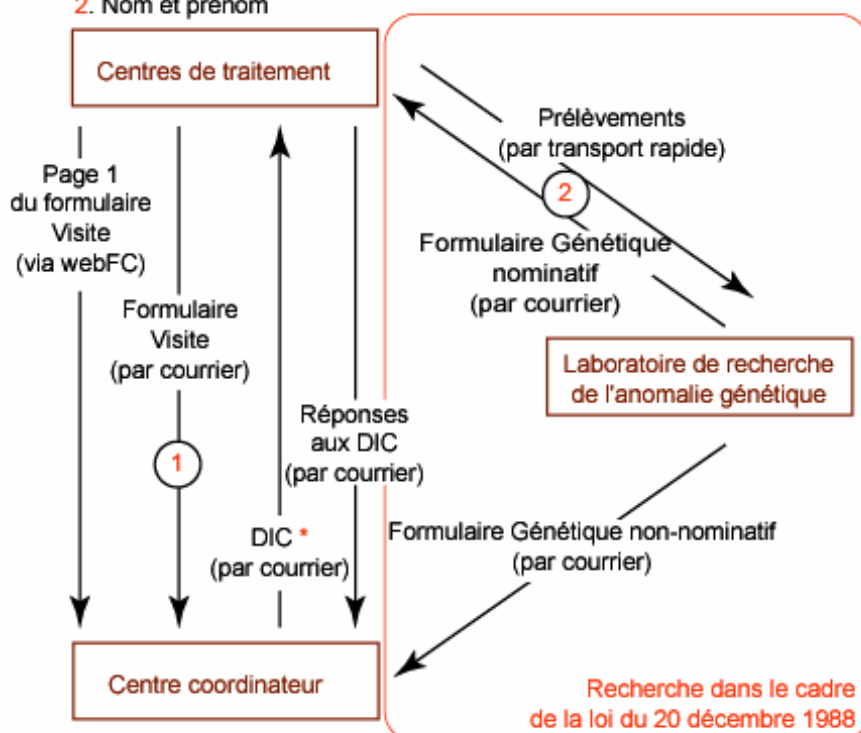
Transmission des données

L'envoi des pages 1 puis du reste des *Formulaires Pups* est décrit dans le Protocole général. Le circuit de l'information dans la *Sous-cohorte Pups* intègre le Laboratoire de recherche de l'anomalie génétique.

Circuit de l'information et identification des données

Toutes les identifications sont basées uniquement sur le numéro d'anonymat, hormis dans les cas 1 et 2 où des informations nominatives sont également utilisées :

1. Date de naissance lors de l'inclusion, année de naissance lors des visites suivantes,
2. Nom et prénom



* DIC : Demande d'informations complémentaires

A terme, un site web sécurisé permettra aux centres de traitement de transmettre en ligne les données des patients qu'ils suivent.

7. Critères de jugement, analyses statistiques et puissance

Objectif 1 : Mieux connaître les facteurs de risque d'inhibiteur et leurs modalités de prise en charge thérapeutique

L'incidence des inhibiteurs selon les différents facteurs de risque recueillis sera analysée sur l'ensemble des patients hémophiles de la *Sous-cohorte Pups* d'une part et dans le sous-groupe des enfants atteints d'hémophilie A sévère d'autre part. Trois événements seront analysés : la survenue d'un inhibiteur quel que soit son titre, la survenue d'un inhibiteur de titre élevé (> 5 UB) et un critère composite associant survenue d'un inhibiteur de titre élevé et/ou mise sous tolérance immune. L'exposition sera mesurée en JCPA.

Les facteurs de risque analysés par un modèle de Cox seront les suivants :

- l'anomalie génétique responsable du déficit,
- l'origine ethnique,
- antécédents familiaux d'inhibiteur,
- l'âge à la mise sous traitement,
- le contexte thérapeutique (en particulier, prophylaxie versus traitement à la demande, intensité du traitement),
- allaitement maternel,
- l'existence de vaccinations dans les semaines précédentes,
- le type de préparation de facteur VIII ou IX.

A titre d'exemple, si l'on souhaite comparer les incidences d'inhibiteur entre les patients traités par produits recombinants (incidence cumulée observée dans les essais internationaux : 30 %) [1, 2] et ceux traités par le facteur VIII LFB (incidence cumulée observée dans l'étude rétrospective publiée : 11 %) [21] avec un risque de 1^{re} espèce à 5%, un déséquilibre de prescriptions recombinants / VIII LFB égal à 5 et 5% de perdus de vue, le calcul montre qu'il faudrait inclure 305 patients (test unilatéral, justifié par l'absence de toute hypothèse en faveur d'un sur risque des produits plasmatisés) ou 386 (hypothèse bilatérale) pour obtenir une puissance de 80%.

Les modes de prise en charge des inhibiteurs seront décrits précisément, en particulier les traitements alternatifs à la substitution de facteurs antihémophiliques et les modalités d'induction de tolérance immune. L'enregistrement systématique de tous les titrages d'inhibiteur et des bilans complémentaires (demi-vie et récupération) chez ces patients permettra de valider l'inhibiteur, de le classer (inhibiteur transitoire, fort ou faible répondeur) et de tenter d'établir des typologies d'évolution naturelle et de réponse au traitement.

Objectif 2 : Evaluer les traitements prophylactiques standardisés

La *Sous-cohorte Pups* permettra de connaître les fréquences et les modalités des différents régimes de prophylaxie (dose et rythme des injections) ainsi que les circonstances d'instauration (âge, antécédents d'hémarthroses, existence d'articulation(s) cible(s), nombre d'articulations déjà atteintes). Les analyses seront essentiellement descriptives. Cependant la publication en 2002 sous l'égide de la Cometh de recommandations thérapeutiques intitulées *Prophylaxie primaire de longue durée débutée précocement et progressivement intensifiée pour les enfants hémophiles A sévères* devrait favoriser une standardisation des modalités de prophylaxie et ainsi permettre des comparaisons. L'évaluation de l'impact à court terme sera basée sur la comparaison de 3 critères en fonction du type de régime substitutif reçu :

- Nombre annuel d'hémarthroses,
- Apparition d'articulations cibles,
- Score orthopédique pédiatrique standardisé [22].

En l'absence de toute hypothèse sur les différences attendues entre ces différentes modalités, il n'est pas possible de calculer un nombre de sujets nécessaire. L'évaluation à court terme comportera aussi des indicateurs simples d'insertion sociale et de qualité de vie. Les aspects limitants la prophylaxie en particulier les problèmes de voies d'abord et leurs complications ainsi que l'observance seront décrits.

À distance, l'étude de l'impact de la prophylaxie comportera un bilan orthopédique basé sur le score clinique, qui pourra être complété par des bilans d'imagerie articulaire dans le cadre de projets de recherche spécifiques. Le bilan orthopédique exprimé sous forme de scores clinique et radiologique pourra être comparé dans des groupes de patients en fonction des modalités de la prophylaxie. La *Sous-cohorte Pups* permettra également de proposer des projets de recherches destinés à l'évaluation de l'impact de la prophylaxie sur la qualité de vie, ce qui requiert l'utilisation de questionnaires spécifiques.

8. Calendrier de mise en œuvre et évaluation d'exhaustivité

Calendrier de mise en œuvre

La *Sous-cohorte Pups* a été mise en place après que les Comités sollicités (Cf. Ci-dessous) aient rendu un avis

favorable. Environ 90 enfants répondant aux critères d'inclusion de la *Sous-cohorte Pups* et antérieurement inclus dans le cadre du SNH devraient être suivis dans la *Sous-cohorte Pups*. Compte tenu du nombre de sujets nécessaire présenté paragraphe précédent et d'une durée moyenne de 5 ans pour atteindre 150 JCPA, une durée d'étude de 10 ans sera nécessaire pour atteindre l'objectif 1. Compte tenu de l'existence de critère de jugement à 15 ans, une durée d'étude d'au moins 15 ans sera nécessaire pour atteindre l'objectif 2.

Évaluation de l'exhaustivité des inclusions

L'exhaustivité des inclusions sera appréciée en fonction de deux références :

- la *Cohorte FranceCoag* dont l'objectif 1 est de connaître de façon exhaustive la population atteinte de maladies hémorragiques dues à des *déficits héréditaires en protéines coagulantes* (DHPC) prise en charge dans les centres de traitement spécialisés. Grâce à cette cohorte, le nombre d'enfants repérés tardivement (au-delà de 3 JCPA) par les centres de traitement spécialisés sera connu.
- l'estimation selon laquelle il naît environ 1 hémophile pour 5000 naissances mâles. Si l'on considère qu'il naît en France 400 000 garçons par an en France et que 1 enfant sur 2 présente une forme sévère (au seuil < 2 %), le nombre attendu d'enfants susceptibles d'être inclus dans la *Sous-cohorte Pups* est de 40 par an.

9. Cadre légal et information des patients

Lois relatives à l'informatique, aux fichiers et aux libertés

Conformément à la loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés et à la loi du 1^{er} juillet 1994 relative aux traitements de données nominatives ayant pour fin la recherche dans le domaine de la santé, les titulaires de l'autorité parentale sont informés que des données concernant leur enfant vont faire l'objet d'un traitement automatisé.

L'information comprend la finalité de l'étude, la nature, les destinataires et la durée de conservation des données, les conditions du droit d'accès et de rectification ainsi que le droit d'opposition. Une note spécifique sert de support écrit à cette information. Elle doit être remise aux titulaires de l'autorité parentale préalablement à la transmission de toute donnée. La date de sa remise est consignée dans le *formulaire Pups*.

La collecte de l'origine ethnique est proposée pour les enfants inclus car cette caractéristique a été retrouvée comme facteur de risque d'inhibiteur dans quelques études. Sa collecte est optionnelle et soumise à la signature préalable d'un consentement spécifique. Ce consentement doit être signé en 3 exemplaires. Les exemplaires destinés au Centre coordinateur doivent être groupés et remis sous plis cachetés aux moniteurs d'études cliniques lors de leur visite dans les centres. Aucune autre donnée considérée comme sensible n'est collectée.

Toutes les mesures sont prises pour garantir l'anonymisation et la confidentialité des données. La Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL) a autorisé la mise en œuvre du Protocole général du Réseau FranceCoag le 10 octobre 2002. Concernant le Protocole Pups, la CNIL a autorisé sa mise en œuvre le 11 septembre 2003. Une 1^{ère} demande de modification a été adressée à la CNIL en novembre 2003 afin de transmettre, par internet, dans un espace hautement sécurisé, les données à caractère personnel des patients inclus dans la *Sous-cohorte Pups*. Un avis favorable a été rendu le 10 décembre 2003. Une 2^{ème} demande de modification a été adressée à la CNIL pour lui signaler que la coordination du Réseau FranceCoag a été confiée à l'InVS depuis janvier 2004.

Loi relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales

Le suivi dans la *Sous-cohorte Pups* s'insère dans le cadre du suivi clinique habituel des patients sans aucun traitement contrôlé, examen spécifique ou modification du rythme des visites. Il ne relève donc pas de la loi du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales, dite loi Huriet.

Cependant la nature de l'anomalie génétique à l'origine de l'hémophilie est un facteur de risque d'inhibiteur. Sa prise en compte est donc indispensable pour mener à bien l'objectif 1 à savoir, mieux connaître les facteurs de risque

d'inhibiteur chez les enfants atteints d'une hémophilie sévère.

Dans certains centres, la détermination de l'anomalie génétique fait partie de la prise en charge habituelle de ces enfants. Cet examen est alors réalisé conformément au décret du 23 juin 2000 fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétiques d'une personne. La transmission secondaire de son résultat dans le cadre du Réseau FranceCoag relève des dispositions communes des lois relatives à l'informatique, aux fichiers et aux libertés.

Dans d'autres centres, les cliniciens rencontrent des difficultés pour réaliser cet examen en raison notamment de l'absence de prise en charge financière. Pour les patients de ces centres inclus dans la *Sous-cohorte Pups*, un volet "Loi Huriet" au présent protocole est mis en œuvre. Cette recherche est considérée comme avec bénéfice individuel direct et son Promoteur est Les Hospices Civils de Lyon.

10. Cadre administratif et financement

Le cadre administratif et le financement du Réseau FranceCoag sont décrits dans le Protocole général.

Une aide financière sera attribuée aux centres de traitement au prorata du nombre d'enfants Pups inclus. Etant donné le délai de mise en œuvre du Protocole Pups par rapport au Protocole général, cette aide sera attribuée début 2005 en fonction du nombre de Pups inclus dans la Sous-cohorte Pups ou la *Cohorte FranceCoag* au cours des années 2003-2004 (comptabilité effectuée sur la base du nombre de formulaires reçus au Centre Coordinateur). Les années suivantes, l'aide attribuée en début d'année N sera calculée au prorata du nombre d'enfants suivis (ou inclus) dans la Sous-cohorte Pups durant l'année N-1 (sous réserve qu'au moins un Formulaire Pups complet ait été reçu au Centre coordinateur).

11. Références

1. Lusher JM, Arkin S, Abildgaard CF, Schwartz RS, and the Kogenate PUP Study Group. Recombinant factor VIII for the treatment of previously untreated patients with hemophilia A. *N Engl J Med* 1993;328:453-9.
2. Bray GL, Gomperts ED, Courter S, Gruppo R, Gordon EM, Manco-Johnson M, et al. A multicenter study of recombinant factor VIII (Recombinate): safety, efficacy, and inhibitor risk in previously untreated patients with hemophilia A. *Blood* 1994;83:2428-35.
3. Hay CRM, Colvin BT, Ludlam CA, Hill FGH, Preston FE. Recommendations for the treatment of factor VIII inhibitors: from the UK Haemophilia Centre Directors' Organisation Inhibitor Working Party. *Blood Coag Fibrinol* 1996;7:134-8.
4. Briët E, Rosendaal FR. Inhibitors in hemophilia A: are some products safer? *Semin Hematol* 1994;31(Suppl 4):11-5.
5. Hay CRM. Why do inhibitors arise in patients with haemophilia A? *Brit J Haematol* 1999;105:584-90.
6. Scharrer I, Bray GL, Neutzling O. Incidence of inhibitors in haemophilia A patients - a review of recent studies of recombinant and plasma-derived factor VIII concentrates. *Haemophilia* 1999;5:145-54.
7. Schwaab R, Brackmann HH, Meyer C, Seehafer J, Kirchgesser M, Haack A, et al. Haemophilia A: mutation type determines risk of inhibitor formation. *Thromb Haemost* 1995;74:1402-6.
8. Ljung RC. Gene mutations and inhibitor formation in patients with hemophilia B. *Acta haematol* 1995; 94 (S1):47-50
9. Oldenburg J, Schroder J, Schmitt C, Brackmann HH, Schwaab R. Small deletion/insertion mutations within poly-A runs of the factor VIII gene mitigate the severe haemophilia A phenotype. *Thromb Haemost* 1998;79:452-3.
10. Tuddenham EGD. Molecular biological aspects of inhibitor development. *Vox Sang* 1999;77:13-6.
11. Nilsson IM, Berntorp E, Lofquist T, Patterson H. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J Intern Med* 1992;232:25-32.
12. Aledort LM, Haschmeyer RH, Pettersson H, Eibl H, Gilbert M, Hilgartner M, et al. A longitudinal study of orthopaedic outcomes for severe factor-VIII-deficient haemophiliacs. *J Intern Med* 1994;236:391-9.
13. Manco-Johnson MJ, Nuss R, Geraghty S, Funk S. Prophylactic program in the united states: experience and issues. *Semin Hematol* 1994;31(2 Suppl 2):10-2.

14. Kreuz W, Escuriola-Ettingshausen C, Funk M, Schmidt H, Kornhuber B. When should prophylactic treatment in patients with haemophilia A and B start? - The German experience. *Haemophilia* 1998;4:413-7.
15. Bohn RL, Avorn J, Glynn RJ, Choodnovskiy I, Haschemeyer R, Aledort LM. Prophylactic use of factor VIII: an economic evaluation. *Thromb Haemost* 1998;79:932-7.
16. Lakich D, Kazazian HH Jr, Antonarakis SE, Gitschier J. Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A. *Blood* 1993;5:236-41.
17. Liu Q, Nozari G and Sommer SS. Single-Tube Polymerase Chain Reaction for Rapid Diagnosis of the Inversion Hotspot of Mutation in Hemophilia A. *Blood* 1998, 92:1458-1459.
18. Bagnall RD, Waseem N, Green PM, Giannelli F. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood* 2002;99:168-74.
19. Attali O, Vinciguerra C, Trzeciak MC, Durin A, Pernod G, Gay V, Menart C, Sobas F, Dechavanne M, Negrier C. Factor IX gene analysis in 70 unrelated patients with haemophilia B: description of 13 new mutations. *Thromb Haemost* 1999;82:1437-42.
20. Antonarakis SE and the Nomenclature Working Group. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. *Hum Mutat* 1998;11:1-3.
21. Goudemand J, d'Oiron R, Rothschild C, Parquet A, Gembara P, Claeysens S, et al. Incidence des inhibiteurs anti-F VIII chez des patients traités par Facteur VIII-LFB. *STV* 1998;10:77-81.
22. Hill FGH, Ljung R. Third and fourth workshop of the European paediatric network for haemophilia management. *Haemophilia* 2003;9:223-8.