République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université d'Oran 1- Ahmed Benbella
Faculté de médecine
Département de Pharmacie

N° d'ordre……

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT D'ETAT EN SCIENCES MEDICALES

« Stratégies diagnostiques, screening et classification de la maladie de Von Willebrand dans l'Ouest Algérien »

Présentée par : Dr BENLALDJ Driss.

Maître assistant en Hémobiologie et Transfusion Sanguine.

<u>Président de jury</u> : Professeur : H. OUELAA.

<u>Membres</u> :

- Professeur : G. HARITI. Faculté de médecine d'Alger.

- Professeur : A. CHALABI Faculté de médecine d'Oran.

- Professeur : N. MERAD BOUDIA Faculté de médecine de Tlemcen.

<u>Directeur de thèse</u> : Professeur F. SEGHIER Faculté de médecine d'Oran.

Année universitaire 2017/2018

Remerciements :

Je tiens à remercier mon Maître et directeur de thèse, le Professeur F. SEGHIER , vous êtes un exemple de sérieux, générosité et dévouement. Vous m'avez guidé dans l'acquisition de mes compétences par vos conseils et directives avisés depuis le premier jour. Votre présence et votre disponibilité m'ont été précieuses, votre exigence et votre souci du détail m'ont incité à approfondir ma réflexion. Permettez-moi de vous exprimer ma reconnaissance, mon estime et mes respects les plus sincères.

Je remercie le président du jury le Professeur H. OUELAA de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, j'en suis touché et reconnaissant.

Je remercie le professeur G. HARITI, le Professeur N. MERAD BOUDIA et le Professeur A. CHALABI pour l'intérêt que vous avez porté au sujet. Vous avez si gentiment et spontanément accepté de faire partie du jury. Vous me faites l'honneur de juger mon travail. Veuillez recevoir l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je remercie le Dr K. MOULASSERDOUN pour votre bienveillance, votre professionnalisme et votre bonne humeur. Je vous prie de croire à l'assurance de ma considération distinguée.

Je remercie le Dr MCA. RAHAL pour votre présence, rigueur et patience durant toutes ces années.

Je remercie le Dr MOUEDENE pour ta présence de tous les jours, ton aide.

J’adresse mes sincères remerciements à tout le personnel du service d’hémobiologie du CHU d’Oran qui ont participé de près ou de loin à l’élaboration de ce travail.

Liste des abréviations :

ADAMTS13 : A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin type 1 repeats, member 13.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADP : Adénosine diphosphate.

AHG : Globuline antihémophilique.

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique.

Arg : Arginine.

ARNm : Acide ribonucléique messager.

ASGPR : Asialoglycoprotein receptor.

Asp : Acide aspartique.

AVWS : La maladie de Von Willebrand acquise.

BS : Score hémorragique.

CLEC4M : C-type lectin domain family 4 member M.

CV : Coefficient de variation très élevé.

Cys : Cystéine.

DDAVP : La desmopressine ou 1-desamino-8-D-arginine vasopressine.

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay.

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique.

FIX : Facteur IX ou facteur anti-hémophilique B.

FMH : La fédération mondiale de l’hémophilie.

FVIIa : Facteur VII activé.

FVIII : Facteur VIII ou facteur anti-hémophilique A.

FVIIIa : Facteur VIII activé.

FVIIIc : Facteur VIII coagulant.

FXa : Facteur X activé.

GEHT : Groupe d'étude en hémostase et thrombose.

Gly : Glycine.

GPIb : Glycoprotéine Ib plaquettaire.

GPIX : Glycoprotéine IX plaquettaire.

GPIIb-IIIa : Glycoprotéine IIb-IIIa plaquettaire.

GPV : Glycoprotéine V plaquettaire.

Hb : Hémoglobine.

His : Histidine.

HSC : Cellule stellaire hépatique.

IEQAS : International External Quality Assessement Scheme.

ISTH : Société international de thrombose et d'hémostase.

ISTH-BAT : Questionnaire hémorragique standardisé proposé par l'ISTH.

Kb : Kilos bases.

LED : Lupus érythémateux disséminé.

Met : Méthionine.

MGUS : Le gammapathie monoclonale de signification inconnue.

OMS : Organisation mondial de la santé.

ONS : Office national des statistiques.

P : Signification statistique.

PCR : Polymérase chaine réaction.

PFA : Platelet Fonction Analyser.

Phe : Phénylalanine.

PLT-VWD : Pseudo Von Willebrand plaquettaire.

PTT : Purpura thrombotique thrombocytopenique.

PPP : Plasma pauvre en plaquettes.

RIPA : Agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (ristocetin-induced platelet aggregation).

rFVIII : Facteur VIII recombinant.

rFVIIa : Facteur VII recombinant.

rVWF : Von Willebrand facteur recombinant.

SDS : Dodécylsulfate de sodium

Ser : Serine.

Siglec-5 : Sialic acid-binding Ig like lectin 5.

SSC-ISTH : Comité Scientifique et de Standardisation sur la maladie de Willebrand de la Société Internationale de Thrombose et d'Hémostase.

SPSS : Statistical Package for Social Sciences.

ST3Gal-IV : Sialyltransférase 3Gal-IV.

TCA : Temps de céphaline avec activateur.

Thr : Thréonine.

TIL: Trypsin inhibitor-like.

TMB : 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine.

TOP : Temps d'occlusion plaquettaire**.**

TP : Taux de prothrombine.

TQ : Temps de Quick.

Tyr : Tyrosine.

VEGF : Facteur de croissance endothélial vasculaire.

VWD : La maladie de Von Willebrand

VWF : Le facteur Von Willebrand.

VWF:Ag : Le facteur Von Willebrand antigénique.

VWF:CB : Facteur Von Willebrand collagène binding.

VWF: FVIIIB : Facteur Von Willebrand facteur VIII binding.

VWF: PB : Facteur Von Willebrand plaquettes binding.

VWF:RCo : L'activité cofacteur de la ristocetine du facteur Von Willebrand.

WPB : Les corps de Wiebel Palade.

µm : Micromètres.

Liste des figures :

Figure 1 : Structure du gène et de la proteine VWF ……. .23
Figure 2 : Représentation schématique des domaines du VWF. …….. . 24
Figure 3 : Structure et maturation du VWF…… .24
Figure 4 : Biosynthèses et stockage du VWF. ……..... …… 26
Figure 5 : Morphologie des corps de Weibel-Palade……. 27
Figure 6: Libération des WPB suite a une stimulation Ca^{2+} dépendante ou AMPc dépendante…….....28
Figure 7 : Mécanisme de clairance du VWF…….. 30
Figure 8 : Rôle du VWF dans l'adhésion des plaquettes au sous endothélium vasculaire et dans l'agrégation plaquettaire…….. 31
Figure 9: Représentation schématique du complexe GpIb-VWF A1……. 34
Figure 10 : Structure tri dimensionnelle du domaine A3 d'après Huizinga (Huizinga et al, 1997) …….. 35
Figure 11: Structure tridimensionnelle du domaine A1. (Emsley et al, 1998) …… 36
Figure 12 : Représentation schématique de l'activité protéolytique d'ADAMTS-13 sur le VWF et le défaut de cette protéolyse dans le PTT……. 39
Figure 13 : Distribution des multimères du facteur Willebrand (VWF) dans le plasma. …… … 53
Figure 14: Localisation des diverses mutations du type 2N de la VWD sur la région N terminal du VWF…… ..62
Figure 15: Droite de Thivolle…… 84
Figure 16 : Arbre décisionnel de la maladie de von Willebrand…… 92
Figure 17 : Répartition de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF:Rco et VWF:Ag selon l'âge…….. 98
Figure 18 : Répartition de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence du VWF:Rco et du VWF:Ag selon le groupe sanguin……. 99
Figure 19 : Répartition de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour le score hémorragique selon le groupe sanguin…….. 102
Figure 20 : Répartition des patients selon l'âge de diagnostic……... 107
Figure 21 : Répartition des patients selon le lieu de résidence…….. 108
Figure 22 : Répartition des patients selon le type de maladie de Von Willebrand…… 108

Figure 23 : Répartition des patients selon la consanguinité…….. .110
Figure 24 : Fréquence de la consanguinité selon chaque type de maladie de Willebrand ……... 110
Figure 25 : Fréquence des antécédents familiaux……. .111
Figure 26 : Fréquence des antécédents familiaux selon chaque type de la maladie de Willebrand…….. 111
Figure 27 : Répartition des patients selon la valeur du score hémorragique…… 114
Figure 28 : Répartition des patients selon leur groupe sanguin ABO…….. 115
Figure 29 : Répartition des patients selon leur taux d'hémoglobine…… 116
Figure 30 : Répartition des patients selon leur taux de plaquettes…… ..116
Figure 31 : Répartition des patients selon la valeur du TCA ratio…… ..117
Figure 32 : Répartition des patients selon le taux de FVIIIc…… 117
Figure 33 : Répartition des patients selon le taux de VWF:RCo…… .118
Figure 34 : Répartition des patients selon le taux de VWF:Ag…… 118
Figure 35 : Répartition des patients selon le taux de VWF:CB…… 119
Figure 36 : Répartition des patients selon leur groupe sanguin ABO……..119
Figure 37 : Répartition des patients atteints de VWD type 2 selon le groupe sanguin ABO…… 124
Figure 38 : Arbre généalogique de la famille 1……..132
Figure 39 : Arbre généalogique de la famille 2……133
Figure 40 : Arbre généalogique de la famille 3……134
Figure 41 : Arbre généalogique de la famille 4……135
Figure 42 : Arbre généalogique de la famille 5……136
Figure 43 : Arbre généalogique de la famille 6……137
Figure 44 : Arbre généalogique de la famille 7……138
Figure 45 : Arbre généalogique de la famille 8……139
Figure 46 : Arbre généalogique de la famille 9……...140
Figure 47 : Arbre généalogique de la famille 10……..141
Figure 48 : Arbre généalogique de la famille 11……..142
Figure 49 : Arbre généalogique de la famille 12……..143
Figure 50 : Arbre généalogique de la famille 13……..144
Figure 51 : Arbre généalogique de la famille 14……..145
Figure 52 : Arbre généalogique de la famille 15……..146
Figure 53 : Arbre généalogique de la famille 16……..147
Figure 54 : Arbre généalogique de la famille 17……..148
Figure 55 : Arbre généalogique de la famille 18……..149
Figure 56 : Arbre généalogique de la famille 19……..150
Figure 57 : Arbre généalogique de la famille 20……..151
Figure 58 : Arbre généalogique de la famille 21……..152
Figure 59 : Arbre généalogique de la famille 22……..153
Figure 60 : Arbre généalogique de la famille 23……..154
Figure 61 : Arbre généalogique de la famille 24……..155
Figure 62 : Arbre généalogique de la famille 25……..156
Figure 63 : Arbre généalogique de la famille 26……..157

Figure 64 : Arbre généalogique de la famille 27……..158
Figure 65 : Arbre généalogique de la famille 28……..159
Figure 66 : Arbre généalogique de la famille 29……..160
Figure 67 : Arbre généalogique de la famille 30……..161
Figure 68 : Arbre généalogique de la famille 31……..162
Figure 69 : Arbre généalogique de la famille 32……..163
Figure 70 : Arbre généalogique de la famille 33……..164
Figure 71 : Arbre généalogique de la famille 34……..165
Figure 72 : Arbre généalogique de la famille 35……..166
Figure 73 : Arbre généalogique de la famille 36……..167
Figure 74 : Arbre généalogique de la famille 37……..168
Figure 75 : Arbre généalogique de la famille 38……..169
Figure 76 : Dépistage du type 2N……..170

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Mode de transmission de la VWD…….. 43
Tableau 2 : Nomenclature du facteur Willebrand…….... 45
Tableau 3 : Diagnostic de la maladie de Willebrand…… .47
Tableau 4: Utilité clinique de la génétique moléculaire dans le diagnostic de la VWD et taux de réussite de la détection des mutations. …… 56
Tableau 5: Mécanismes physiopathologiques des variants moléculaires de la VWD..…… 63
Tableau 6 : Résultats des tests de laboratoires pour le diagnostic de la VWD…….. 65
Tableau 7: Efficacité de la desmopressine dans les différents types de VWD. …… 69
Tableau 8 : Traitement des saignements et des interventions chirurgicales avec un concentré de VWF/FVIII….71
Tableau 9 : Protocole de dilution…… 86
Tableau 10 : Intervalle de référence du fabricant…… 88
Tableau 11 : Intervalle de référence VWF:Rco et VWF:Ag……. 100
Tableau 12 : Valeurs moyennes des VWF:RCo et VWF:Ag chez les sujets de groupe sanguin O et non O de la population témoin…… 100
Tableau 13 : Intervalle de référence du VWF:CB et du VWF:VIIIB fourni avec les réactifs…….101
Intervalle de référence du VWF:CB et du VWF:VIIIB…… 89
Tableau 14 : Résultats de la population des 20 témoins pour la détermination des valeurs de référence pour le VWF:CB et le VWF:VIIIB…… 101
Tableau 15 : Fréquence des signes cliniques chez la population témoin…… 103
Tableau 16 : Moyennes et valeurs de reference du score hémorragique…… .103
Tableau 17 : Valeurs seuils du score hémorragique selon l'âge…… 104
Tableau 18 : Valeurs seuils du score selon le groupe sanguin ABO…… 104
Tableau 19 : Valeurs seuils du score hémorragique selon le sexe…… 104
Tableau 20 : Répartition des patients selon le sexe et le type de VWD (p<0.018)…… 106
Tableau 21 : Moyenne d'âge des patients selon le type de maladie de Willebrand (p<0.0005)……...107
Tableau 22 : Fréquence de la maladie de Willebrand dans l'ouest Algérien……....109
Tableau 23 : Fréquence des signes cliniques dans la population des patients……..112
Tableau 24 : Fréquence des signes cliniques dans les différents types de la maladie de Von Willebrand……113

Tableau 25: Comparaison des résultats du score hémorragique entre patients et témoins…….....114
Tableau 26 : Valeur diagnostique du score pathologique ≥ 3……..... .115
Tableau 27 : Résultats du bilan de dépistage (TP, TCA, Fibrinogène, Plaquettes et taux d'hémoglobine)…….120
Tableau 28 : Résultats des tests spécifiques et spécialisés dans le type 1 et le type 1 probable de la VWD……... 121
Tableau 29 : Corrélation de Pearson entre les résultats des différents tests diagnostic chez les patients de type 1…… 122
Tableau 30 : Comparaison entre les moyenne du VWF:RCo, VWF:Ag et le score hemorragique des sujets de groupe sanguin O et Non O…….....123
Tableau 31: Résultats du bilan de dépistage (TP, TCA, Fibrinogène, Plaquettes et taux d'hémoglobine)…… 125
Tableau 32 : Résultats des tests spécifiques et spécialisés…… 126
Tableau 33 : Corrélation de Pearson……. 127
Tableau 34 : Comparaison entre les moyenne du VWF:RCo, VWF:Ag et le score hemorragique des sujets de groupe sanguin O et Non O…….....128
Tableau 35: Résultats du bilan de dépistage (TP, TCA, Fibrinogène, Plaquettes et taux d'hémoglobine…… 129
Tableau 36 : Résultats des tests spécifiques et spécialisés…… 130
Tableau 37 : Résultats du bilan biologique du patient atteint de la MVW acquise……131
Tableau 38 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 1…… 132
Tableau 39 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 2…….133
Tableau 40 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 3……... 134
Tableau 41 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 4……135
Tableau 42 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 5……. .136
Tableau 43 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 6……137
Tableau 44 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 7……...138
Tableau 45 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 8……139
Tableau 46 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 9……140
Tableau 47 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 10……..141
Tableau 48 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 11……..142
Tableau 49 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 12……..143
Tableau 50 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 13……..144
Tableau 51 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 14……..145
Tableau 52 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 15……..146
Tableau 53 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 16……..147
Tableau 54 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 17……..148
Tableau 55 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 18……..149
Tableau 56 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 19……..150
Tableau 57 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 20……... .. 151
Tableau 58 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 21……..152
Tableau 59: Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 22……...153
Tableau 60 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 23……..154
Tableau 61 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 24……..155

Tableau 62 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 25……..156
Tableau 63 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 26……..157
Tableau 64 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 27……..158
Tableau 65 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 28……..159
Tableau 66 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 29……..160
Tableau 67 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 30……..161
Tableau 68 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 31……..162
Tableau 69 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 32……..163
Tableau 70 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 33……..164
Tableau 71 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 34……..165
Tableau 72 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 35……..166
Tableau 73 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 36…… .167
Tableau 74 : Résultats biologique de l'enquête familiale de la famille 37…… . .168
Tableau 75 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 38…….. 169
Tableau 76 : Comparaison des résultats du VWF:Ag des témoins de notre étude avec ceux de l'étude de Gill et al de 1987…… 174
Tableau 77 : Comparaisons des intervalles de références pour le VWF:VIIIB…… …176
Tableau 78 : Comparaisons des intervalles de références pour le VWF:CB…… …177
Tableau 79 : Comparaison de notre étude avec celle de Tosseto et al de 2006……..178
Tableau 80 : Comparaison de notre étude avec celle de Rodeghiero et al 2005……....179
Tableau 81 : Comparaisons des fréquences des différents types de VWD……....180
Tableau 82 : Comparaison des fréquences des signes cliniques de nos patients avec l'étude Scandinave……183
Tableau 83 : Comparaison des fréquences des signes cliniques de nos patients avec l'étude Italienne et Iranienne…….. 185

SOMMAIRE

CHAPITRE I : PARTIE THEORIQUE.

I – Introduction……...17

II – Historique……19

III – Le facteur Von Willebrand (VWF)……..23

A – Génétique……...23

B – Structure et Maturation……24

C - Le stockage. ……. 27

D – La sécrétion……28

E- Clairance……..29

F– Rôle du VWF dans l'hémostase…….....30

1 – Transport et stabilisation du FVIII……32

2 – Interactions avec les plaquettes et le collagène du sous endothélium…….32

3 – Force de cisaillement et VWF…… 33

4- Autres fonctions……34

G - Régulation du facteur Von Willebrand……..36

1 - Profil de glycosylation……..37

2 - ADAMTS-13……..38

H – Variations physiopathologiques du VWF……..40

IV – Maladie de Von Willebrand……..41

A – Définition clinique……41

B – Manifestations cliniques……41
C – Transmission……42
D – Diagnostic biologique……44
1 - Prélèvements……45
2 - Examens biologiques……46
E – Classification……..57
1 – le type 1……..57
2 – le type 3……..59
3 – le type 2……..59
4 - Maladie de Von Willebrand acquise……63
F - Diagnostics différentiels……66
1- Le sujet normal……..66
2- Pseudo Willebrand plaquettaire……..66
3- Hémophilie A……. 67
G – Traitement……67
1- Desmopressine ou 1-desamino-8-D-arginine vasopressine (DDAVP)…….68
2- Concentrés plasmatiques de VWF……...70
3 - VWF recombinant…… 71
4 - Traitement au cours de la grossesse……...72
5 - Traitement des VWD de type 3 avec allo-anticorps……72
6 - L'acide tranexamique……...73
7 - Traitement hormonal……73
H – Diagnostic prénatal……. 73

CHAPITRE II : PARTIE PRATIQUE.

I – Problématique (et hypothèse de recherche)……75
II – Objectifs…… 77
A - Objectif principal……...77
B - Objectifs secondaires……77
III - Population et méthodes……. 78
A - Type et cadre de l'étude……78
B - Populations étudiées……. 78

1- Population des patients……..78

2- Population témoin……..78

C – Méthodes……81

1 -Recueil des données et anamnèse…… 81

2 - Phase préanalytique……..82

3 - Phase analytique……83

4 - Phase post analytique : Classification…….93

5- Techniques d'exploitation des résultats……..97

IV – Résultats……..98

A - Population témoin……..98

1 - Résultats de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF : Rco et VWF : Ag……98

2 - Résultats de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF:CB et VWF:VIIIB……..100

3 - Résultats de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence du score hémorragique……..102

B - Population des patients……106

1- Population des 96 patients diagnostiqués atteints d'une VWD……...106

a- Répartition des patients selon le sexe…….106

b- Répartition des patients selon l'âge de diagnostic…….107

c- Répartition des patients selon le lieu de résidence…….108

d- Répartition des patients selon le type de maladie de Von Willebrand…….108

e- Fréquence de la maladie de Willebrand dans l'Ouest Algérien……109

f- Répartition des patients selon la consanguinité……..110

g- Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux…… 111

h- Caractéristiques cliniques de la population des patients……112

i- Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients.115

j- Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et type 1 probable……...119

k- Caractéristiques phénotypique biologique de la population des patients de type 2……124

l- Comparaison entres les caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et de type 3…… 129

m- Maladie de Von Willebrand acquise……... 131

2- les enquêtes familiales……..132

3- Dépistage du type 2N chez les 39 patients hémophiles A modérés et mineurs réévalués……170

V- Discussion et commentaires……172

A – Populations témoins……. 173

1- Population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF:Rco et VWF:Ag……173

2- Population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF:CB et VWF:VIIIB……..175

a - VWF:VIIIB……175

b - VWF:CB……..176

3- Résultats population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour le score hémorragique……178

B- Population des patients……179

1- Population des 96 patients diagnostiqués atteints d'une VWD……..179

a- Caractéristiques générales des patients……..179

b- Répartition des patients selon le type de la maladie de Von Willebrand….180

c- Fréquence de la maladie de Willebrand dans l'Ouest Algérien……181

d- Répartition des patients selon la consanguinité……..182

e- Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux……...182

f- Caractéristiques cliniques de la population des patients…….. 183

g- Caractéristiques phénotypiques biologiques des patients……..186

h- Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et type 1 probable……..188

i- Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 2…… 190

1- Résultats du bilan biologique……190

2- Corrélation de Spearman entre les résultats des différents tests diagnostiques chez les patients de type 2……190

3- Comparaison entre les moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag et le score hémorragique des sujets de groupe sanguin O et Non O chez les patients de type 2……..190

j- Comparaison entres les caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et de type 3. ……191

k- Maladie de Von Willebrand acquise. ……..192

2- les enquêtes familiales……193

a – Familles de Willebrand Type 1……193

b – Familles de Willebrand Type 1 probable……193

c – Familles de Willebrand Type 2. ……194

d – Familles de Willebrand Type 3. ……. 196

3- Dépistage du type 2N chez les 39 patients hémophiles A modérés et mineurs réévalués……196

VI – Limites de l'étude…… 197
VII – Perspectives. ……...197
VIII – Conclusion. …… 198

CHAPITRE I

PARTIE THEORIQUE

I - Introduction :

La maladie de Von Willebrand (VWD) est la maladie hémorragique constitutionnelle la plus fréquente dans le monde, 1% de la population générale est atteinte de ce trouble hémorragique. Elle touche les deux sexes et est causée par un déficit et/ou un dysfonctionnement du facteur Von Willebrand (VWF) [1].

Selon la première enquête épidémiologique sur la prévalence de la VWD réalisée par Rodeghiero et al [2] (population de 1218 enfants âgés de 11 à 14 ans), la prévalence de la VWD dans la population générale était de 0.82% tous types confondus. Aussi, l'étude de Wemer et al retrouve une prévalence de 1.3% et cette prévalence n'est pas limitée à un seul groupe ethnique. [3]

La VWD peut être cliniquement silencieuse. En effet, en 1998, l'enquête sur la prévalence des sujets symptomatiques atteints de VWD a révélé que les formes symptomatiques étaient moins fréquentes, environ 100 cas pour 1 million d'habitants versus 3-5 cas par millions d'habitants pour les formes sévères [4].

La VWD est liée à une anomalie du VWF qui est une glycoprotéine multimérique très complexe [5]. En hémostase, le VWF a deux fonctions principales: il est responsable de l'attachement des plaquettes au sous endothélium vasculaire ainsi, il permet la formation du clou plaquettaire, et il assure également le transport du facteur VIII (FVIII), sa protection de la protéolyse lui permet ainsi de le concentrer au site de l'hémostase [6]. Plusieurs études ont été menées pour comprendre sa structure et son rôle en hémostase, ce qui a permis de démontrer l'importance du VWF dans les interactions impliquant les plaquettes et le sous endothélium à différentes forces

de cisaillement. Le VWF est capable aussi, au-delà de l'hémostase, d'induire des voies de signalisation cellulaire. Il est associé à plusieurs autres processus physiopathologiques tels que l'angiogenèse, l'inflammation, l'apoptose des cellules tumorales et les métastases. [7]

La VWD est de transmission autosomique dominante parfois récessive mais peut aussi être acquise (premier cas de VWD acquise décrit en 1968 [8]).

Cette maladie est très hétérogène dans son expression phénotypique, clinique et biologique et les manifestations hémorragiques sont variées et principalement caracterisées par des hémorragies cutanéomuqueuses. Cette hétérogénéité est à la base de la classification de la VWD. Il existe trois types de la VWD selon la nature du déficit en VWF, le type 1 (déficit quantitatif partiel), le type 3 (déficit quantitatif total) et le type 2 qui révèle le plus de variabilités génétiques (déficit qualitatif). [9]

Le diagnostic de la VWD est basé sur une évaluation de la sévérité des signes cliniques et sur une série des tests biologiques antigéniques et fonctionnels variés, en constante évolution qui imposent la mise en place d'une stratégie de diagnostic adaptée [10]. Mais en pratique, la mesure du VWF antigénique (VWF:Ag) et celle de l'activité cofacteur de la ristocetine (VWF:Rco) continuent d'être les tests diagnostiques les plus importants et ceci malgré l'évolution de la compréhension de la génétique moléculaire de la VWD. Le test génétique en tant qu'élément du diagnostic est limité à certains sous-types. [10] [11]

Une bonne démarche diagnostic est la clé du dépistage des patients et permet ainsi de leur proposer un suivi et une prise en charge thérapeutique spécialisée pluridisciplinaire et, suivant la sévérité de la maladie, le traitement des patients atteints de la VWD a pour objectif l'arrêt des saignements et leurs préventions en cas de challenges hémostatiques. Il a été relativement inchangé et repose toujours sur la stimulation de la libération de VWF endogène avec de la desmopressine et la perfusion de concentrés de VWF [12] [13]. [14]

Afin d'améliorer et faciliter le dépistage et la prise en charge thérapeutique adaptée aux patients atteints de la VWD dans l'Ouest Algérien, il est nécessaire d'établir à notre niveau une stratégie diagnostique claire avec des critères bien définis basés sur les recommandations internationales actuelles et les données de la littérature.

II - Historique :

En **1926**, sur l'île de Föglö dans l'archipel d'Åland dans la mer Baltique, un médecin anatomiste , physiologiste et interniste finlandais, le Dr. Erik Von Willebrand (1870-1949), a décrit les premiers cas d'une maladie hémorragique héréditaire qui porte maintenant son nom, la maladie de Von Willebrand (VWD). Celle-ci est désormais reconnue comme le trouble hémorragique héréditaire le plus répandu chez l'Homme [2] [3].

C'est en **1924** que le Dr. Von Willebrand a examiné le propositus, une petite fille de 5 ans appelée Hjørdis d'un village des îles Åland. Elle est née d'un mariage consanguin et ses deux parents appartenaient à des familles ayant des antécédents hémorragiques. Quatre de sa fratrie étaient décédés d'un saignement incontrôlé à un âge précoce. Intrigué par la maladie de la fille et par son histoire familiale, Von Willebrand a parcouru les îles Åland pour étudier davantage la famille. Il a établi l'arbre généalogique et a constaté que 23 des 66 membres de la famille avaient des problèmes de saignement et que les femmes étaient plus affectées que les hommes [15].

Dans son article publié en **1926** [15], Il a décrit un trouble hémorragique héréditaire qui se manifeste par un saignement excessif au niveau des muqueuses et de la peau affectant une famille nombreuse des îles Åland, en Scandinavie ; il pensait que la cause sous-jacente de ce saignement était un dysfonctionnement grave des plaquettes combiné avec une anomalie de la paroi des vaisseaux, il nomma la maladie pseudohémophilie héréditaire [15]. Nous savons maintenant que la famille "S" était affectée par la VWD de type 3, qui est la forme la plus sévère de la maladie [16].

En **1928**, George Richards Minot, un physicien et hématologue Américain a décrit des familles similaires à Boston [17].

Désignée sous le terme pseudohémophilie, la principale différence avec l'hémophilie classique

était un temps de saignement allongé et les signes cliniques majeurs étaient des saignements gastro-intestinaux, urinaires et utérins. Les hémarthroses étaient rares et la condition s'améliorait avec l'âge.

En **1933**, Willebrand et Rudolf Jürgens, un hématologue Allemand en utilisant le thrombomètre capillaire conçu par Jürgen et ses collègues, ont conclu que la tendance au saignement chez les patients de Von Willebrand était causée par une fonction perturbée des thrombocytes, ce qui leur a permis de suggérer la désignation de 'thrombopathie constitutionnelle' [18].

A ce stade, l'hémophilie classique était expliquée par la présence dans le sang d'un anticoagulant. Et ce n'est que vers **1937** que Patek et Taylor découvrent que l'hémophilie est, au contraire, caractérisée par l'absence d'un composant plasmatique participant normalement à la coagulation nommée : la « globuline antihémophilique » AHG [19] (aujourd'hui appelé F VIII).

Entre **1944 et 1946**, Edwin Cohn met au point une technique de fractionnement du plasma et montre les propriétés antihémophiliques d'une fraction sanguine nommée « fraction I » [20].

Avec la mise en place des techniques de dosage du facteur AHG, Alexander et Goldstein en **1953** ont découvert que le taux de l'AHG (FVIII) était diminué dans la VWD [21]. La même année, Larrieu et Soulier [22, 23], décrivent une maladie hémorragique caractérisée par un allongement du temps de saignement, associé à un déficit en facteur VIII. Elle fut dénommée 'hémophilie vasculaire'.

Vers la fin des années **1950**, Margareta et Birger Blombäck ont commencé à produire la fraction 1-0, testée pour la première fois en **1956** par M. Nilsson sur un jeune patient avec un saignement mortel. Le saignement a été arrêté immédiatement, l'activité du facteur VIII a augmenté à un niveau élevé et le temps de saignement a été normalisé de manière miraculeuse. Le produit a été fabriqué à partir de plasma frais et plus tard de plasma congelé avec la méthode qu'ils ont tous les deux développés. [24]

En **1957**, Nilsson a repris le diagnostic des familles des îles Aaland, et les résultats ont montré la coexistence de l'allongement du temps de saignement et du déficit en FVIII elle a conclu que l'hémostase altérée était due à l'absence d'un facteur plasmatique différent du facteur impliqué dans l'hémophilie [25].

En **1963**, Biggs et Matthews ont démontré que la synthèse de l'AHG nécessitait deux étapes biochimiques sous contrôle génétique séparé. La première sous le contrôle d'un locus autosomal, produisant le facteur Von Willebrand qui induit l'adhésion plaquettaire. Le VWF est aussi le substrat de la deuxième étape qui est sous le contrôle d'un chromosome X qui produit le facteur VIII [26].

Cependant, ce n'est qu'en **1971**, avec le développement d'un test immunologique pour différencier le VWF et le FVIII que les caractéristiques de la maladie de von Willebrand et de l'hémophilie A ont été clarifiées (Zimmerman et al. 1971) [27].

La ristocétine est devenue un nouvel outil dans l'investigation de l'aggregation plaquettaire grâce à Howar et Firkin en **1971** qui observèrent que la ristocétine antibiotique, agglutinait les plaquettes saines et pas celles de patients atteints de VWD [28].

En **1974** Jaffe et al ont démontré que le facteur Willebrand est une glycoprotéine synthétisée par les cellules endothéliales [29].

A la fin des années 70, l'application des tests VWF:Ag et VWF:Rco a permis de caractériser plusieurs types de la VWD.[30]

En **1981**, Ruggeri ZM et Zimmerman TS ont conclu que les caractéristiques cliniques de la maladie de Von Willebrand étaient associées à une série d'anomalies biologiques reflétant une hétérogénéité significative au niveau de la structure / fonction du FVW [31] [32].

En **1985,** Sporn et al ont démontré la synthèse du FVW par les mégacaryocytes [33].

C'est le clonage simultané de l'ADNc VWF par quatre laboratoires en **1985** qui a initié les progrès que nous avons observés dans la caractérisation moléculaire de la VWD au cours des 27 dernières années [34] [35] [36] [37].

Le collagène binding test est utilisé en **1986**, il explore la liaison du VWF au collagène [38].

Des formes variantes de VWF étaient présentes chez certains patients et en **1987,** les tests phénotypiques détaillés disponibles ont conduit a la sous-classification de 11 variants de VWD de type 1 et 13 variants de type 2. [39]

Shelton-Inloes et coll. (**1987**) ont confirmé la localisation du gène du VWF sur le chromosome 12 et ont identifié une séquence homologue sur le chromosome 22 [40]. Le gène du VWF (~180kb) est localisé sur le chromosome 12 et comprend 52 exons (Mancuso et al, **1989**) [41].

En **1989**, Brinkhous KM et al ont étudié les fonctions plaquettaires par méthode enzymologique. [42]

Koedam et al **1990** ont démontré que Le VWF plasmatique, en se liant au FVIII, cofacteur essentiel de la génération de FXa, le protège d'une dégradation enzymatique. [43]

En **1990**, Mancuso et al, ont effectué l'analyse structurale du gène et le pseudogène du VWF humain par PCR. [44]

En **1992**, et à partir du cryoprécipité ont été préparés la préparation de 2 concentrés distincts: un concentré de facteur VIII et un concentré de facteur Willebrand. [45]

Le Comité Scientifique et de Standardisation (SSC) sur la maladie de Willebrand de la Société Internationale de Thrombose et d'Hémostase (ISTH) a proposé en **1994,** la classification de la VWD: le type 1 : déficit quantitatif partiel, le type 2 : déficit qualitatif et le type 3 : déficit quantitatif total [46].

En **1996**, ADAMTS13 "A Disintegrin-like And Metalloprotease with Thrombospondin repeats" de la famille des metalloproteases a été identifiée, elle a un rôle régulateur du VWF. [47]

La structure tridimensionnelle du domaine A1 du VWF constituée par les acides aminés E1260 à G1479 (Glu497 à Gly716) a été étudiée par cristallographie dès **1998** [48].

En **2004**, des étapes complémentaires de sécurité virale ont été rajoutées dans le procédé de fabrication des concentrés de VWF plasmatique, le WILFACTIN® (flacons de VWF) et le WILSTART® (flacons de VWF et FVIII) [49].

Ce n'est qu'en **2006**, que le score hémorragique a été standardisé et une nouvelle classification a été proposée [50].

Les études les plus récentes se tournent vers l'étude moléculaire des cohortes historiques pour identifier les mutations du VWF si elles existent pour mieux comprendre la relation structure fonction de cette proteine.

III – Le facteur Von Willebrand (VWF) :

Le VWF est une glycoprotéine multimérique. Il est présent dans le plasma sanguin, la matrice sous endothéliale, stocké dans les granules de Weibel–Palade des cellules endothéliales et les granules alpha des plaquettes. [51][5]

A – Génétique:

Le gène du VWF est localisé sur le bras court du chromosome 12 en position 12p13.3; il est constitué de 52 exons pour une taille de 178 kb (figure 1) [52].

L'ARNm d'une taille de 9 kb code pour la synthèse d'un pré pro-VWF de 2 813 acides aminés (figure 1). Cette molécule précurseur est constituée d'un peptide signal de 22 acides aminés, d'un propeptide de 741 acides aminés, et de la sous- unité mature de 2 050 acides aminés. [53]

Il existe un pseudogène en position 22q11.2 d'une taille de 25 Kb (figure 1), il correspond a l'intron 23 à 34 du gène du VWF. Ce domaine du gène de VWF code les domaines A1 A2 A3 (figure 1 et 2) qui contiennent le site de liaison à la glycoprotéine plaquettaire GPIb et collagène et aussi le site de clivage par ADAMTS 13. Le gène et pseudogène VWF diverge seulement de 3.1%.

L'existence d'un pseudogène complique l'analyse moléculaire du VWF. [54]

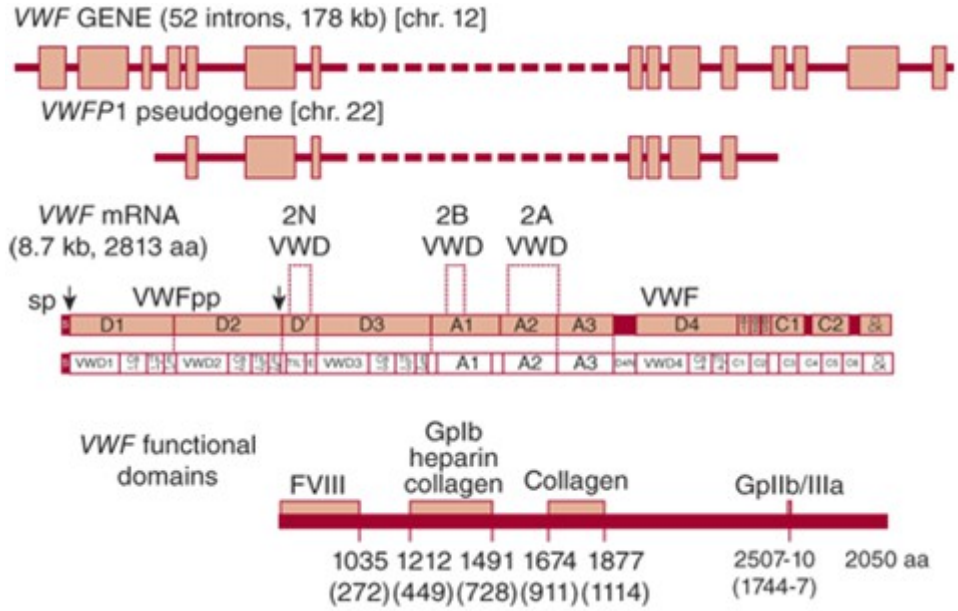


Figure 3 : Structure du gène et de la proteine VWF [55]

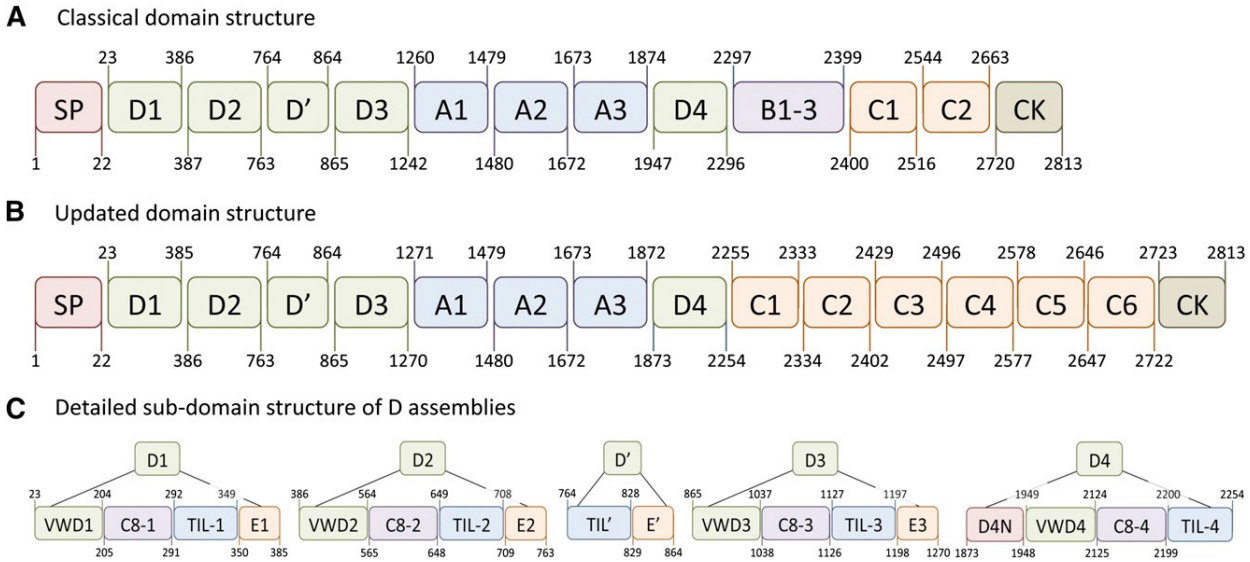


Figure 4 : Représentation schématique des domaines du VWF. [51]

B – Structure et maturation:

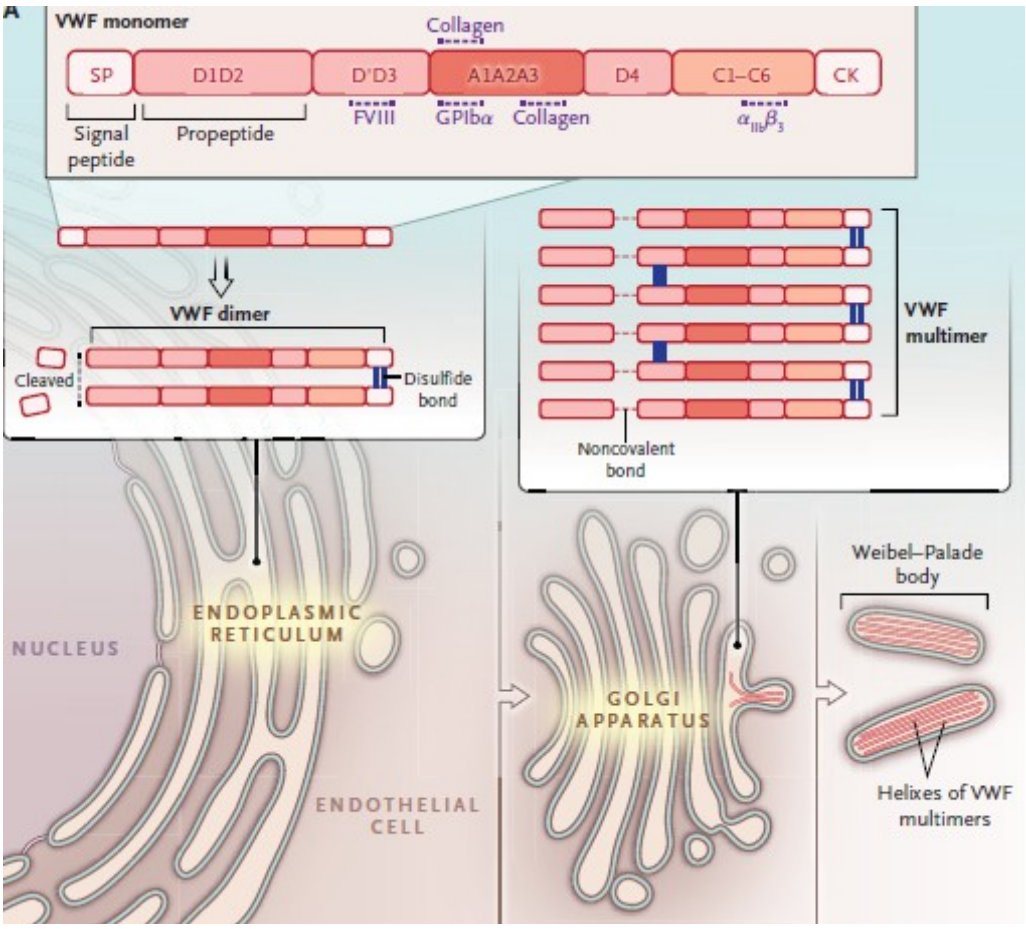


Figure 3 : Structure et maturation du VWF. [56]

Le VWF subit une première étape de protéolyse par un signal peptidase (figure 1), libérant le pro-VWF constitué de la répétition de 4 ou 5 exemplaires de quatre types de domaines A, B, C et D, et qui représentent 90% de la protéine. Cet arrangement de 5 structures de domaines différents est décrit selon l'analyse originale de la séquence VWF revue par Pannekoek et Voorberg (figure 2 A). [57]

Une autre organisation des domaines a été récemment proposée par Zhou et al (figure 2 B et figure 3) [58]. La différence avec la structure originale est le remplacement de la région de domaine B1-3-C1-C2 par 6 domaines C homologues.

L'analyse des domaines D a révélé qu'ils se composent de plusieurs structures indépendantes, (figure 2 C). Les domaines D1, D2 et D3 contiennent chacun un domaine VW (Von Willebrand), une structure de type inhibiteur de trypsine (TIL: Trypsin inhibitor-like), un pli C8 et un module E. Dans le domaine D' manque le domaine VW et le pli C8 et pour le domaine D4, il n'ya pas de module E, mais il existe une séquence unique désignée D4N. [59]

La protéine VWF contient un pourcentage élevé de ponts disulfure 8.3%, 4 fois supérieur à la moyenne des protéines humaines. Il existe également des résidus cystéine libre, selon Shapiro et al ces résidus sont essentiels au pliage et sécrétion de la protéine. [60]
Après le clivage du peptide signal, (figure 5.1 et 4), le propeptide subit dans le réticulum endoplasmique une dimérisation et glycosylation. Deux sous unités de pro VWF s'engagent d'abord dans une liaison covalente par l'intermédiaire de 3 paires de Cystéines inter chaines situées dans le nœud cystéine C terminal (CK domaine). Cette liaison lui confère une stabilité à long terme. Une deuxième liaison covalente des pro VWF par ponts disulfure impliquant les cystéines du domaine D3. [51]

Dans l'appareil de Golgi, la multimérisation a lieu via des ponts disulfures qui associent les extrémités adjacentes des domaines D3 N-terminaux, un processus catalysé par le propeptide (figure 4.2). Alors que le processus de multimérisation a lieu, les multimères en expansion s'organisent en une structure hélicoïdale droite permettant un compactage à 100 fois de la protéine.
Dans cette structure hélicoïdale du pro VWF, les domaines D1-D2 et les domaines D'-D3 forment la paroi du tube creux. Le reste de la protéine VWF (domaines A1-CK) fait saillie vers l'extérieur de l'architecture hélicoïdale.
Pendant le passage du VWF à travers l'appareil de Golgi, il se déroule une maturation des glycannes N-liés et O-liés. Ces derniers peuvent porter les déterminants glucidiques des groupes sanguins ABO (H) mais seulement sur les glycannes de la sous unité mature. Treize pourcent des glycannes N-liées et 1% des glycannes O-liées peuvent porter ces déterminants de groupe sanguin ABO. Le VWF plaquettaire contient moins de 50% d'acide sialique. Il exprime l'antigene H mais pas l'antigene A et B.
L'analyse du VWF endothélial a révélé la présence de très nombreux multimères VWF qui dépassent la taille des multimères trouvés dans le plasma. [51]

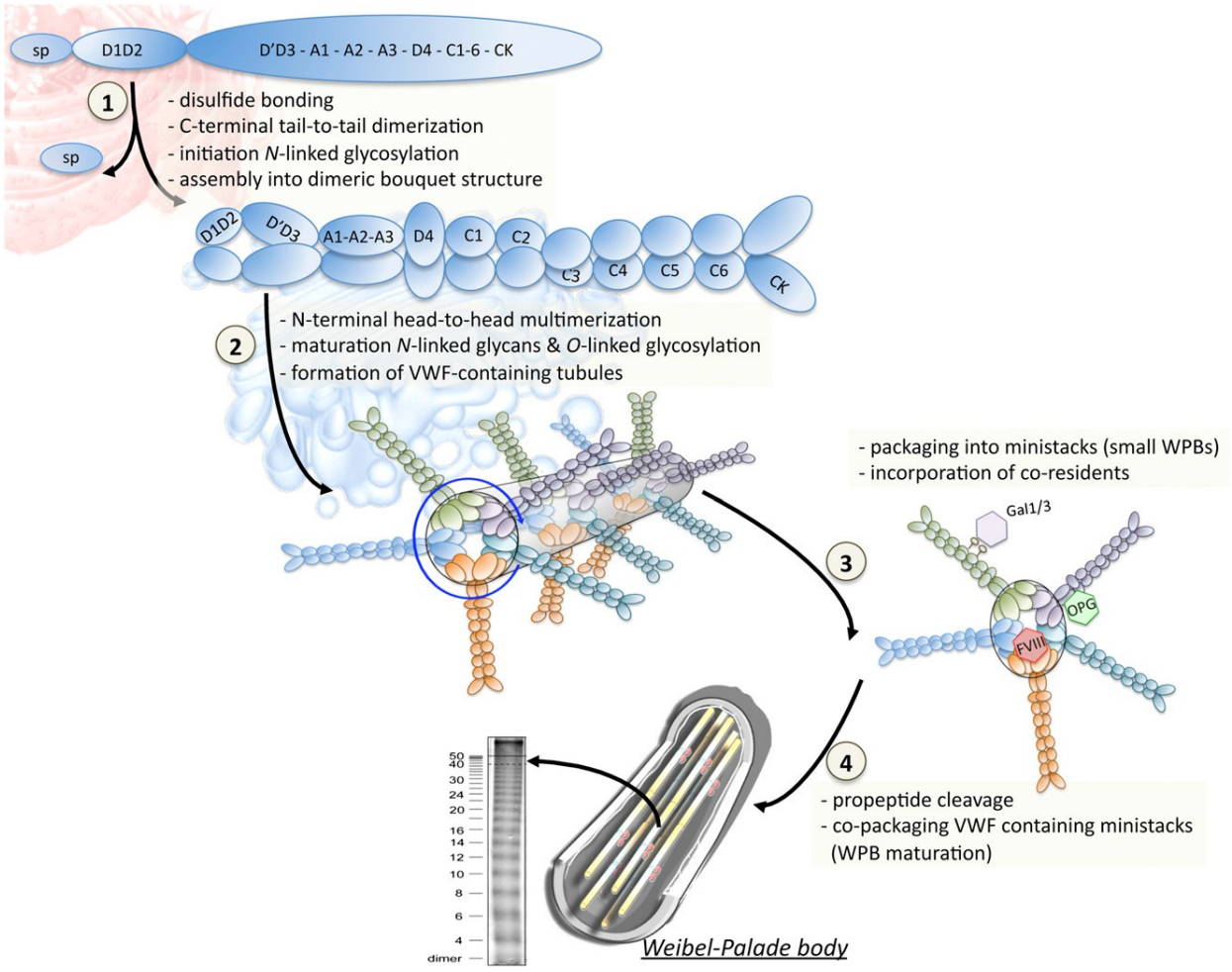


Figure 4 : Biosynthèse et stockage du VWF [51].

C - Le stockage:

Les corps de Wiebel Palade WPB (figure 5) sont les granules de stockage du VWF dans la cellule endothéliale, tandis que dans les plaquettes le VWF se trouve dans les granules alpha. [61] [62]

La génération de WPB est dépendante du VWF à l'inverse des granules alpha plaquettaires qui peuvent produire du VWF même s'il est absent du plasma.

Les tubules VWF s'assemblent en une structure appelée en anglais « ministiks » qui représentent le précurseur du WPB (figure 4.3), dans le réseau Trans-Golgien, l'empaquetage

des structures « ministiks » contenant des VWF favorise la maturation et la formation de WPB (figure 4.4). [51]

Liu-Roberts et al ont montré la présence de couches de clathrine sur les WPB naissantes et ont révélé que le complexe tétramérique des protéines adaptées, associé à la clathrine AP-1 est essentiel à leur formation, [63] l'absence de ce complexe entraine une augmentation de la sécrétion basale et la diminution de la sécrétion régulée.

Knop et al ont monté également que le Rab3D est impliqué dans la biogenèse des WPB [64].

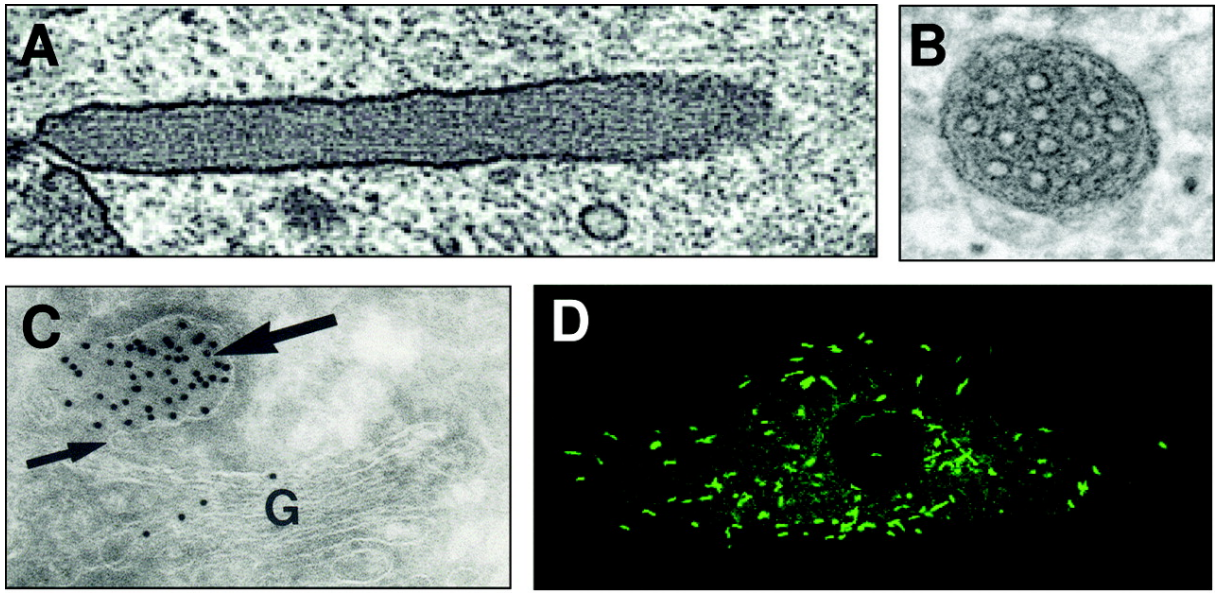


Figure 5 : Morphologie des corps de Weibel-Palade. (A) micrographie électronique de WPB induite par l'expression de VWF dans des cellules HEK293 montrant l'alignement parallèle des striations internes. (B) section transversale de WPB révèle la composition tubulaire de WPB. (C) l'immunocoloration avec un antisérum anti-VWF révèle le bourdonnement du WPB nouvellement formé (grande flèche) du réseau trans Golgien (G). La membrane limite entre WPB et le réseau trans-Golgi est indiquée par une petite flèche. (D) Distribution de WPB dans une cellule endothéliale en repos exprimant GFP-VWF. [65]

D – La sécrétion :

Alors que les granules alpha libèrent le VWF principalement lors de l'activation des plaquettes, les cellules endothéliales combinent une libération basale et réglementée des WPB [51].

On pensait que la sécrétion du VWF était principalement constitutive mais actuellement cette hypothèse est contredite par Tsai et al. [66] qui suggéraient que la majorité des VWF est sécrétée par la voie réglementée. Plus récemment, Giblin et al ont démontré que le VWF libéré en l'absence de stimulation provient des WPB [67].

Les WPB sont libérés des cellules endothéliales en réponse à un grand nombre de stimuli tels que la thrombine, histamine, peptido-leucotriènes, composants du complément C5a et C5b-9 anion superoxyde, facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), sphingosine 1-phosphate, céramide, nucléotides de purine, sérotonines, épinéphrines, et vasopressine. Ces agonistes de la sécrétion du VWF peuvent être divisés en 2 groupes distincts, ceux qui agissent en élevant les niveaux intracellulaires de Ca^{2+} et ceux qui agissent par augmentation des niveaux d'AMPc dans la cellule (figure 6). [65]

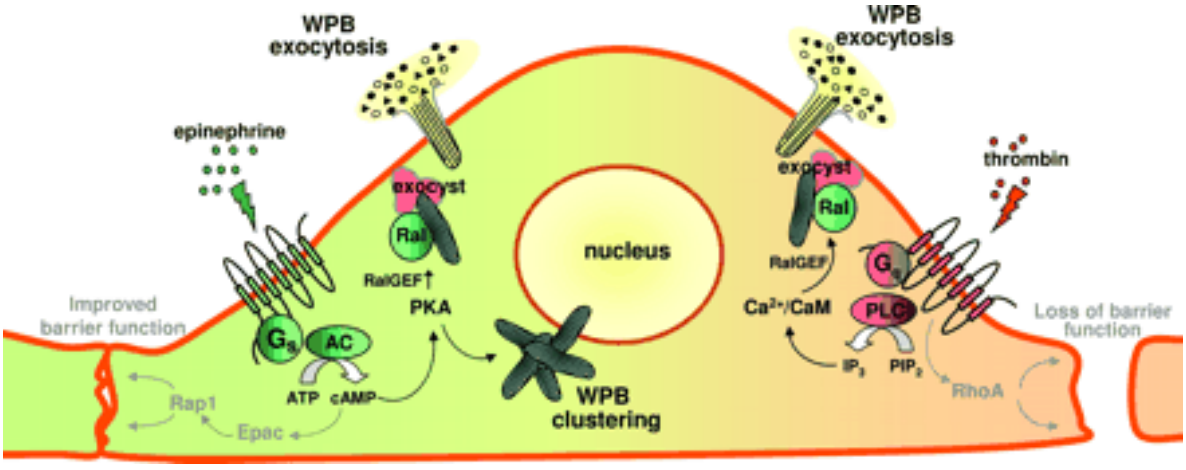


Figure 6: libération des WPB suite à une stimulation Ca^{2+} dépendante ou AMPc dépendante. [65]

La sécrétion du VWF en réponse aux agonistes d'AMPc montre un intérêt physiologique puisque l'épinéphrine est libérée, par exemple, pendant l'exercice physique ce qui augmente la concentration de VWF plasmatique. L'analogue de la vasopressine, la desmopressine, est utilisé pour le traitement des patients atteints de formes modérées de VWD pour augmenter les taux plasmatiques de VWF. [68]

Les plaquettes constituent la deuxième source de VWF plasmatique mais celle-ci est quantitativement accessoire. La sécrétion plaquettaire de VWF se fait à partir des granules α, après activation plaquettaire par des agonistes comme la thrombine ou l'adénosine diphosphate (ADP). [53]

E- Clairance :

Les protéines plasmatiques sont sensibles aux changements physiques comme l'oxydation et la protéolyse, qui peuvent modifier leurs propriétés fonctionnelles; des mécanismes de régulation sont en place pour éliminer les "anciennes" protéines plasmatiques de la circulation.

Le VWF est similaire à d'autres protéines plasmatiques et sa durée de vie circulatoire est limitée. La demi-vie plasmatique du VWF est de 16 heures en moyenne et des variations existent en fonction du groupe ABO [51]. L'analyse de la demi-vie du VWF endogène, suite au traitement par desmopressine, montre une grande variation, de 5.3 à 31.5 heures, et les sujets de groupe O ont des demi-vies du VWF plus basses, de 9.4 heures. [69]

La clairance du VWF plasmatique s'effectue au niveau des macrophages du foie et de la rate, les hépatocytes et la cellule endothéliale [51] selon une cinétique indépendante de la taille des multimères.

Le VWF circule sous la forme d'une protéine globulaire, la plupart de ses structures de glycan étant bien sialylées. Dans cette forme, le VWF est reconnu par 2 récepteurs différents, qui jouent un rôle dans l'élimination du VWF de la circulation: CLEC4M (C-type lectin domain family 4 member M) sur les cellules endothéliales et Siglec-5 (Sialic acid-binding Ig like lectin 5) sur les macrophages (figure 7). [70]

Les forces de cisaillement induisent le déploiement du VWF et l'exposition de sites interactifs pour LRP1 (Low density lipoprotein receptor-related protein 1 présent sur les macrophages et hépatocytes). La désialylation de VWF expose les résidus de galactose terminaux, permettant une interaction efficace avec l'ASGPR (Asialoglycoprotein receptor) sur les macrophages et les hépatocytes. Les récepteurs de clairance responsables de la clairance variable du VWF entre groupe sanguin O et non O ne sont pas encore identifiés (figure 7). [70]

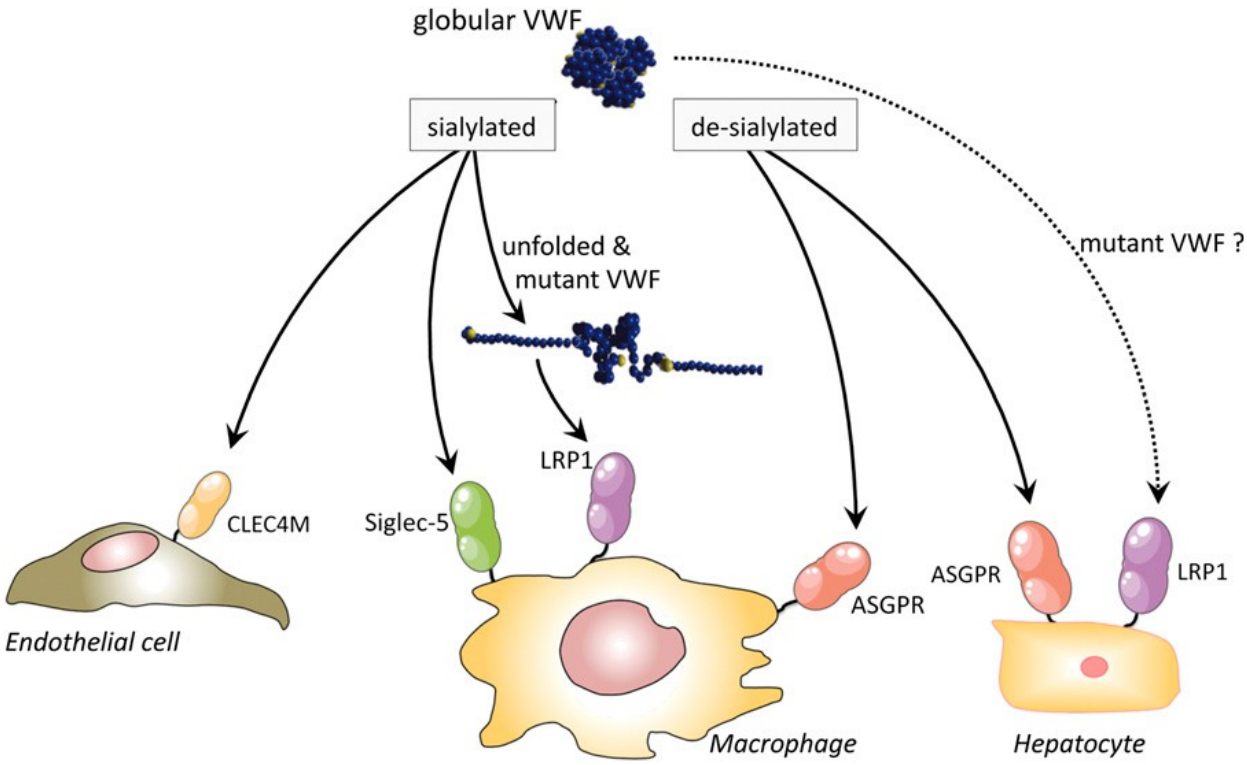


Figure 7 : Mécanisme de clairance du VWF. **[70]**

Le VWF constitue ainsi chez l'Homme la plus grande protéine en circulation dans le plasma avec une taille pouvant atteindre jusqu'à 15 µm sous sa conformation étendue et en présence de forces de cisaillement élevées.

F– Rôle du VWF dans l'hémostase:

Le VWF est une protéine qui exerce une fonction hémostatique en se liant au facteur VIII, aux glycoprotéines de la surface plaquettaire et aux constituants du tissu conjonctif.

Les sites de liaison de ces ligands physiologiquement importants ont été localisés dans les domaines des sous-unités du VWF.
La liaison du VWF aux plaquettes semble être régulée par son interaction initiale avec le collagène et par les forces de cisaillement dans le flux sanguin (figure 8). [5]

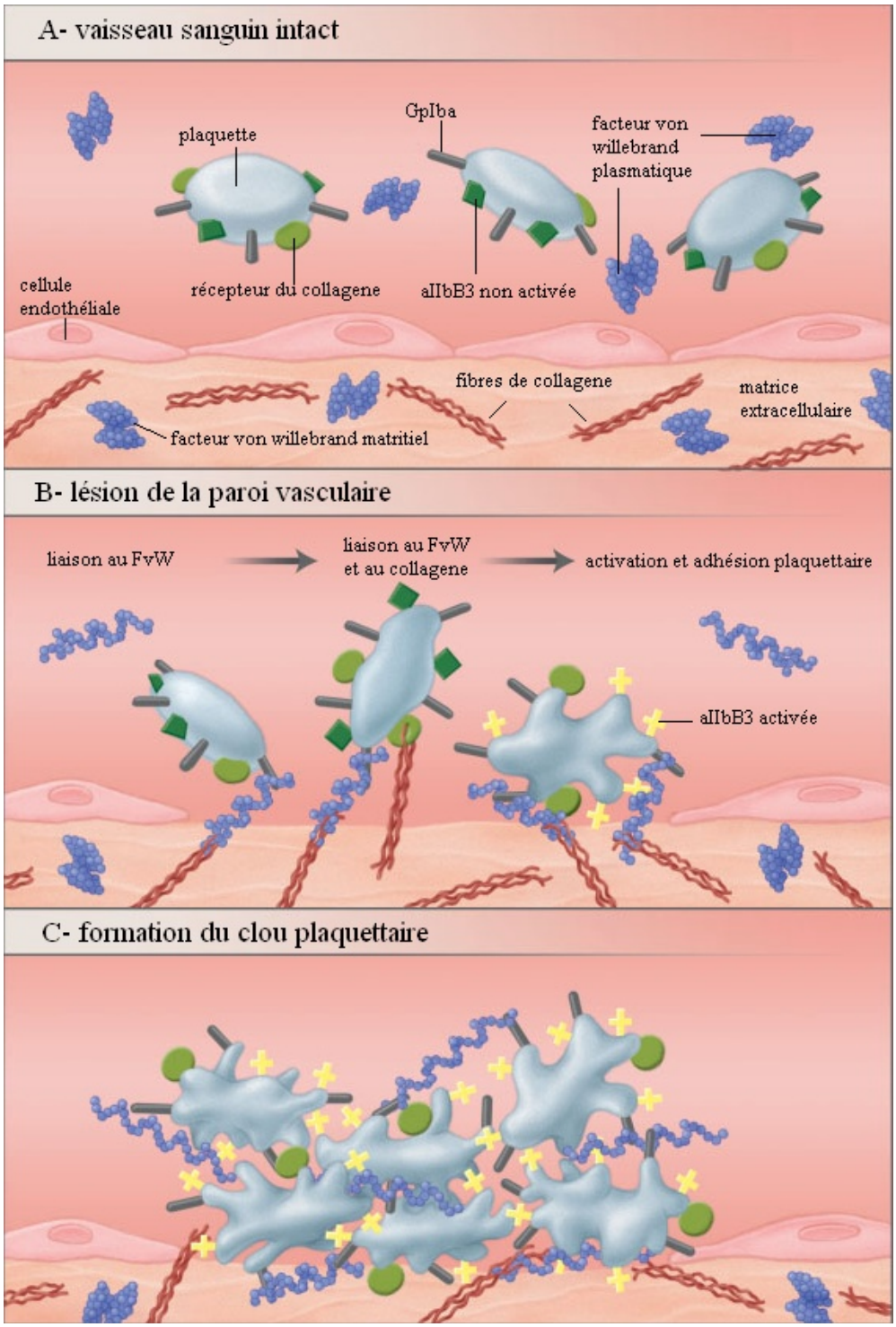


Figure 8 : Rôle du VWF dans l'adhésion des plaquettes au sous endothélium vasculaire et dans l'agrégation plaquettaire. [49]

.

1 – Transport et stabilisation du FVIII:

L'interaction du FVIII avec le VWF a une signification clinique directe dans le diagnostic et le traitement des patients souffrant d'une hémophilie A et d'une VWD. [71]

Le FVIII et le VWF sont des glycoprotéines plasmatiques qui circulent en complexe étroitement liés. Chaque sous-unité de VWF multimérique peut se lier à une seule molécule de FVIII.

La liaison du FVIII au VWF est principalement médiée par la région amino-terminale de la chaîne légère du FVIII [72].

Les résidus d'acides aminés 2173-2332 du domaine C2 du FVIII contiennent un site de liaison pour le VWF [73] [74].

Ces 2 protéines interagissent de façon saturée et avec une affinité relativement élevée. [43]

À saturation, la stœchiométrie était une molécule de facteur VIII pour 50 monomères de VWF. [75]

Le VWF se lie au FVIII au niveau du domaine D' du VWF entre les acides aminés 763 à 1035 et l'extrémité N-terminale du domaine D'. [76] [77]

Comme le VWF est une protéine porteuse du FVIII, l'association du FVIII avec le VWF au cours des perfusions prolonge la durée de vie du FVIII dans le plasma. [72] donc la demi-vie du FVIII peut varier avec la demi-vie individuelle du VWF chez les patients [51].

Il existe une forte corrélation positive entre la demi-vie du FVIII et le taux de VWF dans le plasma [78].

Lors de l'activation du FVIII, la thrombine clive le FVIII après l'Arg16989. Ce clivage détruit le site de liaison du VWF et libère le FVIIIa du complexe FVIII-VWF. Le VWF adsorbé au tissu conjonctif sur le site de formation du thrombus plaquettaire peut délivrer le FVIII pour la cascade de coagulation sanguine [5].

2 – Interactions avec les plaquettes et le collagène du sous endothélium:

Lorsque le VWF est exposé dans l'endothélium lors d'une blessure au vaisseau sanguin, il se lie au collagène. Lorsque la coagulation est stimulée, les récepteurs plaquettaires sont activés. Le VWF se lie à ces récepteurs activés. Le VWF se lie au récepteur de la glycoprotéine Ib des plaquettes (GPIb) et forme un complexe avec la glycoprotéine IX (GPIX) et la glycoprotéine V (GPV). Cela se produit lorsqu'il existe un écoulement rapide : des forces de cisaillement élevées dans les vaisseaux sanguins étroits [79].

La liaison du VWF aux plaquettes se comporte comme si elle était réglementée, de manière allostérique, avec une forme de faible affinité et une forme de forte affinité pour la GPIb [5]. Le

site de liaison pour VWF se trouve dans le résidu amino-terminal 293 de la chaîne GPIbα et pour optimiser cette liaison une sulfatation des résidus tyrosines en positions 276, 278 et 279 est nécéssaire (figure 9) [5] [80].

Le site de liaison pour GPIb se localise dans le domaine A1 du VWF (figure 9 et 11) [81] [82].

Les collagènes fibrillaires immobilisés (les types I ou III) supportent l'adhérence plaquettaire dans des conditions de cisaillement élevé.

Les sites de liaison pour les collagènes fibrillaires ont été identifiés dans les domaines A1 (collagène de type I et III) et le site de liaison pour le collagène non fibrillaire dans le domaine A3 (collagène type IV) du VWF. Les études de mutagenèse suggèrent que les sites de liaison du collagène au VWF multimérique les plus importants sont situés dans le domaine A3. En effet le VWF recombinant dépourvu de domaine A1 se lie normalement au collagène type III, alors que la liaison du VWF dépourvue de domaine A3 (figure 10) est réduite de l'ordre de 40 fois [5] [83].

Le collagène de type VI s'organise en microfibrilles et peut aussi se lier aux plaquettes par l'intermédiaire du pont VWF et la GPIb, mais cette liaison n'est possible que dans les condition de flux sanguin faible < 500 s-1 [84].

Le complexe plaquettaire GPIIb-IIIa, ou αIIbβ3 existant sur les plaquettes au repos, ne se lie pas au VWF. Cependant, après activation des plaquettes par la thrombine ou d'autres agonistes, la αIIbβ3 devient capable de lier le fibrinogène, la fibronectine ou le VWF avec une affinité élevée. Le site de liaison sur le VWF comprend le motif tétrapeptidique Arg-Gly-Asp-Ser près de l'extrémité carboxyle-terminale du domaine C1. Cette interaction seule ne suffit pas pour l'adhésion plaquettaire, mais son inhibition spécifique diminue l'adhésion des plaquettes aux surfaces recouvertes de VWF ou de collagène. Le GPIIb-IIIa contribue à l'adhésion plaquettaire initiée par la liaison GPIb au VWF. [5]

3 – Force de cisaillement et VWF :

L'adhésion plaquettaire médiée par le VWF dépend des contraintes exercées par les forces de cisaillement du flux sanguin. En effet, le VWF globulaire immobilisé au site de la lésion soumis aux forces de cisaillement passe à une forme étendue dépliée qui expose le domaine A1 (figure 11) qui est le site d'interaction avec la GPIb. [85] Le flux sanguin favorise aussi l'exposition des domaines A2 et A3 cible d'ADAMTS-13 et collagène respectivement [86] [87].

Lorsque le sang circule dans un vaisseau, la vitesse est maximale au centre et diminue pour atteindre zéro au contact de la paroi vasculaire.

À l'inverse, le gradient de vitesse où le taux de cisaillement (exprimé en unités de cm / s par cm, ou secondes inverse s^{-1}), est maximal à la paroi du vaisseau et proche de zéro au centre. Aux faibles taux de cisaillement des veines et des artères normales (≈ 100 s^{-1}), l'adhésion plaquettaire n'est pas stimulée par VWF mais aux taux de cisaillement supérieur à 1000 s^{-1}, l'adhérence plaquettaire dépend fortement du VWF. In vivo, des taux de cisaillement proches de ces valeurs se produisent dans les petites artérioles de 10 à 50 µm de diamètre, où les taux de cisaillement sont estimés entre 470 et 4 700 s^{-1} [5].

4- Autres fonctions :

Le VWF peut se lier à l'héparine par le domaine A1. L'héparine inhibe de manière compétitive la liaison du VWF à la GPIb plaquettaire, ce qui pourrait affecter l'adhérence plaquettaire pendant le traitement à l'héparine.

Le VWF se lie à certains glycolipides sulfatés par le domaine A1 (figure 11) et le site de liaison au sulfatide semble être distinct du site de liaison à l'héparine. [5]

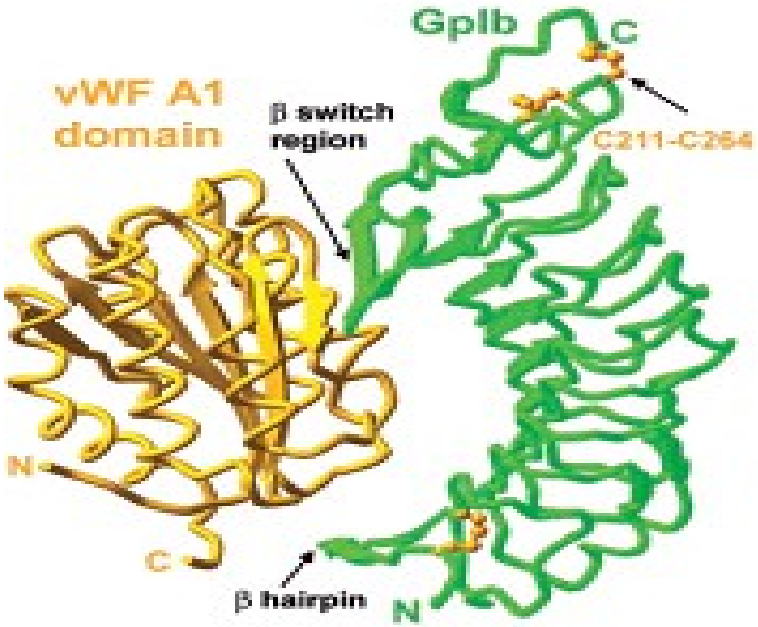


Figure 9: Représentation schématique du complexe GpIb-VWF A1.

La GpIb est colorée en vert, et le domaine A1 en jaune or. [90]

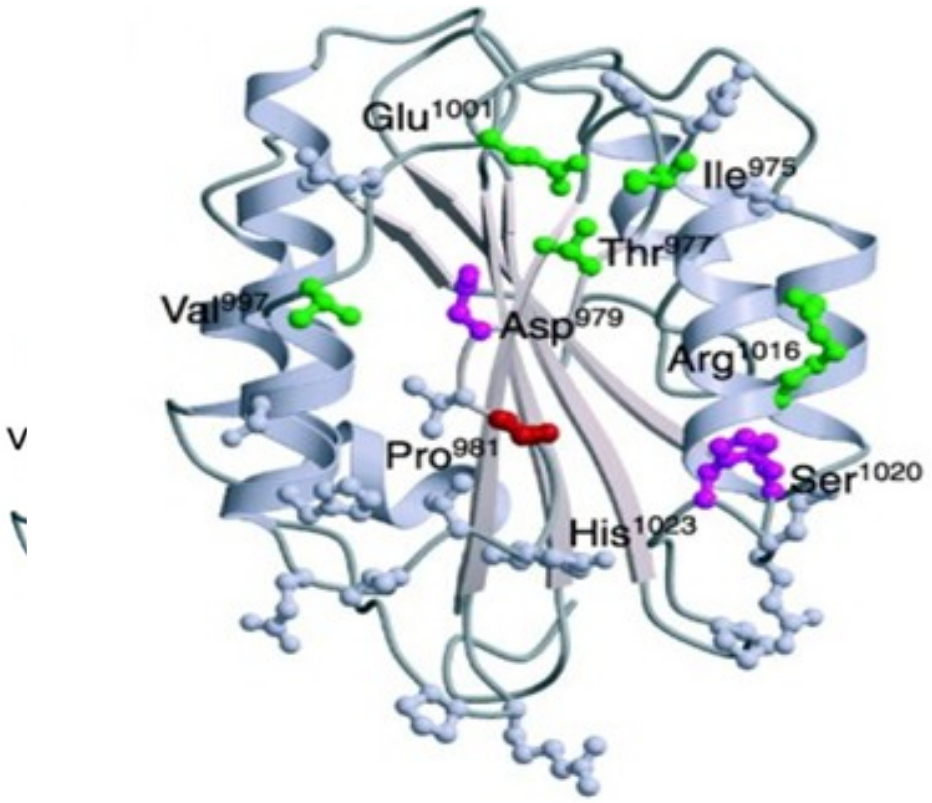


Figure 10 : Structure tri dimensionnelle du domaine A3. [88]

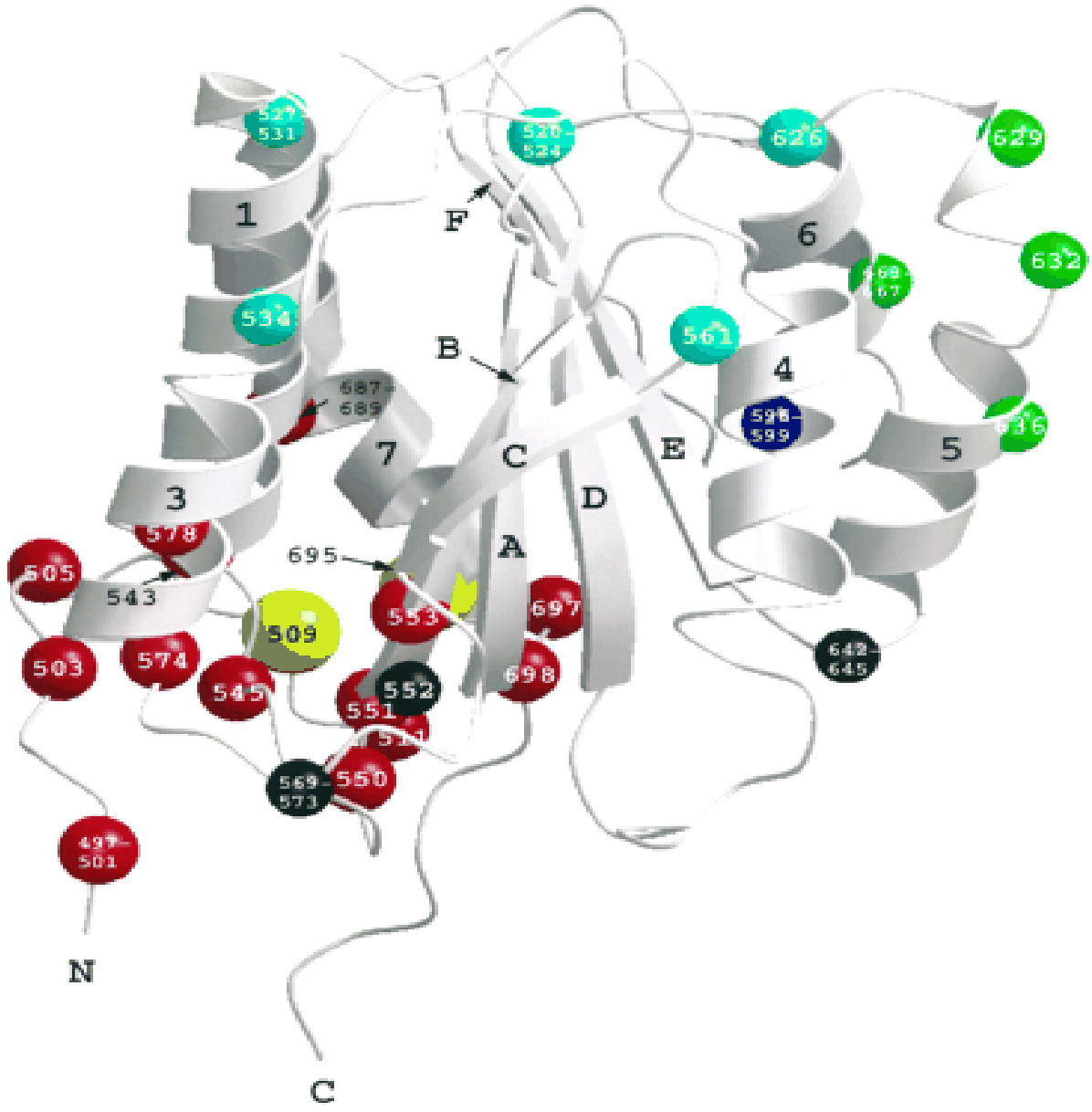

1
F
6
B
4
7
C
E
5
3
D
A
N
C

Figure 11: Structure tridimensionnelle du domaine A1. [89]

G - Régulation du facteur Von Willebrand :

Du fait de la complexité de la protéine VWF, il est difficile de savoir si les facteurs qui modifient la concentration plasmatique du VWF exercent leur effet sur la biosynthèse ou sur la clairance de cette protéine. Des études réalisées sur des frères jumeaux ont montré que 40 % de la variation du taux de VWF dans la population générale pouvaient être attribués à des facteurs environnementaux, tandis que le reste était lié à des facteurs génétiques. On admet actuellement que les différences de glycosylation, en particulier, celles dues au système de groupe sanguin ABO, sont en grande partie responsables de cette variabilité génétique. [91]

1 - Profil de glycosylation :

a - Système ABO :

Des facteurs environnementaux et génétiques modulent les taux de VWF plasmatique. Des études ont démontré que 66% de toutes les variations du taux de VWF sont génétiquement déterminées, alors que 30% d'entre elles dépendent directement du groupe sanguin ABO [92] [93]

Selon l'étude de Gill et al, les individus du groupe sanguin O ont des taux plasmatiques de VWF 25 à 30% plus bas que les individus de groupe sanguin non O [94].

L'étude de Souto et al démontre l'existence d'une liaison significative entre le locus ABO et le taux plasmatique du VWF:Ag, avec un score LOD de 2,19 (P = 0,00075). Dans la même étude, une analyse de liaison bivariée du VWF:Ag et facteur VIII:C avec le locus ABO a fourni de fortes preuves de corrélation entre les effets spécifiques des locus ABO sur les 2 facteurs (P = 0,0005). Cela suggère que le locus ABO lui-même ou un autre locus lié à celui-ci, agit de manière pleiotropique pour affecter conjointement les deux facteurs. [95]

La présence des différents antigènes du système ABO sur le VWF entraîne des modifications de sa cinétique de clairance dans le plasma. Selon ce modèle, le VWF portant l'antigène H non modifié serait éliminé plus rapidement que le VWF portant les antigènes A ou B. Ce qui pourrait expliquer les taux réduits de VWF chez les individus de groupe O. Deux des 12 chaînes de glucides N-liées (les sites potentiels de liaison ABO) sont situés dans les domaines D3 où la mutation de type Vicenza se produit; cette mutation est caractérisée par une clairance accélérée du VWF [96].

Le VWF plaquettaire est actuellement considéré comme un marqueur de la synthèse du VWF, car non influencé par le système ABO [97].

b - Systèmes Lewis et Sécréteur :

Il existe des résultats contradictoires de l'effet des systèmes Lewis et Sécréteur sur le FVIII et VWF. L'étude génotypique réalisée par O'Donnell et al a porté sur 136 volontaires sains [98]. Chez ces derniers, ils trouvent des taux de VWF significativement plus élevés chez les individus homozygotes pour l'allèle Se (génotype SeSe) par rapport aux hétérozygotes (P <0,001).

Pour éliminer toute influence et confusion du génotype / phénotype ABO, O'Donnell et al ont étudié la relation entre le génotype Sécréteur et les niveaux plasmatiques de FVIII et VWF chez les individus du même génotype du groupe sanguin ABO. Chez les individus du groupe O1O1, seuls les taux de VWF:Ag étaient significativement plus élevés chez les individus du génotype SeSe que chez ceux qui étaient hétérozygotes ou homozygotes pour l'allèle nul. Par contre, aucune relation n'existe entre le génotype du système Lewis et les taux plasmatiques de VWF:Ag ou FVIII [98].

c - Sialyltransférase ST3Gal-IV :

Son rôle consiste à catalyser le transfert d'acide sialique sur les chaînes glycannes. La présence des acides sialiques est d'une grande importance pour la stabilité du VWF. En effet, ils permettent de masquer certains épitopes qui sont reconnus par le récepteur des asialoglycoprotéines présents au niveau des hépatocytes et des macrophages responsables de la clairance du VWF (figure 7).

Cette enzyme apparaît désormais comme un candidat particulièrement intéressant en tant que gène modificateur du taux de FVW. En effet, nous observons un déficit en VWF plasmatique chez la souris hétérozygote et homozygote pour l'allèle ST3Gal-IV. [99]

d - N-acétylgalactosaminyltransférase-Galgt2 :

Chez les souris RIIIS / J, la modification de l'expression spécifique du gène de N-acétylgalactosaminyltransférase, Galgt2, entraine une modification majeur du VWF plasmatique en accélérant sa clairance par le récepteur des asialoglycoprotéines.

Le transfert du gène de Galgt2 muté vers des cellules endothéliales vasculaires reproduit le phénotype VWF faible ou type 1 probable.

Ces résultats prouvent que la fonction glycosyltransférase est un mécanisme potentiellement impliqué dans la modification génétique des taux de protéines plasmatiques. [100]

2 - ADAMTS-13 (A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin type 1 repeats, member 13):

La régulation de la taille des multimètres du VWF est assurée par une protéase spécifique [53]. En 2001, la proteine de clivage du VWF a été identifiée comme membre de la famille des métalloprotéases ADAMTS [101].

ADAMTS-13 est une métalloprotéase de zinc produite par le foie [102] au niveau des cellules stellaires hépatiques (HSC), qui sont des cellules de stockage de la vitamine A et de production de collagène dans le lobule hépatique [103]. Le gène ADAMTS-13 est localisé sur le chromosome 9q34. Une mutation de ce gène se traduit par une pathologie grave, le purpura thrombotique thrombocytopenique (PTT), ce qui suggère que la protéolyse physiologique du VWF, substrat d'ADAMTS-13, est nécessaire pour une hémostase vasculaire normale (figure 12) [104].

ADAMTS-13 clive le VWF sur le domaine A2 entre Tyr1605 et Met1606 [77] (figure 12).

Les multimères de VWF de haut poids moléculaire sont d'abord clivés en multimères de bas poids moléculaire avant d'être éliminés de la circulation.

L'étude de Mannucci et al, portant sur des variations de ADAMTS-13 et VWF chez 130 individus sains, montre que les sujets de groupe sanguin O ont des taux plasmatiques de ADAMTS-13 environ 10% plus élevés et celui de VWF 35% inférieur, à ceux des sujets de groupe sanguin non O. Des résultats identiques sont retrouvés chez des patients atteints de la VWD (ADAMTS-13, environ 35% supérieurs chez les patients de type 3), en plus l'utilisation de la desmopressine (DDAVP) entraine une diminution de ADAMTS-13 d'environ 20%.

Ces résultats décrits par Mannuci et al démontrent qu'il existe une association négative entre le VWF et sa principale protéine de clivage ADAMTS-13 [105].

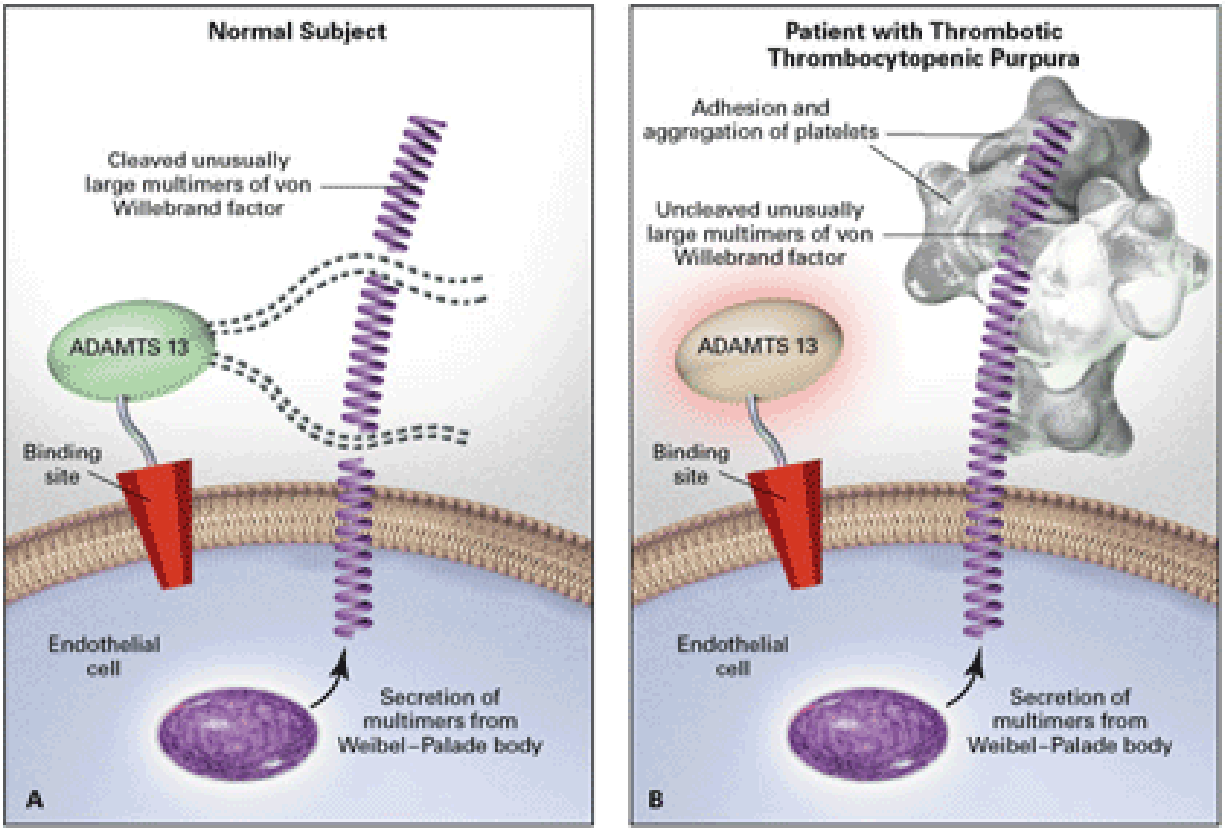


Figure 12 : Représentation schématique de l'activité protéolytique d'ADAMTS-13 sur le VWF (A) et le défaut de cette protéolyse dans le PTT (B). [106]

H – Variations physiopathologiques du VWF :

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent modifier le taux plasmatique de VWF. En effet, le VWF est significativement plus élevé chez les femmes de race noire et le taux de VWF augmente aussi avec l'âge des femmes, les taux de VWF augmentant de l'ordre de 15% tous les 10 ans. [107]

L'étude de Miller et al en 2001 [108], démontre que les noires américaines avaient des taux de VWF significativement plus élevés à ceux des Caucasiennes. L'origine ethnique devrait être également considérée dans l'évaluation clinique et biologique de la VWD. [109]

Les valeurs maximales de VWF chez la femme sont observées dans la phase lutéale du cycle menstruelle [110].

Le taux de VWF: Ag est significativement augmenté chez les femmes traitées par contraception orale à faible dose [111].

Le taux de VWF est augmenté au cours de la grossesse et les valeurs sont multipliées par un facteur 2 ou 3 [112].

Le taux de FVW peut être élevé dans certaines situations en raison de la stimulation continue des cellules endothéliales qui le synthétisent, comme c'est le cas pour le diabète, l'athérosclérose, ou de façon plus générale toute inflammation chronique de l'endothélium vasculaire [91].
Les diminutions du VWF peuvent être associées à une pathologie sous-jacente. Cette diminution peut être considérable et peut se traduire cliniquement par une VWD acquise :

- Diminution de la synthèse du VWF en cas d'hypothyroïdie [113].
- Présence d'un inhibiteur circulant anti VWF responsable de la disparition des multimères de haut poids moléculaire [114].
- En présence d'auto-anticorps neutralisants, augmentation de la clairance ou leur adsorbtion sur les cellules cancéreuses [115].
- Augmentation de la clairance du VWF en présence d'une dysglobulinémie monoclonale [116].
- Protéolyse du VWF plasmatique en présence de forces de cisaillement élevées générées par un syndrome myéloproliferatif ou de sténose aortique ou tout processus modifiant le flux sanguin comme les dispositifs d'assistance ventriculaire à flux continu. [117] [118] [119]

IV – La maladie de Von Willebrand :

A – Définition clinique :

La maladie de Von Willebrand est une anomalie constitutionnelle hémorragique liée à un déficit quantitatif et/ou qualitatif en facteur Willebrand; glycoprotéine nécessaire aussi bien pour le bon déroulement de l'hémostase primaire que pour la coagulation.
La classification de la VWD de 1994 [46] restreint cette maladie à des mutations dans le gène du VWF, or cette exigence est difficile à satisfaire surtout dans le type 1.
Des mutations dans d'autres gènes pourraient s'exprimer par une VWD. Par exemple, l'expression ectopique dans l'endothélium d'une N-acétylgalactosaminyltransférase intestinale conduit à une clairance rapide du VWF [50].

Aujourd'hui, on admet que le terme de VWD se rapporte à toute pathologie hémorragique causée par un défaut génétique de la concentration, la structure ou la fonction du VWF, que l'anomalie moléculaire soit située sur le gène du VWF (12p) ou sur d'autres gènes dits « modulateurs ».

La classification de la VWD proposée par le Comité scientifique de normalisation du VWF de la société internationale sur la thrombose et l'hémostase (ISTH SSC sur VWF) comprend trois sous-types. La VWD de type 1 (déficit quantitatif partiel), la VWD type 2 se caractérise par un déficit qualitatif (subdivisé en types 2A, 2B, 2M, 2N) et enfin la VWD de type 3 (déficit total en VWF). [50]

Cette maladie est très hétérogène dans son expression (phénotypique et génotypique) et sa présentation (biologique et clinique). Elle est surtout caractérisée par des hémorragies cutanéomuqueuses pouvant parfois être graves et engager le pronostic vital. [9]

B – Manifestations cliniques :

Les symptômes cliniques de la VWD sont très hétérogènes et varient chez les patients, selon le taux résiduel de l'activité du VWF. [56] Les symptômes de la VWD sont habituellement :

- Les epistaxis,
- les écchymoses spontanées et les hématomes,
- les saignements prolongés après blessure cutanée,
- les saignements de la cavité buccale (saignement des gencives après le brossage des dents et des saignements prolongés suite aux soins ou aux extractions dentaires) ,
- les ménorragies chez les femmes,
- Des saignements prolongés après une intervention chirurgicale ou un traumatisme et après accouchement sont souvent signalés,
- Le saignement gastro-intestinal est relativement rare, mais peut être très grave lorsqu'il se produit. [5]

Dans les formes sévères de la VWD, la forte diminution du VWF est associée à une diminution du FVIII. Ces patients peuvent présenter des symptômes proches de l'hémophilie, comme les hémarthroses et les hématomes, et les hémorragies du système nerveux central. [5] [120]

Le saignement dans la VWD peut être aggravé par l'utilisation d'aspirine ou de corticostéroïdes et atténué par l'utilisation de contraceptifs oraux. [5]

La majorité des patients (60 à 80%) ont des saignements après une intervention chirurgicale ou une extraction dentaires. [121]

Chez les enfants atteints de la VWD, les symptômes les plus fréquents sont les ecchymoses et les épistaxis. Par contre chez les adultes, les symptômes les plus fréquents sont les hématomes, les ménorragies et les saignements après coupure. [122]

L'analyse quantitative de la tendance au saignement au moyen du score hémorragique (BS) est proposée pour prédire un risque clinique réel de saignement chez les patients. Selon Federici et al un BS > 10 est hautement associé à un risque proportionnel de saignement grave chez les patients atteint de VWD (intervalle de confiance de 95%, 3,83-13,83). Par conséquent, le BS est un moyen simple de prédiction de l'importance des saignements.[123]
Le Vicenza questionnaire hémorragique est le premier score publié en 2005, il a subit des modifications et a abouti à la publication de l'ISTH-BAT en 2010 par l'ISTH SSC. L'étude d'Elbatarny et al propose des valeurs seuil du score hémorragique, un BS positif ≥ 4 chez les hommes, ≥ 6 chez les femmes et ≥ 3 chez les enfants. Ces résultats peuvent être utilisés pour évaluer objectivement les signes cliniques des patients [124].

C - Transmission :

Il est parfois difficile de prouver le caractère héréditaire de la VWD car les mutations ne sont pas toujours présentes sur le gène du VWF [50].
Dans la cohorte historique Européenne, les mutations génétiques étaient présentes chez 55% des familles type1 [125].
La transmission génétique est autosomale, ce qui explique qu'elle atteint indifféremment hommes et femmes contrairement à l'hémophilie. Elle est le plus souvent dominante (tableau 1).
Dans le type 1 et le type 2, la transmission est le plus souvent autosomale dominante (il suffit qu'un des deux parents transmette le gène anormal pour que l'enfant déclare la maladie). Le risque est donc de 1 sur 2 pour un parent atteint de la VWD de donner naissance à un enfant lui-même atteint.
La pathologie peut rester néanmoins inconnue sous sa forme atténuée en particulier dans le type 1, certains sujets hétérozygotes étant en dehors d'un contexte traumatique ou chirurgical restent asymptomatiques et ne sont détectés que lors d'une enquête familiale [126].
Certaines formes du type 2A ou type 2M peuvent être de transmission récessive et des cas de type 1 récessif on été décrits.

Le type 2N et le type 3 sévère sont de transmission récessive. Ainsi, deux parents ayant une VWD asymptomatique peuvent donner naissance à un enfant atteint d'une forme sévère de la maladie.

Il arrive qu'un patient ait deux parents sains et non porteurs de mutation VWD. Ce phénomène peut être le fait d'une mutation génétique spontanée dans les gonades de l'un des parents ou d'une modification au cours du développement fœtal. Par contre, dans la descendance de ce patient porteur de cette nouvelle mutation, on retrouve les caractéristiques de transmission de l'hérédité autosomal dominante.

Le type 1 probbale ou low VWF n'est que rarement associé à une mutation du gène du VWF.

Type de VWD	Transmission
Type 1	**autosomique dominante (transmission récessive décrite)**
Type 2A	**autosomique dominante (parfois récessive)**
Type 2B	**autosomique dominante**
Type 2M	**autosomique dominante (parfois récessive)**
Type 2N	**autosomique récessive**
Type 3	**autosomique récessive**

Tableau 1 : Mode de transmission de la VWD.

D – Diagnostic biologique:

L'exploration biologique d'une VWD a pour but l'identification de l'affection, mais aussi du type d'anomalie (quantitative ou qualitative) et de son sous-type, permettant de proposer le traitement approprié. Il faut savoir qu'il n'y a pas de rapport obligatoire entre l'intensité des manifestations hémorragiques et la facilité du diagnostic. Dans certains cas, le diagnostic ou l'exclusion du diagnostic d'une VWD peut nécessiter la répétition des tests chez le propositus ou chez les membres de sa famille.

Le tableau 2 définit la terminologie internationale utilisée pour décrire le VWF et ses activités biologiques [50] [128] :

Le diagnostic de la maladie de Willebrand n'est envisagé qu'après un interrogatoire précis sur les antécédents hémorragiques personnels et familiaux. Il peut se faire au cours :

- d'une enquête familiale.

- d'un bilan préopératoire, chez un individu, notamment un enfant, asymptomatique.
- d'une symptomatologie hémorragique évocatrice, même si le bilan standard de coagulation est normal [128] [129].

Il est nécessaire d'effectuer à la fois un recueil précis de l'anamnèse hémorragique et de réaliser des examens cliniques minutieux, incluant des analyses de laboratoire par étapes.

Certains cas remplissent les critères cliniques et diagnostiques d'une affection donnée, mais il existe également des cas de troubles de l'hémostase très légers, pour lesquels l'étiologie ne parvient pas à être déterminée malgré des recherches intensives et l'utilisation de différentes modalités diagnostiques. On parle alors d'hémorragie d'origine inconnue. Ces cas représentent un défi tant sur le plan diagnostic que thérapeutique.

Etant donné que l'anamnèse constitue un prérequis pour le diagnostic des troubles de l'hémostase, des questionnaires qui permettent de calculer un score d'évaluation quantitative des hémorragies ont été mis au point. Le score ISTH-BAT «Bleeding Assessment Tools» est validé pour le diagnostic du type 1 de la VWD. [130]

L'objectif principal de ce score est de définir des valeurs limites quantitatives afin de pouvoir distinguer les porteurs d'un syndrome de Von Willebrand des personnes en bonne santé. La sensibilité et la valeur prédictive positive dépendent fortement de la population étudiée. La valeur prédictive négative avoisine les 99% ce qui signifie qu'un trouble de l'hémostase congénital est très improbable en cas de score négatif. [131] [132]

VWF	**Facteur Von Willebrand, glycoprotéine absente ou anormale chez les patients atteints de maladie de Willebrand.**
VWF:Ag	**Antigène du facteur Von Willebrand mesuré par dosage immunologique.**
VWF:RCo	**Activité cofacteur de la ristocétine du facteur Von Willebrand, mesurée en présence de l'antibiotique ristocétine qui induit la liaison du facteur Willebrand à la GPIb plaquettaire.**
VWF:CB	**Collagen-Binding-Assay, mesurant la capacité du VWF de se lier au collagène.**
VWF:FVIIIB	**Factor VIII- Binding-Assay, mesurant la capacité du VWF de se lier au facteur VIII.**
Multimères du VWF	**Les différentes formes moléculaires du facteur Willebrand, du dimère aux multimères de très haut PM exploré par électrophorèse sur gel d'agarose.**
Agregation induite par de faible dose de ristocétine RIPA	**Mesure de la liaison entre le VWF et les plaquettes en présence de différente concentration de ristocetine.**

FVIII	**Facteur VIII de la coagulation transporté et protéger par le VWF.**

Tableau 2 : Nomenclature du facteur Willebrand. [127]

1 - Prélèvements :

Comme pour tout prélèvement d'hémostase, la phase préanalytique conditionne la qualité des résultats obtenus. Des tests répétés pour la VWD sont parfois nécessaires pour identifier de faibles niveaux de VWF. Le stress, l'exercice, l'anxiété. Un enfant effrayé ainsi que l'inflammation systémique, la grossesse ou l'administration d'œstrogènes peut entraîner une augmentation des taux plasmatiques de VWF et masquer les diminutions modérées. Les niveaux de VWF varient avec le cycle menstruel également. [127]

Les bonnes pratiques de l'étape préanalytique selon les recommandations du groupe d'étude en hémostase et thrombose GEHT sont les suivantes:

- Patient au repos depuis plus de 5 minutes, le matin à jeun, voire après un déjeuner léger sans matières grasses. La caféine, le tabac sont déconseillés. L'exercice physique provoque une élévation des globules blancs par démarginalisation ainsi qu'une augmentation des plaquettes (inférieure à 600 000) et du VWF.

- Le diamètre de l'aiguille de prélèvement est préférentiellement de 1 à 0,7 mm (19 à 22 G). Pour les patients avec des veines difficiles et les enfants, les aiguilles à ailettes type "épicrâniennes" sont utilisées.

- Le tube utilisé pour les tests d'hémostase sera sous vide, en verre siliconé ou PET (polyéthylène téréphtalate) "étanchéifié".

- L'anticoagulant sera préférentiellement du citrate de sodium 0,109 M (recommandé) total (01V pour 09V), pour un hématocrite compris entre 30 et 55%.

- Le garrot doit être peu serré et posé moins d'une minute afin d'éviter toute activation des cellules endothéliales et donc de la fibrinolyse.

- L'ordre des tubes est fondamental : le tube citraté doit être prélevé en 2e position après un tube dit de purge.

- Pour respecter la dilution finale attendue, le tube doit être idéalement rempli à plus de 90 %, et tout remplissage inférieur à 80 % doit faire refuser l'échantillon.

- Le plasma pauvre en plaquettes (PPP) est obtenu après une double centrifugation du plasma à 2500g pendant 15 minutes. Ce PPP est réparti en plusieurs aliquotes pour chaque tube prélevé et est conservé dans un congélateur à -80°C, jusqu'au moment du test où il est rapidement décongelé au bain marie (température fixé à 37°C) pendant 10 minutes (décongélation rapide).

2 - Examens biologiques :

On peut distinguer des tests de routine réalisés chez tout patient ayant une symptomatologie hémorragique, des tests spécifiques permettant de porter le diagnostic de VWD, des tests discriminatifs nécessaires pour l'identification du type ou sous-type de VWD, et enfin des tests très spécialisés réservés à quelques laboratoires de référence (tableau 3).

• **Tests de dépistage**	
Temps de saignement. **Temps d'occlusion (PFA-100®).** **Temps de céphaline avec activateur.** **Numération des plaquettes.**	
• **Tests spécifiques**	
Dosage du VWF : Ag. **Dosage du VWF : RCo.** **Dosage du FVIII : C.**	**Rapport VWF : RCo/ VWF : Ag.** **Rapport VWF : CB/ VWF : Ag.** **Rapport FVIII : C / VWF : Ag.**
• **Tests discriminatifs**	
Agrégation plaquettaire en présence de différente dose de ristocétine, le RIPA. **Distribution des multimères du VWF dans le plasma et les plaquettes.**	
• **Tests très spécialisés**	
Liaison du VWF à la GPIb, au collagène le VWF:CB, au FVIII le VWF:VIIIB. **Analyse de l'ADN**	

Tableau 3 : Tests pour le diagnostic de la maladie de Willebrand. [133] [134]

a - Tests de dépistage:

- **Temps de saignement :**

L'allongement du temps de saignement reste un critère diagnostique des anomalies de l'hémostase primaire malgré les difficultés de réalisation et de standardisation de ce test. La technique de Duke (à l'oreille), peu sensible, a été progressivement remplacée par les méthodes d'Ivy, par piqûres, ou surtout incision à l'avant-bras. Le temps de saignement est toujours allongé dans les formes graves. Il peut être normal ou très proche de la normale dans les formes frustes. Il est aussi normal dans le type 2N. Un temps de saignement normal ne permet pas d'exclure le diagnostic. Ces dernières années, ce test est de moins en moins utilisé. [127] [135] [136]

- **Temps d'occlusion plaquettaire (TOP):**

La détermination du temps d'occlusion se fait sur l'automate Platelet Fonction Analyser (PFA). Ce test non invasif permet de réaliser in vitro une exploration globale de l'hémostase primaire à partir de sang total frais citraté. Le principe consiste à simuler les conditions hémodynamiques rencontrées dans la microcirculation après une brèche vasculaire. Le système comprend une pompe à vide à haute résolution, contrôlée par un microprocesseur, et une cartouche test composée de :

- Un réservoir: où se fait le dépôt de l'échantillon (800µl de sang total citraté).
- Un capillaire.
- Une membrane de nitrocellulose biologiquement active possédant un orifice central.

Cette membrane est recouverte de collagène fibrillaire de type I et d'un agoniste plaquettaire, soit de l'adrénaline (Epi), soit de l'Adénosine Di phosphate (ADP). L'application d'une pression négative constante exercée par le PFA aspire, par le capillaire, le sang du réservoir qui passe ensuite par le trou de la membrane .Le capillaire reproduit la résistance hémodynamique d'une petite artériole. Les différents agonistes et les taux de cisaillement élevés induisent l'adhésion et l'agrégation des plaquettes conduisant à la formation d'un clou plaquettaire au niveau de l'orifice de la membrane. [137]

Le flux sanguin diminue progressivement jusqu'à l'arrêt total. Le temps nécessaire à l'arrêt de l'écoulement du sang, et donc à l'occlusion, est mesuré et défini comme le temps d'occlusion" (TO). [137]

Le résultat du temps d'occlusion est anormal dans la majorité des types de la VWD sauf le type 2N, mais son utilisation pour le dépistage des patients atteints de VWD n'est pas établie.

Les patients avec une VWD sévère de type 1 ou de type 3 ont habituellement des valeurs anormales du temps d'occlusion, alors que les patients ayant une VWD mineure ou modérée de type 1 et le type 2N ont des résultats normaux.

Le temps de saignement et le temps d'occlusion plaquettaire ne donne pas toujours les mêmes résultats pour le même patient.
Le temps d'occlusion possède une sensibilité de l'ordre 90% mais il n'est pas spécifique de la VWD en particulier dans les formes modérées. [138] [139] [140]

- **Numération des plaquettes :**

La numération des plaquettes doit être réalisée systématiquement chez tout patient ayant un syndrome hémorragique ou lors d'un bilan préopératoire. Une thrombopénie plus ou moins importante voire même sévère peut se voir dans un type particulier de la VWD de type 2B [141] [142], la numération des plaquettes est normale dans tous les autres types. [127] [124]

- **Temps de céphaline avec activateur :**

Le temps de céphaline avec activateur (TCA) peut être allongé dans la VWD, et son allongement est parallèle au déficit en FVIII (pour des taux de FVIII < 40%). Dans les variants moléculaires avec anomalie qualitative du VWF, le TCA est le plus souvent normal ou peu allongé. De même, dans les anomalies quantitatives modérées, le TCA peut être normal.
Le TCA n'est pas un test sensible pour dépister une VWD, sauf dans le type 3, le type 1 sévère et le type 2N où le taux de FVIII est constamment diminué [143] [144]. [127]

b - Tests spécifiques :

- **Dosage du facteur VIII :**

Le VWF assurant le transport et la protection du FVIII dans le plasma, il n'est pas paradoxal qu'il puisse exister un déficit en FVIII chez beaucoup de patients atteints de VWD.
Généralement, les taux de FVIII sont plus élevés que ceux du VWF. Même les patients atteints de VWD grave ont des taux de FVIII de l'ordre de 1 à 7%, alors que les taux de VWF ne sont pas mesurables. Cependant, les patients porteurs d'une anomalie quantitative modérée ou mineure, ou d'une anomalie qualitative du VWF peuvent avoir des taux de FVIII normaux ou peu diminués. [145]
Le taux de facteur VIII est < 10% dans le type 3 et < 30% dans le type 2N [143].
Le plus souvent, le FVIII:C est dosé par une méthode chronométrique mais peut aussi être évalué par une méthode chromogénique. [127]

- **Dosage immunologique du VWF (VWF:Ag) :**

Le dosage immunologique du VWF (VWF:Ag) est réalisé grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques, soit par technique immunoenzymatique (ELISA [enzyme-linked immunosorbent assay]) ou latex immunoassay. Les techniques de dosage ont évolué ces dernières années vers des tests rapides et unitaires comme l'immunoturbidimétrie. Le plasma de référence utilisé dans ces tests doit faire l'objet de standardisation par l'OMS. [127]

Les taux de VWF:Ag varient en fonction du groupe sanguin ABO chez les sujets normaux. Les sujets de groupes sanguins A, B et AB ont des taux plasmatiques de VWF:Ag sensiblement plus élevés que les sujets de groupe O. La détermination des valeurs normales dans chaque laboratoire reste un problème crucial ; il n'existe pas de véritable consensus en faveur d'une détermination de ces valeurs par rapport à un pool de sujets normaux de tous les groupes sanguins ou par rapport à un pool de sujets normaux de groupe sanguin correspondant. Les valeurs normales sont très variables dans une population contrôle et varie en général de 50 à 240%.

- **Dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine du VWF (VWF:RCo) :**

La ristocétine est un antibiotique qui a la propriété très particulière de permettre in vitro l'interaction du VWF avec la GPIb.

L'activité cofacteur de la ristocétine du VWF (VWF:RCo) a d'abord été évaluée par l'étude de l'agrégation du plasma riche en plaquettes du patient en présence de ristocétine, mais ce test peu sensible ne permettait pas une évaluation quantitative et présente un coefficient de variation très élevé (CV).

Plusieurs méthodes d'exploration du VWF:RCo ont été développées :

1. Le temps d'agglutination de plaquettes visibles à l'aide de ristocétine (plaquettes normales lavées fraîches ou formalisées) avec des dilutions du plasma du patient, peut détecter des valeurs basses du VWF:RCo entre 5 et 10%. [146]
2. Test sur aggregomètre, considéré comme test de référence mais qui présente une très grande variabilité inter et intra test.
3. Tests turbidimétrique sur automates qui détectent les plaquettes agglutinées, en utilisant de la ristocetine, ne peut détecter des valeurs de VWF:RCo < 10%.
4. Tests ELISA qui évaluent la liaison directe du VWF plasmatique à la GPIb plaquettaire en présence de ristocetine. Elle peut mesurer des valeurs de VWF:RCo < 1% [147].
5. Un anticorps monoclonal dirigé contre l'épitope conformationnel de la boucle VWF A1. [148] [127]

Les taux de VWF:RCo sont diminués dans tous les types de VWD, sauf le type 2N et certains variants des types 2B et 2M.
Ce dosage est le critère de choix pour le diagnostic de la VWD. Ces taux sont indétectables dans les formes graves, parallèles au déficit en VWF:Ag dans les anomalies quantitatives, et notablement plus abaissés que les taux de VWF:Ag dans les anomalies qualitatives [134].

- **Calcul des rapports VWF:RCo/VWF:Ag et FVIII/VWF:Ag :**

Le rapport VWF:RCo/VWF:Ag est diminué (< 0,60 ou < 0.7) dans les anomalies qualitatives du VWF caractérisées par une anomalie de l'interaction du VWF avec les plaquettes.
Ainsi, ce rapport est diminué dans les types 2A, 2M et 2B, alors qu'il est voisin de 1 dans les anomalies quantitatives du VWF (types 1 ou 3) et dans le variant 2N.
Le rapport FVIII/VWF:Ag est supérieur ou égal à 1 dans toutes les formes de VWD, sauf dans le type 2N où il est < 0.6 ou 0,70.
Ainsi, la détermination de ces rapports peut orienter vers le type de la maladie.
Le rapport VWF:RCo/VWF:Ag < 0,50 peut être pris en considération pour distinguer une VWD type 1 du type 2M [149] [150] [134] [150].

c – Tests discriminatifs :

Ils permettent de confirmer le diagnostic, le type et le sous-type de VWD.
Le type 1 correspond à un défaut quantitatif du VWF à la fois dans le plasma et les plaquettes, ou uniquement plasmatique.
Le type 2 correspond à un défaut qualitatif du VWF entraînant une anomalie fonctionnelle.
Le type 3 ou forme grave est défini par une absence totale de VWF dans le plasma et les compartiments cellulaires. [143]

- **Agrégation plaquettaire en présence de différentes doses de ristocétine :**

L'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (ristocetin-induced platelet aggregation [RIPA]) dépend à la fois de la concentration du VWF et de l'affinité du VWF pour la GPIb plaquettaire.
La ristocétine (1 à 1,5 mg/ml) induit l'agrégation plaquettaire d'un plasma riche en plaquettes chez les sujets normaux.
Chez les patients atteints de VWD type 3, le RIPA est nulle à toutes les concentrations, alors qu'elle peut être normale ou subnormale dans les anomalies quantitatives modérées dans le type 1. Chez les patients, où l'affinité du VWF pour la GPIb est diminuée (type 2A, 2M), le RIPA est

nulle ou très diminuée à ces concentrations. Chez les patients où l'interaction du VWF avec la GPIb est au contraire anormalement augmentée (type 2B), le VWF peut se lier à la GPIb et initier l'agrégation plaquettaire à une faible concentration de ristocétine < 0.8 mg/ml (0,2 à 0,6 mg/ml) qui ne peut induire l'agrégation d'un plasma riche en plaquettes de sujets normaux (tableau II).

Ce test est discriminatif pour l'identification du type 2B de la VWD et le pseudo VWD plaquettaire dans la mesure où le taux des plaquettes permet la réalisation du test.

La sensibilité du test à faibles doses de ricetocetine < 0.6 mg/ml dépend des lots de ristocetine utilisés [141]. [127]

Un variant du test RIPA appelé test de mélange permet de différencier le type 2B de la VWD du pseudo VWD plaquettaire, en mélangeant les plaquettes du patient avec un plasma témoin puis le plasma du patient avec des plaquettes témoins [152].

Un autre test VWF: PB qui n'est pas encore largement utilisé, permet d'explorer la liaison du VWF aux plaquettes à de faibles doses de ristocétine entre 0,3 à 0,6 mg / ml en utilisant un anticorps monoclonal marqué.

Les individus normaux, ou ceux qui ont les types 1, 2A, 2M, 2N et 3 de la VWD présentent un résultat nul aux concentrations de ristocétine utilisées, mais les patients qui présentent le type 2B présentent une liaison significative qui définit le phénotype de ce type de VWD.

Ce test VWF: PB permet de différencier le type 2B du pseudo VWD plaquettaire. En effet, les personnes ayant un pseudo VWD plaquettaire ont une liaison nulle pour VWF: PB avec les faibles doses de ristocétine [153].

- **Etude de la distribution des multimères du facteur Willebrand :**

L'électrophorèse du plasma dans un gel d'agarose contenant un agent dissociant (SDS) permet de séparer les multimères qui sont ensuite révélés par un anticorps spécifique marqué. À une faible concentration d'agarose (1 à 1,5 %), chaque multimère migre sous forme d'une bande : la première correspondant à un dimère de deux sous-unités, la bande suivante à quatre sous-unités et ainsi de suite (figure 13).

Dans le type 1, la distribution des multimères est normale (toutes les tailles sont représentées), mais ils sont présents en quantité réduite (figure 13).

Dans la plupart des variants moléculaires, la distribution des multimères est anormale, avec absence des formes de haut PM ; dans le type 2A, il y a une perte des multimères de poids

moléculaire intermédiaire et plus élevé. Dans le type 2B il y a seulement une absence des multimères de haut PM (figure 13).

Dans le type 3, les multimères ne sont pas détectables (figure 13).

Le recours à des méthodes d'électrophorèse de très haute résolution avec une concentration plus élevée d'agarose (2 à 3 %), où chaque multimère migre sous forme de plusieurs bandes, peut permettre d'individualiser des variants plus rares[10]. Par exemple, la bande la plus basse dans le gel de 0,65% (figure 13.1) peut être résolue en 5 bandes dans le gel d'agarose à 3%, mais le gel à 3% ne parvient pas à démontrer la perte des multimères de poids moléculaire élevé observés au sommet dans le gel de 0,65% (figure 13).

Le profil de l'électrophorèse des multimères ne permet pas de définir le sous type ou les variants et seuls les types 2A, 2B et le pseudo VWD de type plaquettaire (PLT-VWD) ont une anomalie de distribution des multimères de haut poids moléculaire. [127]

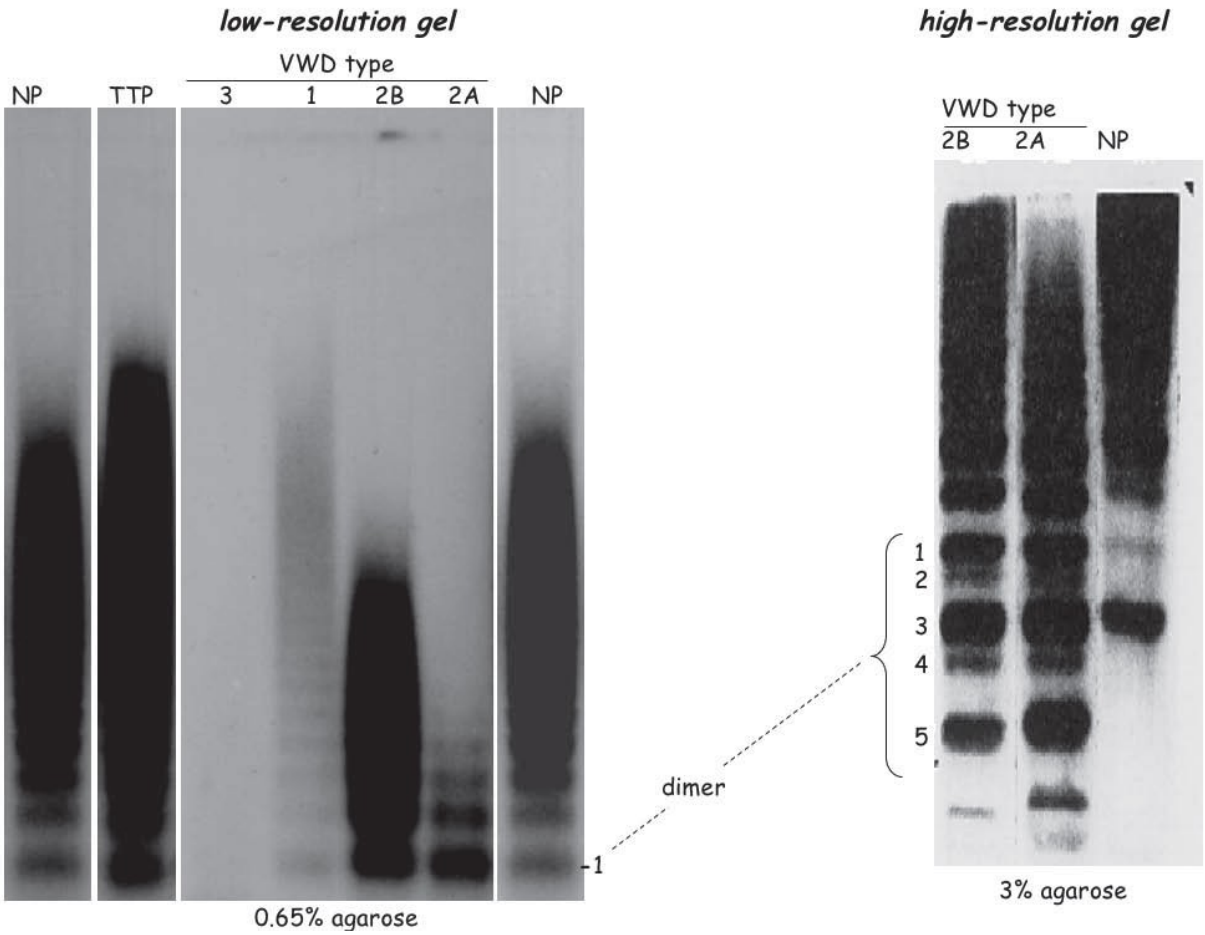


Figure 13 : Distribution des multimères du facteur Willebrand (VWF) dans le plasma. Étude par électrophorèse en gel d'agarose de 0.65% (faible résolution) et 3% (haute résolution) en présence de sodium-dodécyl-sulfate, incubation avec un anticorps polyclonal anti-VWF radiomarqué, puis révélation par autoradiographie.

- **Dosage du facteur Willebrand plaquettaire :**

L'importance du rôle du VWF plaquettaire dans les interactions des plaquettes avec la paroi vasculaire a été démontrée. Les taux de VWF sont parfois normaux dans les plaquettes, alors qu'il existe un déficit dans le plasma. Ceci permet de distinguer différents groupes parmi les patients de type 1. Le VWF:Ag et le VWF:RCo peuvent être dosés dans les plaquettes et l'étude de la répartition des multimères du VWF plaquettaire peut être réalisée [134].

La VWD sévère de type 1 est toujours associée à des niveaux de VWF plaquettaires et plasmatiques significativement faibles, alors que les formes mineures sont associées à des niveaux de VWF plasmatiques bas et VWF plaquettaires faible ou normal. Le type Vicenza de la VWD (clairance accéléré) présente des niveaux normaux de VWF plaquettaire.

La mesure du VWF plaquettaire contribue à caractériser la VWD, en particulier les phénotypes ambigus. [154]

d – Tests très spécialisés :

Certains tests, parfois indispensables à l'identification précise du type de la VWD, ne sont effectués que dans des laboratoires très spécialisés [134].

- **Étude de la liaison du facteur Willebrand aux plaquettes :**

La liaison du VWF aux plaquettes, induite par la ristocétine, peut permettre de discriminer les patients qui ont une interaction augmentée avec la GPIb (type 2B) de ceux qui ont une interaction diminuée (type 2A ou 2M). Chez les patients qui ont une interaction augmentée, cette étude permet surtout de localiser le niveau de l'anomalie : VWF et non GPIb. La liaison du VWF aux plaquettes peut aussi être induite par un venin de serpent, la botrocétine, par un mécanisme différent de celui de la ristocétine. Ainsi, la liaison du VWF aux plaquettes, en présence de botrocétine est normale dans le type 2M, alors qu'elle est anormale dans le type 2A [134]

- **Étude de la liaison du facteur Willebrand au collagène :**

La liaison du VWF au collagène peut être étudiée et des tests ELISA sont disponibles pour mesurer cette fonction du VWF (VWF:CB). Cette liaison est très dépendante de la multimérisation du VWF. L'étude du rapport VWF:CB/VWF:Ag, comme c'est le cas pour le rapport VWF:RCo/VWF:Ag peut distinguer le type 1 (où il est normal) du type 2. Ce rapport a également l'avantage de différencier certains types 2; ainsi, il est diminué dans le type 2A, plus

ou moins diminué dans le type 2B et normal dans le type 2M (où tous les multimères sont présents) [134].

Le VWF: CB détecte les anomalies qualitatives associées à une diminution des multimères de très HPM dans le type 2A et 2B de la MVW. Ce test met en évidence un défaut de la fonction adhésive du VWF due a une mutation du CB site. Les multimères de très HPM sont présents dans le type 2M et donc le VWF : CB reflète la présence de ces derniers.

Le VWF : CB ne se substitue pas au VWF: Rco mais le complète et les deux tests doivent être associés pour le diagnostic d'une VWD [155]. Le VWF:CB devrait être inclus dans le diagnostic des patients avec des phénotypes modérés, car chez certains d'entre eux, une liaison réduite au collagène peut être la seule anomalie retrouvée [156].

- **Étude de la liaison du facteur Willebrand au facteur VIII :**

La capacité du VWF plasmatique de lier du FVIII exogène ajouté, ce test est utilisé pour diagnostiquer le type 2N de la VWD. L'analyse est effectuée par test ELISA.

Le taux de FVIII exogène lié est proportionnel à la quantité de VWF du patient.

Le type 2N de la VWD est récessif; homozygote ou hétérozygote composite. Dans les deux cas, le VWF circulant ne lie pas normalement le FVIII et la concentration de FVIII est ainsi diminuée [157].

Ce test seul peut distinguer une VWD type 2N avec interaction diminuée, d'une hémophilie A modérée ou mineure avec interaction normale [158].

- **Analyse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) :**

La détection des défauts génétiques est rendue difficile par le caractère autosomique de l'affection, la grande taille du gène et la présence d'un pseudogène sur le chromosome 22. La recherche des anomalies moléculaires a pu être entreprise depuis la publication de la structure du gène du VWF grâce au développement des techniques d'amplification enzymatique (polymérase Chain réaction [PCR]) à partir de l'ADN génomique ou de l'acide ribonucléique (ARN) plaquettaire, d'électrophorèse et de séquençage. En France il existe un registre des polymorphismes et des mutations connues du VWF qui facilite la recherche des anomalies moléculaires [134].

Une étude canadienne sur le Type 1 a démontré que dans 75% des cas index avec un taux de VWF: Ag < 30 % des variants moléculaires de VWF ont été trouvés; alors que pour des taux de VWF: Ag > 30 %, ces variants sont retrouvés dans seulement 50% des cas index [125**]**

En routine, l'analyse moléculaire n'est pas toujours nécessaire sauf dans certaines situations (tableau 4).

L'identification des mutations de type 2N, suspectées par la présence d'une réduction marquée de FVIII: C en comparaison avec le VWF et confirmé par le test de liaison FVIII-VWF (VWF: FVIIIB) est importante pour le conseil génétique et permet d'exclure le statut de conductrice d'hémophilie A.

L'identification des mutations du gène VWF dans le type 2B permet de distinguer la VWD de type plaquettaire, caractérisée par un phénotype similaire mais avec des mutations localisées dans le gène GP1ba.

Le diagnostic prénatal pour le type 3 peut être suggéré chez les familles présentant une histoire hémorragique importante ou des inhibiteurs. [159]

Type de VWD	**Prévalence (%)**	**Tests moléculaires positifs (%)**	Utilité de l'analyse moléculaire
1	**75**	**65**	**pas d'intérêt immédiat**
2A	**8**	**85**	**confirmation de l'analyse phénotypique**
2B	**8**	**85**	**confirmation de l'analyse phénotypique**
2M	**2**	**85**	**confirmation de l'analyse phénotypique**
2N	**8**	**85**	**confirmation de l'analyse phénotypique**
3	**< 1**	**85**	**diagnostic prénatal**

Tableau 4: Utilité clinique de la génétique moléculaire dans le diagnostic de la VWD et taux de réussite de la détection des mutations. [16]

E - Classification:

Il existe trois grands types de la VWD. Le type 1 est caractérisé par une diminution plus ou moins importante dans le plasma de VWF normal .Le type 2 correspond à une synthèse quantitativement normale ou subnormale de VWF qualitativement anormal. Dans le type 3, le VWF est indétectable. Il existe de très nombreux sous types.

La classification de 1994 proposée par le comité de standardisation restreint la VWD à des mutations dans le VWF gène [46], mais ce critère a été abandonné puisque les mutations sont difficiles à détecter en pratique (mutations pas toujours détectées).

En outre, des mutations dans d'autres gènes pourraient provoquer une VWD.

Le comité scientifique et de standardisation sur le facteur Willebrand de la société internationale de thrombose et d'hémostase a proposé en 2006 une nouvelle classification qui est toujours en vigueur [50] (tableau 5).

1 - Le type 1:

Il correspond à un déficit quantitatif partiel en VWF, caractérisé par une réduction dans le plasma de VWF:Ag et de VWF:RCo, par la présence de tous les multimères de VWF.

Il constitue la forme la plus fréquente puisqu'il touche plus de 70% à 80% des patients. La transmission est presque toujours autosomique dominante mais avec une pénétrance variable. Le mécanisme du déficit n'est pas encore complètement élucidé. Il peut être dû à une anomalie de synthèse, de sécrétion ou de stabilité de la molécule.

a - Sécrétion anormale de FVW:

Certaines mutations du gène du VWF, situées dans le domaine D3 (Cys 1149 Arg, Cys 1130 Phe, Thr 1156 Met) affectent le transport intracellulaire des sous-unités de VWF. Elles entraînent une rétention intracellulaire et un déficit profond en VWF.

b - Clairance accélérée :

Certaine mutations induisent une réponse brève à la desmopressine avec une demi vie de VWF inferieure à 4 heures témoignant de la clairance accélérée, ex : Cys 1130 Phe, Cys 1149 Arg, Ser 2179 Phe dans le domaine D4**.**

c - Sensibilité augmentée du VWF au clivage par ADAMTS13 :

Due à une mutation dans le domaine A2, la substitution (TYR 1584 CYS) entraine aussi une rétention intracellulaire.

Le sous-type « Vicenza », antérieurement classé comme un variant de type 2M, est maintenant assimilé à une VWD de type 1 liée à une augmentation extrême de la clairance du VWF dans la circulation (taux très abaissé de VWF inférieur à 15 UI/dl et demi-vie réduite de quatre à cinq fois après administration de Desmopressine).

La mutation responsable (Arg 1205 His) est localisée dans le domaine D3. La clairance rapide du VWF réduit le temps où les multimères de très haut poids moléculaire « ultralarges » peuvent être clivés par ADAMTS 13, ce qui explique la persistance de tels multimères dans la circulation [160].

Il peut être difficile de porter le diagnostic dans les formes les plus modérées et de les distinguer d'un sujet de groupe sanguin O avec un taux de VWF à la limite inférieure de la normale .Trois critères sont indispensables pour affirmer le diagnostic :

- L'existence de symptômes hémorragiques.
- Un taux de VWF inférieur à la normale à plusieurs reprises.
- Des antécédents hémorragiques familiaux.

On distingue plusieurs sous-types selon le contenu intra-plaquettaire en VWF, la réponse au traitement par la desmopressine pouvant alors être différente; elle est bonne lorsque le contenu intra-plaquettaire est normal.

Il a été suggéré que le niveau d'expression du récepteur $\alpha 2\beta 1$ pour le collagène à la surface des plaquettes pourrait constituer une explication aux différences de symptomatologie hémorragique chez les patients de type 1 ayant une diminution modérée de VWF. En effet, les porteurs de l'allèle 807 C sur le gène $\alpha 2$ auraient une expression moindre du récepteur sur les plaquettes. Cette mutation est plus fréquemment retrouvés chez les VWD de type 1 que chez les sujets normaux. Les patients porteurs de cet allèle ont également un temps d'occlusion mesuré sur PFA-100® plus long. [161]

Son diagnostic a été remis en cause par Sadler [162]. En effet selon cet auteur, l'association d'un saignement et d'un taux de VWF discrètement abaissé ne doit pas forcément conduire au diagnostic de VWD.

En effet, ces déficits modérés en VWF ne sont pas tous liés à une anomalie moléculaire au niveau du gène du VWF mais à divers facteurs extra géniques. Il existe de nombreux "faux positifs" qui font partie d'une nouvelle catégorie ("taux de VWF abaissé, ou "type 1 probable").

Le taux de VWF diminué est associé soit à des hémorragies cutanéomuqueuses significatives soit à une histoire familiale compatible avec le type 1 de transmission dominante. Cette nouvelle catégorie de patients est à prendre en charge de manière différente, comme des personnes à risque et non comme des malades.

2 - Le type 3:

C'est la forme grave de la maladie mais elle ne représente que moins de 5% des cas de VWD. Il est dû à une anomalie quantitative, mais contrairement au type 1, le déficit en VWF est total. Les patients présentent dès la petite enfance des manifestations hémorragiques souvent préoccupantes. Le taux de VWF (VWF : Ag et VWF: RCo) est indétectable dans le plasma et dans les plaquettes. L'absence de VWF entraîne un déficit profond en FVIII de l'ordre de 1 à 10 UI/dl; c'est pourquoi ces patients présentent outre la symptomatologie cutanéo-muqueuse, une symptomatologie identique à celle de l'hémophile A avec des hémorragies et des hémarthroses.
Le mode de transmission est récessif, les sujets étant homozygotes ou hétérozygotes composites.
Les anomalies moléculaires sont de plusieurs sortes : délétions prédisposant les patients à la formation d'allo-anticorps, mutations non-sens, défaut d'épissage. Il existe donc une grande hétérogénéité des anomalies moléculaires retrouvées, avec un grand nombre de mutations décrites [163].
Le développement d'alloanticorps anti-VWF est une complication redoutable, rendant inefficace le traitement par concentrés de VWF.

3 - Le type 2:

Il définit les variants de la maladie caractérisés par l'existence d'un VWF qualitativement anormal ; il en existe quatre grands sous-types. Contrairement au type 1 dont le génotype est très peu documenté, l'analyse du gène du VWF a permis d'associer ces variants à différentes anomalies moléculaires .

a - Type 2A:

Le type 2A est le premier variant moléculaire identifié dans la littérature avec une diminution de l'affinité du VWF pour les plaquettes liée à l'absence des multimères de HPM. Il existe en fait quatre sous-types: IIA, IIC, IID et IIE, les sous-type IIA étant de loin les plus fréquents [77].
Pour les patients avec le sous-type IIA de transmission dominante, les mutations sont localisées au niveau du domaine A2 qui contient le site de protéolyse physiologique de la molécule (acide

aminé 1605-1606). Les mutations les plus souvent retrouvées sont: R1597W et I1628T (Sadler et al, 2000). Dans le sous-type IIA, deux types de mécanisme ont été individualisés : une sensibilité à la protéase ADAMTS 13 augmentée ou un transport intra-cellulaire anormal.
Pour les très rares patients avec les sous-types IIC et IID dont la transmission est récessive, l'anomalie moléculaire est située au niveau du domaine D2 (sous-type IIC), entraînant une absence de multimérisation ou au niveau du domaine CK (sous-type IID) entraînant une dimérisation anormale. Le sous-type IIE est différent car la répartition des multimères du VWF est peu anormale et il peut être aisément confondu avec un type1; les anomalies moléculaires responsables sont situées dans le domaine D3 et entraînent une rétention intra- cellulaire du VWF.

b. Type 2B:

Les variants de **type 2B** sont caractérisés par une augmentation de l'affinité du VWF pour la GpIb plaquettaire. Les anomalies moléculaires responsables sont situées au niveau du domaine A1. Elles modifient la conformation du VWF en augmentant l'accessibilité de son site de liaison à la GpIb. La structure multimérique du VWF est toujours normale dans les plaquettes alors qu'il existe dans le plasma le plus souvent une absence des multimères de HPM, liée à leur adsorption sur les plaquettes pouvant entraîner une thrombopénie parfois sévère; il ne reste plus alors en circulation que les formes de bas poids moléculaire qui ont une action hémostatique moins importante. Quatre anomalies moléculaires sont fréquentes: R1306W, R1308C, V1316M et R1341Q. [164]

c. Type 2M:

Les variant de **type 2M** (M pour multimères) sont caractérisés par une diminution de la liaison du VWF aux plaquettes, non liée à la perte des multimères de HPM. Ils sont associés à des mutations du domaine A1.
La corrélation génotype phénotype des patients type 2M avec ratio VWF : Rco/VWF : Ag < 0.6 est claire et la définition phénotypique du 2M a besoin de plus de précision et devrait faire l'objet d'un consensus plus clair et non sujet à controverse. [165]
Décrit initialement comme rare, ce variant est en fait fréquent. Il est finalement lui aussi hétérogène. L'étude INSERM Française coordonnée par le Professeur D. Meyer (Unité 143) a montré qu'il y avait deux grands sous-groupes; des patients avec un phénotype typique où le VWF a une structure multimérique strictement normale et une liaison à la GpIb diminuée en présence de ristocétine mais normale en présence de botrocétine et des patients"2A-like" avec

un phénotype atypique où le VWF a une structure multimérique anormale et une liaison à la GpIb diminuée à la fois en présence de ristocétine et de botrocétine [166]. Les phénotypes atypiques sont les plus fréquents, identifiés chez 55% des patients dans l'étude française. La caractérisation des VWF recombinants mutés a permis de préciser les mécanismes: les anomalies moléculaires altèrent soit le site de liaison à la GpIb (phénotype 2M "typique"), soit la conformation du domaine A1 et le processus de multimérisation du VWF modifiant ainsi sa capacité à se lier à la GpIb (phénotype 2M "atypique").

Un variant particulier "2M Vicenza" est actuellement classé dans le type 1. [167]
Un bon exemple de la controverse dans la classification du type 2M est la mutation R1374C VWF. Cette mutation se présente sous différents phénotypes et a été décrite dans 23 familles (classées en type 1, 2A, 2M) mais finalement, elle est classée comme type non défini dans le registre ISTH de VWD [165].
Une autre mutation a été identifiée chez deux familles non apparentées du Royaume-Uni et d'Algérie. Elle consiste en une délétion de 3 bp à l'état hétérozygote, entraînant la délétion d'un résidu lysine à l'intérieur d'une répétition de quatre lysines en position 642-645 des sous-unités du VWF mature (del K1405-1408 dans le pré-pro VWF). Les patients possédant cette mutation ne présentent aucune anomalie des multimères [168].

d- Type 2N:

Le type 2N de la VWD ou variant "Normandie" est caractérisé par une diminution de l'affinité du VWF pour le FVIII. Le phénotype des patients est plus proche d'une hémophilie A mineure que des autres formes de la VWD. En effet, il existe un déficit en FVIII, alors que les taux de VWF sont normaux.
Seul le test de liaison au FVIII est diminué VWF:FVIIIB, tous les autres tests d'exploration de la VWD sont normaux.
Le rapport FVIII/VWF:Ag est toujours nettement diminué < 0,5. Ce ratio est très diminué < 0.2 chez les patients homozygotes pour la mutation T791M, R816W ou C1060R.
Les mutations se localisent au niveau des domaines D' (et D3), site d'interaction avec le FVIII. Ce type 2N pose un problème de diagnostic différentiel avec l'hémophilie A. [169] [49] [50] [127]
En 1996, deux équipes, d'Allemagne et du Royaume-Uni, ont publié des données sur le type 2N, premièrement 5 sur 36 (14%) et 3 sur 199 (1,5%) des patients précédemment diagnostiqués porteur d'une VWD type 1 sont en réalité de type 2N, et deuxièmement, 1 sur 33 (3%) et 5 sur 177 patients (3%) précédemment diagnostiqués comme étant hémophilies A modérés ou

conductrices d'hémophilie A sont en réalité de type 2N. Diverses mutations du type 2N de la VWD ont été décrites (figure 14) sur la région N terminale du VWF. [169]

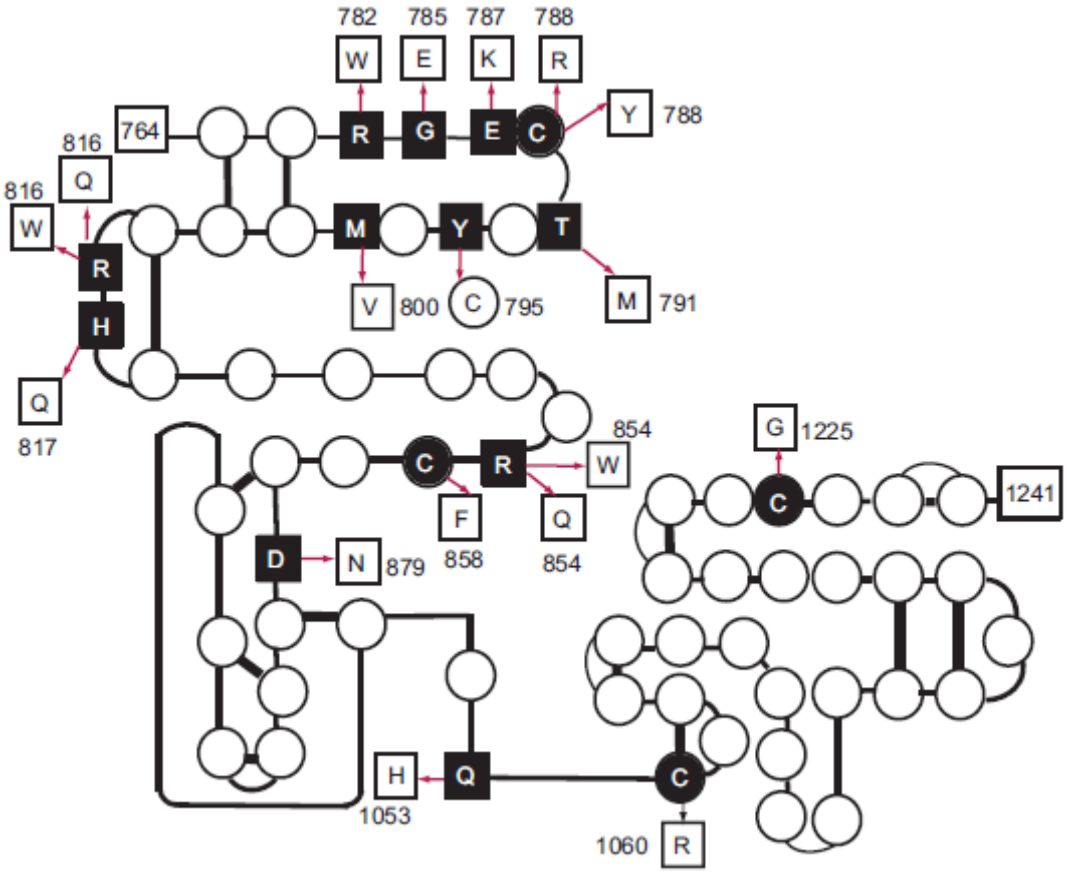


Figure 14: Localisation des diverses mutations du type 2N de la VWD sur la région N terminal du VWF. Les résidus cystéines sont représentés par des cercles et les ponts dissulfure par des lignes épaisses. Les domaines D' et D3 correspondent aux résidus d'acides aminés 769 - 865 et 866 - 1241 respectivement. [169]

Sous-type	Domaine du VWF	Mécanismes
2N	**D' et D3**	**Liaison au FVIII diminuée.**
2B	**A1**	**Liaison à la GpIb augmentée.**
2M	**A1**	**Liaison à la GpIb diminuée**
2A (IIA)	**A2**	**Sensibilité à la protéase ADAMTS13 augmentée ou transport intracellulaire anormal.**
2A (IIC)	**D2**	**Absence de multimérisation.**
2A (IID)	**CK**	**Dimérisation anormale.**
2A (IIE)	**D3**	**Multimérisation anormale et rétention intracellulaire.**
Vicenza	**D3**	**Clairance augmentée.**

Tableau 5: Mécanismes physiopathologiques des variants moléculaires de la VWD. [170]

4 - Maladie de Von Willebrand acquise :

La VWD acquise (AVWS) est moins fréquente que la VWD congénitale. Elle est généralement associée à un certain nombre de mécanismes différents et de maladie causale.

Les résultats de laboratoire dans l'AVWS sont similaires à ceux de la VWD. Les pathologies à l'origine d'un AVWS devraient être pris en considération chez chaque patient présentant un taux de VWF abaissé et une symptomatologie hémorragique sans antécédents hémorragique personnels et familiaux. [171]

Elle est le plus souvent observée chez les personnes de plus de 40 ans sans antécédents de saignement présentant diverses pathologies comme :

- Syndromes lymphoprolifératifs.
- Gammapathies monoclonales de signification inconnue, MGUS.
- Myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenstrom.
- Anticorps anti-VWF.
- Troubles auto-immuns comme le lupus érythémateux disséminé (LED), la sclérodermie et le syndrome des anticorps antiphospholipides.
- Sténose valvulaire aortique et autre pathologie cardiaque qui modifie le flux sanguin (changement de conformation du VWF induits par les modifications des forces de cisaillement aboutissant à une clairance accélère du VWF).
- Augmentation marquée du nombre de plaquettes sanguines (syndrome myéloproliferatif)
- Élimination du VWF de la circulation par adsorbtion sur les cellules tumorales.
- Diminution de la synthèse de VWF dans l'hypothyroïdie.
- Utilisation de certains médicaments comme l'acide valproïque, la ciprofloxacine, la griséofulvine et l'hydroxyéthylamidon. [143] [171]

Tests de laboratoires	Type 1	Type 2A	Type 2B	Type 2M	Type 2N	Type 3
Temps de saignement	N ou allongé	allongé	allongé	allongé	N	très allongé
Temps d'occlusion plaquettaire	allongé	allongé	allongé	allongé	N	allongé
FVIII:C	N ou diminué	N ou diminué	N ou diminué	N ou diminué	Très diminué	< 10%
VWF:RCo	≤ 30%	≤ 30%	≤ 30%	≤ 30%	30-200%	ID
VWF:Ag	≤ 30%	≤ 30-200%	≤ 30-200%	≤ 30-200%	30-200%	ID
VWF:RCo/ VWF:Ag	> 0,6	< 0.6	< 0.6	< 0.6	> 0.6	-
VWF:CB	N ou diminué	très diminué	diminué	N ou diminué	N ou diminué	-
RIPA	N ou diminué	N ou diminué	agrégation a faible dose	N ou diminué	N	-
Electrophorèse des multimères	N ou diminué	Absence des multimères de haut poids moléculaires et intermédiaires	Absence des multimères de haut poids moléculaires	N	N	Absent
VWF:VIIIB	N	N	N	N	diminué	-

N= Normal.

ID= Indetectable.

Tableau 6 : Résultats des tests de laboratoires pour le diagnostic de la VWD. [127] [172] [173].

F - Diagnostics différentiels:

Le diagnostic de la VWD peut être complexe et une approche diagnostique globale, organisée et adaptée à tous les patients permet un meilleur dépistage de la maladie. Il existe un certain nombre de situations physiologiques ou pathologiques qui peuvent simuler une VWD.

1- Sujet normal:

Il est parfois difficile de distinguer les sujets normaux d'une VWD type 1 modéré. Comme nous l'avons vu précédemment, de nombreux facteurs pathologiques (comme l'inflammation) ou physiologiques (comme le groupe sanguin, la grossesse et l'âge) peuvent modifier modérément le taux de VWF. Tous les facteurs modulant le taux plasmatique de VWF entraine une grande dispersion de la zone normale du taux de VWF et une grande variabilité interindividuelle [134].

Les individus avec des taux de VWF entre 30-50% qui ne remplissent pas tous les critères de diagnostic de type 1 sont classés en type 1 probable ou en anglais « Low VWD ». Ces patients doivent faire l'objet d'une attention particulière puisqu'ils constituent une catégorie intermédiaire entre le type 1 avéré et le sujet normal, mais présentent un risque de saignement plus élevé et nécessitent une prise en charge thérapeutique dans certaines situations à risque de saignement. [174]

2- Pseudo Willebrand plaquettaire :

La pseudo-VWD, de transmission autosomale dominante est une thrombopathie où il existe une augmentation de l'affinité de la GpIb plaquettaire pour le VWF. Les multimères de HPM se lient à la GpIb anormale, ce qui in duit leur disparition du plasma et une thrombopénie modérée comme dans le type 2B de la VWD.

Pour faire la distinction entre ces deux pathologies, il faut réaliser des épreuves croisées en test d'agrégation plaquettaire ou de liaison du VWF aux plaquettes en présence de ristocétine.

En cas de pseudo-maladie de Willebrand, la liaison du VWF du plasma du patient à des plaquettes témoins n'est pas augmentée, comme c'est le cas dans la VWD de type 2B. A l'inverse, la liaison du VWF d'un plasma témoin est augmentée en présence des plaquettes du malade.

Deux mutations au niveau de la sous-unité de la GpIb ont été décrites chez les patients atteints de pseudo-VWD.

La distinction est importante du point de vue thérapeutique puisque la desmopressine ou les concentrés de VWF sont contre-indiqués et peuvent induire une thrombopénie. Ces patients devraient donc plutôt être traités par des concentrés plaquettaires [134].

3- Hémophilie A :

Le type 2N de la VWD présente un profil très proche de l'hémophilie A. L'identification du type 2N est basée sur l'évaluation de la capacité du VWF à lier le FVIII exogène VWF:FVIIIB. La distinction est parfois difficile à faire, lorsque le taux de FVIII:C est inférieur à 1%, on s'oriente très probablement vers une hémophilie A. Par contre pour un taux entre 1 et 35%, les deux diagnostics sont envisageables.

L'hémophilie A est de transmission liée a l'X par contre, le type 2N est de transmission récessive et l'enquête familiale peut être d'interprétation difficile pour distinguer les conductrices d'hémophilie A des sujets porteurs de mutation type 2N hétérozygote.

Le ratio VWF:FVIIIB/VWF:Ag est très utile pour identifier les patients VWD type 2N hétérozygotes chez lesquels on note que la prolongation du TCA, la diminution du taux de FVIII:C et du ratio FVIII/VWF:Ag sont rare. En effet le ratio VWF:FVIIIB/VWF:Ag est toujours abaissé chez les sujets hétérozygotes VWD type 2N tandis qu'il est normal chez les conductrices d'hémophilie A. L'analyse moléculaire permet également de distinguer le type 2N de l'hémophilie A. [175]

G - Traitement:

Ces dernières années, il y a eu relativement peu d'avancées dans les options thérapeutiques disponibles pour le traitement des syndromes hémorragiques chez les patients atteints de VWD. [176]

Il existe plusieurs traitements disponibles pour le VWD, la desmopressine et les concentrés plasmatiques de VWF avec ou sans FVIII.

Des traitements locaux dépendant du lieu du saignement, peuvent être utilisés et s'avèrent souvent suffisants dans les formes modérées comme la compression locale, le méchage résorbable d'une épistaxis, l'utilisation d'une colle biologique après avulsion dentaire et le traitement hormonal en cas de ménorragies.

Dans les hémorragies des muqueuses, la correction du déficit en VWF est importante.

L'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens doivent être formellement proscrits.

Le choix du traitement dépend du type de VWD, de la réponse à la desmopressine et de la situation clinique. Le but du traitement est de corriger les troubles de l'hémostase primaire et les troubles de la coagulation [134]. [127]

1- La desmopressine ou 1-desamino-8-D-arginine vasopressine (DDAVP):

C'est un dérivé synthétique de l'antidiurétique hormone, vasopressine. La première utilisation remonte à 1977 chez les hémophiles A et les patients atteints de VWD, dans le but d'éviter les transfusions de produits dérivés du sang.

- **Mode d'action:**

La desmopressine stimule la libération du VWF des WPB de la cellule endothéliale médiée par l'AMP cyclique en agissant sur le récepteurs vasopressine V2. Le taux de FVIII augmente parallèlement au VWF par un mécanisme qui n'est pas clairement élucidé. La desmopressine induit également la libération de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) qui est rapidement inactivé par l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1). [177] [178]

- **Mode d'administration :**

La réponse maximale de libération de VWF et FVIII est obtenue à des concentrations de DDAVP de 0.3 microgramme/kilogramme de poids. [179] [180]

L'administration de DDAVP par voie intraveineuse augmente le taux de VWF et FVIII de 2 à 4 fois le taux basal en 30 à 60 minutes. Les perfusions peuvent être répétées toutes les 12 à 24 heures en fonction du type de VWD et de la gravité de l'épisode hémorragique. Le médicament est également disponible sous forme de spray intranasal mais entraîne une augmentation plus faible du VWF et du FVIII. [172]

- **Réponse au traitement:**

Une réponse à la DDAVP est évaluée au moins après 1 heure (pic) de la perfusion et est définie comme une augmentation d'au moins trois fois supérieure au taux basal d'activité du FVIII:C et du VWF:RCo. Une autre évaluation à 4 heures après la perfusion de DDAVP est utile afin de déterminer le profil de clairance de ces fractions. Chez certains patients, la demi-vie du FVIII et du VWF peut être très courte malgré leur normalisation transitoire rapide.

Le DDAVP est efficace chez les patients atteints de VWD de type 1 quand le taux basal du VWF et du FVIII est supérieur à 10%, tandis que chez d'autres types de VWD, il y a une réponse significativement moindre au DDAVP. Dans le type 2B, la DDAVP est contre

indiquée et peut aggraver la thrombopénie entraînant un risque accru de saignement. Les patients atteints de VWD de type 3 ne répondent pas au DDAVP.

La principale limite à l'utilisation de DDAVP est la tachyphylaxie. C'est la réduction progressive de la réponse après des traitements répétés; doit être prise en compte dans les traitements prolongés. [172]

- **Effets indésirables:**

La tachycardie, les maux de tête et les bouffées vasomotrices sont des effets secondaires bénins et fréquents du DDAVP qui peuvent souvent être atténués en ralentissant la perfusion ou en utilisant la voie sous-cutanée.

L'hyponatrémie et la surcharge volémique dues à l'effet antidiurétique du DDAVP surviennent rarement mais des perfusions répétées sont particulièrement à risque. Pour éviter cette complication, l'apport en liquides doit être limité pendant le traitement par DDAVP.

Ce médicament doit être utilisé avec prudence chez les patients présentant une hypertension non contrôlée, un infarctus du myocarde récent, un accident vasculaire cérébral, ou une angine de poitrine, car des événements thrombotiques peuvent se produire. [172]

Type	Desmopressine
1	Habituellement efficace
2A	Efficacité variable
2B	Généralement contre-indiquée
2M	Efficacité variable
2N	Efficace mais réponse très brève
3	Inefficace

Tableau 7: Efficacité de la desmopressine dans les différents types de VWD [170, 171].

2- Les concentrés plasmatiques de VWF:

Jusqu'au début des années 1980, les patients pour lesquels la desmopressine était contre indiquée ou inefficace, un traitement par les concentrés plasmatiques était indiqué et le seul traitement disponible était le cryoprécipité. L'émergence de concentrés de FVIII plasmatique contenant du VWF s'est révélé être la thérapeutique optimale pour ces patients atteints de VWD. [181]

Il est recommandé de vacciner les patients contre l'hépatite B et A. [182]

Un concentré de VWF recombinant est à l'étude. [176]

Plusieurs produits contenant à la fois du VWF et du FVIII sont autorisés en Europe pour le traitement du VWD.

Après la perfusion, la demi-vie du FVIII: C est habituellement d'environ deux fois celle du VWF: Ag (environ 20-24 h contre ~ 10-14 h) en raison de la production endogène de FVIII. [172]

Pour le traitement à la demande, le calcul de la dose requise de VWF ou de FVIII est basé sur la constatation que 1 UI VWF: RCo par kg de poids corporel augmente le VWF de 1,5% et 1 UI de FVIII: C par kg augmente le FVIII plasmatique de 2%. L'objectif est d'augmenter ou de normaliser les deux niveaux de facteur afin d'assurer une hémostase adéquate (tableau 8). [181]

En cas de perfusion de doses élevées (bolus), la dose requise est déterminée à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Nombre d'unité du concentré de VWF (basé sur la teneur en VWF:RCo)} = \frac{[\text{poids corporel (kg)} \times \text{élévation désirée du VWF:RCo (\%)}]}{1.5}$$

Le débit d'une perfusion continue est calculé comme suit:

$$\text{Vitesse de perfusion (UI / kg / h)} = \text{clairance (ml / kg / h)} \times \text{niveau d'équilibre souhaité (UI / ml)}$$

Les faibles concentrations plasmatiques de FVIII sont le résultat d'un faible taux de VWF ou d'une diminution de l'affinité de liaison de VWF pour le FVIII. Lorsque le VWF exogène est

perfusé, il se lie et stabilise le FVIII endogène et augmente ainsi son taux plasmatique. Les perfusions de concentrées de VWF et FVIII dans un délai court peuvent conduire à des concentrations plasmatiques très élevées en FVIII: C, voire même > 270% et constituer ainsi un facteur de risque thromboembolique.

L'augmentation du FVIII endogène après perfusion de concentrés de VWF hautement purifiés ou du VWF recombinant ne contenant pas du FVIII est lente et un pic n'est atteint qu'après 6-8 heures. Une dose de FVIII est parfois nécessaire pour une correction rapide de l'hémostase. [182]

	Dose initiale	Taux hémostatique	Dose d'entretient
Saignement ou chirurgie mineur	**30-60 UI/Kg**	**VWF:RCo et FVIIIC > 50% PEDANT 3 à 5 jours**	**20-40 UI/Kg toutes les 12 à 48 heures**
saignement ou chirurgie majeur	**40-60 UI/Kg**	**VWF:RCo et FVIIIC > 50% PEDANT 7 à 14 jours**	**20-40 UI/Kg tous les 8 à 24 heures**

Tableau 8 : Traitement des saignements et des interventions chirurgicales avec un concentré de VWF / FVIII. [127]

3 - VWF recombinant :

Ces produits réduisent le risque de transmission d'infections virales ou autre agents infectieux. En plus, la production de ces facteurs est indépendante de la disponibilité des donneurs de sang.

Turecek et al ont récemment développé un VWF recombinant (Vonicog alfa, rVWF) produit dans des cellules CHO génétiquement modifiées exprimant à la fois le VWF et le FVIII. [183]

Le rVWF contient des multimères intacts de poids moléculaire élevé, entraînant une activité spécifique plus élevée (ratio VWF:RCo/VWF:Ag > 1) que dans le concentré de VWF dérivé du plasma. La demi-vie terminale de la rVWF était comparable à celle du VWF dérivé du plasma. La première dose de rVWF a été administrée en même temps que le rFVIII et ensuite sans le rFVIII. Le résultat du traitement a été jugé excellent dans plus de 96% des épisodes

de saignement. Des études pharmacocinétiques supplémentaires ont montré que le FVIII était normalisé après la perfusion unique de rVWF dans les 6 heures. Le traitement a été considéré comme sûr, car aucune thrombose, réaction allergique ou développement d'inhibiteurs de la rVWF n'ont été démontrés. Actuellement, des études sont en cours sur l'efficacité du rVWF en chirurgie ainsi que son utilisation à titre prophylactique à long terme chez les patients souffrant de saignements récurrents. Récemment, le rVWF a été homologué et approuvé aux Etats-Unis pour le traitement des saignements chez les adultes atteints de VWD. [181]

4 - Traitement au cours de la grossesse:

En cas de grossesse, les patientes atteintes de VWD : VWD type 1 et 2, les tests VWF: Ag, VWF: RCo et FVIII: C devraient être surveillés à 12 semaines et à 30-34 semaines. Lorsque le taux de VWF est diminué à 30-34 semaines une stratégie doit être mise en place précisant le moment du traitement et le type de médicament à utiliser. Il existe un retour à un taux basal du VWF après l'accouchement et donc le traitement doit être maintenu quelque jours après cet accouchement pour éviter tout saignement.

Historiquement, il est conseillé de cibler un taux de VWF et de FVIII > 50% avant la délivrance. [181]

5 - Traitement des VWD de type 3 avec allo-anticorps:

Les alloanticorps contre le VWF sont une complication rare de VWD, avec une prévalence estimée à 6-10% chez les patients de type 3 de VWD [184]

Presque tous les cas surviennent chez des patients atteints de VWD de type 3 avec des délétions partielles ou complètes du gène du VWF.

Le FVIII recombinant a été utilisé avec succès pour le traitement des patients présentant des anticorps anti-VWF.

En raison de l'absence de stabilisation par le VWF, la demi-vie du FVIII est diminuée. Ce problème peut être surmonté par une perfusion continue de doses plus élevées de concentré de FVIII.

Une autre option peut être envisagée est le traitement avec le FVIIa recombinant (rFVIIa) ou le complexe de prothrombine activé, qui fonctionne comme des agents courcercuitant le FVIII et le FIX. [181]

6 - L'acide tranexamique :

Les agents antifibrinolytiques tels que l'acide tranexamique et l'acide aminocaproïque inhibent l'interaction du plasminogène avec la fibrine, empêchant ainsi la dégradation de la fibrine.
Ces agents sont particulièrement efficaces dans les muqueuses. Bien que l'efficacité de ce traitement dans le VWD n'ait pas été prouvée par des essais randomisés, on admet généralement l'efficacité de ces traitements. [181]

7 - Traitement hormonal :

La ménorragie est un symptôme très fréquent chez les femmes atteintes de VWD, un traitement hormonal avec des contraceptifs oraux contenant à la fois des progestatifs et des œstrogènes peut être instauré en l'absence de volonté de grossesse. Un traitement contraceptif oral réduira significativement la perte de sang utérine pendant la semaine sans contraception orale. Lorsqu'il est administré en continu (≥ 28 jours), les jours de saignement total peuvent être réduits de façon drastique.
Chez les femmes présentant des ménorragies, on utilise souvent une combinaison de traitements antifibrinolytique et hormonal. Bien que la combinaison d'acide tranexamique et de contraceptifs oraux puisse être pro-thrombotique, aucun cas d'événement thromboembolique chez les femmes atteintes de VWD n'a été signalé. [181]

H – Le diagnostic prénatal :

Le rôle de l'étude moléculaire dans le diagnostic de la VWD n'est pas essentiel si le patient bénéficie d'une bonne analyse phénotypique pour instaurer un traitement adéquat. En effet, dans le VWD l'analyse moléculaire vient confirmer les résultats de l'étude phénotypique, cependant l'étude de l'ADN peut être très importante pour proposer un diagnostic prénatal chez les couples porteurs de formes sévères de VWD du type 3 ou type 2.
La technique utilisée repose sur l'analyse de l'ADN du tissu fœtal, obtenu par biopsie de trophoblaste après la dixième semaine de gestation. Lorsque la ou les mutations ne sont pas connues, différents polymorphismes du gène du VWF sont étudiés pour repérer les allèles mutés.

CHAPITRE

II

PARTIE PRATIQUE

I – Problématique (et hypothèse de recherche) :

La fréquence élevée dans le monde de la VWD et le nombre diminué de patients diagnostiqués en Algérie, reflètent un problème de dépistage de cette maladie hémorragique par méconnaissance du personnel soignant du fait de l'inexistence de recommandations nationales ni de guidelines pour le diagnostic de la VWD. En effet, les critères de diagnostic

de cette maladie font l'objet de révisions régulières et les stratégies diagnostiques sont en constante évolution.

Une large gamme d'examens est nécessaire et indispensable pour le diagnostic et la classification, mais ne sont pas toujours disponibles dans nos laboratoires. Ce trouble hémorragique s'exprime sous différents types et sous types et les critères diagnostiques sont nombreux et font régulièrement l'objet de nouvelles recommandations.

En effet, en dehors du type 3, dont la sévérité des symptômes est assez simple à identifier et le diagnostic est facile, pour les autres types, il existe une difficulté réelle d'évaluation de la sévérité des symptômes hémorragiques et de leur classification.

L'autre difficulté qui complique le diagnostic est la fluctuation du taux de VWF (les variations physiologiques et pathologiques). En pratique, les taux de VWF des patients peuvent chevaucher avec ceux d'une population normale, ce qui complique le diagnostic en particulier pour le type 1 modéré ou certains types 2. Ceci peut être la cause de sous-diagnostic comme d'un sur-diagnostic. Une démarche diagnostique bien maitrisée avec une série de tests sensibles et spécifiques permet de réduire considérablement ces erreurs.

En Algérie la première thèse sur la VWD date de 1959 à la faculté de médecine d'Alger soutenue par ROBBE Robert Paul intitulée « Contribution à l'étude du syndrome Willebrand ». Une autre thèse, soutenue en 2004 par BADEREDINE Lotfi décrit l'étude de 292 cas de maladie de Von Willebrand recrutés au niveau du Centre de Transfusion du CHU Bab El Oued entre 1996 et 2002 : les critères retenus pour le diagnostic sont un dosage du facteur Willebrand cofacteur de la ristocetine diminué (VWF:RCo < 50%) associé à une histoire clinique personnelle et/ou familiale.

La surveillance de la fréquence des maladies est importante et permet de déterminer les priorités en santé et de détecter des modifications dans leur répartition. La fédération mondiale de l'hémophilie (FMH) dans son rapport publié en octobre 2016 [185] sur le sondage mondial annuel des personnes atteintes de troubles de coagulation héréditaires, a recensé en Algérie par le biais de l'association nationale des hémophiles Algériens 238 patients atteints d'une VWD contre 2131 hémophiles et 498 patients pour les autres troubles de la coagulation.

Ces chiffres reflètent en premier le sous diagnostic de la VWD en comparaison avec l'hémophilie et les déficits rares en facteur de la coagulation et deuxièmement le manque de données sur les patients déjà diagnostiqués. En effet, il n'existe pas de registre national de la VWD et les publications nationales sont peu nombreuses et ne décrivent que des petites séries.

Cette maladie pose un réel problème de santé publiquevue la fréquence des épisodes hémorragiques et leur retentissement sur la qualité de vie des patients, leurs entourage et sur la société.

II - Objectifs :

A - Objectif principal :

Etablir une stratégie et un logigramme guide de diagnostic pour la classification de la maladie de Von Willebrand, basés sur des critères cliniques et biologiques.

B - Objectifs secondaires :

1. Screening de nouveaux cas de la maladie de Von Willebrand.
2. Classification de la maladie de Von Willebrand pour les nouveaux et anciens patients diagnostiqués.
3. Utiliser le questionnaire hémorragique proposé par l'ISTH (société international d'hémostase et thrombose) pour quantifier (scorer) le syndrome hémorragique des patients. Il sera utilisé également sur une population témoin pour permettre d'établir une base de référence définissant le score correspondant à l'absence de suspicion de maladie hémorragique.
4. Etablir des valeurs de référence propres à notre laboratoire pour le dosage antigénique (VWF:Ag) et fonctionnel (VWF:Rco) du facteur Von Willebrand, ce qui nous permettrait d'interpréter avec plus de facilité les résultats de ces deux dosages en particulier pour les patients ayant des valeurs à la limite de la normale comme dans certains types 1 de la maladie de Von Willebrand.
5. Implanter et développer deux nouvelles techniques au sein de notre laboratoire pour le diagnostic de la maladie de Von Willebrand. Le VWF:CB qui explore la liaison du facteur Von Willebrand au collagène et le VWF:VIIIB qui explore la liaison du facteur Von Willebrand au FVIIIc pour le diagnostic du type 2N de la maladie de Von Willebrand.
6. Etablir le diagnostic différentiel du type 2N de la maladie de Von Willebrand avec l'hémophilie A modérée et mineure qui pose un réel problème pour la prise en charge de cette catégorie de patients. On reprendra le diagnostic de tous les hémophiles modérés et mineurs déjà connus pour dépister un éventuel type 2N et ainsi éliminer une erreur de diagnostic.
7. Etablir un registre qui identifie les patients atteints de maladie de Von Willebrand dans l'Ouest Algérien. Il leur sera délivré une carte spécifique de diathèse hémorragique pour faciliter leur identification et leur prise en charge.

III - Population et méthodes :

A - Type et cadre de l'étude :

Cette étude a été réalisée au niveau du service d'hémobiologie du CHU d'Oran.

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective de cinq ans (janvier 2008 à décembre 2012) et prospective de 4 ans et demi (janvier 2013 à juin 2017) portant sur des patients adressés des

services d'hématologie et de pédiatrie de 10 wilayas de l'ouest Algérien (Oran, Mascara, Relizane, Mostaganem, Sidi Bel Abbes, Saida, Bechar, Tlemcen, Ain Temouchent et Tiaret).

B - Populations étudiées:

1- Population des patients :

Au total, nous avons testé 740 patients dont:

- 701 testés parmi lesquels nous avons identifié 96 patients atteints de la maladie de Von Willebrand (VWD) et réalisé 38 enquêtes familiales.
- Nous avons repris le diagnostic de 39 hémophiles A (20 modérés et 19 mineurs) pour rechercher une éventuelle erreur de diagnostic différentiel avec la maladie de Von Willebrand en particulier le type 2 N.

Critères d'inclusion :

- ✓ La présence d'une histoire hémorragique documentée personnelle et/ou familiale significative.
- ✓ Résidence dans l'Ouest Algérien.

Les hémophiles A modérés et mineurs sont suivis aux services d'hématologie du CHU d'Oran et hématologie pédiatrique de l'EHS Canastel.

2- Population témoin :

Un minimum de 120 échantillons par classe ou sous classe de la population de référence [186] est exigé statistiquement pour établir un intervalle de référence valide et complet. Mais pour des raisons pratiques, une approximation étroite peut être obtenue en testant un nombre beaucoup plus restreint de sujets. Cette approche est considérée comme acceptable à des fins cliniques par un nombre de spécialistes dans le domaine [187]. Le nombre de sujets normaux sélectionnés pour analyse ne doit pas être inférieur à 30 pour les tests d'hémostase relatifs à l'investigation des diathèses hémorragiques. [188]

Dans notre étude, nous avons déterminé les valeurs de références des VWF:RCo, VWF:Ag, VWF:CB, VWF:VIIIB et du score hémorragique. Pour des raisons pratiques de disponibilité ponctuelle des réactifs, nous avons séparé les témoins en 3 groupes différents.

a - Population témoin pour la détermination des valeurs de références du VWF:Rco et VWF:Ag :

Chez les sujets sains, en plus des variations environnementales, l'effet du système ABO (H) représente environ 30% de l'influence génétique sur le taux de VWF. Depuis plusieurs décennies, il est reconnu que les niveaux de VWF sont environ 25% inférieurs chez les individus du groupe sanguin O par rapport aux sujets des groupes non O. [95] [16] Pour ces raisons, il est nécessaire d'établir des valeurs de référence propres à notre laboratoire pour les deux tests VWF:Rco, VWF:Ag.

Le recrutement des donneurs de sang a été effectué au niveau du Centre de Transfusion Sanguine du CHU d'Oran.

Nous avons prélevés 120 donneurs bénévoles entre janvier et décembre 2014, âgés entre 18 et 60 ans de répartition égale entre les deux sexes. Ces prélèvements sont traités dans les mêmes conditions que les échantillons des patients et testés en utilisant la même technique de dosage [186] [188].

Dans tous les cas, l'intervalle de référence doit être utilisé seulement comme guide et aide à l'interprétation clinique. [186]

Critères d'inclusion :

Individu déclaré apte au don de sang.

Résidant dans l'Ouest Algérien.

Critères d'exclusions :

Individu malade, prise médicamenteuse, antécédents personnels ou familiaux de maladie hémorragique même non documentée, femme en période de menstruation, femme enceinte. En plus des critères à postériori, un taux élevé de fibrinogène, un temps de Quick ou temps de céphaline activateur en dehors des limites de la normale.

b - Population témoin pour la détermination des valeurs de références du VWF:CB et VWF:VIIIB :

Le transfert d'un intervalle de référence fourni par le fabriquant de réactif peut être validé en testant un petit échantillon de 20 individus sains. Cette intervalle est considérée comme valide Si 2 ou moins des 20 valeurs des sujets testés sont en dehors de l'intervalle de référence originale du fabriquant, et Si plus de 2 valeurs sont en dehors de cet intervalle, il faut alors déterminer ses propres valeurs de références. [186]

Nous avons prélevés 20 donneurs bénévoles en mars 2016, au niveau du Centre de Transfusion Sanguine du CHU d'Oran pour vérifier la validité de l'intervalle de référence fournis par le fabriquant des réactifs ELISA pour les deux tests VWF:CB et VWF:VIIIB.

Critères d'inclusion :

Individu déclaré apte au don de sang.

Résidant dans l'Ouest Algérien.

Critères d'exclusion :

Individu malade, prise médicamenteuse, antécédents personnels ou familiaux de maladie hémorragique même non documentée, femme en période de menstruation, femme enceinte. En plus des critères à posteriori un taux élevé de fibrinogène, un temps de Quick ou temps de céphaline activateur en dehors des limites de la normale.

c - Population témoin pour la détermination de la valeur seuil du score hémorragique :

L'appréciation clinique de la présence et de la sévérité de la symptomatologie hémorragique est une étape fondamentale dans l'évaluation des patients orientés pour l'exploration d'un trouble hémorragique probable. La société internationale d'hémostase et thrombose (ISTH) propose en 2010 un questionnaire structuré pour la collecte standardisée de l'histoire hémorragique des patients [131].

L'analyse quantitative de la symptomatologie hémorragique est importante pour un diagnostic correct de la maladie de Von Willebrand en particulier le type 1. [132]

Nous avons proposé un questionnaire (Annexe 1) basé sur celui publié par le groupe d'experts de l'ISTH en 2010 pour la collecte des données relatives à l'histoire hémorragique des témoins.

Le recrutement des donneurs de sang a été effectué au niveau du Centre de Transfusion Sanguine du CHU d'Oran.

612 donneurs bénévoles et membres de leurs familles (enfants) ont répondu au même questionnaire que celui utilisé pour les patients (annexe 1) entre janvier 2014 et mars 2015.

Critères d'inclusion :

Individu déclaré apte au don de sang.

Résidant à l'Ouest Algérien.

Critères d'exclusion :

Pour sélectionner la population de référence, nous avons choisi les mêmes critères d'exclusion à priori : individu malade, prise médicamenteuse, antécédents personnels ou familiaux de maladie hémorragique même non documentée.

C – Méthodes :

1 -Recueil des données et anamnèse :

Une fiche de renseignement (annexe 1) établie à notre niveau a été dument remplie par le personnel médical après un interrogatoire minutieux (des patients et témoins) ayant pour but la recherche des antécédents personnels et familiaux et le recueil des informations sur l'état civil du patient, des traitements en cours et le groupe sanguin ABO.

Les antécédents personnels hémorragiques des patients sont quantifiés par un questionnaire standardisé (annexe 1) qui liste tous les symptômes hémorragiques, ce qui nous permet de calculer pour chaque patient un score hémorragique qui varie entre 0 (pas de saignement spontané, pas d'hémorragie après chirurgie, extraction dentaire et accouchement) et 52 (saignement grave et important nécessitant une transfusion pour chaque symptôme du questionnaire). Ce questionnaire comprend les items suivants [131] :

1. Epistaxis.
2. Pétéchie et écchymose.
3. Saignement suite aux traumatismes mineurs.
4. Hémorragies de la cavité buccale.
5. Extraction dentaire hémorragique.
6. Hémorragies gastro-intestinales.
7. Chirurgie.
8. Hématurie.
9. Ménorragies.
10. Hémorragies du post-partum.
11. Hématomes musculaires.
12. Hémarthroses.
13. Hémorragies cérébrales.
14. Autres hémorragies.

Pour l'étude rétrospective, les renseignements cliniques et biologiques ont été recueillis à partir des archives du service d'hémobiologie du CHU d'Oran pour les patients qui n'ont pas pu être recontrôlés.

2 - Phase préanalytique:

Les patients et les témoins sont prélevés sur 4 tubes, soit 1 tube EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétique) pour l'hémogramme et 3 tubes citraté 0.109 M (3,2%) pour les tests d'hémostases [4].Les conditions de prélèvement et le traitement des échantillons sanguins sont identiques pour les deux populations de témoins et de patients conformément aux recommandations du groupe d'étude en hémostase et thrombose GEHT [133]. Le prélèvement ce fait :

1. Le matin, au repos depuis plus de 5 minutes, en position assise.
2. Un repas léger sans matières grasses est autorisé.
3. Tabac, exercice physique, caféine sont à éviter.
4. Le garrot peu serré, maintenu moins d'1 minute (avec les tubes sous vide, dès que le sang afflue dans le tube, le garrot doit être desserré).
5. Le prélèvement est effectué par ponction veineuse franche, éloigné de toute perfusion.
6. Si possible, prélever le tube d'hémostase après un tube sec et avant les tubes avec anticoagulants puissants (EDTA, héparine).
7. Hématocrite compris entre 30 et 55%, s'il est éloigné des normes (< 30 % ou > 55 %) le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de :
   Mc Gann : volume d'anticoagulant (ml) = 0.00185 x volume de sang (ml) x (100- Ht (%))
8. Tube rempli à plus de 90%.
9. Agiter par retournement 2 à 5 fois le tube.

Les prélèvements sont directement acheminés à l'unité d'hémostase. Le délai entre le prélèvement et le traitement des échantillons au laboratoire est d'une heure au cours de laquelle le plasma pauvre en plaquettes est obtenu par une double centrifugation du plasma à 2500g pendant 15 minutes.

Les échantillons sont aliquotés par volume de 1 ml et conservés dans un congélateur à - 80° C. L'échantillon est maintenu congelé jusqu'au moment du test puis rapidement (05 minutes) décongelé au bain Marie à une température fixée à 37°C [188] (annexe 2).

3 - Phase analytique:

a - Tests de dépistage :

- **L'hémogramme :**

La numération est effectuée à l'aide d'un automate Beckman and Coulter Il pratique une formule sanguine au moyen d'un Cytometre en flux (annexe 3) qui est d'une grande précision puisqu'il compte environ 10000 cellules. Les examens sont effectués à partir d'un prélèvement sanguin, sur un tube EDTA qui est un chélateur du calcium et un puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire, et en tube plastique pour empêcher l'adhésivité des plaquettes aux parois. [188]

Intérêt clinique : La numération des plaquettes doit être réalisée systématiquement chez tout patient ayant un syndrome hémorragique cutanéomuqueux. Une thrombopénie plus ou moins importante peut se voir dans un type particulier de maladie de Willebrand (le type 2B), ainsi que dans certaines thrombopathies. Un frottis sanguin s'impose pour confirmer cette thrombopénie, il permet d'apprécier la richesse, la taille et la distribution des plaquettes. L'hémogramme permet également d'apprécier le retentissement des saignements sur le taux d'hémoglobine.

Valeurs de références:

Taux d'hémoglobine (hommes 13-17g/dl. femmes : 11.5-16g/d, enfants : 12-16 g/dl).

Taux de plaquettes : 150 – 450 G/L.

- **Le bilan standard de coagulation :**

Les tests sont réalisés sur automate d'hémostase STA compact (annexe 4 et 5) au niveau de l'unité d'hémostase et thrombose du service d'Hémobiologie du CHU d'Oran :

Temps de Quick (TQ) : Le TQ est le temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté, recalcifié en présence d'un excès de facteur tissulaire ou thromboplastine. Le TQ permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la voie extrinsèque de la coagulation (facteurs du complexe prothrombinique) : Facteur II (prothrombine), Facteur V (pro accélérine), Facteur VII (proconvertine), Facteur X (facteur Stuart) et le fibrinogène.

Les résultats sont exprimés en secondes. Un TQ normal est voisin de 12 sec, il est allongé s'il dépasse le témoin de 2 sec. La conversion du TQ (sec) en taux de prothrombine (TP) exprimé en pourcentage : droite de Thivolle (Figure 13) est obtenue à partir d'une gamme d'étalonnage réalisée à l'aide du plasma témoin, pur et dilué au ½, ⅓, ¼ en tampon Owren Koller.

Valeurs de référence :

Le TP est compris entre 70% - 100%. [188]

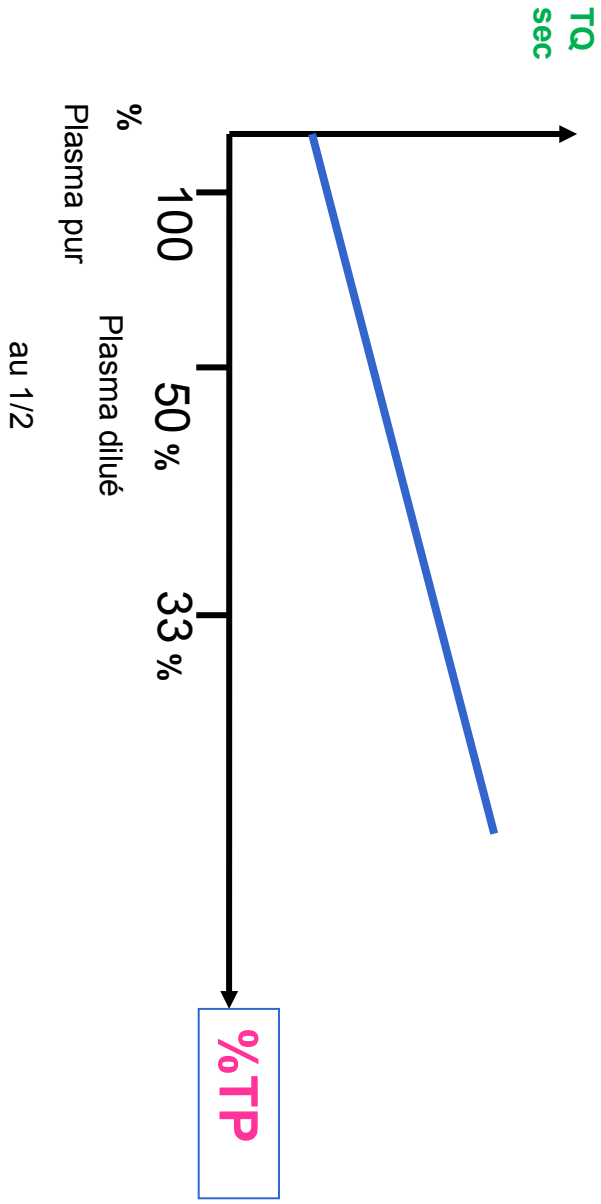


Figure 15: Droite de Thivolle.

<u>Le Temps de Céphaline Activateur (TCA)</u> : C'est le temps de coagulation à 37°C en présence de céphaline (substitut plaquettaire) et d'un activateur de la phase contact (Kaolin) et de calcium. Le TCA permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la voie endogène de la coagulation : Facteur VIII (anti-hémophilique A), Facteur IX (anti-hémophilique B), Facteur XII, XI, Prékallicréine, Kininogène de haut poids moléculaire, X, V, II, et le fibrinogène.

Le TCA est exprimé par rapport au TCA d'un plasma témoin. Il est allongé lorsque le rapport temps du malade/temps du témoin est supérieur à 1,2 [188].

Le Fibrinogène : Méthode chronométrique de Von Clauss ; Il s'agit d'une méthode fonctionnelle, qui mesure le temps de formation d'un caillot de fibrine à 37 °C d'un plasma citraté dilué pauvre en plaquettes, en présence de calcium et d'un excès de thrombine. Lorsqu'il y a un excès de thrombine, le temps de coagulation du plasma est proportionnel à la concentration en fibrinogène. Il est donc réalisé au préalable, une droite de calibration, à l'aide d'un plasma titré en fibrinogène et a différentes dilutions. [188]

Valeurs de référence :

Les valeurs normales du fibrinogène : 2 et 4 g/l.

b - Tests spécifiques :

- **Dosage chronométrique du FVIIIc par méthode en un temps sur automate STA compact :**

Il est basé sur la mesure du TCA d'un plasma à tester en présence d'un substrat (déficient en FVIII) qui apporte tous les facteurs sauf celui à doser. On porte les temps en ordonnées d'un papier bi logarithmique et les concentrations ou dilutions du plasma témoin en abscisse, dilué au 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 en tampon Owren Koller. Le taux de facteur VIIIc du plasma à tester est obtenu par extrapolation, après avoir joint tous les points pour obtenir la droite d'étalonnage.

Le dosage spécifique du FVIII permet d'évaluer la sévérité du déficit .Celui-ci, s'exprime en pourcentage. Une personne normale a une activité en facteur de coagulation à 100%.

Valeurs de référence :

FVIIIc : 60-150% d'activité.

- **Dosage de l'activité du facteur Von Willebrand cofacteur de la ristocetine VWF:Rco : par technique d'agglutination sur lame.**

En présence du facteur Von Willebrand et de l'antibiotique ristocétine A, il y a agglutination des plaquettes stabilisées.

Le réactif permet de poser le diagnostic de la maladie de Von Willebrand et des maladies avec modification de l'activité cofacteur de la ristocétine, comme les lésions de l'endothélium vasculaire ou les inflammations.

Le résultat du test correspond à la dilution où l'on observe une agglutination nette par rapport au blanc. L'activité cofacteur de la ristocétine est exprimée en % de la normale est calculer à partir du titre correspondant à l'agglutination et du seuil de sensibilité indiqué sur le flacon réactif (0.7%). Si l'activité VWF:Rco doit être déterminée dans un domaine plus étroit (par ex. dans un domaine de décision de 50%), on choisit des dilutions plus petites.

Les échantillons plasmatiques sont dilués (tableau 9) en solution saline isotonique selon le schéma suivant :

		100µl			
échantillon		100µl	100µl	100µl	100µl
Solution saline isotonique	250µl	900µl	800µl	900µl	1000µl
dilution	blanc	1:10	1:90	1:100	1:110
titre	-	10	90	100	110

Tableau 9 : Protocole de dilution.

<u>Contrôle de qualité interne :</u>

Domaine normal : plasma de contrôle Normal.

Domaine pathologique : plasma de contrôle Pathologique.

Nous avons utilisé deux contrôles (un dans le domaine normal et un dans le domaine pathologique) à chaque changement de flacon de réactif. Les traiter comme des échantillons

de patients. Les valeurs doivent être trouvées dans le tableau des valeurs théoriques de chaque contrôle.
Si les valeurs sont trouvées en dehors des domaines de confiance, vérifier le réactif. [146]
Les valeurs normales du VWF : Rco : 70% - 150%. Chaque laboratoire doit déterminer son propre domaine de référence.

- **Dosage du VWF:Ag : par méthode immunologique basée sur la turbidimétrie sur automate STA compact.**

Ce dosage est basé sur l'augmentation de la turbidité d'une suspension de microparticules de latex mesurée par photométrie.
Lorsque des microsphères de latex, sur lesquelles sont fixés par covalence des anticorps spécifiques du VWF, sont mises en présence du VWF du plasma à tester, la réaction antigène-anticorps entraîne une agglutination de ces microsphères. Ce phénomène induit une augmentation de la turbidité du mélange réactionnel et donc une élévation de l'absorbance du milieu. L'amplitude de cette augmentation est fonction de la quantité de VWF contenu dans le plasma à tester.
Le taux de VWF : Ag des échantillons à tester s'affiche en temps réel en pourcentage sur le tableau de bord de l'instrument. Le résultat doit être interprété en fonction de l'état clinique et biologique du patient. Le dosage s'effectue toujours après un contrôle de qualité interne. [189]

Valeurs de référence :
Les valeurs normales du VWF : Ag : 50 - 160%. Chaque laboratoire doit déterminer son propre domaine de référence.

- **Dosage immunoenzymatique de la capacité de liaison de facteur Willebrand au collagène : Asserachrom VWF : CB de STAGO.**

Seules les multimères de VWF de haut poids moléculaire fonctionnels sont capables de se lier au collagène. Un taux de VWF : CB diminué traduit un défaut quantitatif ou qualitatif de ces multimères. Le calcul du rapport [VWF : CB] / [VWF : Ag] est intéressant pour distinguer parmi les types 2 de maladie de Von Willebrand, les sous types ou existe une perte des multimères de haut poids moléculaire (MHPM). Ce dosage permet la distinction entre le type 2A (ratio [VWF : CB] / [VWF : Ag] très diminué) et le type 2M (ratio [VWF : CB] / [VWF : Ag] normal ou faiblement diminué).

Principe : Un support plastique recouvert de collagène humain fixe le facteur Willebrand contenu dans le plasma à tester par l'intermédiaire des multimères de haut poids moléculaire. Le VWF fixé est révélé à l'aide d'anticorps de lapin anti-VWF humain couplés à la peroxydase (annexe 6).

Sur du papier bi logarithmique, on porte en abscisse le taux de VWF : CB (%) des différents points de la gamme d'étalonnage et en ordonnée la valeur de l'absorbance correspondante. on trace la courbe d'étalonnage (mode non linéaire). Le taux de VWF : CB (%) des échantillons testés est lu directement sur la courbe d'étalonnage, le résultat doit être interprété en fonction de l'état clinique et biologique du patient.

Intervalle de référence : 86 plasmas humains présumés normaux ont été testés avec le coffret Asserachrom VWF : CB. Les résultats ont été les suivants (tableau 10) :

	[VWF : CB](%)	**Ratio [VWF : CB]/[VWF : Ag]**
Population totale (n=86)	103 (64-155)	101 (0.82-1.18)
Groupe sanguin O (n=53)	96 (62-138)	1.00 (0.80-1.15)
Groupe sanguin non O (n=33)	127 (86-160)	1.01 (0.87-1.20)

Tableau 10 : Intervalle de référence du fabriquant.

Quatre vingt quinze pourcent de la population testée par le fabriquant, présente un taux de VWF:CB et un ratio [VWF : CB]/ [VWF : Ag] compris dans la fourchette indiquée dans le tableau 10. Il a été noté des taux de VWF : CB plus faibles chez les individus de groupe O comme décrit dans la littérature.

Avec le protocole préconisé, le seuil minimal de détection est de 1 % de VWF : CB. La zone de mesure s'étend de 1 à 140 % de VWF : CB.

c- Tests spécialisés :

- **L'étude de la liaison du facteur VIIIc au facteur Von Willebrand par méthode ELISA :** Asserachrom VWF:VIIIB de STAGO.

Le dosage de la capacité de liaison du facteur Von Willebrand au facteur VIIIc (VWF : FVIIIB) est effectué par méthode ELISA.

Principe : Un support plastique recouvert d'anticorps de lapin anti-VWF humain fixe le facteur Von Willebrand contenu dans le plasma à tester. Le FVIIIC du plasma resté dissocié lors de la première étape du dosage est éliminé. Le FVIII recombinant ajouté dans le milieu se fixe sur le VWF. Ce dernier est révélé à l'aide d'un anticorps monoclonal de souris anti-FVIII humain couplé à la peroxydase qui se fixe sur les déterminants antigénique libres. Le taux de peroxydase liée est mesuré par son activité sur le substrat TMB (annexe 7).

L'intensité de la coloration après arrêt de la réaction par un acide fort, est fonction de la concentration initiale de VWF capable de fixer le FVIII (VWF : FVIIIB) présent dans le milieu.

Sur du papier bilogarithmique, on porte en abscisse le taux de VWF : FVIIIB (%) des différents points de la gamme d'étalonnage et en ordonnée la valeur de l'absorbance correspondante. On trace la courbe d'étalonnage (mode non linéaire). Le taux de VWF : FVIIIB (%) des échantillons testés est lu directement sur la courbe d'étalonnage.

Les patients avec une capacité de liaison du VWF au FVIII inférieure ou égale à 20 % dans le système Asserachrom VWF : FVIIIB sont considérés comme présentant une maladie de Willebrand de type 2N .Un taux modérément abaissé suggère l'existence d'une hétérozygotie 2N mais n'exclut pas une hémophilie A. Le résultat doit être interprété en fonction de l'état clinique et biologique du patient.

Un taux de VWF : Ag supérieur ou égal à 15 % est nécessaire pour une bonne interprétation des résultats de VWF : FVIIIB.

Le dosage du VWF : FVIII constitue un outil de diagnostic différentiel de la maladie de Von Willebrand de type 2N et de l'hémophilie A mineure ou modérée. Quatre vingt quinze pourcent du facteur VIIIc (FVIIIc) plasmatique circulent sous forme de complexe lié au VWF.

La maladie de Von Willebrand de type 2 N homozygote ou hétérozygote composite se traduit par une diminution de la capacité de liaison du VWF au FVIIIc d'où une réduction du FVIII circulant, pouvant être confondue avec une hémophilie A modérée ou mineure. Le dosage du VWF : VIIIB est donc indispensable pour distinguer ces 2 pathologies.

Ce diagnostic différentiel a un impact majeur sur le choix du traitement. Par ailleurs, les sujets 2N hétérozygotes sont généralement asymptomatiques.

Intervalle de référence : 60 plasmas humains présumés normaux ont été testés avec le coffret Asserachrom VWF : FVIIIB. Les résultats en VWF : FVIIIB ont été les suivants :

X=104 %. Avec le protocole préconisé, le seuil de détection est de 1 % de VWF : FVIIIB. La zone de mesure s'étend de 1 à 180 %.
Intervalle de références VWF : VIIIB [83.20%-124.80%]

- **Agrégation plaquettaire à la ristocétine ou RIPA (Ristocétine Induced Platelet Agrégation) :**

La formation des agrégats plaquettaires après activation des plaquettes par de la ristocetine modifie la densité optique du plasma riche en plaquettes PRP qui diminue au fur et à mesure de leur formation. Un agrégomètre mesure la densité optique du PRP et les résultats sont exprimés sous forme de tracé. On utilise de la ristocetine à faible dose (0.5-0.6 mg/l) comme activateur de l'agrégation plaquettaire.
Ce test permet de détecter les patients atteints du type 2B chez lesquels il existe exclusivement, une agrégation à faible dose de ristocétine < 0.8 mg/ml en raison de l'hyper affinité du facteur Von Willebrand pour la GPIb plaquettaire. Les autres types de la maladie et les sujets normaux présentent une agrégation nulle à cette dose.
Le type 2A présente une agrégation réduite a une dose de ristocétine > 1.2 mg/ml. [189]

d - Calcul des rapports :

Pour chaque patient testé, nous avons calculé les rapports suivants :

1. FVIIIC / VWF: Ag
2. VWF: Rco / VWF: Ag
3. VWF: CB / VWF: Ag

Pour le type 2A et type 2B le VWF:CB est plus bas que VWF:Rco en valeurs absolues et en ratio (VWF:CB/VWF:Ag et VWF:Rco/VWF:Ag) :

- VWF:CB/VWF:Ag est diminué dans les types 2B et 2A (<0.6).
- VWF:CB/VWF:Ag est normal dans les types 1, 2M et 2N (>0.6).
- VWF:Rco/VWF:Ag< 0.6 dans les types 2 sauf le 2N.
- FVIIIC /VWF Ag dans le type 2N il est < 0.5.

e – Contrôles de qualité externe :

Notre laboratoire participe à un programme international de contrôle externe de qualité : IEQAS (International External Quality Assessement Scheme) sous le parrainage de la fédération mondiale de l'hémophilie et cela depuis 2011.

Les prélèvements de plasma lyophilisé sont reçus du centre de référence de Sheffield en Angleterre 3 fois par ans, ce programme de contrôle inclus les paramètres suivant :

- Le temps de Quick.
- Le temps de céphaline activateur.
- Le dosage du FVIIIC.
- Le dosage du VWF:RCO.
- Le dosage du VWF:Ag.

4 - Phase post analytique : Classification :

Malgré la complexité du classement des types de VWD, une classification précise est réalisable en utilisant la combinaison appropriée de tests de laboratoire. La classification correcte est essentielle à la prise en charge thérapeutique des patients. [126]

Le VWF:CB test a fait l'objet de nombreuses controverse pour l'inclure ou non dans les tests spécifiques au même titre que le VWF : Ag et VWF : Rco ; il est très sensible à la présence ou l'absence des multimères. En plus, ce test permet de détecter des mutations rares qui affectent les sites de liaison au collagène ou des variants avec perte de multimères de haut poids moléculaire.

L'utilisation du VWF: CB, permet de faciliter le diagnostic et le typage corrects de VWD, un laboratoire qui n'utilise pas ce test, va ignorer le type 2M ou le confondre avec le type 2A ou type 1 VWD, de confondre les types 2A, 2B et PT-VWD avec le type 1.

Pour ces raisons, nous avons inclus le VWF : CB dans la gamme des tests spécifiques pour le screening de la maladie de Von Willebrand et nous ne l'avons pas limité à certains patients. [190, 191, 19, 193, 194, 195]

Le taux du VWF chez les patients et la population normale varie considérablement, de plus chez les sujets de groupe sanguin O, le taux de VWF est de 25 – 30% plus bas que les sujets non O, ceci est important car le groupe sanguin O est fréquent chez les patients. [95]

Aussi, Les saignements cutanéomuqueux sont fréquemment observés dans la population générale. Tous ces éléments compliquent et rendent difficile l'interprétation des trois critères de base pour le diagnostic de la VWD (diminution du taux de VWF, des hémorragies et une histoire familiale). [174]

Notre démarche diagnostique est schématisée dans la figure 17. Elle est basée sur une série de 4 tests de première ligne : le VWF:RCo, VWF:Ag, FVIIIc et VWF:CB, et complétée si nécessaire par le VWF:VIIIB et le RIPA.

- **Maladie de Von Willebrand type 1 :**

Entre 1995 et 1996, un groupe de travail du sous comité du VWF du SSC / ISTH a proposé un consensus de critères pour le diagnostic de la VWD type 1 et à cause des nombreuses

difficultés qui existent une distinction a été faite entre la VWD type 1 et VWD possible type 1 ou type 1 probable.

Le diagnostic de la VWD doit être bénéfique pour le patient en améliorant la prise en charge thérapeutique et la prévention des épisodes hémorragiques, et pas seulement pour étiqueter un patient porteur d'anomalie génétique avec ces conséquences négatives sociale et personnel. le diagnostique de la maladie de Von Willebrand type 1 est basé sur les 3 conditions suivants : [174, 196, 50,197]

- ✓ Signe hémorragique : une histoire de saignement cutanéomuqueux significative requière au moins deux symptômes en absence de transfusion sanguine, un symptôme hémorragique nécessitant une transfusion sanguine, ou un même symptôme hémorragique répété en 3 situations différentes.
- ✓ Histoire familiale **:** une histoire familiale compatible avec une VWD requiert : 1 parent du premier degré ou 2 parents du second degré, qui présentent une histoire hémorragique personnelle et des résultats des tests compatibles avec une VWD type 1.
- ✓ Examen de laboratoire : les tests de laboratoire sont compatibles avec une MVW type 1 quand le taux de VWF : Ag et VWF : Rco > 2 SD en dessous de la moyenne de la population générale et ajustement en fonction du groupe sanguin ABO sur plus de 2 déterminations.

Le VWD de type 1 probable inclut les patients avec tests compatibles mais sans antécédents hémorragiques ou histoire familiale. Pour le traitement il n'ya pas de différence entre le type 1 et type 1 probable mais cette distinction est utile pour les études cliniques et de biologie moléculaire. [174, 196, 50]

Nos patients sont classés en type 1 si les critères suivants sont vérifiés :

Critère 1 : Hémorragies cutanéomuqueuses significatives (score hémorragique positif ≥ 3).

Critère 2 : Tests de laboratoire compatibles avec un type 1 (VWF:Rco et / ou VWF:Ag < 30% après deux déterminations).

Critère 3 : Histoire familiale compatible avec un type 1 de transmission dominante (les traits dominants sont presque toujours accompagnés d'une histoire familiale positive).

Critère 4 : VWF:CB/VWF:Ag > 0.6.

Critère 5 : VWF:Rco/VWF:Ag > 0.6.

Critère 6 : FVIIIC /VWF:Ag > 0.6.

Nos patients sont classés en type 1 probable si les critères 1 ou 3 sont absents et les critères suivants sont vérifiés :

Critère 2 : Tests de laboratoire VWF : Rco et / ou VWF : Ag [30%-50%] après deux déterminations.

Critère 4 : VWF:CB/VWF:Ag > 0.6.

Critère 5 : VWF:Rco/VWF:Ag > 0.6.

Critère 6 : FVIIIC /VWF:Ag > 0.6.

- **Maladie de Von Willebrand type 2A :** [174, 196, 50]

Critère 1 : Histoire personnelle ou familiale de saignement (score hémorragique positif ≥ 3).

Critère 2 : VWF:Rco < 30% après deux déterminations.

Critère 3 : VWF:CB/VWF:Ag < 0.6.

Critère 4 : VWF:Rco/VWF:Ag < 0.6.

Critère 5 : FVIIIC /VWF Ag > 0.6.

NB : Dans le type 2A, la DDAVP normalise le taux de VWF:Rco tandis que le VWF:CB reste diminué reflétant l'absence des larges multimètres (contrairement au type 2B).

- **Maladie de Von Willebrand type 2B :** [174, 196, 50]

Critère 1 : Histoire personnelle ou familiale de saignement (score hémorragique positif ≥ 3).

Critère 2 : VWF:Rco < 30% après deux déterminations accompagné souvent de thrombopénie modérée entre 75-100 G/L.

Critère 3 : VWF:CB/VWF:Ag < 0.6

Critère 4 : VWF:Rco/VWF:Ag < 0.6

Critère 5 : FVIIIC /VWF Ag > 0.6

Critère 6 : Test du RIPA positif.

Critère 7 : Exclure un pseudo-Willebrand plaquettaire.

- **Maladie de Von Willebrand type 2M :** [174, 196, 50]

Critère 1 : Histoire personnelle ou familiale de saignement (score hémorragique positif ≥ 3).

Critère 2 : VWF:Rco < 30% après deux déterminations.

Critère 3 : VWF:CB/VWF:Ag > 0.6

Critère 4 : VWF:Rco/VWF:Ag < 0.6

Critère 5 : FVIIIC /VWF Ag > 0.6

- **Maladie de Von Willebrand type 2N :** [174, 196, 50]

Critère 1 : Diminution du FVIIIC.

Critère 2 : Diminution du VWF:VIIIB.

Critère 3 : VWF : Rco/VWF : Ag > 0.6

Critère 4 : FVIIIC /VWF Ag < 0.5.

- **Maladie de Von Willebrand type 3 :** [174, 196, 50]

Critère : VWF:Ag et VWF:Rco < 1% (indétectables).

- **Maladie de Von Willebrand acquise :** [174, 196, 50]

Critère 1 : Saignement récent (score hémorragique positif ≥ 3).

Critère 2 : Pas d'histoire familiale.

Critère 3 : Association avec pathologie causale.

Critère 4 : Diminution des tests de laboratoires en faveur d'une maladie de Von Willebrand.

- **Maladie de Von Willebrand non classée :**

Elle englobe les patients qui ne répondent pas aux critères définies.

5- Techniques d'exploitation des résultats :

L'exploitation des résultats a été réalisée grâce au logiciel SPSS version 17.

- **SPSS .17 (Statistical Package for Social Sciences) :**

C'est un logiciel généraliste de gestion et d'analyse des données.

Les variables qualitatives sont exprimées en pourcentage ou nombre de cas n sur le total N ; et les variables quantitatives sont exprimées en moyenne ± l'écart type.

Il permet de calculer assez facilement des statistiques descriptives, ou effectuer des analyses plus complexes.

- La comparaison des variables qualitatives a été faite par le test de Chi-deux.

- La comparaison de 02 variables quantitatives a été faite par le test de Student T ou la corrélation de Pearson.

Un seuil de 0.05 % est considéré comme significatif pour l'ensemble des tests statistiques réalisés.

- **Excel 2007 :**

Les diagrammes et les représentations graphiques ont été réalisés par le logiciel Excel 2007.

IV – Résultats :

A - Population témoin :

1 - Résultats de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF : Rco et VWF : Ag :

a – Caractéristiques générales:

120 sujets sains ont été testés pour la détermination des valeurs de référence pour **VWF : Rco** et **VWF : Ag** :

Notre population témoin est composée de 60 femmes et 60 hommes, le sex ratio **H/F est de 1.**

Moyenne d'âge de 26.4 ans avec des extrêmes allant de 20 à 52 ans.

Les sujets sont tous originaires de 6 wilayas de l'Ouest : Oran, Mostaganem, Ain Temouchent, El Bayed, Relizane et Tiaret.

- **Répartition de la population témoin selon l'âge :**

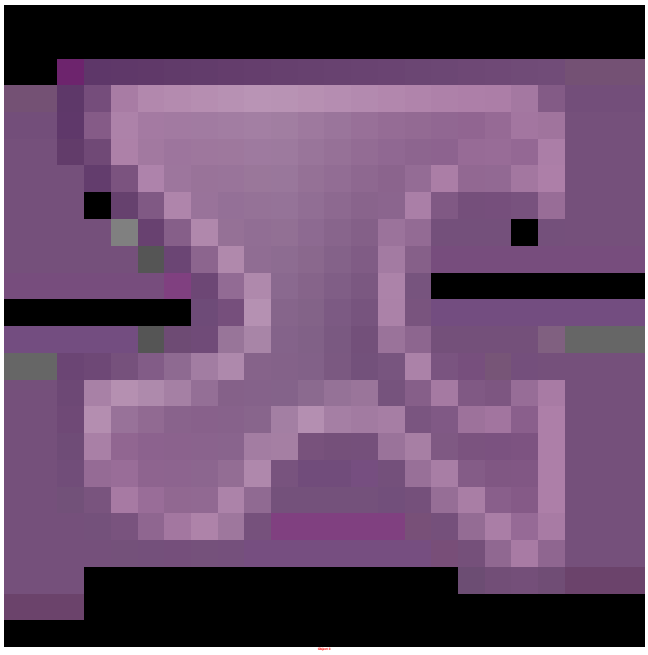


Figure 17 : Répartition de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF:Rco et VWF:Ag selon l'âge.

Notre population témoin est composée en majorité de jeunes volontaires (80%) âgés entre 21 et 30 ans.

b - Répartition selon le groupe sanguin ABO :

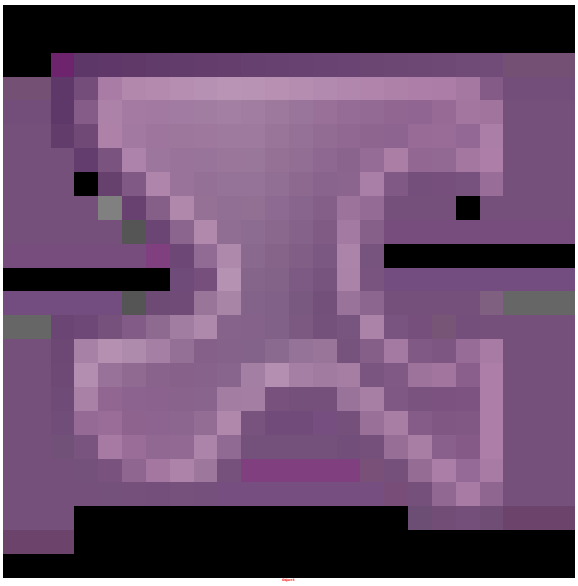


Figure 18 : Répartition de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence du VWF:Rco et du VWF:Ag selon le groupe sanguin.

Notre population témoin est composée en majorité de sujets de groupe O (43%) suivis respectivement des groupes A (38%), B (18%) et AB (1%).

c – Valeurs de références VWF:Rco et VWF:Ag :

Les résultats des dosages du VWF:Ag et VWF:Rco obtenus sont utilisés pour le calcul des valeurs de référence en utilisant la loi de Gauss.

Valeurs de référence = Moyenne + ou - 2 Déviation standard

Moyenne = la somme des Xi / n.

n : nombre de détermination (120).

Xi : détermination donnée.

	Moyennes	Déviation standard	Intervalle de référence
VWF:Rco	89 %	19 %	**51% - 127 %**
VWF:Ag	101.5 %	20 %	**61.5% - 141.5%**

Tableau 11 : Intervalle de référence du VWF:Rco et VWF:Ag.

	Moyennes groupe sanguin O	Moyennes groupe sanguin non O	Différence entre les moyennes des groupes sanguins O et non O
VWF:Rco	77.70 %	93.62 %	**15.92 %**
VWF:Ag	93.62 %	115.44 %	**21.82%**

Tableau 12 : Valeurs moyennes des VWF:RCo et VWF:Ag chez les sujets de groupe sanguin O et non O de la population témoin.

Chez notre population témoin, les valeurs moyennes du VWF:RCo et VWF:Ag chez les sujets de groupe sanguin O sont plus basses que chez les sujets de groupe sanguin non O.

2 - Résultats de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF:CB et VWF:VIIIB:

Sur les 20 témoins sélectionnés nous avons retrouvé une valeur de VWF:CB en dehors de l'intervalle fournie avec le réactif. Par contre pour le VWF:VIIIB, toutes les valeurs étaient dans la fourchette établie par le fabriquant.

	VWF : CB (%) (n=60)	VWF : VIIIB (%) (n=60)
Intervalle de références du fabricant	64 - 155	83.20 - 124.80

Tableau 13 : Intervalle de référence du VWF:CB et du VWF:VIIIB fourni avec les réactifs.

Témoins	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
VWF : CB(%)	120	121	102	109	151	88	71	86	94	131
VWF : VIIIB(%)	90	121	110	109	89	94	85	99	87	104

Témoins	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
VWF : CB(%)	128	147	139	142	115	101	89	69	51	74
VWF : VIIIB(%)	107	109	105	111	119	121	113	102	91	86

Tableau 14 : Résultats de la population des 20 témoins pour la détermination des valeurs de référence pour le VWF:CB et le VWF:VIIIB.

Les résultats des 20 témoins pour le VWF:CB et le VWF:VIIIB nous permettent de valider le transfert des intervalles de références fourni avec les réactifs (tableau 13).

3 - Résultats de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence du score hémorragique:

a- Caractéristiques générales de la population témoin :

Notre population témoin est composée de 612 sujets sains pour la détermination de l'intervalle de référence du score hémorragique :

Le sex ratio **H/F est de 1.25.**

La moyenne d'âge est de 35 ans avec des extrêmes allant de 03 à 65 ans.

Les sujets sont originaires de 5 wilayas de l'ouest : Oran, Mostaganem, Ain Temouchent, Relizane et Tiaret.

b - Répartition de la population témoin selon le groupe sanguin :

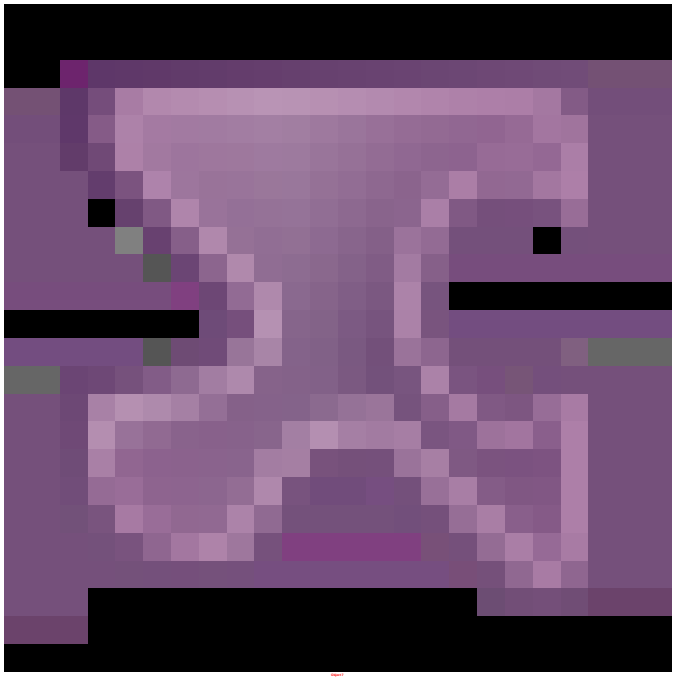


Figure 19 : Répartition de la population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour le score hémorragique selon le groupe sanguin.

Le groupe sanguin O représente pratiquement la moitié (47%) des échantillons témoins testés.

c- Fréquence des signes cliniques chez la population témoin :

Signes cliniques	Fréquence
Aucun signe clinique	71.3%
Epistaxis	13.5%
Ménorragie	10%

Hémorragie de la cavité buccale	2.5%
Hémorragie du post partum	2%
Ecchymose	0.7%

Tableau 15 : Fréquence des signes cliniques chez la population témoin.

Les épistaxis et les ménorragies sont les signes cliniques les plus fréquemment décrits dans cette population témoin.

d – Valeurs de référence du score hémorragique:

Ce résultat est obtenu en utilisant le centile à 97.5% (annexe 8) car la distribution des valeurs ne suit pas la loi normale.

	Témoins (n=612)
Moyenne	0.42
Ecart-type	0.949
Minimum	0
Maximum	6
Centiles 97,5	3

Tableau 16 : Moyennes et valeurs de référence du score hémorragique.

La valeur du score hémorragique de notre population témoin varie de 0 à 6 et 6.1% de cette population ont un score ≥ 3.

La valeur de référence seuil définissant un score hémorragique pathologique chez notre population est de 3 et donc une histoire hémorragique est considéré comme significative pour des valeurs du score **≥** 3**.**

- **Variation du score hémorragique selon l'âge :**

Tranche d'âge	0 à 15 ans n = 100	15 à 30 ans n = 174	30 à 45 ans n = 147	45 à 60 ans n = 140	plus de 61 ans n = 51
Centiles 97.5	1.4	3	3.6	3.7	5
valeur seuil	2	3	4	4	5

Tableau 17 : Valeurs seuils du score hémorragique selon l'âge.

La valeur seuil varie de 2 à 5 et nous constatons qu'elle augmente avec l'âge.

- **Variations du score hémorragique selon le groupe sanguin ABO:**

	Groupe sanguin O (n=291)	Groupe sanguin non O (n=321)
Moyenne	0.48	0.39
Ecart-type	1.032	0.902
Minimum	0	0
Maximum	6	5
Centiles 97,5	**4**	**3**

Tableau 18 : Valeurs seuils du score hémorragique selon le groupe sanguin ABO.

Pour les témoins de groupe sanguin O, la valeur seuil du score est plus importante (≥ 4) que pour les témoins de groupe sanguin non O (≥ 3).

- **Variations du score hémorragique selon le sexe:**

	Homme (n=340)	Femme (n=272)
Moyenne	0.27	0.59
Ecart-type	0.862	1.020
Minimum	0	0
Maximum	5	6
Centiles 97,5	**3**	**4**

Tableau 19 : Valeurs seuils du score hémorragique selon le sexe.

Pour les femmes la valeur seuil du score hémorragique est plus importante (≥ 4) par rapport aux hommes (≥ 3).

Les valeurs moyennes du score hémorragique chez les femmes sont doublées par rapport aux hommes.

B - Population des patients :

Au total, nous avons testé **740** patients dont:

- 701 testés parmi lesquels nous avons identifié **96** patients atteints de la maladie de Von Willebrand (VWD) et réalisé **38** enquêtes familiales.
- Nous avons repris le diagnostic de **39** hémophiles A (20 modérés et 19 mineurs) pour rechercher une éventuelle erreur de diagnostic différentiel avec la maladie de Von Willebrand en particulier le type 2 N.

1 – Population des 96 patients diagnostiqués atteints d'une VWD :

a – Répartition des patients selon le sexe :

	Homme	Femme	Sex ratio H/F
Type 1 et type 1 probable	14	39	0.36
Type 2	20	12	1.67
Type 3	07	03	2.33
AVWS	01	00	-
TOTAL	41	54	0.76

Tableau 20 : Répartition des patients selon le sexe et le type de VWD (p<0.018).

Le sexe ratio est de 0.76 avec une légère prédominance féminine. Celle-ci est nette pour le type 1 et type 1 probable tandis que pour les types 2 et 3, on note une prédominance masculine.

b - Répartition des patients selon l'âge de diagnostic : n = 96

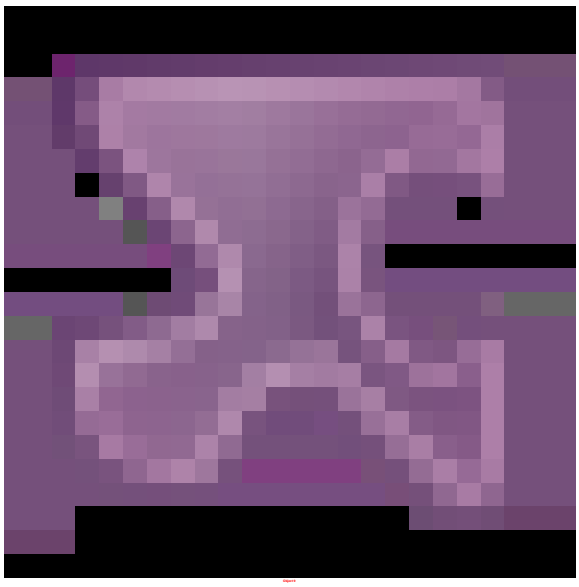


Figure 20 : Répartition des patients selon l'âge de diagnostic.

Les ¾ de notre population de patients diagnostiqués atteints d'une VWD n'excèdent pas les 30 ans. La tranche d'âge majoritaire se situe entre 21-30 ans suivie par les moins de 20 ans.

	Moyenne d'âge	Maximum	Minimum
Type 1	25.84 ans	62 ans	04 ans
Type 1 probable	18.28 ans	55 ans	01 an
Type 2	26.34 ans	68 ans	02 ans
Type 3	7.7 ans	22 ans	01 an

Tableau 21 : Moyenne d'âge des patients selon le type de maladie de Willebrand ($p<0.0005$).

La moyenne d'âge est comparable entre le type 1 et 2 respectivement 25.84 ans et 26.34 ans tandis quelle est plus basse pour le type 1 probable et type 3 respectivement de 18.28 ans et 7.7 ans.

c - Répartition des patients selon le lieu de résidence : n = 96

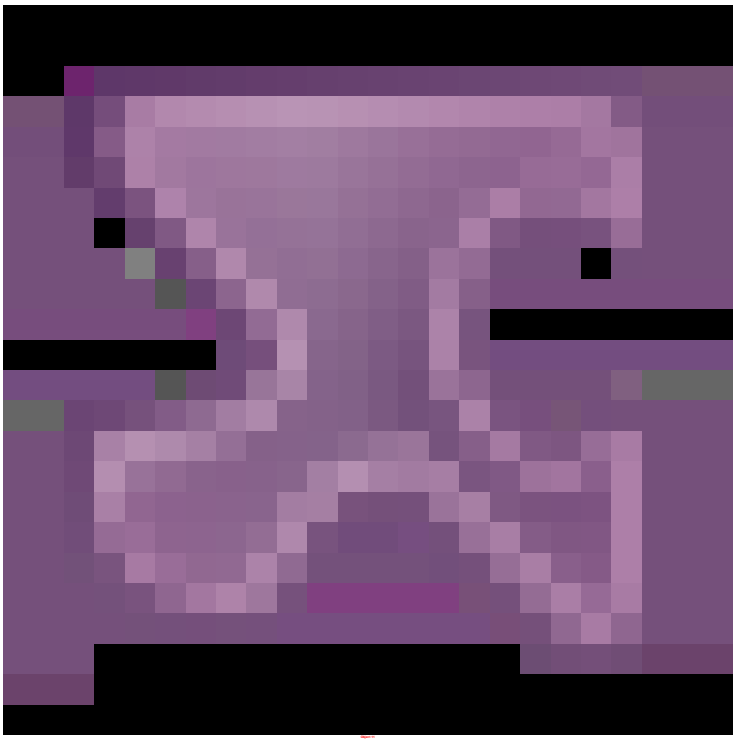


Figure 21 : Répartition des patients selon le lieu de résidence.

Plus d'un tiers de nos patients réside à Oran.

d - Répartition des patients selon le type de maladie de Von Willebrand : n = 96

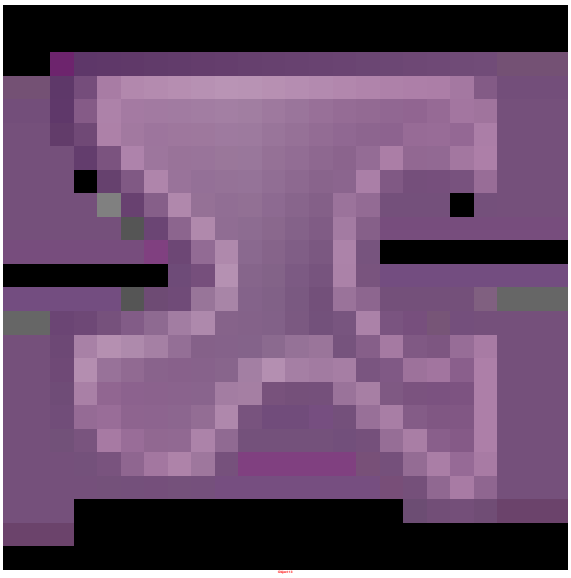


Figure 22 : Répartition des patients selon le type de maladie de Von Willebrand.

Les type 1 et type 1 probable représentent plus de la moitié (55%) des patients suivis. Le type 2 représente le tiers, et la maladie de Willebrand acquise est la plus rare.

e - Fréquence de la maladie de Willebrand dans l'Ouest:

	Nombre de patients	Nombre d'habitant ONS 2015	Fréquence ‰
Oran	38	1 584 607	0,024
Tiaret	12	846 823	0,014
Mostaganem	9	746 947	0,012
Relizane	9	733 060	0,012
Tlemcen	6	949 135	0,006
Mascara	5	784 073	0,006
SBA	5	604 744	0,008
Saida	5	330 641	0,015
Bechar	3	274 866	0,011
Ain Temouchent	3	384 565	0,008
Total	**95**	**7 969 723**	**0.012**

Tableau 22 : Fréquence de la maladie de Willebrand dans l'Ouest Algérien.

La fréquence dans l'Ouest est de 0.012‰. Les fréquences les plus importantes sont constatées dans les wilayas d'Oran, Saida et Tiaret avec respectivement 0.024, 0.015 et 0.014‰.

f - Répartition des patients selon la consanguinité :

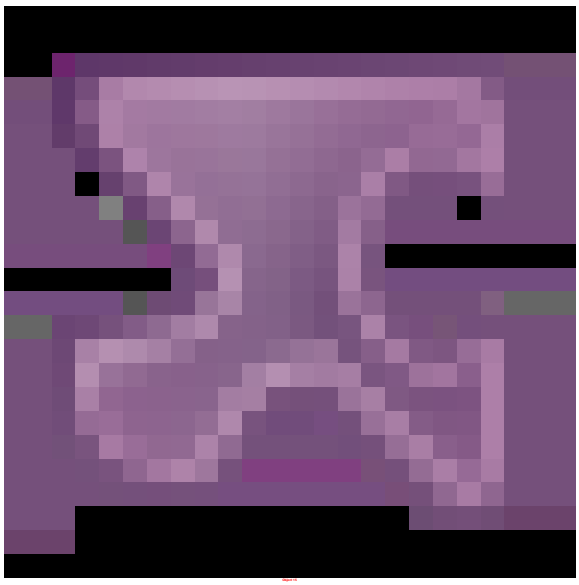


Figure 23: Répartition des patients selon la consanguinité.

Un peu moins de la moitié des patients (44%) présente une notion de consanguinité.

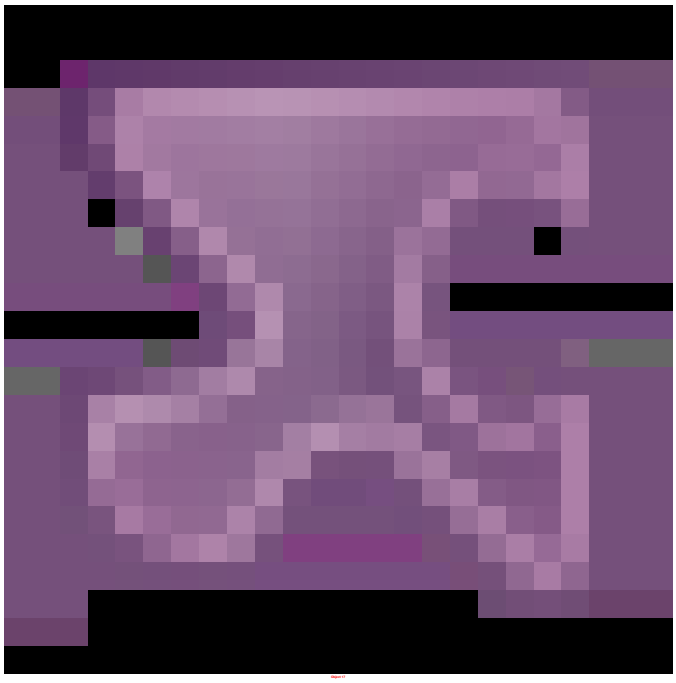


Figure 24 : Fréquence de la consanguinité selon chaque type de maladie de Willebrand (p<0.017).

La consanguinité est retrouvée 9 cas /10 dans le type 3, pour le type 1 et 2 dans la moitié des cas tandis que dans le type 1 probable elle ne représente que 9.5%.

g - Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux :

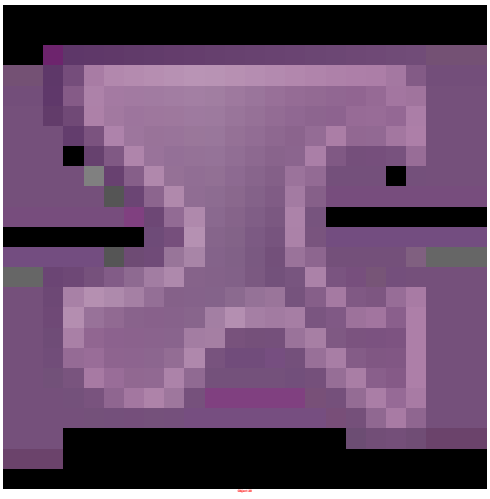


Figure 25 : Fréquence des antécédents familiaux.

Chez 59% des patients, une histoire familiale hémorragique est décrite.

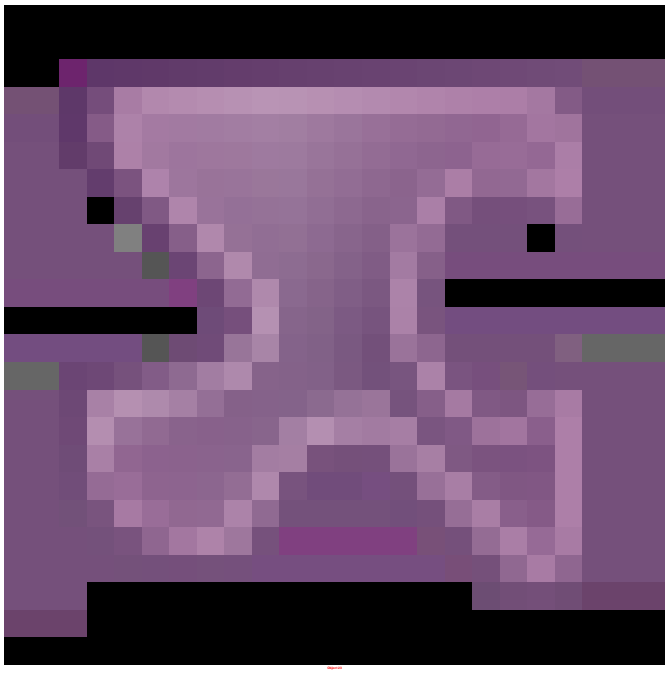


Figure 26 : Fréquence des antécédents familiaux selon chaque type de la maladie de Willebrand (p=0.354).

On retrouve des antécédents familiaux dans plus de la moitié des cas, quelque soit le type de VWD.

h – Caractéristiques cliniques de la population des patients :

- **Fréquence des signes cliniques dans la population des patients :**

Signes cliniques	Fréquences (%)
Ecchymose	80
Epistaxis	74.7
Hémorragie buccal	48.4
Ménorragie	36.8
Extraction dentaire hémorragique	33.7
Circoncision	11.6
Hémorragie après coupure	9.5
Hématome	7.4
Hémorragie après chirurgie	4.2
Hémorragie intracrânienne	2.1
Hémarthrose	1.1

Tableau 23 : Fréquence des signes cliniques dans la population des patients.

Les ecchymoses et epistaxis sont les signes cliniques les plus fréquents chez nos patients tandis que les ménorragies, les extractions dentaires hémorragiques et les gingivorragies ne sont présentes que chez le tiers des patients.

- **Fréquence des signes cliniques dans les différents types de la maladie de Von Willebrand :**

	Type 1	Type 1 probable (%)	Type 2A (%)	Type 2B (%)	Type 2M (%)	Type 2N (%)	Type 3 (%)	p (signification statistique)
Ecchymose	78	75	85	100	56	100	100	0.36
Epistaxis	75.6	80	71	60	67	75	80	0.785
Hémorragie buccal	30.10	35	21.4	10	36.90	37.5	35	0.322
Hémorragie après coupure	6	5	14.3	40	0	25	10	0.507
Hémorragie après chirurgie	0	5	14.3	20	0	0	0	0.257
Circoncision	6	0	21.4	0	11.11	0	50	<0.0005
Extraction dentaire hémorragique	42.5	15	21.43	40	55.56	75	20	0.123
Hémorragie intracrânienne	0	0	0	0	0	0	20	0.01

Ménorragie	**51**	**40**	**42.85**	**20**	**33.33**	**0**	**0**	**0.024**
Hématome	**0**	**0**	**7.15**	**0**	**22.22**	**25**	**30**	**0.005**
Hémarthrose	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**10**	**0.008**

Tableau 24 : Fréquence des signes cliniques dans les différents types de la maladie de Von Willebrand.

Un certain nombre de signes cliniques présente une variation significative ($P < 0.05$) entre les différents types de VWD (circoncision, hémorragie intracrânienne, ménorragie, hématome et hémarthrose).

- **Répartition des patients selon la valeur du score hémorragique :**

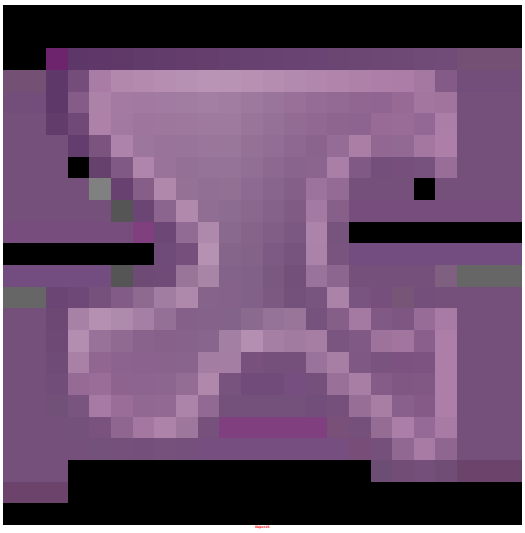


Figure 27 : Répartition des patients selon la valeur du score hémorragique.

Trois pourcents des patients présente un score hémorragique dans les normes, soit < 3 versus 55% avec un score hémorragique compris entre 5 et 10. Tandis que 27% présente un score ≥ 10.

- **Comparaison des résultats du score hémorragique entre patients et témoins :**

	Témoins	Patients	Témoins de sexe Féminin	Patients de sexe Féminin	Témoins de sexe Masculin	Patients de sexe Masculin
BS Moyenne Maximum Minimum Ecart type	0.42 6 0 0.95	7.25 20 0 3.20 $p < 0.0005$	0.59 6 0 1.02	6.90 20 0 3.30 $p < 0.0005$	0.27 5 0 0.86	7.86 12 2 2.93 $p < 0.0005$

Tableau 25: Comparaison des résultats du score hémorragique entre patients et témoins.

On observe une différence significative entre les résultats du score hémorragique des patients et celui des témoins. si on compare les résultats du score hémorragique entre les deux groupes en fonction du sexe, cette différence observée reste toujours significative.

- **Valeur diagnostique du score hémorragique comme test de dépistage :**

	Sensibilité	Spécificité	Valeur prédictive positive	Valeur prédictive négative	Coefficient Q de Yule
score pathologie ≥ 3	97.89 %	95.73 %	77.5 %	99.67 %	0.99

Tableau 26 : Valeur diagnostique du score pathologique ≥ 3.

Un coefficient de Yule proche de 1 indique la forte valeur de dépistage d'un score hémorragique pathologique > 3. La sensibilité est de 97.89% et la spécificité 95.73%.

i – Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients :

- **Répartition des patients selon le groupe sanguin ABO :**

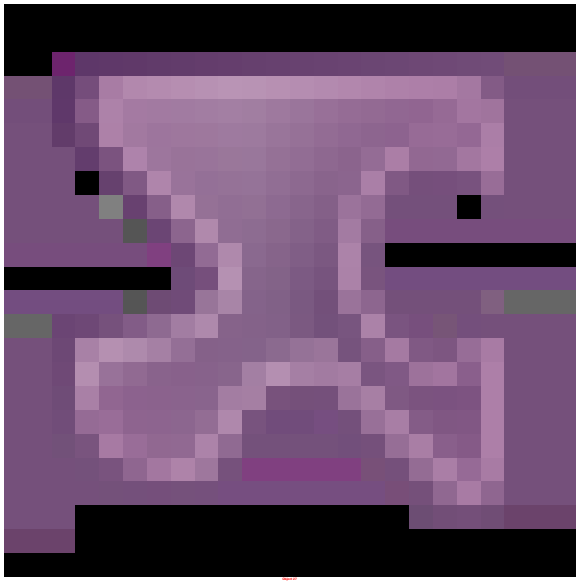


Figure 28 : Répartition des patients selon leur groupe sanguin ABO.

Le groupe sanguin O est majoritaire présentant environ la moitié des patients suivi par les groupes A et B qui représentent respectivement 32 et 20% et enfin le groupe AB qui ne représente que 1%.

- **Répartition de la population des patients selon leur taux d'hémoglobine:**

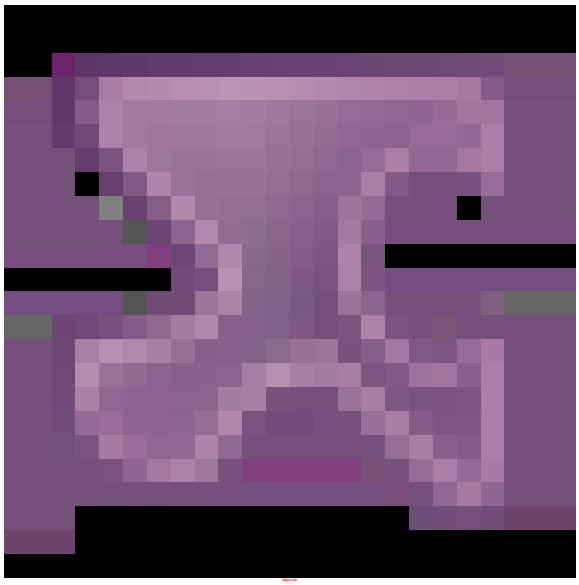


Figure 29 : Répartition des patients selon leur taux d'hémoglobine.

Plus de la moitié de notre population de patients n'est pas anémique; le reste des patients présente principalement une anémie modérée ou mineure et un seul patient présente une anémie sévère.

- **Répartition des patients selon leur taux de plaquettes:**

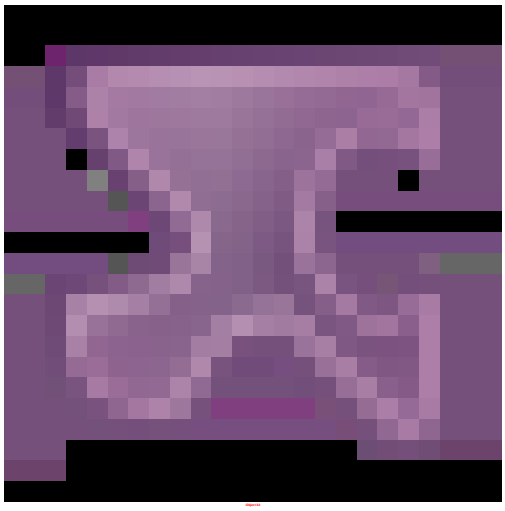


Figure 30 : Répartition des patients selon leur taux de plaquettes.

La majorité de nos patients ne présentent pas de thrombopénie.

- **Répartition des patients selon la valeur du TCA ratio:**

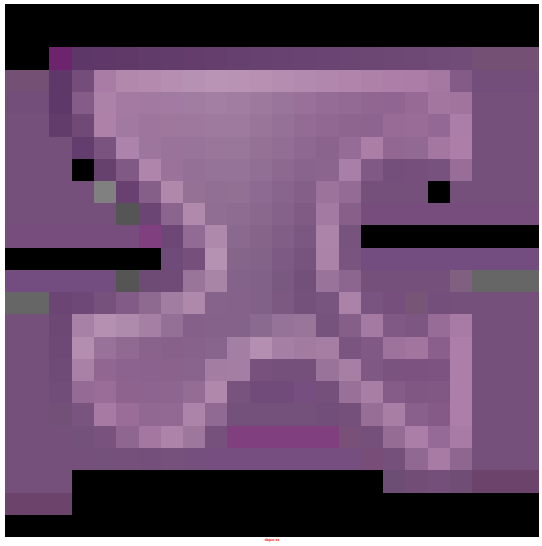


Figure 31 : Répartition des patients selon la valeur du TCA ratio.

L'allongement du TCA est constaté dans la moitié des cas environ 46% des patients.

- **Répartition des patients selon le taux de FVIIIc:**

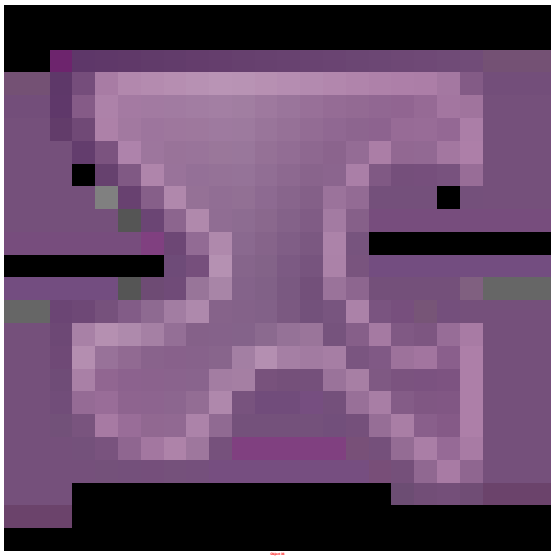


Figure 32 : Répartition des patients selon le taux de FVIIIc.

Quarante et un pourcent des patients ont une diminution modérée du taux de FVIIIc, compris entre 5 et 40% et seulement 5% des patients présentent un déficit important < 5%.

- **Répartition des patients selon le taux de VWF:RCo:**

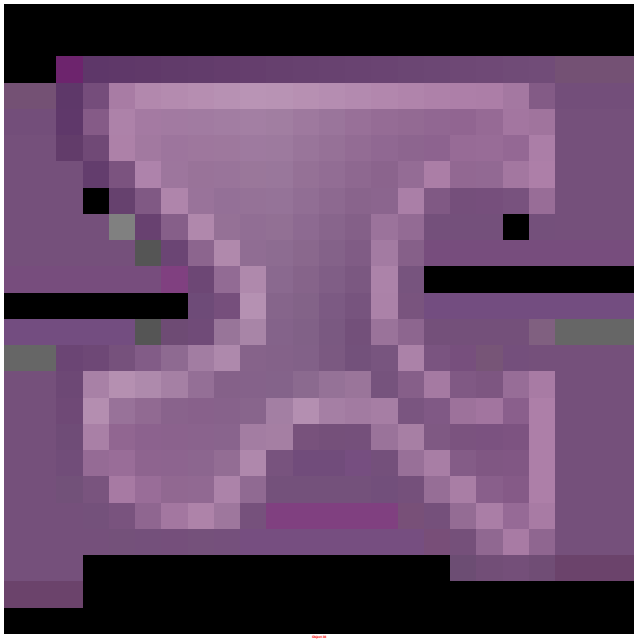


Figure 33 : Répartition des patients selon le taux de VWF:RCo.

Prés de la moitié des patients soit 47% présentent un taux de VWF:RCo moyen, compris entre 10 et 30% et seulement 20% de nos patients présentent un taux très abaissé ≤ 10%.

- **Répartition des patients selon le taux de VWF:Ag:**

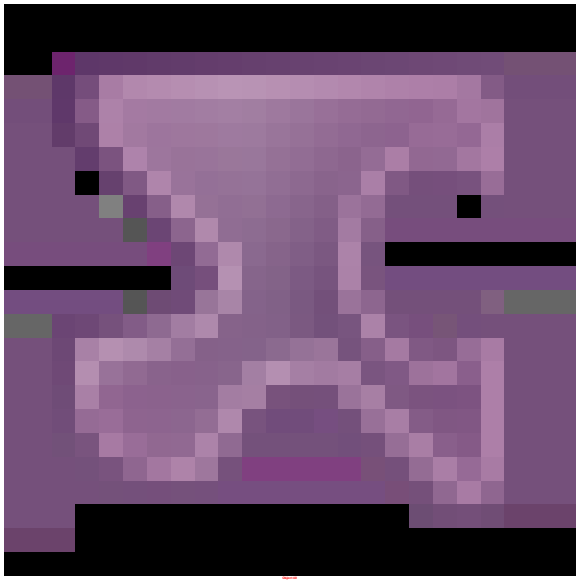


Figure 34 : Répartition des patients selon le taux de VWF:Ag.

La majorité des patients soit 72%, présente un taux de VWF:Ag < 50%.

- **Répartition des patients selon le taux de VWF:CB:**

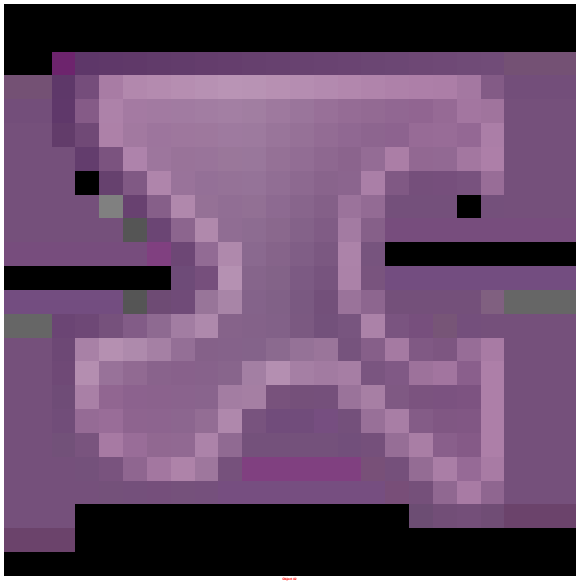


Figure 35 : Répartition des patients selon le taux de VWF:CB.

La majorité des patients soit 65%, présente un taux de VWF:CB < 50%.

j – Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et type 1 probable: n = 53

- **Répartition selon le groupe sanguin ABO :**

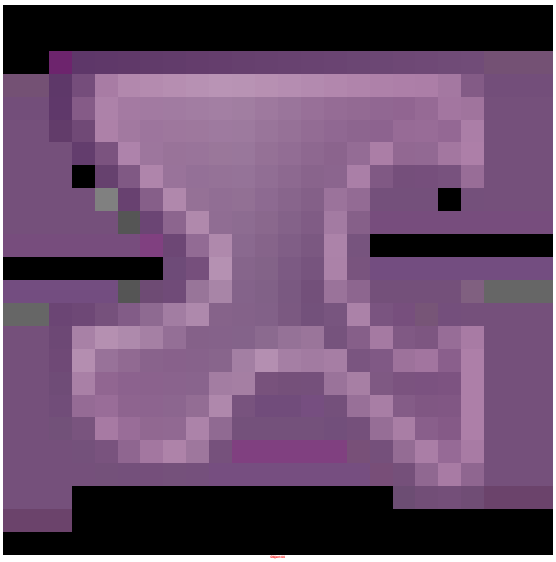


Figure 36 : Répartition des patients selon leur groupe sanguin ABO.

Le groupe sanguin O est le plus représenté suivi par les groupes A et B, qui représentent respectivement 28 et 27% et enfin le groupe AB ne représente que 2%.

- **Résultats du bilan de dépistage:**

Tests	VWD type 1 (n = 32)	VWD type 1 probable (n = 21)	
TP (%)			
Moyenne	96.76	95.60	p = 0.416
Maximum	100	100	
Minimum	83	82	
Ecart type	4.96	6.24	
TCA (ratio)			
Moyenne	1.41	1.10	p < 0.0005
Maximum	3.00	1.60	
Minimum	1.00	0.95	
Ecart type	0.52	0.145	
Fibrinogène (g/l)			
Moyenne	2.97	3.40	p = 0.003
Maximum	4.00	4.20	
Minimum	1.99	2.04	
Ecart type	0.58	0.56	
Plaquettes (G/L)			
Moyenne	269	272	p = 0.876
Maximum	400	537	
Minimum	142	185	
Ecart type	62.46	83.43	
Hémoglobine (g/dl)			
Moyenne	11.36	12.28	p = 0.006
Maximum	15.60	14.80	
Minimum	5.70	10.00	

Ecart type	2.23	1.33

Tableau 27 : Résultats du bilan de dépistage (TP, TCA, Fibrinogène, Plaquettes et taux d'hémoglobine).

On retrouve une différence significative entre les valeurs moyennes du TCA, Fibrinogène et hémoglobine entre les patients de type 1 et type 1 probable.

- **Résultats des tests spécifiques et spécialisés :**

Tests	VWD type 1 (n = 32)	VWD type 1 probable (n = 21)	
VWF:RCo (%) Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 23.24 (9.03) 40 3	 37.6 (6.24) 4.84 30	p < 0.0005
VWF:Ag (%) Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 29.48 (13.65) 59 3	 47.65 (10.06) 68 32	p < 0.0005
FVIIIc (%) Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 46.21 (32.9) 144 2	 70.35 (30.30) 130 26	p = 0.002
VWF:CB (%) Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum Ecart type	 57.96 140 9 29.65	 65.45 95 45 18.66	p = 0.212
Score hémorragique Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 7.76 (3.39) 20 2	 5.85 (285) 11 0	p = 0.007
VWF:RCo/VWF:Ag Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 0.93 (0.49) 3.25 0.60	 0.81 (0.125) 1.03 0.61	p < 0.0005
FVIIIc/VWF:Ag Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 1.54 (0.802) 4.5 0.4	 1.51 (0.69) 3.42 0.47	p = 0.85
VWF:CB /VWF:Ag Moyenne (Ecart type) Maximum Minimum	 2.05 (1.13) 5.6 0.95	 1.39 (0.49) 2.56 0.82	p 0.001

Tableau 28 : Résultats des tests spécifiques et spécialisés dans le type 1 et le type 1 probable de la VWD.

On retrouve une différence significative des valeurs moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag, FVIIIc, TCA, Bleeding Score, VWF:RCo /VWF:Ag et VWF:CB /VWF:Ag entre les patients de type 1 et type 1 probable.

- **Corrélation de Pearson entre les résultats des différents tests diagnostiques chez les patients de type 1 :**

	VWF :RCo	VWF:Ag	FVIIIc	VWF:CB	TCA ratio	BS	Taux Hb
VWF:RCo		**0.908** p< 0.0005	**0.639** p< 0.0005	**0.447** p= 0.029	**-0.76** p<0.0005	**-0.536** p = 0.001	**0.566** p= 0.001
VWF:Ag			**0.822** p<0.0005	**0.547** p=0.006	**-0.804** p<0.0005	**-0.529** p = 0.002	**0.523** p=0.002
FVIIIc				**0.368** p=0.076	**-0.818** p<0.0005	**-0.382** p= 0.028	**0.365** p=0.037
VWF:CB					**-0.568** p=0.004	**-0.571** p= 0.004	**0.103** p=0.61
TCA ratio						**0.524** p=0.002	**-0.16** p=0.37
BS							**-0.503** p= 0.003

Tableau 29 : Corrélation de Pearson entre les résultats des différents tests diagnostiques chez les patients de type 1.

On constate une forte corrélation entre VWF:RCo et VWF:Ag, entre TCA ratio et VWF:RCo, TCA ratio et VWF:Ag, TCA ratio et FVIIIc aussi entre VWF:Ag et FVIIIc.
On retrouve une corrélation moyenne entre VWF:RCo et le FVIIIc, VWF:CB, BS, taux d'hémoglobine ; entre VWF:Ag et VWF:CB, BS, taux d'hémoglobine ; entre VWF:CB et BS, TCA ratio ; entre BS et taux d'hémoglobine.
On retrouve une mauvaise corrélation entre FVIIIc le taux d'hémoglobine et BS.
On ne retrouve pas de corrélation entre taux d'hémoglobine, VWF:CB et TCA ratio.

- **Comparaison entre les moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag et le score hemorragique des sujets de groupe sanguin O et non O chez les patients de type 1:**

	Groupe sanguin O	Groupe sanguin non O	
VWF:RCo (%)			
Moyenne	29.06	23.87	p < 0.0005
Maximum	48	35	
Minimum	5	4	
Ecart type	9.97	8.57	
VWF:Ag (%)			
Moyenne	34.94	30.55	p = 0.132
Maximum	54	48	
Minimum	3	3	
Ecart type	11.40	12.09	
FVIIIc (%)			
Moyenne	66.76	46.77	p = 0.052
Maximum	144	80	
Minimum	6	2	
Ecart type	39.32	28.68	
VWF:CB (%)			
Moyenne	59.77	59.13	p = 0.939
Maximum	140	105	
Minimum	9	15	
Ecart type	29.37	33.16	
Score hémorragique			
Moyenne	6.35	8.33	p = 0.04
Maximum	13	20	
Minimum	2	3	
Ecart type	3.64	4.89	

Tableau 30 : Comparaison entre les moyenne du VWF:RCo, VWF:Ag et le score hemorragique des sujets de groupe sanguin O et non O.

On retrouve une différence significative entre la moyenne des valeurs du VWF:RCo et le score hémorragique entre les sujets de groupe sanguin O et non O.

k – Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 2: n = 32

- **Répartition selon le groupe sanguin ABO :**

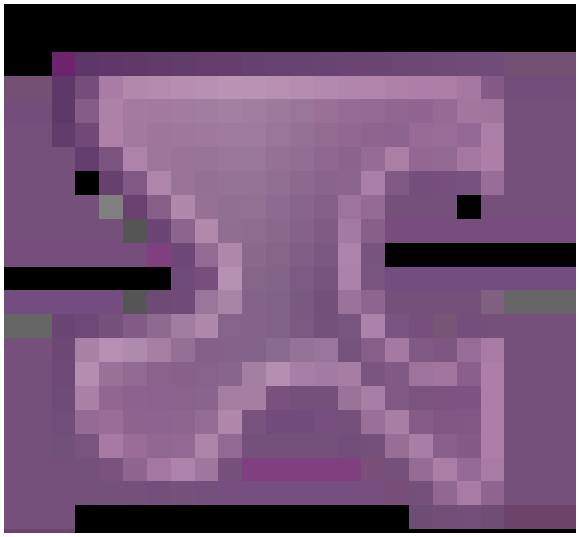


Figure 37 : Répartition des patients atteints de VWD type 2 selon le groupe sanguin ABO.

Le groupe sanguin O est le plus fréquent (60% des cas) suivi par le groupe A qui représente 34%.

- **Résultats du bilan de dépistage dans le type 2 :**

Tests	Type 2A n = 14	Type 2B n = 5	Type 2M n = 9	Type 2N n = 4	p
TP (%)					**0.35**
Moyenne	**94.98**	**97**	**98**	**88.33**	
Maximum	**100**	**100**	**100**	**100**	
Minimum	**80**	**85**	**90**	**78**	

Ecart type	8.47	6.70	4	11.06	
TCA (ratio)					0.161
Moyenne	1.21	1.07	1.42	1.4	
Maximum	1.75	1.3	1.86	2	
Minimum	1	1	1	1	
Ecart type	0.23	0.13	0.32	0.53	
Fibrinogène (g/l)					0.399
Moyenne	2.96	2.67	3.14	3.27	
Maximum	3.98	3.78	3.87	3.78	
Minimum	2.33	2.27	2.55	2.65	
Ecart type	0.48	0.63	0.59	0.57	
Plaquettes (G/L)					< 0.0005
Moyenne	269.79	59.8	291.22	119.33	
Maximum	521	106	515	140	
Minimum	136	12	185	103	
Ecart type	100.43	41.12	98.47	18.9	
Hémoglobine (g/l)					0.395
Moyenne	11.95	13.86	12	12.86	
Maximum	14	15.8	15.6	14.7	
Minimum	8.2	10.6	8.8	11.3	
Ecart type	1.81	2.54	2.9	1.71	

Tableau 31: Résultats du bilan de dépistage (TP, TCA, Fibrinogène, Plaquettes et taux d'hémoglobine).

On retrouve une différence significative entre les valeurs moyennes du taux de plaquettes entre les différents sous types 2 de la VWD (2A, 2B, 2 M, 2N).

- **Résultats des tests spécifiques et spécialisés dans le type 2 :**

Tests	Type 2A n = 14	Type 2B n = 5	Type 2M n = 9	Type 2N n = 4	p
VWF:RCo (%)					
Moyenne (Ecart type)	20.85 (10.83)	35.72 (15.02)	16.66 (8)	44.72 (20.29)	0.002
Maximum	42	58.4	25	71	
Minimum	8	21	4	21	
VWF:Ag (%)					
Moyenne (Ecart type)	50.78 (20.44)	81 (27.46)	43 (2.14)	75.5 (12.15)	0.007
Maximum	87	126	68	93	
Minimum	8	53	9	65	
FVIIIc (%)					
Moyenne (Ecart type)	60.57 (43.54)	96 (54.2)	30.11 (16.12)	13.50 (8.66)	0.011
Maximum	135	206	58	25	
Minimum	6	48	13	4	
VWF:CB (%)					
Moyenne (Ecart type)	20 (9.23)	28.4 (3.28)	42.78 (21.23)	44.67 (11.54)	0.008
Maximum	36	32	75	58	
Minimum	8	25	10	38	
Bleeding Score					
Moyenne (Ecart type)	6.71 (2.19)	5.6 (2.60)	5.89 (2.31)	7 (2.7)	0.686
Maximum	11	10	10	11	

Minimum	**3**	**3**	**4**	**5**	
VWF:RCo /VWF:Ag **Moyenne (Ecart type)** **Maximum** **Minimum**	**0.41 (0.12)** **0.44** **0.16**	**0.43 (0.10)** **0.55** **0.29**	**0.39 (0.07)** **0.54** **0.31**	**0.56 (0.18)** **0.75** **0.33**	**0.721**
FVIIIc /VWF:Ag **Moyenne (Ecart type)** **Maximum** **Minimum**	**1.10 (0.53)** **1.91** **0.2**	**1.11 (0.37)** **1.63** **0.67**	**0.93 (0.75)** **2.78** **0.35**	**0.17 (0.09)** **0.26** **0.06**	**0.045**
VWF:CB/VWF:Ag **Moyenne (Ecart type)** **Maximum** **Minimum**	**0.35 (0.11)** **0.56** **0.14**	**0.38 (0.13)** **0.56** **0.23**	**1.03 (0.19)** **1.36** **0.72**	**0.64 (0.14)** **0.80** **0.54**	**<0.0005**

Tableau 32 : Résultats des tests spécifiques et spécialisés.

On retrouve une différence significative entre les valeurs moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag, FVIIIc, VWF:CB, TCA, VWF:CB /VWF:Ag et FVIIIc /VWF:Ag entre les différents sous types 2 de la VWD (2A, 2B, 2 M, 2N).

- **Corrélation de Pearson entre les résultats des différents tests diagnostics chez les patients de type 2 :**

	VWF :RCo	**VWF:Ag**	**FVIIIc**	**VWF:CB**	**TCA ratio**	**BS**	**Taux Hb**
VWF :RCo		**0.565** p< 0.001	**-0.011** p< 0.948	**-0.057** p= 0.813	**-0.76** p<0.0005	**-0.006** p = 0.415	**0.214** p= 0.202
VWF:Ag			**0.096** p<0.558	**0.11** p=0.639	**0.135** p<0.415	**-0.185** p = 0.276	**0.220** p=0.182
FVIIIc				**0.426** p=0.072	**-0.458** p<0.006	**-0.275** p= 0.106	**-0.038** p=0.820
VWF:CB					**-0.381** p=0.113	**0.154** p= 0.525	**-0.102** p=0.552
TCA ratio						**0.524** p=0.002	**-0.16** p=0.37
BS							**0.131** p= 0.446

Tableau 33 : Corrélation de Pearson.

On retrouve une bonne corrélation négative entre VWF:RCo et le TCA ratio, une corrélation moyenne entre VWF:RCo et VWF:Ag, le FVIIIc et TCA ratio, le score hémorragique et le TCA ration.

- **Comparaison entre les moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag, FVIIIc, VWF:CB et le score hémorragique des sujets de groupe sanguin O et non O chez les patients de type 2:**

Tests	Groupe sanguin O	Groupe sanguin non O	
VWF:RCo (%)			
Moyenne	26.9	22.18	p = 0.272
Maximum	71	58.4	
Minimum	4	4	
Ecart type	15.47	14.97	
VWF:Ag (%)			
Moyenne	55.68	57.46	p = 0.818
Maximum	93	126	
Minimum	8	9	
Ecart type	23.59	51	
FVIIIc (%)			
Moyenne	53.89	48.38	p = 0.701
Maximum	135	206	
Minimum	6	4	
Ecart type	43.38	50.51	
VWF:CB (%)			
Moyenne	31.63	30.08	p = 0.774
Maximum	61	75	
Minimum	11	6	
Ecart type	16.26	19.09	
Score hémorragique			
Moyenne	6.68	5.85	p = 0.141
Maximum	11	10	
Minimum	3	3	
Ecart type	2.51	1.91	

Tableau 34 : Comparaison entre les moyenne du VWF:RCo, VWF:Ag, FVIIIc, VWF:CB et le score hemorragique des sujets de groupe sanguin O et Non O.

On ne retrouve aucune différence significative entre la moyenne des valeurs du VWF:RCo, VWF:Ag, FVIIIc, VWF:CB, et le score hémorragique entre les sujets de groupe sanguin O et non O.

l – Comparaison entres les caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et de type 3:

- **Résultats du bilan de dépistage:**

Tests	Type 1 (n = 32)	Type 3 (n = 10)	p
TP (%)			
Moyenne	96.76	96.10	0.228
Maximum			
Minimum			
Ecart type	4.96	9.11	
TCA (ratio)			
Moyenne	1.41	2.03	0.017
Maximum			
Minimum			
Ecart type	0.51	0.27	
Fibrinogène (g/l)			
Moyenne	2.97	2.72	0.474
Maximum			
Minimum			
Ecart type	0.58	0.50	
Plaquettes (G/L)			
Moyenne	269.61	343.7	0.003
Maximum			
Minimum			
Ecart type	62.46	136.8	
Hémoglobine (g/dl)			
Moyenne	11.38	10.03	0.244
Maximum			
Minimum			
Ecart type	2.23	1.62	

Tableau 35 : Résultats du bilan de dépistage (TP, TCA, Fibrinogène, Plaquettes et taux d'hémoglobine).

On retrouve une différence significative entre les valeurs moyennes du taux de plaquettes et TCA ratio chez les patients de type 1 et 3.

- **Résultats des tests spécifiques et spécialisés :**

Tests	Type 1 (n = 32)	Type 3 (n = 10)	p

VWF:RCo (%) Moyenne Maximum Minimum Ecart type	23.24 9.03	ID	0.005
VWF:Ag (%) Moyenne Maximum Minimum Ecart type	29.48 59 3 13.65	ID	0.001
FVIIIc (%) Moyenne Maximum Minimum Ecart type	46.2 144 2 32.9	1.9 3 1 0.73	< 0.0005
Score hémorragique Moyenne Maximum Minimum Ecart type	7.76 20 2 3.39	11.3 15 9 2.11	0.252

Tableau 36 : Résultats des tests spécifiques et spécialisés.

On retrouve une différence significative entre les valeurs moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag, et FVIIIc entre les patients de type 1 et 3.

m- Maladie de Von Willebrand acquise :

Un patient âgé de 68 ans, sans antécédents personnels ou familiaux, présente cliniquement des ecchymoses et epistaxis (tableau 36). Le diagnostic établi est celui d'une forme acquise de VWD.

Examen	Résultats
score hémorragique	**6**
groupe sanguin	**A+**
Taux de plaquettes (G/L)	**198**
FVIIIC (%)	**10**
VWF:Ag (%)	**15**
VWF:RCo (%)	**8**
VWF:CB (%)	**22**
VWF:RCo/VWF:Ag	**0.53**
FVIIIC/VWF:Ag	**0.67**
VWF:CB/VWF:Ag	**1.47**
Anticorps anti VWF (test de neutralisation)	**8 UB**

Tableau 37 : Résultats du bilan biologique du patient atteint de la VWD acquise.

Ce patient atteint de VWD acquise présente un profil biologique de type 2M, on note également la présence d'anticorps anti VWF.

2 – Les enquêtes familiales:

a – les familles de Willebrand type 1 et type 1 probable:

- **Famille 1 : VWD type 1**

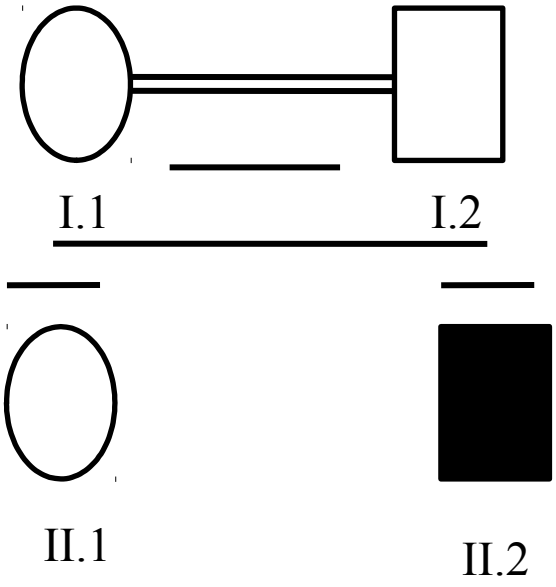


Figure 38 : Arbre généalogique de la famille 1.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	0	1	1	4
groupe sanguin	O+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	225	185	300	325
FVIIIC (%)	71	92	85	28
VWF:Ag (%)	80	84	128	30
VWF:RCo (%)	69	77	123	29
VWF:CB (%)	NF	NF	NF	51
VWF:RCo/VWF:Ag	0.86	0.91	0.96	0.96
FVIIIC/VWF:Ag	0.89	1.09	0.67	0.97
VWF:CB/VWF:Ag	NF	NF	NF	1.7
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	53%

Tableau 38 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 1

- **Famille 2 : VWD type 1**

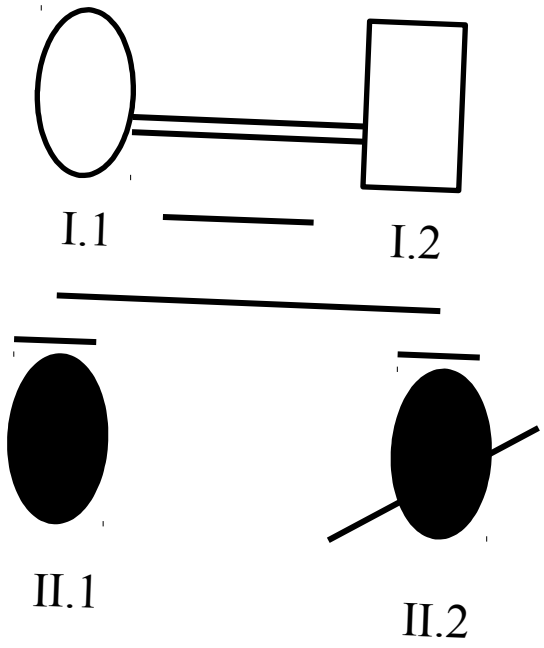


Figure 39 : Arbre généalogique de la famille 2.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	4	0	9	8
groupe sanguin	O+	A+	A+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	159	201	360	400
FVIIIC (%)	102	92	6	8
VWF:Ag (%)	70	84	3	4
VWF:RCo (%)	51	67	5	7
VWF:CB (%)	NF	NF	9	NF
VWF:RCo/VWF:Ag	0.73	0.8	1.66	1.75
FVIIIC/VWF:Ag	1.45	1.09	2	2
VWF:CB/VWF:Ag	NF	NF	3	NF
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	2.9%	0	99.97%	99.97%

Tableau 39 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 2.

- **Famille 3 : VWD type 1**

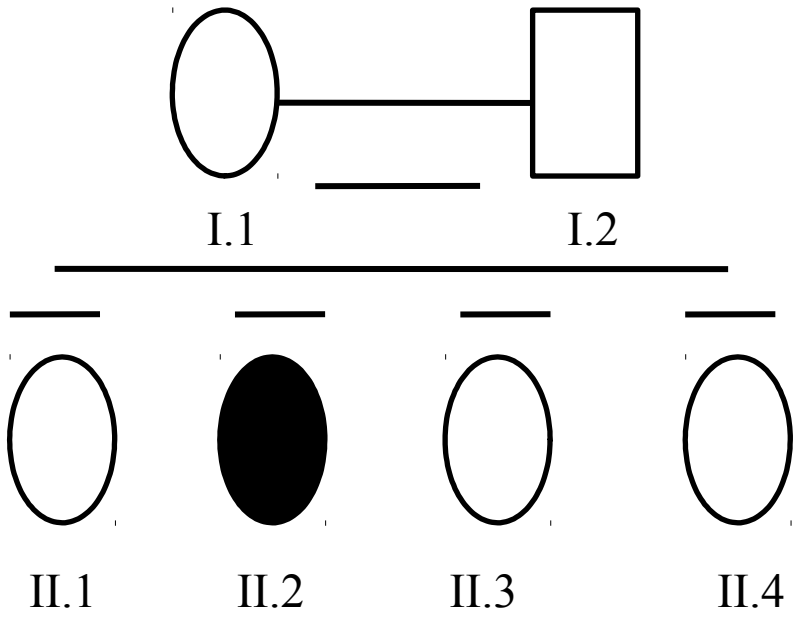


Figure 40 : Arbre généalogique de la famille 3.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4
score hémorragique	1	1	0	10	0	0
groupe sanguin	O-	O+	O+	O+	O-	O+
Taux de plaquettes (G/L)	321	206	189	279	170	411
FVIIIC (%)	83	102	85	52	77	81
VWF:Ag (%)	81	79	80	30	100	88
VWF:RCo (%)	60	70	52	20	57	69
VWF:CB (%)	NF	NF	NF	44	NF	NF
VWF:RCo / VWF:Ag	0.74	0.88	0.65	0.67	0.57	0.78
FVIIIC / VWF:Ag	1.02	1.29	1.06	1.13	0.77	0.92
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	NF	1.46	NF	NF
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	97.6 %	0	0

Tableau 40 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 3.

- **Famille 4 : VWD type 1 probable**

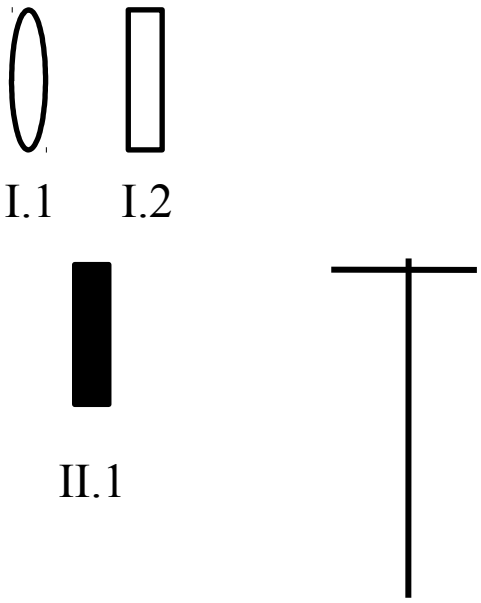


Figure 41 : Arbre généalogique de la famille 4.

	I.1	I.2	II.1
score hémorragique	2	1	9
groupe sanguin	A+	O+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	211	198	332
FVIIIC (%)	83	101	70
VWF:Ag (%)	98	121	32
VWF:RCo (%)	70	85	31
VWF:CB (%)	91	102	54
VWF:RCo / VWF:Ag	0.72	0.7	0.97
FVIIIC / VWF:Ag	0.85	0.83	2.18
VWF:CB / VWF:Ag	0.93	0.84	1.68
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	97.5%

Tableau 41 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 4.

- **Famille 5 : VWD type 1 probable**

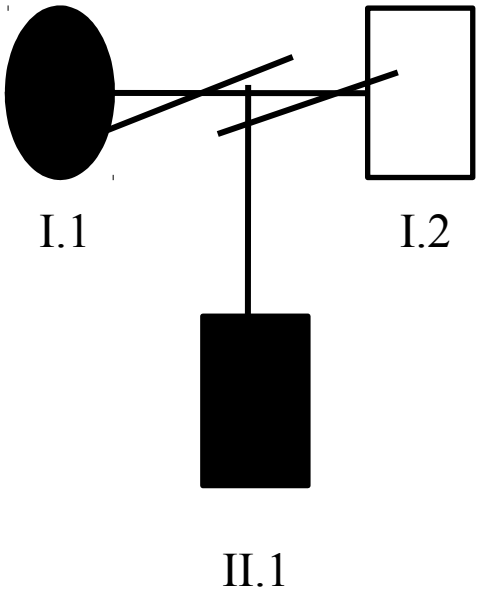


Figure 42 : Arbre généalogique de la famille 5.

	I.1	I.2	II.1
score hémorragique	5	NF	10
groupe sanguin	O+	NF	O+
Taux de plaquettes (G/L)	251	NF	220
FVIIIC (%)	71	NF	41
VWF:Ag (%)	39	NF	43
VWF:RCo (%)	30	NF	38
VWF:CB (%)	NF	NF	NF
VWF:RCo / VWF:Ag	0.77	NF	0.88
FVIIIC / VWF:Ag	22	NF	0.95
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	NF
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	84%	NF	96%

Tableau 42 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 5.

- **Famille 6 : VWD type 1**

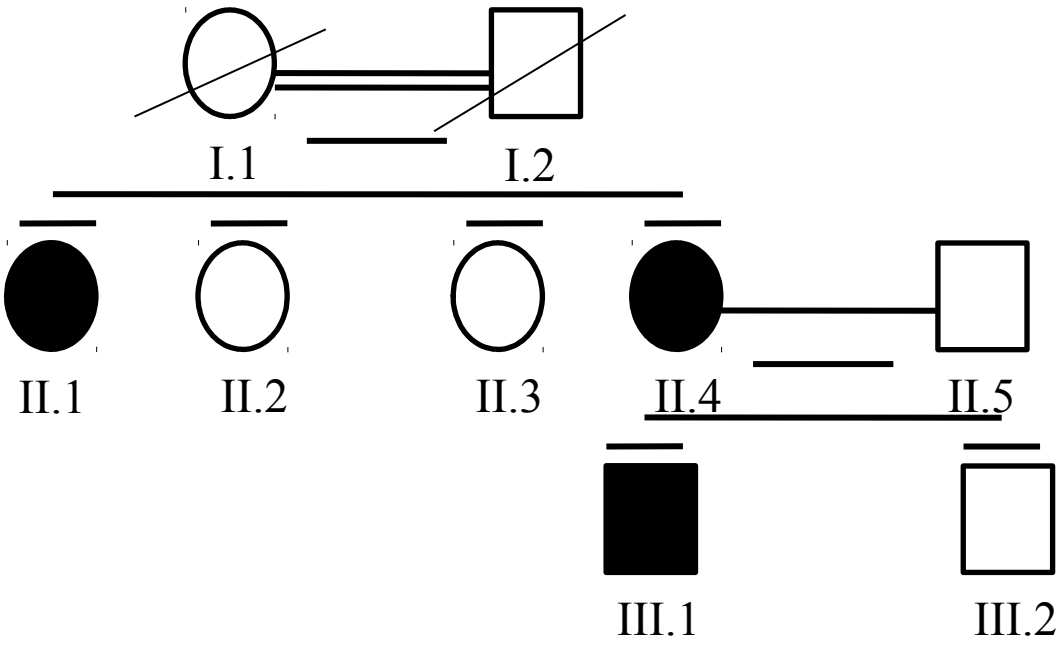


Figure 43 : Arbre généalogique de la famille 6.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	III.1	III.2
score hémorragique	NF	NF	3	4	1	10	1	2	0
groupe sanguin	NF	NF	B+	A+	A+	A+	O+	A+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	NF	NF	142	160	238	222	245	199	189
FVIIIC (%)	NF	NF	73	65	115	49	101	54	88
VWF:Ag (%)	NF	NF	48	73	172	25	105	31	102
VWF:RCo (%)	NF	NF	29	61	95	22	95	25	72
VWF:CB (%)	NF	NF	105	110	125	140	149	70	140
VWF:RCo/VWF:Ag	NF	NF	0.61	0.83	0.55	0.88	0.9	0.8	0.7
FVIIIC/VWF:Ag	NF	NF	1.52	0.89	0.66	1.96	0.96	1.75	0.86
VWF:CB/VWF:Ag	NF	NF	2.19	1.5	0.73	5.6	1.42	2.25	1.37
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	NF	NF	99.98%	0	0	99.99%	0	99.30 %	0

Tableau 43 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 6.

- **Famille 7 : VWD type 1**

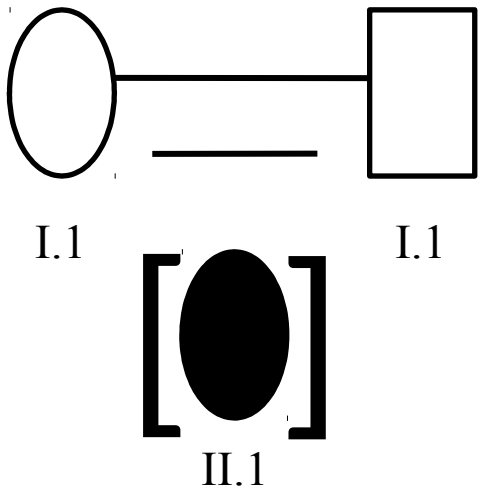


Figure 44 : Arbre généalogique de la famille 7.

	II.1
score hémorragique	6
groupe sanguin	B+
Taux de plaquettes (G/L)	384
FVIIIC (%)	72
VWF:Ag (%)	35
VWF:RCo (%)	21.9
VWF:CB (%)	87
VWF:RCo / VWF:Ag	0.63
FVIIIC / VWF:Ag	2.05
VWF:CB / VWF:Ag	2.48
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	89.11%

Tableau 44 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 7.

- **Famille 8 : VWD type 1 probable**

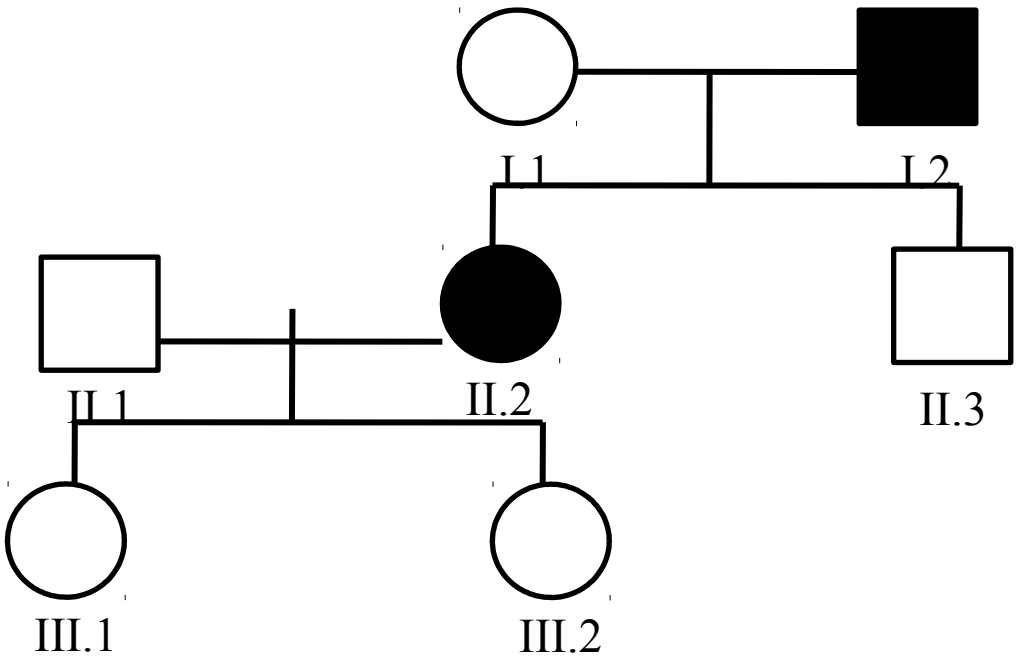


Figure 45 : Arbre généalogique de la famille 8.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	III.1	III.2
score hémorragique	1	6	0	8	1	1	0
groupe sanguin	O+	O+	B+	O+	O+	B+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	185	235	308	284	260	185	221
FVIIIC (%)	89	28	120	73	97	81	70
VWF:Ag (%)	111	37	101	45	82	54	51
VWF:RCo (%)	91	33	110	40	66	48	46
VWF:CB (%)	110	90	121	43	73	55	53
VWF:RCo/ WF:Ag	0.82	0.89	1.09	0.89	0.80	0.89	0.90
FVIIIC/ VWF:Ag	0.80	0.76	1.19	1.62	1.18	1.5	1.37
VWF:CB/ VWF:Ag	0.99	2.43	1.2	0.95	0.89	1.02	1.04
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	71.70%	0	92.65%	0	0	0

Tableau 45 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 8.

- **Famille 9 : VWD type 1**

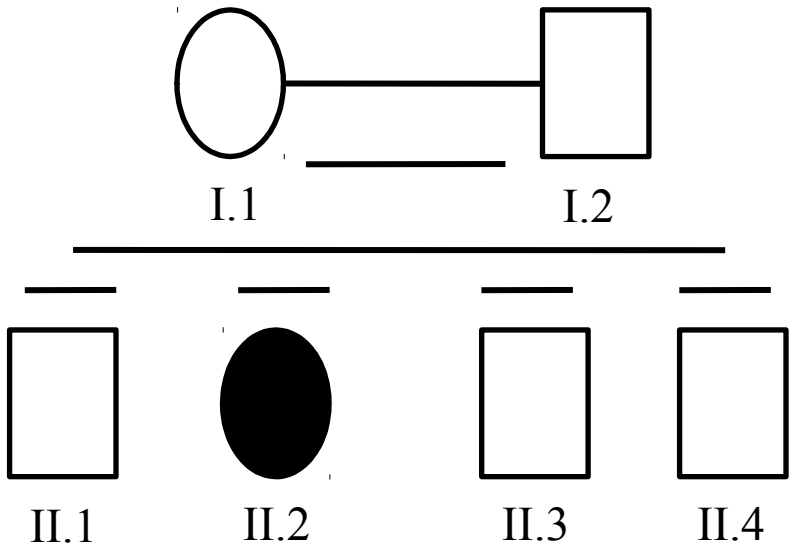


Figure 46 : Arbre généalogique de la famille 9.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4
score hémorragique	6	2	1	6	0	0
groupe sanguin	O+	B+	O+	B+	B+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	399	169	188	226	275	401
FVIIIC (%)	84	125	89	51	90	110
VWF:Ag (%)	67	102	116	32	111	131
VWF:RCo (%)	60	82	105	25	100	100
VWF:CB (%)	95	155	NF	61	NF	NF
VWF:RCo / VWF:Ag	0.89	0.80	0.90	0.78	0.90	0.76
FVIIIC / VWF:Ag	1.25	1.22	0.77	1.16	0.81	0.84
VWF:CB / VWF:Ag	1.41	1.52	NF	1.9	NF	NF
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	2%	0	0	95.8%	0	0

Tableau 46 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 9.

- **Famille 10 : VWD type 1**

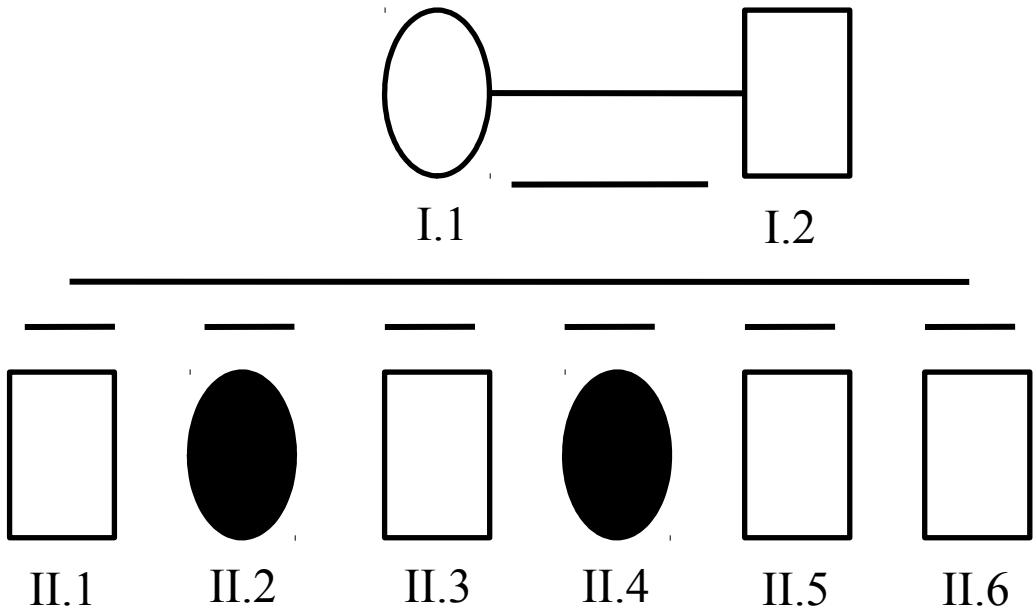


Figure 47 : Arbre généalogique de la famille 10.

	I.1	II.2	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6
score hémorragique	2	1	0	9	4	4	1	0
groupe sanguin	A+	O+	O+	A+	A+	O+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	258	341	410	251	211	189	365	305
FVIIIC (%)	98	101	91	41	38	38	120	89
VWF:Ag (%)	101	79	90	30	31	31	112	96
VWF:RCo (%)	75	71	88	28	25	25	83	85
VWF:CB (%)	85	104	105	49	40	40	125	112
VWF:RCo / VWF:Ag	0.74	0.9	0.97	0.93	0.80	0.80	0.74	0.88
FVIIIC / VWF:Ag	0.97	1.28	1.01	1.36	1.22	1.22	1.07	0.93
VWF:CB / VWF:Ag	0.84	1.31	0.97	1.19	1.29	1.29	1.04	1.17
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	99.85 %	0	94.74%	0	0

Tableau 47 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 10.

- **Famille 11 : VWD type 1**

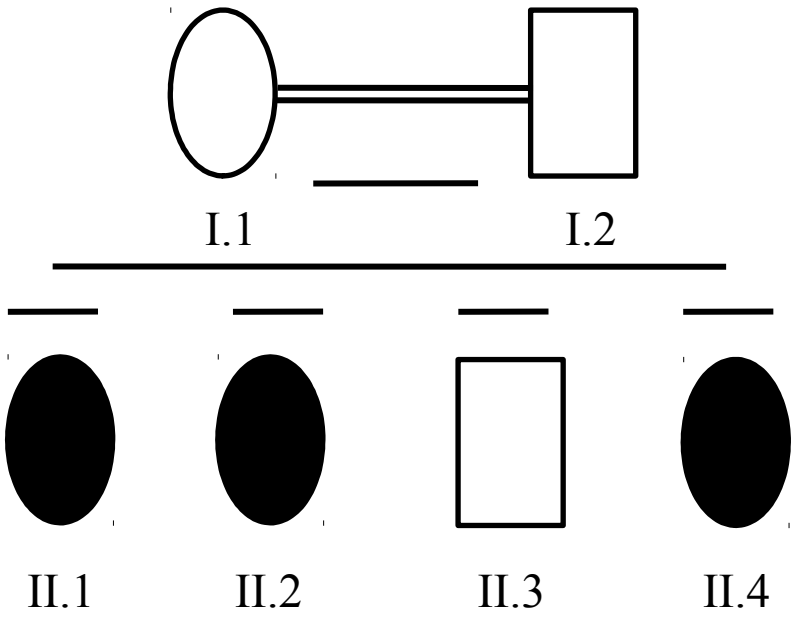


Figure 48 : Arbre généalogique de la famille 11.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4
score hémorragique	4	2	12	15	0	8
groupe sanguin	B+	O+	B+	O+	B+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	290	205	198	300	350	220
FVIIIC (%)	108	80	2	8	58	15
VWF:Ag (%)	121	94	3	14	74	26
VWF:RCo (%)	100	82	4	11	69	21
VWF:CB (%)	140	125	15	17	82	30
VWF:RCo / VWF:Ag	0.82	0.87	1.33	0.78	0.93	0.81
FVIIIC / VWF:Ag	0.89	0.85	0.75	0.58	0.78	0.59
VWF:CB / VWF:Ag	1.15	1.32	5	1.54	1.11	1.15
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	31%	10.70%	99.99%	99.99%	0	99.99 %

Tableau 48 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 11.

- **Famille 12 : VWD type 1 probable**

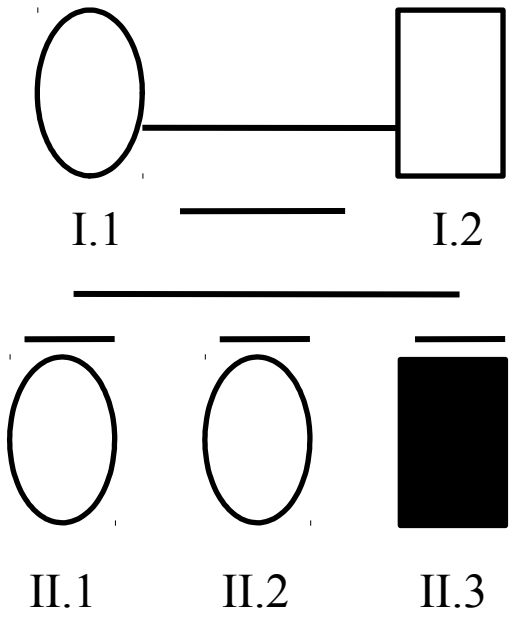


Figure 49 : Arbre généalogique de la famille 12.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	2	1	0	1	6
groupe sanguin	O+	O+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	302	268	254	310	344
FVIIIC (%)	80	00	106	92	40
VWF:Ag (%)	125	89	117	129	50
VWF:RCo (%)	100	78	91	105	42
VWF:CB (%)	NF	NF	NF	NF	60
VWF:RCo / VWF:Ag	0.80	0.87	0.77	0.81	0.84
FVIIIC / VWF:Ag	0.64	1.12	0.90	0.71	0.8
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	NF	NF	1.20
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	0	40%

Tableau 49 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 12

- **Famille 13 : VWD type 1**

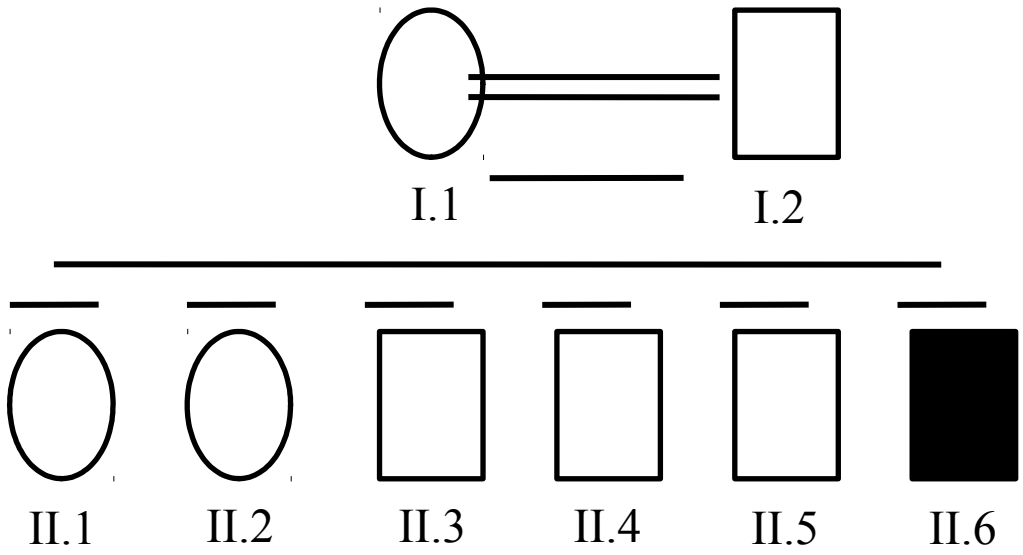


Figure 50 : Arbre généalogique de la famille 13.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6
score hémorragique	1	1	0	0	0	1	0	10
groupe sanguin	O+	O+	O+	O+	O+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	188	210	180	205	321	201	178	225
FVIIIC (%)	100	102	90	93	87	80	125	34
VWF:Ag (%)	120	110	91	101	90	95	82	31
VWF:RCo (%)	100	73	79	84	73	67	57	27
VWF:CB (%)	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	79
VWF:RCo / VWF:Ag	0.83	0.67	0.87	0.83	0.81	0.7	0.7	0.87
FVIIIC / VWF:Ag	0.83	0.93	0.98	0.92	0.96	0.84	1.52	1.09
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	2.55
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	0	0	0	0	95.80 %

Tableau 50 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 13.

- **Famille 14 : VWD type 1 probable**

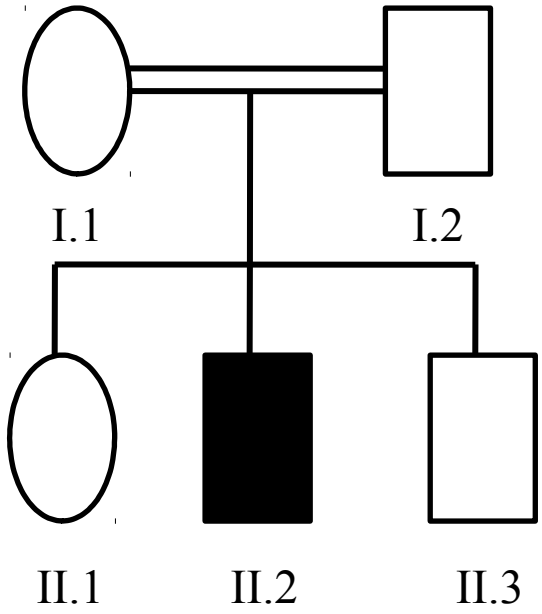


Figure 51 : Arbre généalogique de la famille 14.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	1	0	0	5	0
groupe sanguin	O+	O-	O-	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	327	248	249	201	341
FVIIIC (%)	130	100	98	26	85
VWF:Ag (%)	81	85	110	55	78
VWF:RCo (%)	63	75	93	37	73
VWF:CB (%)	50	80	105	45	55
VWF:RCo / VWF:Ag	0.77	0.88	0.84	0.67	0.93
FVIIIC / VWF:Ag	1.60	1.17	0.98	0.47	1.09
VWF:CB / VWF:Ag	0.62	0.94	0.95	0.82	0.70
VWF:VIIIB	NF	NF	NF	70	NF
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	75%	0

Tableau 51 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 14.

- **Famille 15 : VWD type 1 probable**

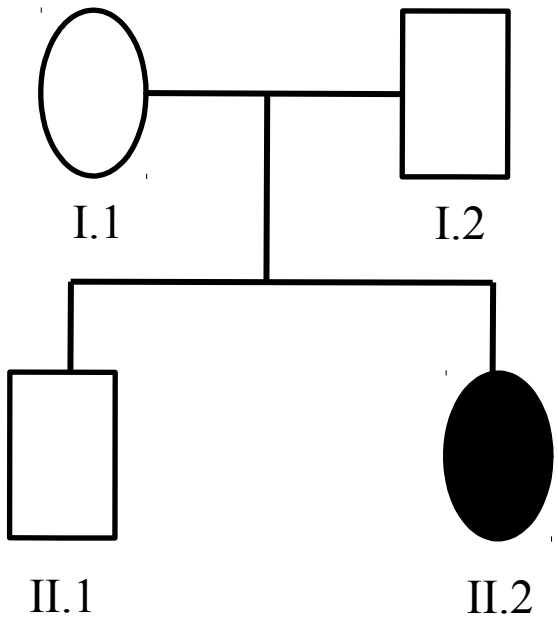


Figure 52 : Arbre généalogique de la famille 15.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	2	0	3	5
groupe sanguin	B+	O+	O+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	261	324	447	343
FVIIIC (%)	75	72	71	53
VWF:Ag (%)	75	47	60	40
VWF:RCo (%)	73	63	70	35
VWF:CB (%)	100	70	90	45
VWF:RCo / VWF:Ag	0.97	1.34	1.16	0.88
FVIIIC / VWF:Ag	1.00	1.53	1.18	1.32
VWF:CB / VWF:Ag	1.33	1.48	1.5	1.12
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	75%

Tableau 52 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 15.

- **Famille 16 : VWD type 1 probable**

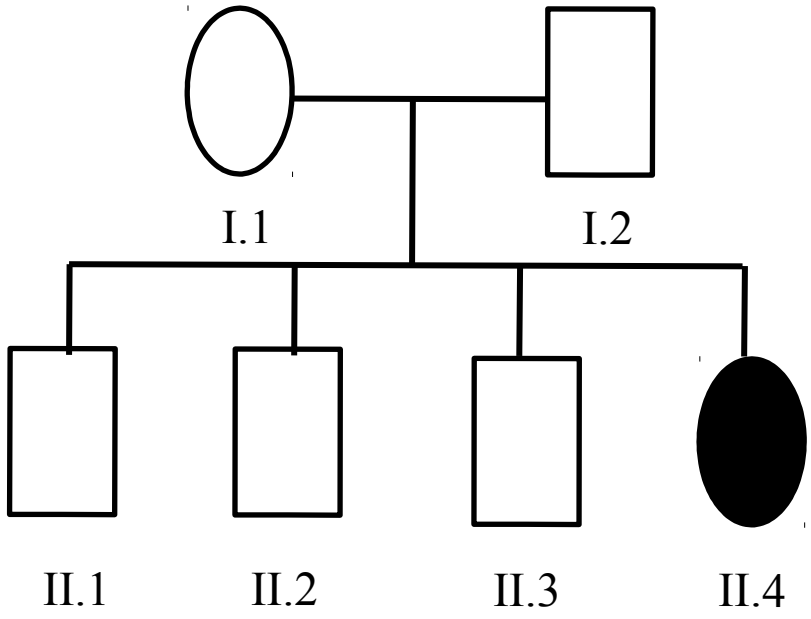


Figure 53 : Arbre généalogique de la famille 16.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4
score hémorragique	5	0	0	2	0	11
groupe sanguin	O+	A+	A+	A+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	423	273	215	221	301	202
FVIIIC (%)	127	85	101	61	71	59
VWF:Ag (%)	77	100	68	67	96	64
VWF:RCo (%)	73	95	73	80	73	43
VWF:CB (%)	140	135	95	85	145	60
VWF:RCo / VWF:Ag	0.94	0.95	1.07	1.19	0.76	0.68
FVIIIC / VWF:Ag	1.65	0.85	1.48	0.91	0.74	0.92
VWF:CB / VWF:Ag	1.81	1.35	1.40	1.27	1.5	0.94
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	0	0	45%

Tableau 53 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 16.

- **Famille 17 : VWD type 1 probable**

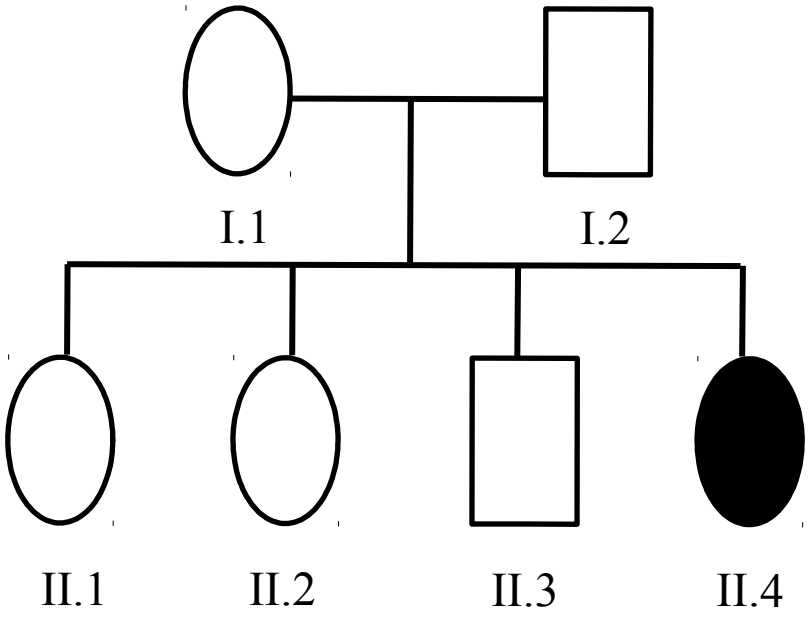


Figure 54 : Arbre généalogique de la famille 17.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4
score hémorragique	0	0	0	0	8	4
groupe sanguin	O+	AB+	B+	B+	A+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	294	126	301	324	48	235
FVIIIC (%)	126	190	100	112	202	130
VWF:Ag (%)	100	151	79	93	139	38
VWF:RCo (%)	88	71	58.4	73	91	35
VWF:CB (%)	NF	NF	NF	NF	NF	57
VWF:RCo / VWF:Ag	0.88	0.46	0.74	0.78	0.65	0.92
FVIIIC / VWF:Ag	1.26	1.24	1.26	1.20	1.45	3.42
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	NF	NF	NF	1.5
probabilité Bayesienne de diagnostique de VWD type 1	0	0	0	0	2%	40%

Tableau 54 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 17.

b – les familles de Willebrand Type 2 :

- **Famille 18 : Type 2M**

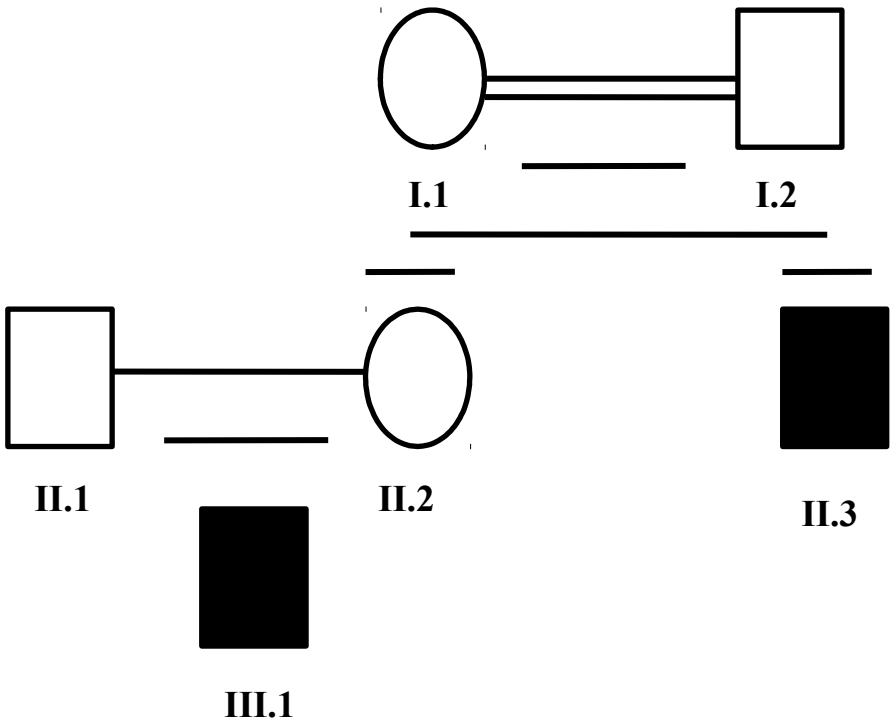


Figure 55 : Arbre généalogique de la famille 18.

	II.1	II.2	II.3	III.4
score hémorragique	0	3	5	7
groupe sanguin	A+	O+	O+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	188	211	286	235
FVIIIC (%)	125	79	18	15
VWF:Ag (%)	103	98	44	43
VWF:RCo (%)	73	84	24	20
VWF:CB (%)	115	88	39	31
VWF:RCo / VWF:Ag	0.71	0.85	0.54	0.47
FVIIIC / VWF:Ag	0.82	0.80	0.41	0.35
VWF:CB / VWF:Ag	1.11	0.9	0.88	0.72
VWF:VIIIB (%)	NF	NF	88	125

Tableau 55 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 18.

- **Famille 19 : Type 2A**

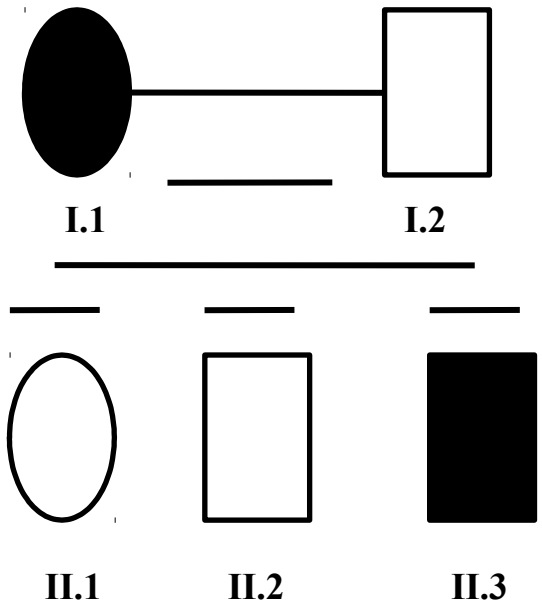


Figure 56 : Arbre généalogique de la famille 19.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	8	1	0	0	6
groupe sanguin	O+	O+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	210	259	232	295	174
FVIIIC (%)	69	105	91	88	40
VWF:Ag (%)	71	101	110	97	58
VWF:RCo (%)	60	73	73	105	28
VWF:CB (%)	55	125	NF	NF	21
VWF:RCo / VWF:Ag	0.84	0.84	0.67	1.08	0.48
FVIIIC / VWF:Ag	0.97	1.04	0.83	0.91	0.70
VWF:CB / VWF:Ag	0.78	1.24	NF	NF	0.36
RIPA	NF	NF	NF	NF	Négatif

Tableau 56 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 19.

- **Famille 20 : Type 2 A**

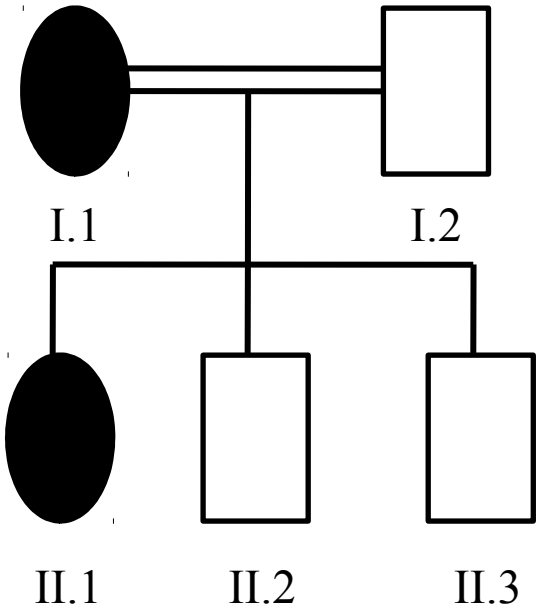


Figure 57 : Arbre généalogique de la famille 20.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	10	3	8	0	0
groupe sanguin	O+	A+	A+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	181	255	221	192	351
FVIIIC (%)	31	75	24	112	180
VWF:Ag (%)	37	100	41	92	130
VWF:RCo (%)	08	73	14	73	95
VWF:CB (%)	13	90	5.5	120	NF
VWF:RCo / VWF:Ag	0.21	0.73	0.34	0.65	0.73
FVIIIC / VWF:Ag	0.83	0.75	0.58	1.21	1.38
VWF:CB / VWF:Ag	0.35	0.9	0.13	1.30	NF
RIPA	Négatif	NF	NF	NF	NF

Tableau 57 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 20.

- **Famille 21 : Type 2N**

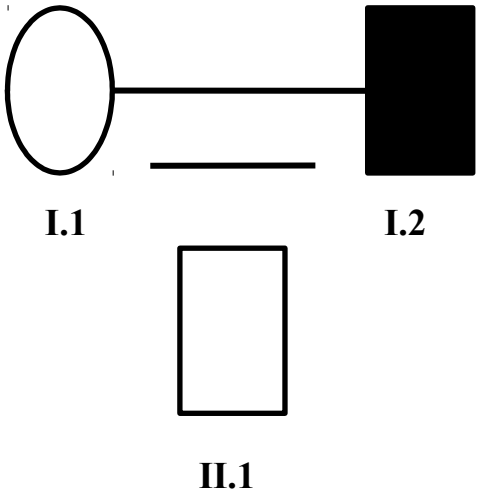


Figure 58 : Arbre généalogique de la famille 21.

	I.1	I.2	II.1
score hémorragique	2	6	1
groupe sanguin	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	321	165	274
FVIIIC (%)	110	25	87
VWF:Ag (%)	105	93	102
VWF:RCo (%)	73	71	85
VWF:CB (%)	NF	NF	NF
VWF:RCo / VWF:Ag	0.70	0.75	0.83
FVIIIC / VWF:Ag	1.1	0.26	0.85
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	NF
VWF:VIIIB	110	11	65
VWF:VIIIB / VWF:Ag	1.05	0.12	0.64

Tableau 58 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 21.

- **Famille 22 : Type 2 M**

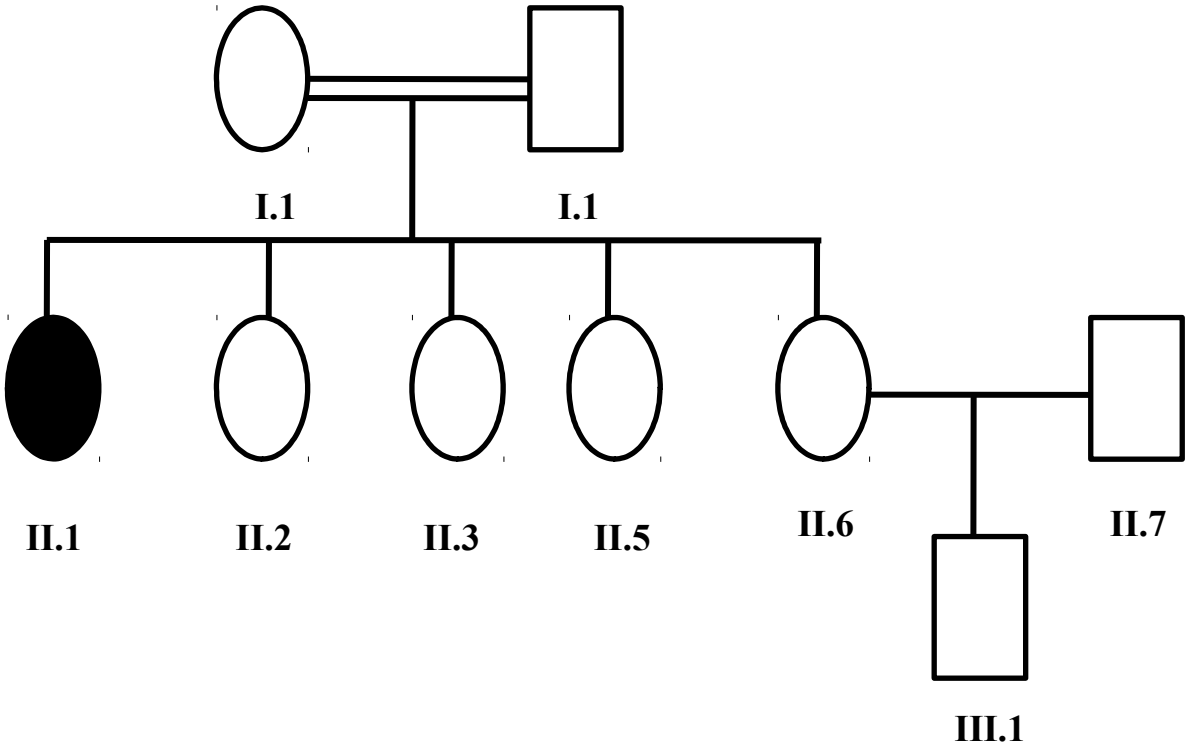


Figure 58 : Arbre généalogique de la famille 22.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	III.1
score hémorragique	0	1	10	1	2	0	0	1	0
groupe sanguin	A+	B+	A+	A+	A+	O+	A+	A+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	196	247	515	300	260	210	269	355	278
FVIIIC (%)	65	105	25	100	95	84	110	78	95
VWF:Ag (%)	63	120	9	94	108	125	130	90	100
VWF:RCo (%)	58	80	4	74	100	85	93	70	80
VWF:CB (%)	110	145	10	88	NF	143	97	NF	115
VWF:RCo / VWF:Ag	0.92	0.67	0.44	0.78	0.88	0.68	0.71	0.86	0.8
FVIIIC / VWF:Ag	1.03	0.87	2.78	1.06	0.92	0.67	0.84	0.77	0.95
VWF:CB / VWF:Ag	1.74	1.2	1	0.93	NF	1.14	0.74	NF	1.15

Tableau 58: Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 22.

- **Famille 23 : Type 2 M**

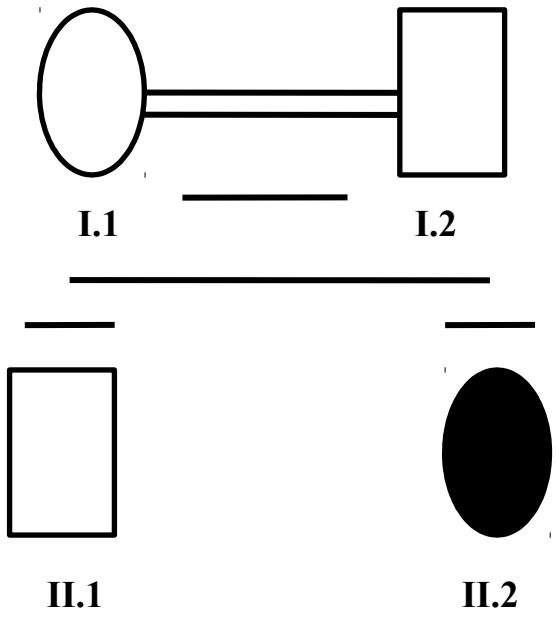


Figure 60 : Arbre généalogique de la famille 23.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	2	2	4	9
groupe sanguin	O+	A+	A+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	235	179	267	300
FVIIIC (%)	131	90	95	13
VWF:Ag (%)	100	103	84	11
VWF:RCo (%)	60	71	62	4
VWF:CB (%)	58	85	125	15
VWF:RCo / VWF:Ag	0.6	0.69	0.74	0.36
FVIIIC / VWF:Ag	1.31	0.87	1.13	1.18
VWF:CB / VWF:Ag	0.58	0.82	1.48	1.36

Tableau 60 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 23.

- **Famille 24 : Type 2 M**

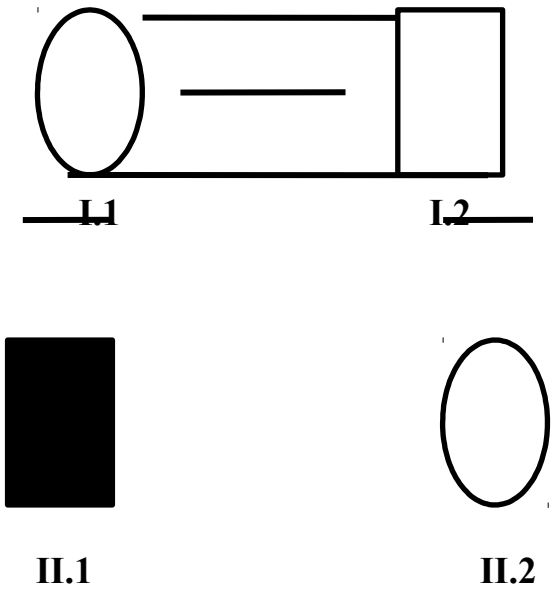


Figure 61 : Arbre généalogique de la famille 24.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	1	1	4	0
groupe sanguin	O+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	378	200	344	425
FVIIIC (%)	107	60	58	105
VWF:Ag (%)	129	75	57	94
VWF:RCo (%)	85	80	20	90
VWF:CB (%)	NF	NF	52	NF
VWF:RCo / VWF:Ag	0.66	1.06	0.35	0.95
FVIIIC / VWF:Ag	0.83	0.80	1.17	1.12
VWF:CB / VWF:Ag	NF	NF	0.91	NF

Tableau 61 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 24.

- **Famille 25 : Type 2M**

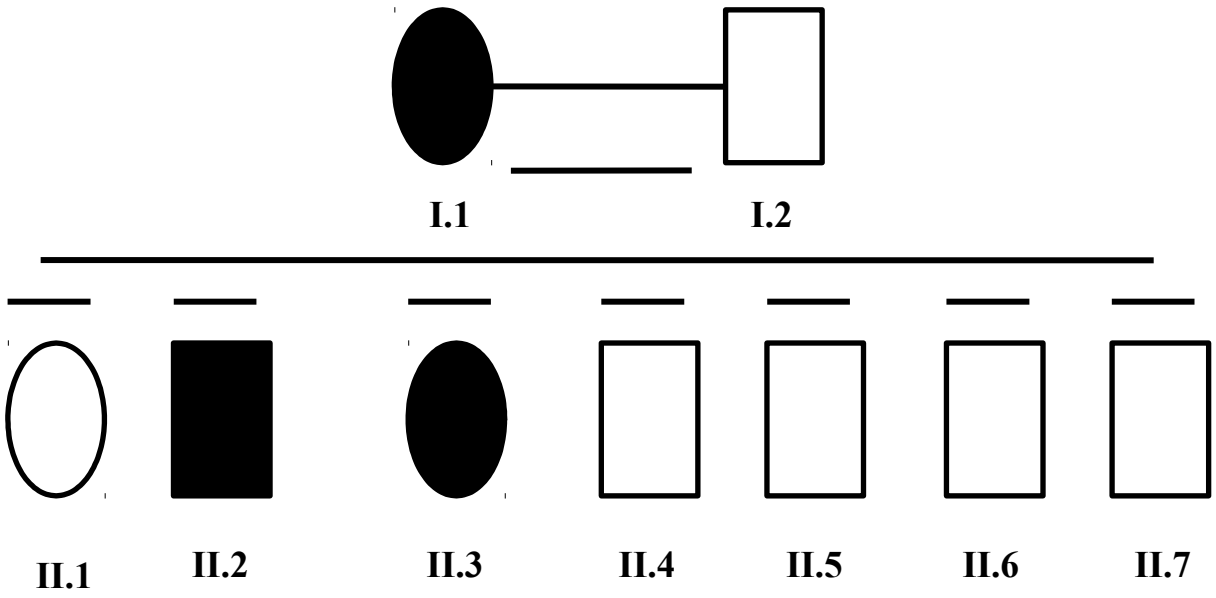


Figure 62 : Arbre généalogique de la famille 25.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
score hémorragique	6	1	2	4	4	0	0	2	2
groupe sanguin	O+	A+	O+	A+	O+	O+	A+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	185	350	293	205	309	236	271	385	325
FVIIIC (%)	33	79	44	38	20	70	65	54	85
VWF:Ag (%)	66	85	78	49	40	90	82	79	93
VWF:RCo (%)	23	73	45	15	15	87	80	55	100
VWF:CB (%)	61	90	60	54	48	105	75	71	80
VWF:RCo / VWF:Ag	0.35	0.85	0.57	0.31	0.37	0.96	0.97	0.69	1.07
FVIIIC / VWF:Ag	0.5	0.93	0.56	0.77	0.5	0.78	0.79	0.69	0.91
VWF:CB / VWF:Ag	0.92	1.05	0.77	1.1	1.2	1.17	0.91	0.89	0.86

Tableau 62 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 25.

- **Famille 26 : Type 2A**

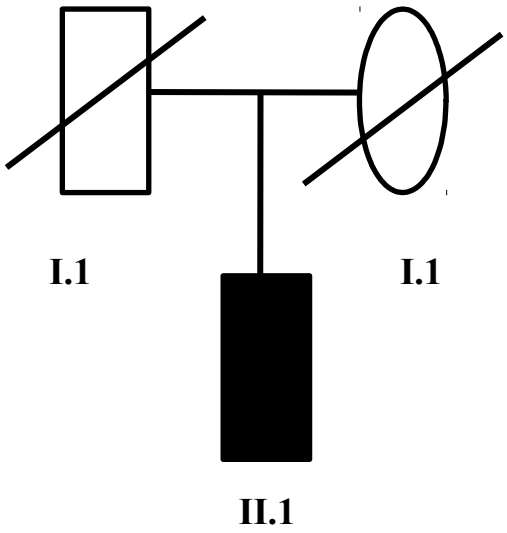


Figure 63 : Arbre généalogique de la famille 26.

PATIENTS	**II.1**
Score hémorragique	7
groupe sanguin	A+
Taux de plaquettes (G/L)	521
FVIIIC (%)	44
VWF:Ag (%)	47
VWF:RCo (%)	10
VWF:CB (%)	27
VWF:RCo / VWF:Ag	0.22
FVIIIC / VWF:Ag	0.93
VWF:CB / VWF:Ag	0.57

Tableau 63 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 26.

- **Famille 27 : Type 2M**

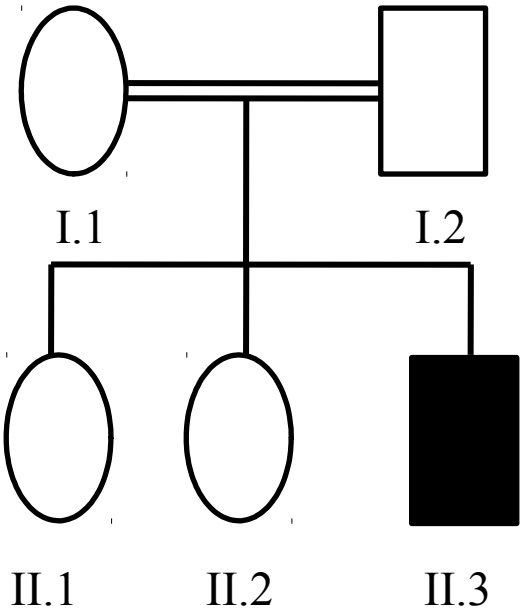


Figure 64 : Arbre généalogique de la famille 27.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	1	2	0	0	4
groupe sanguin	B+	O+	B+	B+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	185	245	226	365	242
FVIIIC (%)	155	111	94	88	51
VWF:Ag (%)	140	123	103	98	68
VWF:RCo (%)	100	73	73	100	25
VWF:CB (%)	135	81	120	118	75
VWF:RCo / VWF:Ag	0.71	0.59	1.09	1.02	0.36
FVIIIC / VWF:Ag	1.10	0.90	0.91	0.90	0.75
VWF:CB / VWF:Ag	0.96	0.65	1.16	1.02	1.1

Tableau 64 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 27.

- **Famille 28 : Type 2A**

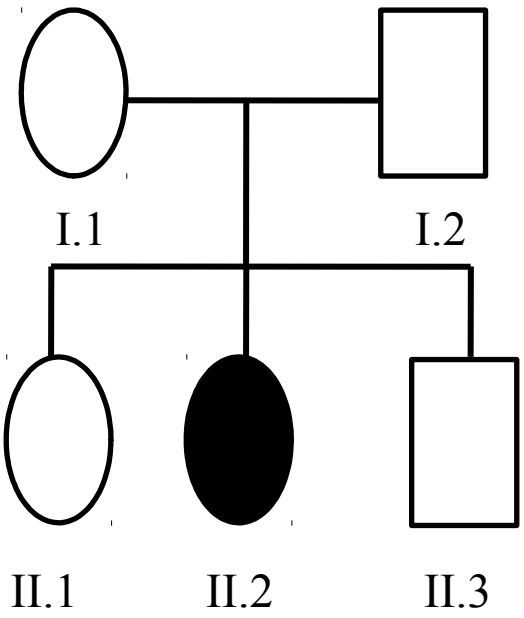


Figure 65 : Arbre généalogique de la famille 28

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	2	5	2	8	1
groupe sanguin	O+	A+	A+	O+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	169	149	222	136	267
FVIIIC (%)	182	87	105	135	115
VWF:Ag (%)	220	135	100	87	155
VWF:RCo (%)	100	100	100	27	100
VWF:CB (%)	91	120	100	36	140
VWF:RCo / VWF:Ag	0.45	0.74	1	0.31	0.65
FVIIIC / VWF:Ag	0.83	0.65	1.05	1.55	0.74
VWF:CB / VWF:Ag	0.41	0.89	1	0.41	0.90
RIPA	NF	NF	NF	Négatif	NF

Tableau 65 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 28.

- **Famille 29 : Type 2B**

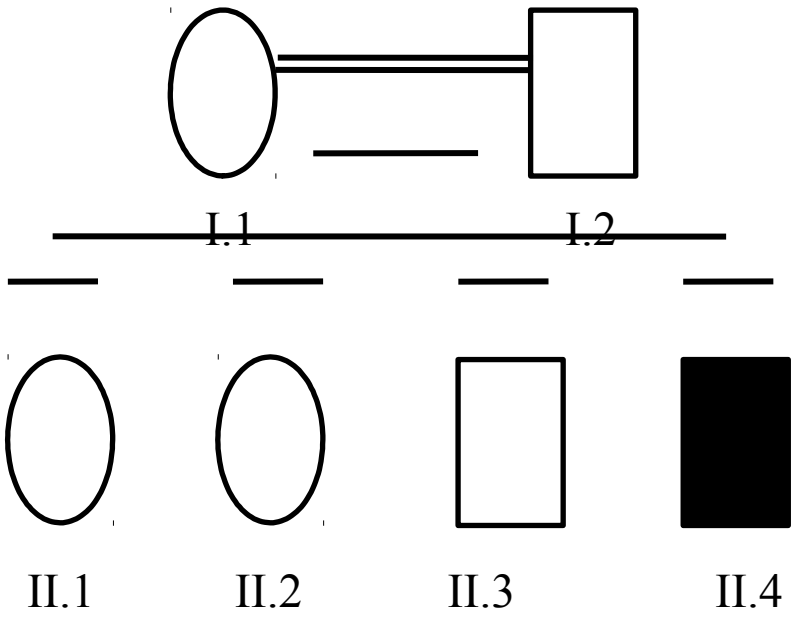


Figure 66 : Arbre généalogique de la famille 29.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4
score hémorragique	4	1	6	3	4	5
groupe sanguin	A+	A+	A+	A+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	225	180	70	95	114	12
FVIIIC (%)	80	95	148	145	161	130
VWF:Ag (%)	120	100	137	153	273	126
VWF:RCo (%)	74	74	73	81	78	58.4
VWF:CB (%)	195	200	160	110	150	29
VWF:RCo / VWF:Ag	0.61	0.74	0.53	0.53	0.28	0.46
FVIIIC / VWF:Ag	0.67	0.95	1.08	0.94	0.58	1.03
VWF:CB / VWF:Ag	1.62	2	1.16	0.71	0.55	0.23

Tableau 66 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 29.

- **Famille 30 : Type 2A**

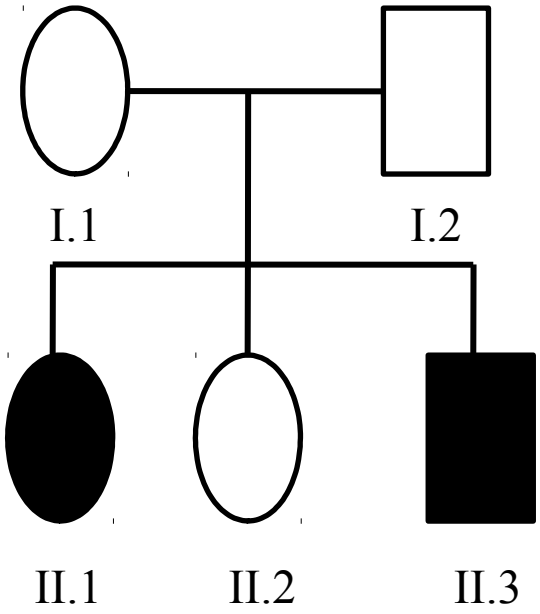


Figure 67 : Arbre généalogique de la famille 30.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3
score hémorragique	2	NF	6	1	5
groupe sanguin	O-	NF	O+	O+	O-
Taux de plaquettes (G/L)	202	NF	251	210	312
FVIIIC (%)	72	NF	89	65	119
VWF:Ag (%)	114	NF	61	95	63
VWF:RCo (%)	73	NF	34	100	32
VWF:CB (%)	85	NF	26	70	19
VWF:RCo / VWF:Ag	0.64	NF	0.55	1.05	0.51
FVIIIC / VWF:Ag	0.63	NF	1.45	1.45	1.88
VWF:CB / VWF:Ag	0.75	NF	0.43	0.73	0.3

Tableau 67 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 30.

- **Famille 31 : Type 2N**

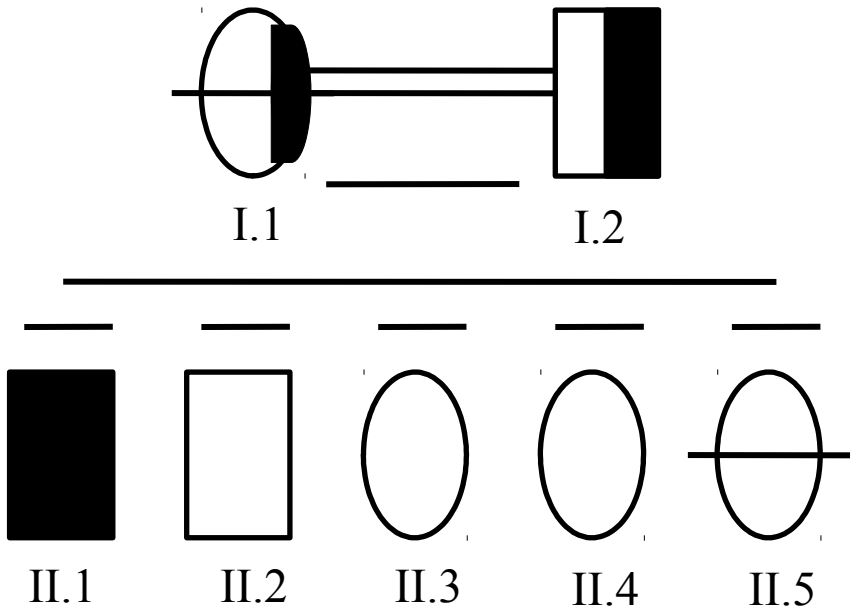


Figure 68 : Arbre généalogique de la famille 31.

	I.1	I.2	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5
score hémorragique	1	1	6	0	0	1	8
groupe sanguin	A+	O+	A+	A+	O+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	274	168	115	314	185	64	147
FVIIIC (%)	146	25	13	159	95	65	80
VWF:Ag (%)	95	93	65	89	62	101	43
VWF:RCo (%)	73	78	21.9	80	74	84	50
VWF:CB (%)	200	195	38	180	170	200	110
VWF:RCo / VWF:Ag	0.77	0.84	0.33	0.89	1.19	0.83	1.16
FVIIIC / VWF:Ag	1.53	0.27	0.2	1.78	1.53	0.64	1.86
VWF:CB / VWF:Ag	2.10	2.09	0.58	2.02	2.7	1.98	2.55
VWF:VIIIB	40	20	12	79	95	75	48
VWF:FVIIIB / VWF:Ag	0.42	0.21	0.18	0.89	1.53	0.74	1.11

Tableau 68 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 31.

c – les familles de Willebrand Type 3 :

- **Famille 32 :**

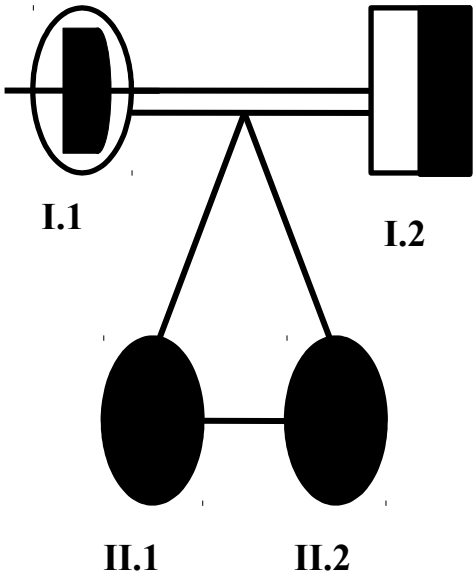


Figure 69 : Arbre généalogique de la famille 32.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	1	0	15	13
groupe sanguin	B+	A+	B+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	185	296	350	323
FVIIIC (%)	95	121	1	1
VWF:Ag (%)	88	77	0 (indétectable)	0 (indétectable)
VWF:RCo (%)	60	62	0 (<0.7%)	0 (<0.7%)

Tableau 69 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 32.

- **Famille 33 :**

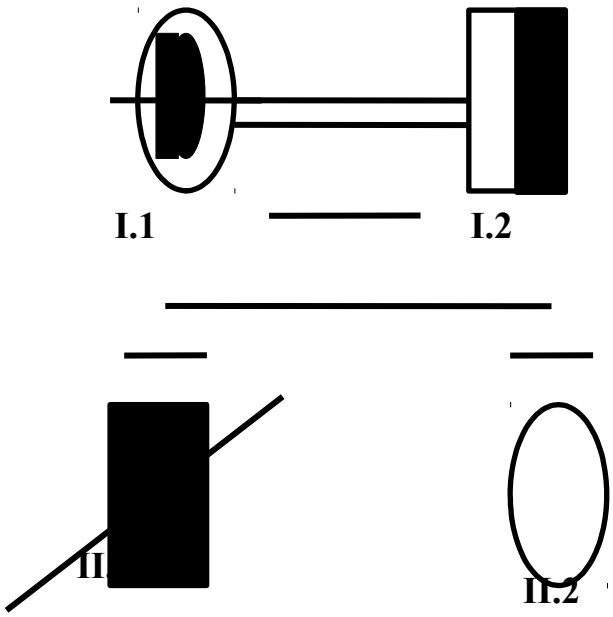


Figure 70 : Arbre généalogique de la famille 33.

PATIENTS	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	3	0	10	0
groupe sanguin	A+	O+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	205	345	600	239
FVIIIC (%)	85	73	1	56
VWF:Ag (%)	65	75	0 (indétectable)	74
VWF:RCo (%)	60	67	0 (<0.7%)	73

Tableau 70 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 33.

- **Famille 34 :**

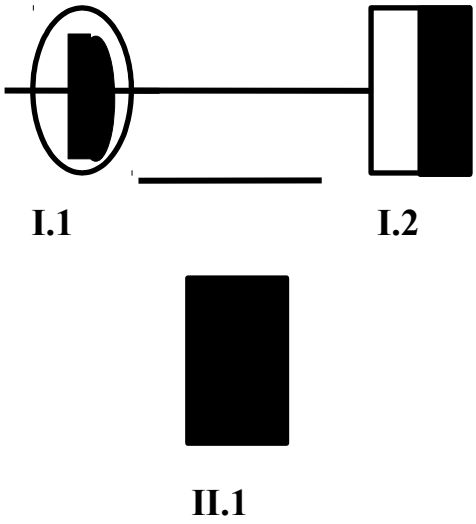


Figure 71 : Arbre généalogique de la famille 34.

	I.1	I.2	II.1
score hémorragique	0	0	10
groupe sanguin	A+	A+	A+
Taux de plaquettes (G/L)	198	351	500
FVIIIC (%)	110	102	3
VWF:Ag (%)	99	110	0 (indétectable)
VWF:RCo (%)	75	93	0 (<0.7%)

Tableau 71 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 34.

- **Famille 35 :**

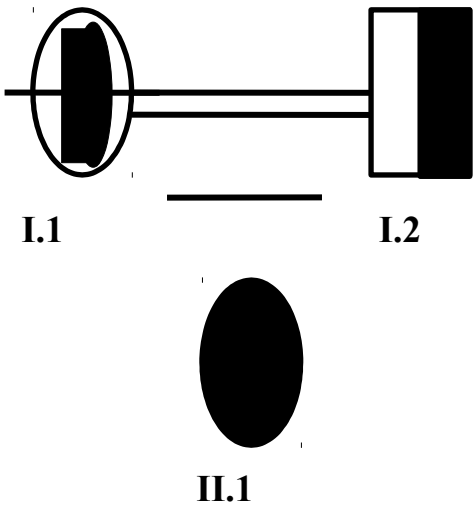


Figure 72 : Arbre généalogique de la famille 35.

	I.1	I.2	II.1
score hémorragique	0	0	11
groupe sanguin	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	221	167	450
FVIIIC (%)	69	87	2
VWF:Ag (%)	90	71	0 (indétectable)
VWF:RCo (%)	40	40	0 (<0.7%)

Tableau 72 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 35.

- **Famille 36 :**

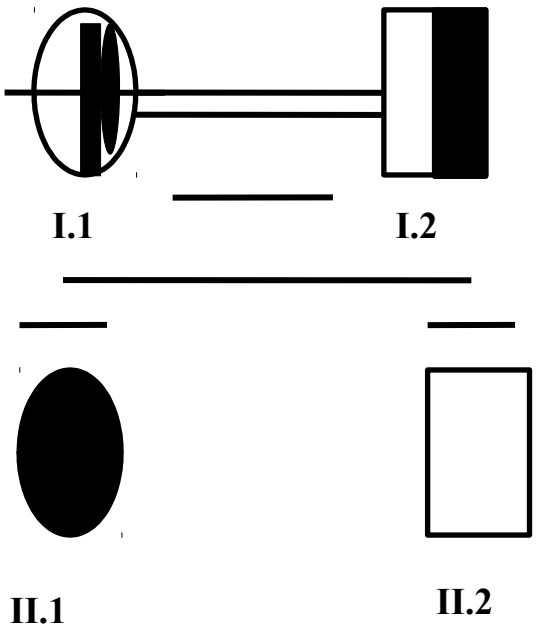


Figure 73 : Arbre généalogique de la famille 36.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	1	0	15	2
groupe sanguin	A+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	258	311	226	299
FVIIIC (%)	89	95	2	100
VWF:Ag (%)	100	92	0 (indétectable)	120
VWF:RCo (%)	94	73	0 (<0.7%)	75

Tableau 73 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 36.

- **Famille 37 :**

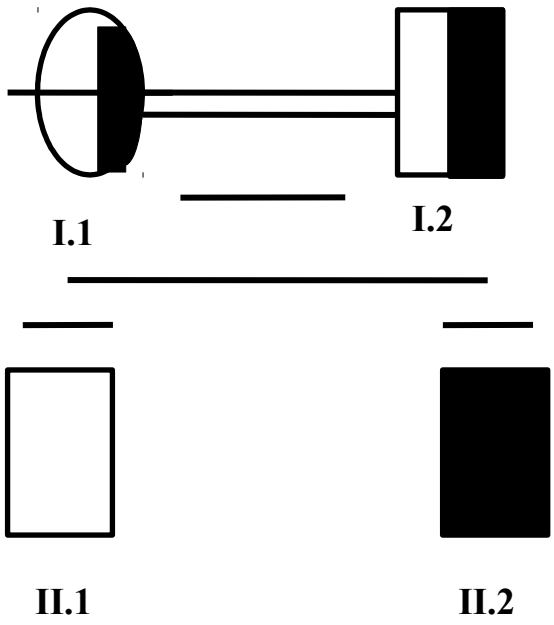


Figure 74 : Arbre généalogique de la famille 37.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	2	0	10	1
groupe sanguin	O+	B+	B+	B+
Taux de plaquettes (G/L)	321	248	342	402
FVIIIC (%)	144	100	3	74
VWF:Ag (%)	88	111	0 (indétectable)	80
VWF:RCo (%)	50	78	0 (<0.7%)	52

Tableau 74 : Résultats biologique de l'enquête familiale de la famille 37.

- **Famille 38 :**

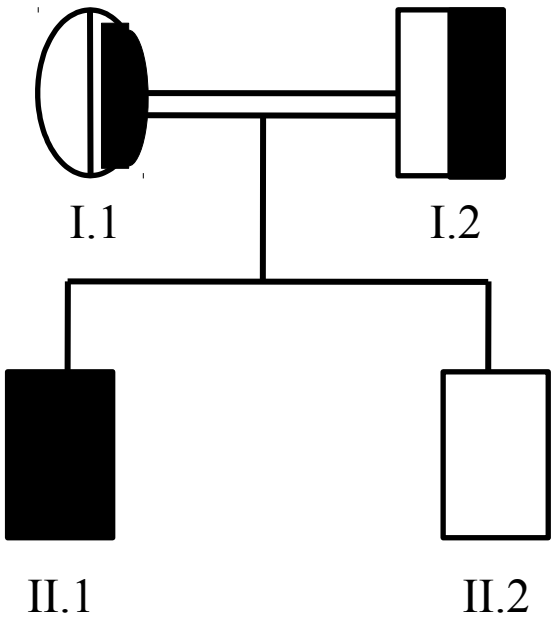


Figure 75 : Arbre généalogique de la famille 38.

	I.1	I.2	II.1	II.2
score hémorragique	5	2	9	0
groupe sanguin	O+	O+	O+	O+
Taux de plaquettes (G/L)	321	248	222	194
FVIIIC (%)	70	76	2	82
VWF:Ag (%)	36	49	0 (indétectable)	51
VWF:RCo (%)	35	37	0 (<0.7%)	58

Tableau 75 : Résultats biologiques de l'enquête familiale de la famille 38.

3 – Dépistage du type 2N chez les 39 patients hémophiles A modérés et mineurs réévalués:

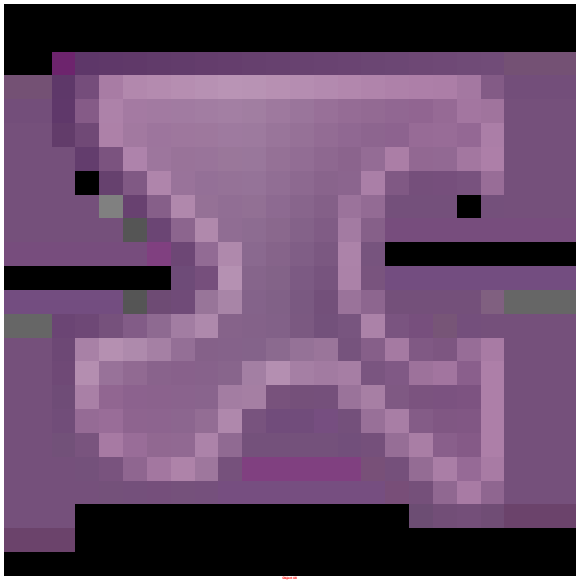


Figure 76 : Dépistage du type 2N

La majorité des hémophile A soit 34 patients sont confirmés étant des hémophiles A, sauf pour 5 patients chez qui nous avons dépisté une VWD.

DISCUSSION

ET

COMMENTAIRES

V - Discussion et commentaires :

Le diagnostic de la maladie de von Willebrand est problématique, étant sujet à un sur-diagnostic et à un sous-diagnostic ou à un diagnostic erroné. [195]

Notre démarche diagnostique (figure 17) est basée sur une série de tests de dépistage (TCA, TQ, fibrinogène et taux de plaquette) réalisés à chaque fois que le score hemorragique est ≥ 3 avec ou sans histoire hémorragique familiale, suivis par des tests spécifiques de première ligne (VWF:RCo, VWF:Ag, FVIII et VWF:CB) et complétée par un VWF:VIIIB ou un RIPA.

L'existence d'un allongement isolé du TCA ou d'une thrombopénie et même un bilan de dépistage sans particularité mais avec une forte histoire hémorragique personnelle ou familiale (score hémorragique ≥ 3) justifie la réalisation des tests spécifiques (FVIIIC, VWF:RCo, VWF:Ag, VWF:CB).

Nous avons choisis d'inclure le VWF:CB comme test de première ligne pour compléter le dosage de l'activité VWF:RCo.

Selon l'étude Favaloro et al [201], le plasma de VWD type 1 a été mal identifié en type 2 dans 11% des cas et celui de type 2 mal identifié en type 1 ou type 3 dans 20% des cas, il a été démontré que les laboratoires qui réalisent le VWF: RCo seul sans le VWF:CB sont susceptibles de faire ce genre d'erreurs avec un risque multiplié par 3 voir même par 6, et le plasma normal a été mal identifié comme plasma VWD dans 5% des cas, et les laboratoires qui ont effectué le VWF: RCo sans VWF: CB étaient 10 fois plus susceptibles de faire une telle erreur que ceux qui ont effectué le VWF: CB. Les taux d'erreur de diagnostic sont considérablement réduits lorsque les tests sont complets et incluent le VWF: CB.

Le même auteur a démontré en 2016 que pratiquement 70% des cas de VWD type 2M sont mal diagnostiqués. [199]

Une autre étude de Favaloro et al 2017 [195] démontre que si les laboratoires n'utilisent pas le VWF: CB, alors la VWD de type 2M continuera à être sous diagnostiquée et / ou mal diagnostiquée comme étant un VWD de type 2A ou type 1. Les types 2A, 2B et PT-VWD continueront à sous diagnostiquée, ou bien à être diagnostiqués à tort comme une VWD de type 1 ou TPI. [195]

Le VWF: CB détecte l'absence des multimères de hauts poids moléculaires mieux que le VWF: RCo et par conséquent, il devrait être rajouté au panel de tests utilisés dans le diagnostic de la VWD [200].

Baronciani et al recommandent également l'utilisation du VWF: CB comme test de diagnostic en plus du VWF:RCo et VWF:Ag pour distinguer non seulement le type 2A du type 2M mais aussi le type 2A du type 2B, et aussi recommande de l'utiliser comme test de dépistage des patients avec anomalie de l'hémostase primaire [201].

Selon le théorème de Bayes qui est une approche mathématique probabiliste du diagnostique du type 1 de la VWD publié en 2008 par Tosseto et al [202], notre démarche diagnostic nous permet un diagnostique de type 1 avec une probabilité minimum de 80% et cette probabilité est de 50% pour le Type 1 probable.

Enfin, dans notre démarche et comme test spécialisé nous nous sommes basés sur le RIPA pour la confirmation du diagnostique du type 2B à chaque fois que c'est possible car parfois la thrombopénie ne permet pas la réalisation de ce test. La mesure de la capacité de liaison au FVIIIc VWF:VIIIB est réalisée à chaque fois que le ratio FVIIIC/VWF:Ag < 0.5 pour le diagnostic du type 2N.

A - Populations témoins :

1 - Population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF : Rco et VWF : Ag:

Un nombre minimum mais suffisant de 120 sujets avec un sexe ratio de 1 nous a permis de déterminer nos propres valeurs de référence pour les tests VWF:RCo **(51%-127%)** et VWF:Ag **(61.5%-141.5%)**. La moyenne d'âge est de 26.4 ans avec une tranche d'âge majoritairement représentée entre 21 et 30 ans. Tous ces volontaires sont originaires des wilayas de l'Ouest Algérien en majorité d'Oran. Le groupe sanguin O représente 43% des témoins suivi par le groupe A avec 38%, 18% pour le groupe B et 1% pour le groupe AB.

Le système ABO modifie le taux de VWF dans le plasma [203]. Selon l'étude de Tosseto et al, il existe pour le groupe sanguin O une diminution moyenne de 16,9 et 14,9% pour VWF:Ag et VWF:RCo, respectivement **(p <0,0001)** [207]. Dans notre étude cette diminution est de **21.82%** pour VWF: Ag et **15.92%** pour VWF: RCo respectivement **(p < 0.05)**, ce qui démontre que le groupe sanguin ABO est la variable qui influence le plus les taux de VWF, mais l'ajustement des valeurs de référence inferieure pour le groupe sanguin ABO n'améliore pas la sensibilité et la spécificité du VWF: Ag ou VWF: RCo pour la détection d'une VWD.
Selon l'étude de Goodeve et al de 2010 [205], chez les patients européens atteints de VWD type 1 le groupe sanguin O est très fréquent 65%, ce groupe sanguin O est aussi fréquent chez les individus type 1 sans mutation détectée 76%. Dans notre étude la fréquence du groupe

sanguin O est de 47% chez les patients et 43% chez les témoins ce qui démontre que le groupe sanguin O est un des facteurs qui diminue le taux de VWF.

On a comparé les résultats du VWF:Ag des témoins de notre étude avec ceux de Gill et al de 1987 [203] (Tableau 76), la valeur moyenne du VWF:Ag des sujets de groupe sanguin non O de notre étude est comparable avec les résultats de l'étude de Gill et al (p = 0.903).
Chez les sujets de groupe O, nous avons retrouvé une différence significative entre les valeurs moyennes du VWF:Ag (**p = 0.002**).

	Notre étude	**Etude Gill et al [4] 1987**	**p**
VWF:Ag	101.50 %	105.47 %	0.903
VWF:Ag groupe O	93.62 %	74.80 %	**0.002**
VWF:Ag groupe non O	115.44 %	115.36 %	0.808

Tableau 76 : Comparaison des résultats du VWF:Ag des témoins de notre étude avec ceux de l'étude de Gill et al de 1987 [32].

En plus du groupe O d'autres facteurs peuvent influencer le taux de VWF comme l'âge et les hormones (œstrogènes et hormones thyroïdiennes) [206].

2 – Population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour VWF: CB et VWF : VIIIB:

Dans notre étude, un transfert d'intervalle de référence était le meilleur choix pour valider les données fournies par le fabriquant tout en économisant du réactif. Les 20 donneurs de sang bénévoles testés présentent des résultats compris dans les intervalles fournis par le fabriquant sauf dans un cas où la valeur du VWF:CB était abaissée (**51%**).

a - VWF: VIIIB

L'étude réalisée par Boylan et al en 2015 [207] (Tableau 77) fixe un intervalle de référence pour le VWF:VIIIB entre [66%-80%], dans cette étude les patients VWD type 2N homozygotes ou hétérozygotes composites présentaient des valeurs de VWF:VIIIB < 15% tandis que les VWD type 2N hétérozygotes avaient des valeurs de VWF:VIIIB comprises entre [30%-65%].

L'étude de Veyradier et al de 2011 montre des résultats similaires à l'étude de Boylan et al, tous les patients de VWD type 2N homozygote présentent des valeurs de VWF:VIIIB < 15%, pour les patients hétérozygotes les résultats sont compris entre [35%-65%]. Il démontre aussi que le test Asserachrom VWF:VIIIB de STAGO présente une sensibilité et spécificité égale à 100% [208].

Une autre étude réalisée par Zhukov et al en 2009 sur un groupe témoin et des patients MVW type 2N, fixe un intervalle de référence pour le VWF:VIIIB compris entre [73%-142%], les sujets homozygotes MVW type 2N présente des valeurs de VWF:VIIIB < 12% et pour les patients hétérozygotes les résultats sont compris entre [44%-61%]. [209]

L'intervalle de référence fourni par le réactif ASSERACHROM VWF:VIIIB et validé dans notre étude est proche des résultats des 3 études décrites précédemment (tableau 76).

	VWF : VIIIB (%) notre étude (n=60)	**VWF : VIIIB (%) Boylan et al (n=37) [207]**	**VWF : VIIIB (%) Veyradier et al (n=91) [208]**	**VWF : VIIIB (%) Zhukov et al (n=392) [209]**
Intervalle de références	83.20 - 124.80	66.00-80.00	NF	73-142
VWD Type 2N hétérozygotes	NF	35-65	35-65	44-61
VWD Type 2N homozygotes	NF	< 15	< 15	< 12

Tableau 77 : Comparaison des intervalles de références pour le VWF:VIIIB.

Nous avons pris en considération le ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag pour interpréter les résultats du test VWF:VIIIB car les résultats du test ELISA dépendent fortement du taux de VWF:Ag et ce ratio nous permet d'apprécier la qualité de la liaison du VWF au FVIII.

Dans la VWD type 2N ce ratio est très bas tandis qu'une diminution modérée du VWF:VIIIB avec un ratio proche de 1 est le signe d'une interaction normale entre le FVIII et le VWF.

Dans l'étude de Karlman et al de 2010, le calcul du ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag chez une série de 40 témoins donne un intervalle compris entre [0.64-1.24] [211].

Dans une autre étude Italienne (Casonato et al en 2007) [175], la valeur seuil du ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag est fixée à 0.75. Cette valeur est utilisée pour différencier les individus avec une liaison normale et les sujets avec une anomalie de liaison du VWF au FVIII. Cette étude démontre également que le ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag est le seul paramètre assez sensible pour la détection de la VWD type 2N hétérozygote.

b - VWF: CB

En raison de sa grande sensibilité aux multimères de haut poids moléculaire le VWF:CB peut être utilisé pour l'identification et la classification du type 2. Un ratio VWF:CB/VWF:Ag ≥ 0.6 est considéré comme normal. Le test VWF:CB ne montre aucune différence significative entre le type 2A et 2B, mais il existe une différence très significative avec le type 2M et le type 1 **où** il n'existe pas d'anomalie des multimères de haut poids moléculaire. Certains auteurs sont favorables à l'utilisation du VWF:CB en première intention tandis que d'autres ne le réalisent que dans certaines situations où le diagnostic est difficile [156].

La différenciation entre le profil éléctrophorétique des multimères du type 2M et 2A est parfois très difficile voire impossible. Le sous-typage de la VWD basé sur l'analyse des multimères n'a pas toujours une pertinence clinique. L'électrophorèse des multimères détecte 75% des patients avec anomalie des multimères [211]. Une mutation du gène du VWF a été retrouvée chez 26 des 57 propositus type 2 avec des anomalies des multimères démontrées par électrophorèse. En plus, l'étude réalisée en Angleterre par Meiring et al en 2007 sur 40 témoins et 44 patients atteints de VWD, fixe une valeur seuil du ratio VWF:CB/VWF:Ag ≥ 0.6 et le résultat du test VWF:CB est fortement corrélé aux résultats de l'électrophorèse des multimères pour le type 2A et 2B, de même les résultats du test VWF:CB sont fortement corrélé au taux de VWF:Ag pour le type 2M [155].

Une autre étude récente réalisée en Algérie au CHU Bab El Oued a montré une bonne corrélation entre les résultats de l'électrophorèse des multimères et le VWF: CB pour l'exploration du VWF [212].

Alors, le VWF:CB peut être utilisé pour remplacer l'utilisation généralisée de l'électrophorèse des multimères (test difficile à réaliser) et ce dernier ne sera proposé que pour certains variants du type 2 ou 1 [213].

Un test VWF: CB bien réalisé combiné au VWF: RCo peut réduire fortement le taux d'erreur de diagnostic et de classification de la VWD comparé à une démarche diagnostic qui utilise le VWF: RCo en tant que seul test fonctionnel d'exploration du VWF.
Le tableau 78 montre les intervalles de référence de VWF:CB validés pour notre étude et pour 3 autres études. Nous avons constaté que les valeurs inférieures de l'intervalle sont sensiblement identiques quelque soit le type de collagène type I ou III.

	VWF:CB type III (n=60) notre étude	**VWF:CB Type I (n=232) Zimmerman programme**	**VWF:CB Type III (n=232) Zimmerman programme**	**VWF:CB Type III (n=40) Meiring et al [155]**
Intervalle de références (%)	64 - 155	61 - 297	57 - 266	51 - 143

Tableau 78 : Comparaison des intervalles de références pour le VWF:CB.

3 - Population témoin pour la détermination des valeurs de référence pour le score hémorragique:

Dans notre étude, le score hémorragique chez les témoins varie de 0 à 6, et 6.1% des témoins ont un score hémorragique > 3. Un score hémorragique ≥ 3 est considéré comme pathologique.

Le tableau 79 compare les résultats de notre étude à celle de Tosseto et al [132], nos résultats sont comparables. Dans notre, étude il existe une prédominance masculine et le groupe O représente 47.5% contre 38.4% dans l'étude de Tosseto. En plus, dans notre étude la valeur la plus basse du score hémorragique est de 0 tandis que dans l'étude de Tosseto cette valeur est de -1.

	Notre étude n = 612	Tosseto et al n = 195 [132]
Sexe ratio H/F	1.25	0.95
Moyenne d'âge	35 ans	40 ans
Médiane BS	0	-1
Groupe sanguin O	47.5%	38.4%

Tableau 79 : Comparaison de notre étude avec celle de Tosseto [132].

La détermination des valeurs seuil du score hémorragique pose un certain nombre de problèmes en raison du caractère discontinu des valeurs, l'intervalle validé par de nombreuses études est compris entre [0-3] et donc un score hémorragique pathologique ≥ 3 [130].

Le score hémorragique augmente avec l'âge, il existe une différence significative (p = 0.00011) entre les [0-15] ans, les]15-30], les]30-60] et les plus de 61 ans. Cette augmentation avec l'âge est retrouvée aussi dans plusieurs études. Il existe également une différence entre les valeurs moyennes du score hémorragique des sujets de groupe O (0.48) et non O (0.39), il est plus élevé chez les sujets de groupe O.

Le score hémorragique est plus élevé aussi chez les femmes, il existe une différence significative (p = 0.00016) entre les valeurs moyennes du score hémorragique chez les hommes (0.27) et les femmes (0.59). On retrouve également une valeur seuil différente du score hémorragique entre les hommes et les femmes respectivement ≥ 3 et ≥ 4.

Le tableau 80 compare la fréquence des signes cliniques observés chez les témoins dans notre étude avec celle de Rodeghiero et al de 2005, on observe que les fréquences des signes cliniques décrits chez les témoins sont très proches. [214]

Signes cliniques	Notre étude (%) 2017	Rodeghiero et al 2005 [214] (%)
aucun signe clinique	71.3%	76.7%
Ménorragie	10%	16.5%
Epistaxis	13.5%	10.84%
Hémorragie de la cavité buccale	2.5%	5.5%
Ecchymose	0.7%	3.7%
Hémorragie du post partum	2%	2.85%

Tableau 80 : Comparaison de notre étude avec celle de Rodeghiero et al.

B – Population des patients :

1 – Population des 96 patients diagnostiqués atteints d'une VWD :

a – Caractéristiques générales des patients :

Avec un sex ratio Homme/Femme de 0.76 dans notre étude, on retrouve une distribution homogène selon le sexe entre les différents types de la VWD avec une valeur du $p = 0.018$ ($p < 0.05$). Ce résultat est comparable au sexe ratio de 0.80 décrit par le réseau France coag en 2012 [222], mais différent de celui de 0.5 décrit dans l'étude Tunisienne [221] dont l'échantillon est moins important que le notre ce qui peut expliquer cette différence.

Les patients âgés entre 21 et 30 ans représentent la tranche d'âge majoritaire suivis par les]10-20] ans et les [0-10] ans qui représentent chacune 20 patients; en effet, les formes les plus sévères de la VWD sont découvertes plus tôt dans la vie et dans notre étude, la prédominance de formes modérées est compatible avec cette distribution.
La distribution des moyennes d'âge de diagnostique entre les différents types de la VWD est hétérogène ($p < 0.0005$), la moyenne d'âge de diagnostique pour le type 1 est de 25.84 ans et pour le type 3 de 7.7 ans, cette différence est due au caractère sévère du type 3 qui est diagnostiqué plus tôt dans l'enfance que les autres types de VWD.

Le service d'hémobiologie étant localisé à Oran, explique le nombre important de patients (38) Oranais, en plus c'est la wilaya la plus peuplée de l'Ouest. Le reste des patients résident dans les wilayas limitrophes, 12 à Tiaret, 9 à Mostaganem et Relizane, 6 à Tlemcen, 5 à Mascara Saida et Sidi Bel Abes, le reste à Béchar et Ain Temouchent.

b - Répartition des patients selon le type de la maladie de Von Willebrand :

96 patients présentent une VWD, le type 1 et le type 2 représentent 33% chacun, le type 1 probable ou appelé aussi « Low VWF » représente 22% et le type 3 représente 12%.
Nous avons diagnostiqué un patient avec une VWD acquise.
Le tableau 81 compare notre série de patients avec celle d'autres études européennes et une étude Tunisienne de 2015.

Auteurs	Nombre de patients	Type 1 et type 1 probable (%)	Type 2 (%)	Type 3 (%)
Tuddenham et al [215]	134	75	19	6
Lenk et al [216]	111	76	12	12
Hoyer et al [217]	116	71	23	6
Awidi [218]	65	59	30	11
Berliner et al [219]	60	62	9	29
Federici et al [220]	1286	73	21	6
Ben Lakhal et al [221]	33	18	30	52
Notre étude	**95**	**55**	**33**	**12**

Tableau 81 : Comparaisons des fréquences des différents types de VWD.

Parmi les différents types de la VWD, le type 1 est le plus fréquent (60-80%); tous les variants du type 2 représentent 15 à 30%, alors que le type 3 est diagnostiqué chez 5 à 10% de patients avec une VWD [215, 29, 217, 218, 219].

Dans notre étude la distribution est comparable aux données des 6 études Européennes avec une prédominance pour le type 2 (33%). Nos résultats sont différents de l'étude Tunisienne, dans cette étude le type 3 est majoritaire 52% (17) contre 10% (12) dans notre étude, c'est le type le plus simple à identifier étant le plus sévère des types de VWD. Le type 1 représente 18% (6) dans l'étude Tunisienne contre 55% (52) dans notre étude ; cette différence peut être expliquée par le faible échantillon de patients dans l'étude Tunisienne et les critères diagnostics différents dans cette étude (diagnostic de VWD : VWF:RCo < 40% pour les groupes O et VWF:RCo < 60% pour les groupes non O). [221]

Dans l'une des plus grandes cohortes Européenne de patients (1319) atteints de la VWD du réseau France Coag en 2012, le type et le sous-type étaient identifiés dans 34% des cas seulement et plus de 80% sont de type 2 [222].

c - Fréquence de la maladie de Willebrand dans l'Ouest Algérien :

La prévalence de la VWD est estimée a 1%, mais les formes symptomatiques qui nécessitent une prise en charge spécialisée sont beaucoup plus rare, ils varient de 23 à 113 par million, ou environ 1 sur 10 000 [223].

Dans la littérature, il existe un écart dans l'estimation de ces prévalences d'un pays à un autre. Dans notre étude, la fréquence de la VWD dans l'Ouest à 12 cas par million d'habitants mais cette fréquence est plus importante et plus proche des données de la littérature pour la wilaya

d'Oran et elle est de 24 cas par million d'habitants, cette wilaya est la plus peuplée de l'Ouest Algérien. Cet écart de fréquence est dû certainement aux difficultés de diagnostique de la VWD sur le plan pratique et organisationnel.

La plus grande cohorte étudiée en Algérie a ce jour est composée de 292 cas de VWD recrutés au niveau du centre de transfusion sanguine du CHU Bab El Oued entre 1996 et 2002. Les critères retenus pour le diagnostic sont un dosage du facteur Willebrand cofacteur de la ristocetine diminué < 50% associé à une histoire clinique personnelle et ou familiale, les critères de diagnostic de la VWD ont été révisé en 2006 et surtout un taux de VWF:RCo et ou VWF:Ag < 30% est désormais compatible avec une VWD. Ces patients doivent donc faire l'objet d'une réévaluation.

L'enquête de la fédération mondiale de l'hémophilie (FMH) publiée en octobre 2016 a recensé en Algérie 238 patients atteints d'une maladie de Von Willebrand mais ce chiffre ne reflète pas la réalité de cette maladie en Algérie [185].

Le manque de publications sur les patients Algériens porteurs d'une VWD rend difficile les comparaisons.

d - Répartition des patients selon la consanguinité :

Chez les patients Tunisiens [221] la consanguinité représente 38% contre 44% dans notre étude cette différence est significative ($p < 0.05$).

La distribution de la consanguinité est hétérogène entre les différents types de la VWD ($p = 0.017$).

Dans le type 3, la consanguinité est retrouvée chez 90% des patients expliquée par le mode de transmission récessif de ce type de VWD, pour le type 1 et 2 dont le mode de transmission peut être dominant ou récessif la consanguinité est présente chez 50% et 47% des patients respectivement. Tandis que dans le type 1 probable, la consanguinité ne représente que 9.5%. En effet, dans le type 1 probable, la probabilité d'existence d'une mutation génétique et assez faible, ce type peut être le résultat de combinaison de facteurs modulants le taux plasmatique du VWF.

e – Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux :

Chez 59% des patients une histoire familiale hémorragique significative est décrite contre 55% chez les patients Tunisiens [221] ces résultats sont assez proche et reflètent bien

l'inconstance de l'histoire familiale, chez nos patients avec un p = 0.354, la notion de consanguinité est comparable dans tous les type de VWD.

La présence d'antécédents familiaux est décrite chez 62.5% des patients de type 1, dans ce type la présence d'une histoire familiale facilite le diagnostic. Selon l'approche Bayesienne de Tossetto et al, l'histoire familiale est importante à considérer dans le calcul de la probabilité d'une VWD encore plus importante que le score hémorragique [202].

Dans le type 3, on retrouve 80% d'antécédents familiaux en raison de la forte consanguinité.

Le réseau France coag décrit en 2012 une histoire familiale chez 45.9% des patients [221] ce qui se rapproche de nos résultats.

f – Caractéristiques cliniques de la population des patients :

- **Fréquence des signes cliniques dans la population des patients :**

Signes cliniques	Notre étude n=95 Fréquences (%)	Patients VWD Scandinave n=264 [224]	Patients VWD Tunisien n = 33 [221]
Ecchymose	80	/	57
Epistaxis	74.7	62	60
Hémorragies buccales	48.4	35	51
Hémorragie après coupure	9.5	36	/
Hémorragie après chirurgie	4.2	28	/
Circoncision	11.6	/	/
Extraction dentaire hémorragique	33.7	51	/
Hémorragie intracrânienne	2.1	/	/
Ménorragie	36.8	60	39
Hématome	7.4	49	30
Hémarthrose	1.1	8	/

Tableau 82 : Comparaison des fréquences des signes cliniques de nos patients avec l'étude Scandinave.

Dans l'étude scandinave on ne rapporte pas d'ecchymoses ni d'hémorragies du système nerveux central (Tableau 82) et puis pour la circoncision elle est comptabilisée avec les hémorragies post chirurgie.
Les écchymoses et épistaxis sont les signes cliniques les plus fréquents chez nos patients tandis que dans l'étude scandinave se sont les épistaxis et les ménorragies qui sont les plus fréquents. Cette différence peut être expliquée par le nombre de patients plus élevé dans l'étude Scandinave mais aussi la différence de la répartition homme/ femme et enfin l'étude Scandinave était réalisée en 1973 ou les critères de diagnostic étaient moins restrictif, et la collecte des données cliniques était empirique et ne faisant pas l'objet de standardisation.

Comparant nos données clinique de nos patients à ceux de l'étude Tunisienne [221] on retrouve des résultats similaires pour l'épistaxis, écchymose, hémorragie de la cavité buccal et les ménorragies, la seule différence réside dans la fréquence des hématomes ($p < 0.005$) ceci est expliqué par la fréquence élevée du type 3 chez les patients tunisien.

- **Fréquence des signes cliniques dans les différents types de la maladie de Von Willebrand :**

Dans notre étude les hémarthroses ($p = 0.008$) et hémorragies intracrâniennes ($p = 0.01$) ne sont décrites que dans le type 3, l'hémorragie après circoncision ($p < 0.0005$) et hématomes ($p = 0.005$) sont plus fréquents dans le type 3 qui est la forme la plus sévère et grave de la VWD.
Les ménorragies présentent aussi une distribution hétérogène ($p = 0.024$) entre les différents types de VWD, en effet, dans notre étude leur fréquence dépend fortement du sexe ratio mais aussi de l'âge des patientes.
Les écchymoses ne sont pas décrites dans les études (tableau 83) Italienne [220] et Iranienne [228], la circoncision est décrite avec les signes post opératoire et en plus ces deux études se basent sur un taux de VWF:Rco < 50% comme critère de diagnostique de la VWD.
Pour le type 1, on retrouve une différence de fréquence des signes cliniques avec l'étude Italienne pour les saignements post opératoires, les saignements après coupure tandis que l'étude italienne décrit des hématomes, des hémarthroses et des hémorragies intracrâniennes dans le type 1.
Pour le type 2, on retrouve une différence de fréquence des signes cliniques avec l'étude Italienne pour les saignements post opératoires, tandis que l'étude italienne décrit des hématomes, des hémarthroses et des hémorragies intracrâniennes dans le type 1.

Pour le type 3 nos résultats ne sont pas très différents de l'étude Italienne et Iranienne, la circoncision n'est pas comptabilisée comme signe a part mais faisant partis des hémorragies post opératoires, notre échantillon est de 10 patients tandis que dans l'étude Italienne il est de 74 patients et 348 patients pour l'étude Iranienne.

	Type 1(%) notre étude	Type 1 n = 944 Italie	Type 2 (%) notre étude	Type 2 n = 268 (%) Italie	Type 3 (%) n = 74 Italie	Type 3 (%) n= 348 Iran	Type 3 (%) notre étude
Ecchymose	**78**	**0**	**85..25**	**0**	**0**	**0**	**100**
Epistaxis	**75.6**	**56**	**78.25**	**63**	**74**	**77**	**80**
Hémorragie buccal	**30.10**	**30**	**26.45**	**37**	**48**	**0**	**35**
Hémorragie après coupure	**6**	**36**	**26.43**	**40**	**50**	**0**	**10**
Hémorragie après chirurgie	**0**	**20**	**8.75**	**23**	**41**	**41**	**0**
Circoncision	**6**	**0**	**8.12**	**0**	**0**	**0**	**50**
Extraction dentaire hémorragique	**42.5**	**31**	**48**	**39**	**33**	**70**	**20**
Hémorragie intracrânienne	**0**	**0.5**	**0**	**2**	**8**	**0**	**20**
Ménorragie	**51**	**31**	**24.45**	**32**	**32**	**69**	**0**
Hématome	**0**	**14**	**13.6**	**19**	**31**	**0**	**30**
Hémarthrose	**0**	**2**	**0**	**5**	**42**	**37**	**10**

Tableau 83 : Comparaison des fréquences des signes cliniques de nos patients avec les études Italienne [220] et Iranienne [221].

- **score hémorragique :**

Dans notre étude 55% des patients présentent un score hémorragique compris entre 5 et 10 tandis que 27% présentent un score ≥ 10, et 15% un score entre [3-5[.

3% des patients présente un score hémorragique dans les normes soit < 3, ces patients ont été diagnostiqués lors d'enquête familiale.

On observe ainsi une différence significative ($p < 0.05$) entre la moyenne du score hémorragique des patients et témoins respectivement 7.25 et 0.42, si l'on compare les résultats du score hémorragique entre les deux groupes en fonction du sexe cette différence observée reste toujours significative ($p < 0.05$), ce qui indique la force de cet interrogatoire standardisé.

L'utilisation du score hémorragique comme test de dépistage de la VWD indique une sensibilité de 97.89% et une spécificité 95.73% avec un coefficient de Yule proche de 1 qui démontre la forte valeur de dépistage d'un score hémorragique pathologique ≥ 3. L'étude de Rodiegho et al de 2005, pour un score hémorragique pathologique ≥ 3 retrouve une spécificité de 99.1% et une sensibilité de 64.2% pour le diagnostique des conductrices obligatoire du type 1 [214].

g – Caractéristiques phénotypiques biologiques des patients :

- **Répartition selon le groupe sanguin ABO :**

Le groupe sanguin O est toujours majoritaire, dans tous les types de VWD il représente un peu moins de la moitié des patients 47 % (43% dans le type 1 et type 1 probable, 60% dans le type 2 et 42% dans le type 3). Il n'existe pas de différence de répartition des groupes sanguins entre les différents types de VWD ($p = 0.234$).

Chez les patients, il n'y a aucun effet du groupe sanguin ABO sur les taux plasmatiques de VWF [221].

Le groupe sanguin O est majoritaire comme pour les témoins mais chez les patients il n'ya pas de différence de taux plasmatique de VWF entre les groupes non O et le groupe O, ce dernier ne pose problème que pour la distinction d'un sujet normal d'un autre atteint d'une maladie de Willebrand type 1 modérée.

- **Répartition selon leur taux d'hémoglobine:**

Dans notre étude, 40% des patients présentent une anémie mineure ou modérée et un seul patient présente une anémie sévère ces résultats sont comparables à ceux de l'étude tunisienne **où** la fréquence des anémies est de 45% [221]. L'anémie reflète l'importance des hémorragies, plus la VWD est sévère et plus le risque d'anémie est important, ce résultat est en adéquation avec la répartition de la sévérité de la VWD chez nos patients.

- **Répartition selon leur taux de plaquettes:**

On a trouvé que 6% des patients seulement ont présenté une thrombopénie. En effet, la thrombopénie ne fait pas partie des critères de diagnostic de la VWD, néanmoins dans notre étude elle est constante dans le type 2B, de même un de nos patients a présenté une thrombopénie sévère < 20 G/L.

Par ailleurs, certaines mutations homozygotes comme la p.Pro 1337Leu et p.Arg854Gln de l'exon 28 du gène du VWF exprime un type 2B qui s'accompagne d'une thrombopénie sévère < 20 G//L qui rend la réalisation du RIPA impossible [226].

- **Répartition selon la valeur du TCA ratio**

L'allongement du TCA n'est présent que chez 46% de nos patients contre 69.69% dans l'étude tunisienne [221] cette différence peut être expliquée par le nombre élevé de VWD type 3 dans l'étude tunisienne. En effet l'allongement du TCA n'est pas constant dans une VWD mais il reflète bien l'importance du déficit en FVIII et reste un test de dépistage simple à réaliser en routine.

Plus de la moitié de nos patients sont de type 1 et type 1 probable qui souvent n'abaisse que modérément le FVIII ce qui explique que 54% du TCA ratio est < 1.2.

- **Répartition selon le taux de FVIIIc:**

Nous avons trouvé que 41% des patients on un taux de FVIIIc compris entre 5 et 40% et seulement 5% ont un taux < 5%. Ce résultat est en parfait adéquation avec les résultats du TCA et la répartition des types de VWD.

Dans l'étude tunisienne 81.81% des patients présente un taux de FVIIIc abaissé contre 46% dans notre étude cette différence peut être expliquée par le nombre élevé de VWD type 3 dans l'étude tunisienne [221].

- **Répartition selon le taux de VWF:RCo:**

Près de la moitié des patients 47% présente un taux de VWF:RCo compris entre 10 et 30% et seulement 20% ont un taux ≤ 10%. 31% présente un taux entre]30-50%].

2% avec un taux de plus de 50% correspond à des patients chez qui la seule anomalie est une diminution du VWF: CB.

Nos résultats sont différents de l'étude tunisienne qui retrouve 100% de baisse du VWF:RCo. Cette différence est due au panel réduit de tests utilisés dans cette étude, ne pas utilisé le VWF:CB entraine un sous-diagnostique de VWD [221].

- **Répartition selon le taux de VWF:Ag:**

28% des patients présentent un taux de VWF:Ag de plus de 50% ceci est expliqué par le fait que VWF:Ag est souvent plus élevé que celui du VWF:RCo.

34% des patients présente un taux de VWF:Ag compris entre 30 et 50% et seulement 18% ont un taux ≤ 10%. Et la tranche entre]10-30%] représente 20%.

Nos résultats sont différents de l'étude tunisienne qui retrouve 82% de baisse du VWF:Ag. Cette différence est due au critère (VWF:Ag < 40% pour le groupe O et VWF:Ag < 60% pour les non O) différent et le panel réduit de tests utilisés dans cette étude [221].

- **Répartition selon le taux de VWF:CB:**

Un peu moins de la moitié des patients soit 45% présentent un taux de VWF:CB **>** 50% et seulement 6% ont un taux ≤ 10%. Tandis que 26% ont des taux compris entre]30-50%] et 23% ont des taux compris entre]10-30%].

Ce test permet de compléter le VWF : RCo pour le diagnostic d'une VWD, le VWF:CB permet le diagnostic des types 2. Il est particulièrement abaissé dans le type 2A et 2B et chez certains patients, c'était la seule anomalie retrouvée.

En effet, un nouveau type 2B mutant du gène du VWF (R1308L, 3923G > T) caractérisé par une liaison défectueuse au collagène est démontrée par la détermination du VWF: CB alors que tous les autres tests d'exploration du VWF sont normaux [227]

h – Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 1 et type 1 probable:

- **Résultats du bilan biologique:**

Il existe une différence significative entre les valeurs moyennes du TCA entre le type 1 et type 1 probable $p < 0.0005$, cette différence est liée au taux de FVIIIC qui est plus bas dans le type 1 ($p = 0.002$), de même que le taux de VWF: Ag et VWF: RCo sont plus bas dans le type 1 ($p < 0.0005$).

Le taux de Fibrinogène ($p = 0.003$) est plus bas dans le type 1.

Le taux d'hémoglobine est aussi plus bas chez les patients de type 1 ($p = 0.006$) ce résultat est conforté par la moyenne plus élevé du score hémorragique dans le type 1 ($p = 0.007$) qui expose ces patient à un risque d'anémie plus élevée que le type 1 probable. Nos résultats sont

comparables aux résultats du taux d'hémoglobine (10.6 g/dl) du type 1 de l'étude tunisienne ($p = 0.057$). [221]

Les ratios et VWF: RCo/VWF: Ag et VWF: CB/VWF: Ag sont plus bas dans le type 1 ($p < 0.0005$ et $p = 0.001$). Chez les patient de type 1 de l'étude tunisienne le ratio VWF: RCo/VWF: Ag est de 0.97 très proche de nos résultats (0.93) $p = 0.707$. [221]

- **Corrélation de Spearman entre les résultats des différents tests diagnostic chez les patients de type 1 :**

On retrouve une bonne corrélation positive entre VWF:RCo et VWF:Ag ($r = 0.908$, $p<0.0005$) puisque dans le type 1 le ratio VWF:RCo/VWF:Ag est en général proche de 1.
On retrouve une corrélation moyenne entre VWF:RCo et le FVIIIC ($r=-0.639$ $p<0.0005$), cette corrélation est meilleur entre le VWF: Ag et le FVIIIC ($r=0.822$ $p<0.0005$). En effet le taux de FVIIIC est plus proche du taux de VWF:Ag que VWF:RCo et ce dernier est toujours plus abaissé.
Il existe une corrélation moyenne entre VWF:RCo et le VWF:CB ($r=-0.447$ $p=0.029$), et entre le VWF: Ag et le VWF:CB ($r=0.547$ $p=0.006$). En effet ce test permet d'explorer les multimères de haut poids moléculaire auxquels le VWF:RCo et VWF:Ag sont beaucoup moins sensible.
On note une bonne corrélation négative entre TCA ratio et VWF:RCo ($r=-0.76$ $p<0.0005$), VWF: Ag ($r=-0.804$ $p<0.0005$), FVIIIC ($r=-0.818$ $p=0.004$). Le TCA est un test de dépistage qui dépend du taux de FVIIIc lui même lié aux taux de VWF.
Une corrélation moyenne négative existe entre le VWF:RCo, VWF: Ag, VWF: CB, de même le taux d'hémoglobine et le score hémorragique (respectivement $r=-0.536$ $p=0.001$, $r=-0.529$ $p=0.002$, $r=-0.571$ $p=0.004$, $r=-0.503$ $p=0.003$). En effet un taux bas de VWF n'est pas toujours Synonyme de saignement et l'histoire hémorragique personnelle est influencée par différents facteurs (âge, sexe).
On note également une corrélation moyenne entre VWF:RCo, VWF: Ag et le taux d'hémoglobine (respectivement $r=0.566$ $p=0.001$, $r=0.523$ $p=0.002$). Une VWD n'est pas toujours synonyme d'anémie en plus dans le type 1 les formes modérée sont prédominantes.

- **Comparaison entre les moyennes du VWF: RCo, VWF:Ag et le score hémorragique des sujets de groupe sanguin O et Non O chez les patients de type 1:**

Pour les patients de groupes sanguins non O la valeur moyenne du VWF:RCo est plus basse de 5.19% que pour le groupe sanguin O ($p < 0.0005$) et VWF:Ag plus basse de 4.39% ($p>0.05$).

On retrouve aussi dans notre étude une différence de 2 points pour le score hémorragique entre les sujets de groupe sanguin O et non O ($p = 0.04$).

On constate clairement chez nos patients que dans le type 1 les sujets de groupe non O ont des taux plasmatiques de VWF plus bas et un score hémorragique plus élevé.

L'étude de Tosseto et al sur 204 patients démontre, que les différences de VWF:RCo ou VWF:Ag dans le groupe sanguin O contre non O, n'est pas significative et n'influence pas le diagnostic ($P> 0,1$). [204]

i – Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 2:

- **Résultats du bilan biologique :**

On retrouve dans notre étude une différence significative entre les valeurs moyennes du taux de plaquettes entre les différents types 2 (2A, 2B, 2 M, 2N) $p < 0.0005$. En effet, le type 2B s'accompagne très souvent d'une thrombopénie qui peut être très sévère. Pour le reste du bilan standard les résultats ne montrent pas une différance entre les types de VWD.

Dans notre étude, les taux de VWF: RCo et VWF: Ag sont plus bas dans les types 2A et 2M que dans les types 2N et 2B (respectivement $p = 0.002$, $p =0.007$). En effet, les taux plasmatiques du VWF: RCo et VWF: Ag sont normaux dans le type 2N et peuvent être normaux dans le type 2B contrairement aux types 2 A et 2M.

Nous avons constaté que le Le taux de FVIIIc est plus bas dans le type 2N (moyenne de 13.5% et $p = 0.011$) qui peut se confondre avec une hémophilie A.

Dans notre étude, le taux de VWF:CB est plus bas dans le type 2B et 2A (moyenne 20% et 28.4% respectivement, $p = 0.008$). Ce test est particulièrement sensible aux multimères de haut poids moléculaire qui font défaut dans ces deux types de VWD.

Dans notre étude, les sous types 2 présentent quantitativement un risque hémorragique très proche. La moyenne du score hémorragique varie de 5 à 7 entre les différents sous types 2 sans différence significative ($p = 0.686$).

La valeur moyenne du ratio VWF:RCo/VWF:Ag est sensiblement identique entre les différents type 2 (p = 0.721) qui est en réalité un critère diagnostic commun des type 2.
Le ratio FVIIIc /VWF:Ag est plus bas dans le type 2N (p = 0.045) et reflète l'anomalie de liaison entre le VWF et le FVIII.
Le ratio VWF:CB/VWF:Ag est plus bas dans les types 2A et 2B (p < 0.0005) ce qui permet de les distinguer du type 2M.

- **Corrélation de Spearman entre les résultats des différents tests diagnostic chez les patients de type 2 :**

Il existe une corrélation moyenne entre VWF:RCo et VWF:Ag (r=0.565 p<0.001), puisque en général ces deux valeurs sont assez éloignées et reflètent le défaut qualitatif du VWF.
Une corrélation moyenne existe aussi entre le TCA ratio et le score hémorragique **0.524** p=0.002.
On retrouve une bonne corrélation négative entre VWF:RCo et le TCA ratio **-0.76,** p<0.0005, le FVIIIc et TCA ratio **-0.458,** p < 0.006.

- **Comparaison entre les moyennes du VWF:RCo, VWF:Ag et le score hémorragique des sujets de groupe sanguin O et Non O chez les patients de type 2:**

Il n'existe pas de différence significative entre les patients type 2 de groupe sanguin O ou non O quelque soit le test considéré (p **>** 0.05).

j – Caractéristiques phénotypiques biologiques de la population des patients de type 3:

- **Résultats du bilan biologique:**

On retrouve dans le type 3 des valeurs moyennes du TCA ratio beaucoup plus basses que le type 1 (p=0.017) qui reflètent la diminution importante du FVIII dans le type 3 (p<0.0005). En effet cette forme sévère de la VWD se caractérise par l'absence totale de VWF dans le plasma et des taux de FVIIIC qui peuvent être proche de 1%. Le taux moyen de FVIIIc pour le type 3 dans notre étude (1.9%) est plus bas que dans l'étude tunisienne [221] (3%) p = 0.001.

On retrouve aussi un taux de plaquettes un peu plus élevé que dans le type 1 (p=0.003) qui peut s'expliquer par le taux bas de l'hémoglobine (valeur moyenne de 10.03 g/dl) et donc l'augmentation de l'érythropoïèse et un effet d'entrainement pour la thrombopoïése.

Pour le score hémorragique il n'existe pas de différence significative entre le type 1 et 3 (p= 0.252) ceci peut être expliqué par la différence d'âge des deux groupes de patients car le score hémorragique est fortement influencé par l'âge, mais aussi par l'existence de certain type 1 sévère.

Avec une bonne démarche diagnostique, le type 3 de VWD est assez facile à diagnostiquer en raison de sa sévérité et la forte diminution du FVIIIc et des taux de VWF indétectables.

k - Maladie de Von Willebrand acquise :

C'est le seul patient avec une VWD acquise. Il s'agit d'un homme âgé 68 ans sans antécédent personnel ou familiaux, il présente cliniquement des écchymoses et épistaxis avec une notion de maladie cardiaque (fibrillation atriale).

Le diagnostic établi est celui d'une forme acquise de VWD dont le profil biologique est celui d'un type 2M.

En effet, le patient présente une histoire hémorragique récente significative (score hémorragique de 6) avec une baisse des taux plasmatiques du VWF:RCo (8%), VWF:Ag (15%), FVIIIc (10%) et VWF:CB (22%) ces résultats correspondent a un profil de type 2M. La présence d'anticorps anti VWF et l'absence d'histoire familiale nous permet de conclure a une forme acquise de VWD.

2 – Les enquêtes familiales:

a – les familles de Willebrand Type 1 :

On observe chez la famille 1, une histoire hémorragique pas très riche mais des résultats biologiques compatibles avec une VWD type 1 et une probabilité Bayesienne de diagnostique de type 1 de 53%.

Chez les familles 2 et 11 nous retrouvons une notion de consanguinité et une forme sévère de VWD, un type 1 sévère qui peut être de transmission récessive, et une probabilité Bayesienne de diagnostique de type 1 respectivement de 99.97% et 99.99%.

Chez les familles 3, 7, 9 et 13 les patients présentent un profil biologique de type 1 et une probabilité Bayesienne de diagnostic de type 1 respectivement de 97.6%, 89.11%, 95.8%.

Dans la famille 6 avec une probabilité de diagnostic de 99.9% sur deux générations, le propositus présente une forte histoire hémorragique personnelle avec un score hémorragique de 10 et les deux autres patients révélés par l'enquête familiale ne présentent pas de saignement plus que la moyenne des témoins. C'est un exemple de la variation du phénotype hémorragique au sein d'une même famille.

Enfin, la famille 10 composée du propositus et un membre de la famille atteint avec une probabilité Bayesienne de diagnostic de type 1 respectivement de 99.85% et 94.74%.

A l'exception de la famille 1 un taux de VWF:RCo et ou VWF:Ag < 30% est compatible avec une maladie de VWD avec une probabilité de plus de 90 %, dans l'étude de Veyradier et al [228] une mutation du gène du VWF est retrouvée chez 94% des patients VWD type 1 avec un taux de VWF:RCo < 30%, dans l'étude de Paula [229] et al une mutation du gène du VWF est retrouvée chez 63% des patients VWD type 1 avec un taux de VWF:RCo < 50%. Plus le taux de VWF:RCo diminue plus la corrélation avec le génotype est forte.

b – les familles de Willebrand Type 1 probable :

Chez la famille 4 selon les critères de diagnostic fixés il s'agit d'un type 1 probable mais la probabilité Bayesienne d'une VWD type 1 est de 97.5%. Idem pour la famille 5 avec une probabilité Bayesienne d'une VWD type 1 de 96% chez propositus et 84% chez sa mère, de plus l'atteinte mère fille conforte le caractère d'une transmission dominante. Il est reconnue que l'effet de l'âge sur le taux de VWF est particulièrement évident chez les femmes ce qui pourrait expliquer des taux de VWF > 30 %, dans cette famille. Pour les femmes de plus de

50 ans des niveaux plus élevés de 9,5 et 12.3% pour VWF:Ag et VWF:RCo, respectivement (P <0,001) peuvent être observé selon l'étude de Tosseto et al [230].
Chez la famille 8 on retrouve aussi une probabilité Bayesienne d'une MVW type 1 de 71.70% et 92.65% chez le propositus et sa sœur respectivement.
Une probabilité Bayesienne d'une MVW type 1 probabilité de 75% est retrouvée chez la famille 14, mais avec un ratio FVIIIC/VWF:Ag < 0.5 qui nous oblige à réaliser le test VWF:VIIIB = 70% et le ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag > 1. Ces résultats confirment le type 1 probable et écarte un diagnostic de type 2N.
Chez les familles 12, 15, 16 et 17 la probabilité Bayesienne d'une VWD type 1 est respectivement de 40%, 75%, 45% et 40%.

Ces familles prouvent que le type 1 probable est une entité à part entière dans la classification de la VWD et doit être pris en considération car ces patients sont exposés à un risque hémorragique et doivent faire l'objet d'une prise en charge spécialisé, en plus dans l'étude de Paula et al une mutation du gène du VWF est retrouvée chez 49% des patients VWD type 1 avec un taux de VWF:RCo compris entre 30 et 50%. [229]

c – les familles de Willebrand Type 2 :

- **Type 2A :**

Les familles 19, 20, 26, 28 et 30 présentent un profil biologique de type 2A (ratio VWF:RCo/VWF:Ag < 0.6 et un ratio VWF:CB/VWF:Ag < 0.6) avec un test de RIPA négatif. Sauf pour la famille 26 et 30 ou le RIPA n'a pus être réalisé.

- **Type 2B :**

La famille 29 présente une notion de consanguinité et un profil biologique atypique puisque la seule anomalie est une diminution du VWF:CB < 30% et une thrombopénie sévère qui rend la réalisation du test RIPA impossible.
Un nouveau type 2B mutant du gène du VWF (R1308L, 3923G > T) caractérisé par une liaison défectueuse au collagène démontré par la détermination du VWF: CB alors que tous les autres tests d'exploration du VWF sont normaux [227]. Les mutations homozygote p.Pro 1337Leu et p.Arg854Gln de l'exon 28 du gène du VWF expriment un type 2B qui s'accompagne d'une thrombopénie sévère < 20 G/L qui rend la réalisation du RIPA impossible [226].

- **Type 2M :**

Les familles 22, 23, 24, 25 et 27 présentent un profile biologique de type 2M (ratio VWF:RCo/VWF:Ag < 0.6 et un ratio VWF:CB/VWF:Ag **>** 0.6).

La famille 18 présente aussi un profile biologique de type 2M, mais le ratio FVIIIC/VWF:Ag < 0.5 ce qui nous oblige à réaliser le test VWF:VIIIB pour les deux patients atteints dans cette famille et on retrouve des valeurs du VWF:VIIIB de 88% et 125% et le ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag > 1. Ces résultats confirment le type 2M et écartent un diagnostic de type 2N.

- **Type 2N:**

La famille 21 présente un profil biologique de type 2N avec un VWF:VIIIB de 11% et un ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag de 0.12.

La famille 31 présente un profile biologique de type 2N avec un VWF:VIIIB de 12% (ratio 0.18) et le VWF:RCo et VWF:CB respectivement de 21.9% et 38% chez le propositus, un VWF:VIIIB de 20% (ratio 0.21) chez la sœur et un VWF:VIIIB de 40% (ratio 0.42) chez la mère. Le taux de FVIIIC n'est abaissé que chez le propositus (13%) et sa sœur (25%) mais la mère présente un tau de FVIIIC de 146% (statut hétérozygote).

Cette famille a été décrite dans un article de Syx et al en 2010; cette famille est atteinte d'un syndrome proche de syndrome d'Ehlers-Danlos. C'est une nouvelle génodermatose, appelée Macrocéphalie, Alopécie, Cutis laxa et Scoliose syndrome (MACS), elle résulte d'une mutation homozygote 1-bp délétion de RIN2 [231] chromosome 20, localisation 20p11.23 [232] (RIN2 code pour l'interacteur Ras et Rab 2, impliqué dans la régulation de l'endocytose précoce médiée par Rab5) seulement 4 familles sont décrites dans le monde [233].

Chez cette famille consanguine, trois frères et sœurs sont affectés par une génodermatose autosomique récessive dont le propositus et sa sœur.

Les caractéristiques cliniques les plus frappantes incluent la grossièreté faciale progressive, l'hypertrophie gingivale, la scoliose sévère, les cheveux épars et l'hyperlaxie cutanée et articulaire. Des études ultra-structurelles de la peau ont révélé des anomalies importantes dans la morphologie de la fibrille du collagène, les fibroblastes présentaient un réticulum endoplasmique dilaté et un appareil anormal de Golgi avec des citernes raréfiées et dilatées. L'analyse moléculaire de RIN2 a révélé une nouvelle suppression homozygote de 2 paires de bases chez tous les individus concernés [232].

La mutation c.1914_1915delGC introduit un décalage de cadre et crée un codon de terminaison prématurée, conduisant à la désintégration de l'ARNm médiée par les abération.

Ces résultats confirment que les défauts de RIN2 sont associés à une génodermatose distincte et soulignent l'implication de RIN2 et ses voies associées dans la pathogenèse des troubles du tissu conjonctif [232].

d – les familles de Willebrand Type 3 :

Chez les familles 31 à 37 un profil de type 3 avec une forte diminution du FVIIIC et une activité VWF:RCo et VWF:Ag indétectable.

Chez la famille 38 le propositus présente un profil de type 3, mais les parents présentent aussi un profil de type 1 probable. Il pourrait s'agir d'une forme de type 3 avec double dose de type 1 dominant.

3 – Dépistage du type 2N chez les 39 patients hémophiles A modérés et mineurs réévalués:

Le dépistage du type 2N chez les 39 hémophiles A nous a permis de détecter, un patient faussement diagnostiqué hémophile A modéré avec phénotype clinique sévère.

En réalité ce patient présente un type 3 avec une VWF:RCo et VWF:Ag indétectable [234]. Ce patient reflète bien l'intérêt de réaliser systématiquement le dosage du VWF au moment du diagnostic de l'hémophilie A quelque soit le taux de FVIII.

Un autre patient faussement diagnostiqué hémophile A mineur est en réalité attient d'une VWD type 2N avec une VWF:VIIIB de 7% et un ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag de 0.95.

Quatre patients de la même famille tous suivit pour hémophilie A mineur: le grand père, la fille, et un cousin paternel présente un profil hétérozygote de VWD avec un ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag abaissés égale à 0.50, 0.36, et 0.33 respectivement. Toujours chez la même famille la petite fille testée lors de l'enquête familiale présente aussi un abaissement du ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag à 0.46 et donc un profil de VWD type 2N hétérozygote.

Le reste des patients hémophiles A présentent un taux de VWF:VIIIB **>** 70% et un ratio VWF:VIIIB/VWF:Ag $\geq$ 0.80, ce qui confirme le diagnostic initiale d'hémophilie A.

Notre étude nous a permis de retrouver un taux d'erreur diagnostique de 12.8%.

VI – Limites de l'étude :

La première des difficultés que nous avons rencontrées lors de notre étude est le recrutement des patients étant donné le caractère labile du taux de VWF.
Par ailleurs, nous sommes dans l'obligation de répéter les tests diagnostiques. En effet, il est difficile de convaincre les patients de revenir à plusieurs reprises au laboratoire pour réaliser des prélèvements et faire les enquêtes familiales.

Aussi, dans un contexte économique difficile, la disponibilité des réactifs reste problématique puisque le diagnostic de VWD repose sur une large gamme d'examens de laboratoire et donc le coût d'un diagnostic reste élevé.

VII – Perspectives :

Nous allons exposer nos choix diagnostiques dans des rencontres scientifiques et engager une réflexion sur l'harmonisation du diagnostic de la VWD au niveau national pour identifier le plus grand nombre de patients en particulier pour le type 1.

Une fois le profil phénotypique de nos patients établis, nous pourrons réaliser des études de biologie moléculaire pour déterminer le profil génétique de nos patients en coopération avec des équipes internationales.

Et enfin, contrôler tous les hémophiles A connus pour corriger toute erreur éventuel de diagnostic avec la VWD de type 2N voire même un autre type comme le type 3.

VIII – Conclusion :

Le diagnostic de la maladie de Von Willebrand est complexe du fait de la fluctuation du taux plasmatique de VWF et la grande série de tests fonctionnels disponibles. Un bon diagnostic doit reposer sur une démarche claire qui permet de hiérarchiser les tests pour allier une meilleure spécificité et une meilleure sensibilité pour un diagnostic correct. C'est sur ce principe, nous avons basé notre démarche diagnostique qui nous a permis de diagnostiquer et de classer un grand nombre de patients.

L'introduction du score hémorragique comme outil de dépistage de première ligne nous a permis de quantifier le syndrome hémorragique. La détermination de la valeur seuil de ce score nous a permis aussi de mieux évaluer les sujets à risque de saignement qui nécessitent une exploration biologique.

Notre objectif est de minimiser les risques d'erreur de diagnostic. Nous avons pu implanter localement 2 nouveaux tests très importants dans les étapes de diagnostic de la maladie de Von Willebrand : le VWF:CB et VWF:VIIIB. Ils nous ont permis la classification des types 2, de même que le dépistage du type 2N et surtout nous ont permis de corriger certains diagnostic erronés de l'hémophilie A.

Aussi, nous avons pu déterminer des valeurs de référence propres à notre laboratoire, ce qui a été un élément clé pour faciliter l'interprétation des résultats des tests effectués.

Il est clair que le diagnostic phénotypique de la maladie de Von Willebrand est très important pour une prise en charge optimale des patients atteints de ce trouble, mais aussi pour les études de biologie moléculaire que nous espérons effectuer dans le futur.

Au cours de notre travail, nous avons pu vérifier l'importance de la collaboration pluridisciplinaires et interservices, qui est un élément important de la prise en charge des patients. Le registre des malades va permettre d'avoir une base de données accessible aux partenaires de santé afin d'assurer une meilleure prise en charge préventive et thérapeutique des malades.

La maladie de Von Willebrand depuis les premières observations du Dr Von Willebrand à ce jour reste fascinante, par son histoire et sa complexité pour beaucoup de chercheurs dans le monde entier et le nombre de publications sur cette maladie en est témoin.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques:

1- **Zimmerman, TS, Ratnoff, OD, Powell, AE**. Immunologic differentiation of classic hemophilia (factor VIII deficiency) and von Willebrand's disease. With observations on combined deficiencies of antihemophilic factor and proaccelerin (factor V) and on an acquired circulating anticoagulant against antihemophilic factor. Journal of Clinical Investigation. 1971;50:244–254.

2- **Rodeghiero F., Castaman, G. et Dini, E**. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. Blood 1987; 69(2): 454-9.

3- **Werner EJ, Broxson EH, Tucker EL, Giroux DS, Shults J, Abshire TC.** Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. J Pediatr.1993; 123: 893-898.

4- Joint WHO / **ISTH** Meeting, Londres 1998.

5- **Sadler JE**. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. Annu Rev Biochem. 1998;67:395–424.

6- **Ruggeri, Z.M**. Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. J Thromb Haemost 2003; 1(7):1335-42.

7- **Lenting PJ, Casari C, Christophe OD, Denis CV**. von Willebrand factor: the old, the new and the unknown. J Thromb Haemost 2012; 10: 2428–37.

8- **Simone JV, Cornet JA, Abildgaard CF**. Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematosus. Blood. 1968 Jun;31(6):806-12.

9- **Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, et al**. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. J Thromb Haemost. 2006; 4(10):2103–2114.

10- **Rodeghiero F**. von Willebrand disease: still an intriguing disorder in the era of molecular medicine. Haemophilia 2002; 8(3): 292-300.

11- **V. Siguret, A.-S. Ribba, D. Meyer**. Diagnostic biologique de la maladie de Willebrand. Annales de Biologie Clinique, Novembre- Décembre 1997. Vol.55, N°6, p : 601-6.

12- **Kaufmann JE, Vischer UM**. Cellular mechanisms of the hemostatic effects of desmopressin (DDAVP). J Thromb Haemost. 2003;1(4):682–689.

13- **Federici AB**. Highly purified VWF/FVIII concentrates in the treatment and prophylaxis of von Willebrand disease: the PRO. WILL Study. Haemophilia. 2007 Dec;13 Suppl 5:15-24.

14- **James PD, Lillicrap D**. von Willebrand disease: clinical and laboratory lessons learned from the large von Willebrand disease studies. Am J Hematol. 2012 May; 87 Suppl 1:S4-11.

15- **E. A. von Willebrand**: Hereditär pseudohemofili. Finska Läkaresällskapets Handlingar, 1926, 67: 87-112.

16- **P.D. James and D. Lillicrap**. The molecular characterization of von Willebrand disease: Good in parts. Br J Haematol. 2013 April; 161(2): 166–176.

17- **G. Minot**: A familial hemorrhagic condition associated with prolongation of the bleeding time. The American Journal of the Medical Sciences, Philadelphia, 1928, 175: 301-306.

18- **E. A. von Willebrand, R.Jürgens**: Über ein neues vererbbares Blutungsübel: Die konstitutionelle Thrombopathie. Deutsches Archiv für Klinische Medizin, Leipzig, 1933, 175: 453-483.

19- **Pohle FJ, Taylor FHL**. The coagulation defect in coagulation defect in hemophilia of intramuscular administration of a globulin substance derived from normal human plasma. Journal of Clinical Investigation. 1937;16(5):741-747.

20- **A.B.Federici**. The 80th anniversary of von Willebrand‟s disease: history, management and research. Haemophilia (2006), 12, 563-572.6.

21- **Aexander B, Goldtein R**. Dual hemostatic defect in pseudohemophilia. J Clin Invest 1953; 32:551.

22- **SOULIER JP, LARRIEU MJ**. Déficit en facteur antihémophilique A chez une fille, associer a un trouble du saignement. Rev. Hemat 1953; 361-37.

23- **SOULIER JP, LARRIEU MJ**. Differentiation of hemophilia into two groups; a study of thirty-three cases. N Engl J Med. 1953 Oct 1;249(14):547–553.

24- **I. M. Nilsson**. The history of von Willebrand disease. Haemophilia (1999), 5, (suppl. 2), 7-11

25- **Nilsson IM, Blomback M, Jorpes E, Blomback B, Johansson Sv**. Willebrand's Disease and its Correction with Human Plasma Fraction 1-0. Act Med Scand. 1957;159(3):179–188.

26- **BIGGS R, MATTHEWS JM**. The treatment of haemorrhage in von Willebrand's disease and the blood level of factor VIII (AHG). Br J Haematol. 1963 Apr;9:203–214.

27- **Zimmerman, TS, Ratnoff, OD, Powell, AE**. Immunologic differentiation of classic hemophilia (factor VIII deficiency) and von Willebrand's disease. With observations on combined deficiencies of antihemophilic factor and proaccelerin (factor V) and on an acquired circulating anticoagulant against antihemophilic factor. Journal of Clinical Investigation. 1971; 50:244–254.

28- **Howard MA, Firkin BG**. Ristocetin--a new tool in the investigation of platelet aggregation. Thromb Diath Haemorrh. 1971 Oct 31; 26(2):362-9.

29- **Jaffe EA, Hoyer LW, Nachman RL**: Synthesis of von Willebrand factor by cultured human endothelial cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of theUnited States of America 1974, 71(5):1906-1909.

30- **Meyer D, Jenkins CS, Dreyfus MD, Fressinaud E, Larrieu MJ**. Willebrand factor and ristocetin. II. Relationship between Willebrand factor, Willebrand antigen and factor VIII activity. Br J Haematol. 1974 Dec;28(4):579-99.

31- **Ruggeri ZM, Zimmerman TS**: The complex multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor. Blood 1981, 57(6):1140-1143.

32- **Ruggeri ZM, Zimmerman TS**. Classification of variant von Willebrand's disease subtypes by analysis of functional characteristics and multimeric composition of factor viii/von willebrand factor. Annals of the New York Academy of Sciences. 1981;370:205–209.

33- **Sporn LA, Chavin SI, Marder VJ, Wagner DD**: Biosynthesis of von Willebrand protein by human megakaryocytes. J Clin Invest 1985, 76(3):1102-1106.

34- **Ginsburg D, Handin RI, Bonthron DT, Donlon TA, Bruns GA, Latt SA, Orkin SH.** Human von Willebrand factor (vWF): isolation of complementary DNA (cDNA) clones and chromosomal localization. Science. 1985; 228:1401–1406.

35- **Sadler JE, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, Harlan JM, Titani K, Davie EW**. Cloning and characterization of two cDNAs coding for human von Willebrand factor. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1985; 82:6394–6398.

36- **Lynch DC, Zimmerman TS, Collins CJ, Brown M, Morin MJ, Ling EH, Livingston DM**. Molecular cloning of cDNA for human von Willebrand factor: authentication by a new method. Cell. 1985; 41:49–56.

37- **Verweij CL, De Vries CJ, Distel B, Van Zonneveld AJ, Van Kessel AG, Van Mourik JA, Pannekoek H**. Construction of cDNA coding for human von Willebrand factor using antibody probes for James and Lillicrap gene. Nucleic Acids Res. 1985; 13:4699–4717.

38- **Brown JE, Bosak JO**. An ELISA test for the binding of von Willebrand antigen to collagen. Thromb Res. 1986 Aug 1;43(3):303-11.

39- **Ruggeri ZM, Zimmerman TS**. Von Willebrand factor and von Willebrand disease. Blood. 1987 Oct;70(4):895-904.

40- **Shelton-Inloes BB, Chehab FF, Mannucci PM, Federici AB, Sadler JE**. Gene deletions correlate with the development of alloantibodies in von Willebrand disease. J Clin Invest. 1987 May;79(5):1459-65.

41- **Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Worrall NK, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, Alevy YG, Sadler JE**. Structure of the gene for human von Willebrand factor. J Biol Chem. 1989 Nov 25; 264(33):19514-27.

42- **Brinkhous KM, Read MS**. Fixation platelets and platelet agglutination aggregation tests. Methods Enzymol 1989;169:149–163.

43- **Ganz PR, Atkins JS, Palmer DS, Dudani AK, Hashemi S, Luison F**. Definition of the affinity of binding between human von Willebrand factor and coagulation factor VIII. Biochem Biophys Res Commun 1991*;* 180*:* 231–7.

44- **Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Lester-Mancuso TL, Le Beau MM, Sorace JM, Sadler JE**. Human von Willebrand factor gene and pseudogene: structural analysis and differentiation by polymerase chain reaction. Biochemistry. 1991;30:253–269.

45- **Goudemant J, Mazurier C, Marcy A**. Clinical and biological evaluation in von Willebrand disease of a von Willebrand factor concentrate ith low factor VIII activity. Br Journal haematology 80, 2014, 1992.

46- **Sadler JE**. A revised classification of von Willebrand disease.For the subcommittee on von Willebrand Factor of the scientific and standardization committee of the International society on thrombosis and haemostasis. Thromb Haemost. 1994;71:520–5.

47- **Tsai HM**. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. Blood. 1996; 87: 4235–4244.

48- **Ren-Huai Huang, Daved H. Fremont, John L. Diener[4], Robert G. Schaub, J. Evan Sadler.** A Structural Explanation for the Antithrombotic Activity of ARC1172, a DNA Aptamer that Binds von Willebrand Factor Domain A1. Structure. 2009 Nov 11; 17(11): 10.1016.

49- **Mannucci PM**. Treatment of von Willebrand's Disease. N Engl J Med. 2004 Aug 12; 351(7):683-942004.

50- **Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, Ingerslev J, Lee CA, Lillicrap D, Mannucci PM, Mazurier C, Meyer D, Nichols WL, Nishino M, Peake IR, Rodeghiero F, Schneppenheim R, Ruggeri ZM, Srivastava A, Montgomery RR, Federici AB** (2006) Working Party on von Willebrand Disease Classification. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. J Thromb Haemost 4:2103–2114.

51- **Lenting PJ**, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends. Blood. 2015 Mar 26; 125(13):2019-28.

52- VWF von Willebrand factor [*Homo sapiens* (human)] Gene ID: 7450, updated on 15-Oct-2017 NCBI.

53- Intérêt de l'étude de la liaison du facteur Willebrand au collagène (VWF:CB) [thèse] / **Armelle Bettembourg**, 2004.

54- The Diagnosis, Evaluation, and Management of von Willebrand Disease. NIH Publication No. 08-5832 December 2007.

55- **Marshall A. Lichtman, Josef T. Prchal, Marcel M. Levi, Oliver W. Press, Linda J. Burns, Michael Caligiuri.**Williams Hematology, 9 edition 2016 Kenneth Kaushansky,

56- **Frank W.G. Leebeek, M.D., Ph.D., and Jeroen C.J. Eikenboom, M.D., Ph.D**. Von Willebrand's Disease. N Engl J Med 2016; 375: 2067-80.

57- **Pannekoek H, Voorberg J**. Molecular cloning, expression and assembly of multimeric von Willebrand factor. Baillieres Clin Haematol. 1989; 2(4):879-896.

58- **Zhou YF, Eng ET, Zhu J, Lu C, Walz T, Springer TA**. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. Blood. 2012;120(2):449-458.

59- **Rauch A, Wohner N, Christophe OD, Denis CV, Susen S, Lenting PJ**. On the versatility of von Willebrand factor. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2013;5(1):e2013046.

60- **Shapiro SE, Nowak AA, Wooding C, Birdsey G, Laffan MA, McKinnon TA**. The von Willebrand factor predicted unpaired cysteines are essential for secretion. J Thromb Haemost. 2014;12(2): 246-254.

61- **Reinders JH, de Groot PG, Sixma JJ, van Mourik JA.** Storage and secretion ofvon Willebrand factor by endothelial cells. Haemostasis. 1988;18(4-6):246-61.

62- **Gralnick HR, Williams SB, McKeown LP, Magruder L, Hansmann K, Vail M, Parker RI**. Platelet von Willebrand factor. Mayo Clin Proc. 1991 Jun;66(6):634-40.

63- **Liu-Roberts WW, Collinson LM, Hewlett LJ, Michaux G, and Cutler DF**. An AP-1/clathrin coat plays a novel and essential role in forming the Weibel-Palade bodies of endothelial cells. J Cell Biol. 2005; 170: 627–637

64- **Knop M, Aareskjold E, Bode G, and Gerke V**. Rab3D and annexin A2 play a role in regulated secretion of vWF, but not tPA, from endothelial cells. *EMBO J*. 2004; 23: 2982–2992.

65- **Mariska G. Rondaij, Ruben Bierings, Astrid Kragt, Jan A. van Mourik, Jan Voorberg**. Dynamics and Plasticity of Weibel-Palade Bodies in Endothelial Cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006 ;26 :1002-1007.

66- **Tsai HM, Nagel RL, Hatcher VB, Seaton AC, Sussman II**. The high molecular weight form of endothelial cell von Willebrand factor is released by the regulated pathway. Br J Haematol 1991; 79: 239–45

67- **Giblin JP, Hewlett LJ, Hannah MJ**. Basal secretion of von Willebrand factor from human endothelial cells. Blood 2008; 112: 957–64.]

68- **Ruggeri (2), Z.M.** Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. J Thromb Haemost 2003; 1(7):1335-42.

69- **Sztukowska M, Gallinaro L, Cattini MG, et al**. Von Willebrand factor propeptide makes it easy to identify the shorter Von Willebrand factor survival in patients with type 1 and type Vicenza von Willebrand disease. Br J Haematol. 2008;143(1): 107-114.

70- Casari C, Lenting PJ, Wohner N, Christophe OD,Denis CV. Clearance of von Willebrand factor. J Thromb Haemost. 2013;11(suppl 1):202-211.

71- Terraube V, O'Donnell JS, Jenkins PV. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: biological, clinical and therapeutic importance. Haemophilia. 2010 Jan;16(1):3-13.

72- PETE LOLLAR, M.D. The Association of Factor VIII With von Willebrand Factor. Volume 66, Issue 5. May 1991, Pages 524–534.

73- Shen BW, Spiegel PC, Chang CH *et al*. The tertiary structure and domain organization of coagulation factor VIII. Blood 2008*;* 111*:* 1240–7

74- Saenko EL, Shima M, Rajalakshmi KJ, Scandella D. A role for the C2 domain of factor VIII in binding to von Willebrand factor. J Biol Chem. 1994 Apr 15; 269(15):11601-5.

75- Vlot AJ, Koppelman SJ, Van Den Berg MH, Bouma BN, Sixma JJ. The affinity and stoichiometry of binding of human factor VIII to von Willebrand factor. Blood 1995*;* 85*:* 3150–7.

76- Fressinaud E, Mazurier C, Meyer D. Molecular genetics of type 2 von Willebrand disease. Int J Hematol. 2002 Jan;75(1):9-18. Review.

77- Fressinaud _E. Facteur Willebrand et maladie de Willebrand : prérequis au diagnostic. Hématologie 2014 ; 20 : 6-13.

78- Fijnvandraat K, Peters M, ten Cate JW. Inter-individual variation in half-life of infused recombinant factor VIII is related to pre-infusion von Willebrand factor antigen levels. Br J Haematol. 1995 Oct;91(2):474-6. PubMed PMID: 8547097.

79- Bharati KP, Prashanth UR. Von Willebrand Disease: An Overview. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011;73(1):7-16.

80- Jurk K, Clemetson KJ, de Groot PG, Brodde MF, Steiner M, Savion N, Varon D, Sixma JJ, Van Aken H, Kehrel BE. Thrombospondin-1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GPIb): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor. FASEB J. 2003 Aug;17(11):1490-2. Epub 2003 Jun 17.

81- Timothy A, Springer J. Biology and Physics of von Willebrand Factor Concatamers. Thromb Haemost. 2011 July ; 9(0 1): 130–143.

82- **Fujimura Y, Titani K, Holland LZ, Russell SR, Roberts JR, Elder JH, Ruggeri ZM, Zimmerman TS**. Von Willebrand factor. A reduced and alkylated 52/48-kDa fragment beginning at amino acid residue 449 contains the domain interacting with platelet glycoprotein Ib. J Biol Chem. 1986 Jan 5;261(1):381-5.

83- **Lankhof H, van Hoeij M, Schiphorst ME, Bracke M, Wu YP, Ijsseldijk MJ, Vink T, de Groot PG, Sixma JJ**. A3 domain is essential for interaction of von Willebrand factor with collagen type III. Thromb Haemost. 1996 Jun;75(6):950-8.

84- **Ross JM, McIntire LV, Moake JL, Rand JH**. Platelet adhesion and aggregation on human type VI collagen surfaces under physiological flow conditions. Blood. 1995 Apr 1;85(7):1826-35.

85- **Di Stasio E, De Cristofaro R**. The effect of shear stress on protein conformation: Physical forces operating on biochemical systems: The case of von Willebrand factor. Biophys Chem. 2010 Dec;153(1):1-8.

86- **Schneider SW, Nuschele S, Wixforth A, Gorzelanny C, Alexander-Katz A, Netz RR,Schneider MF**. Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 May 8;104(19):7899-903.

87- **Jin SY, Skipwith CG, Shang D, Zheng XL**. Von Willebrand factor cleaved from endothelial cells by ADAMTS13 remains ultralarge in size. J Thromb Haemost. 2009 Oct;7(10):1749-52.

88- **Huizinga EG, Martijn van der Plas R, Kroon J, Sixma JJ, Gros P**. Crystal structure of the A3 domain of human von Willebrand factor: implications for collagen binding. Structure. 1997 Sep 15;5(9):1147-56.

89- **Emsley J, Cruz M, Handin R, Liddington R**. Crystal structure of the von Willebrand Factor A1 domain and implications for the binding of platelet glycoprotein Ib. J Biol Chem. 1998 Apr 24;273(17):10396-401.

90- **Dumas JJ, Kumar R, McDonagh T, Sullivan F, Stahl ML, Somers WS, Mosyak L**. Crystal structure of the wild-type von Willebrand factor A1-glycoprotein Ibalpha complex reveals conformation differences with a complex bearing von Willebrand disease mutations. J Biol Chem. 2004 May 28;279(22):23327-34.

91- **Cécile V. Denis1 Peter J**. Clairance du facteur Villebrand. Lenting Hématologie 2006 ; 12 (1) : 34-43.

92- **Morelli VM, De Visser MC, Van Tilburg NH *et al***. ABO blood group genotypes, plasma von Willebrand factor levels and loading of von Willebrand factor with A and B antigens. Thromb Haemost 2007*;* 97*:* 534–41.

93- **Jenkins PV, O'Donnell JS**. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? Transfusion. 2006;46:1836–1844.

94- **Lisa Gallinaro, Maria Grazia Cattini, Maryta Sztukowska, Roberto Padrini, Francesca Sartorello, Elena Pontara, Antonella Bertomoro, Viviana Daidone, Antonio Pagnan, and Alessandra Casonato**. A shorter VWF survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma VWF. Blood, 1 April 2008 volume 111, number 7.

95- The Effect of ABO Blood Group on the Diagnosis of von Willebrand Disease. Blood. Vol 69, No 6 (June), 1987: pp 1691-1695

96- **Souto JC, Almasy L, Muniz-Diaz E, et a**l. Functional effects of the ABO locus polymorphism on plasma levels of von Willebrand factor, factor VIII and activated partial thromboplastin time. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20:2024-2028.

97- **Lisa Gallinaro, Maria Grazia Cattini, Maryta Sztukowska**. REDUCED VWF SURVIVAL IN O BLOOD GROUP INDIVIDUALS BLOOD, 1 APRIL 2008 VOLUME 111, NUMBER 7

98- **O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA**. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. Br J Haematol. 2002 Feb;116(2):350-6.

99- **Ellies LG, Ditt D, Levy GG**. Sialyltransfersase ST3GalIV operates as a dominant modifier of hemostasis by concealing asialoglycoprotein receptor ligands. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99: 10042-10047.

100- **Bowen DJ**[1]. J Thromb Haemost. 2003 Jan;1(1):33-40.An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADAMTS13.

101- **Schneppenheim R, Budde U, Oyen F, Angerhaus D, Aumann V, Drewke E, Hassenpflug W, Häberle J, Kentouche K, Kohne E, Kurnik K, Mueller-Wiefel D, Obser T, Santer R, Sykora KW**. Von Willebrand factor cleaving protease and ADAMTS13 mutations in childhood TTP. Blood. 2003 Mar 1;101(5):1845-50. Epub 2002 Oct 17.

102- Nicole Dastugue and Roland Berger. Deficiency of ADAMTS13 and thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood, 15 November 2002 volume 100, number 10.

103- Wake K. Hepatic stellate cells: Three-dimensional structure, localization, heterogeneity and development. Proceedings of the Japan Academy Series B, Physical and Biological Sciences. 2006;82(4):155-164

104- Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, Sarode R, Shurin SB, Chandrasekaran V, Stabler SP, Sabio H, Bouhassira EE, Upshaw JD Jr, Ginsburg D, Tsai HM. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. Nature. 2001 Oct 4;413(6855):488-94.

105- Mannucci PM, Capoferri C, Canciani MT. Plasma levels of von Willebrand factor regulate ADAMTS-13, its major cleaving protease. Br J Haematol.2004 Jul; 126 (2) : 213-8.

106- Sarig, Galit. "ADAMTS-13 in the Diagnosis and Management of Thrombotic Microangiopathies." Ed. Benjamin Brenner. *Rambam Maimonides Medical Journal* 5.4 (2014): e0026.

107- Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Variations in coagulation factors in women: effects of age, ethnicity, menstrual cycle and combined oral contraceptive. Thromb Haemost 1999; 82 : 1456-61.

108- Connie H. Miller, Anne Dilley, Lisa Richardson, W. Craig Hooper, and Bruce L. Evatt. Population Differences in von Willebrand Factor Levels Affect the Diagnosis of von Willebrand Disease in African-American Women. 2001 American Journal of Hematology 67, 125-129.

109- Haem.K. SUKHU. Ethnic variation in von Willebrand factor levels can influence the diagnosis of von Willebrand disease Clin. Lab. 2003, 25, 247–249.

110- Miller CH, Dilley AB, Drews C, Richardson L, Evatt B. Changes in von Willebrand factor and factor VIII levels during the menstrual cycle. Thromb Haemost. 2002 Jun;87(6):1082-3.

111- David JL, Gaspard UJ, Gillain D, Raskinet R, Lepot MR. Hemostasis profile in women taking low-dose oral contraceptives. Am J Obstet Gynecol 1990 ; 163(1 Pt 2) : 420-3.

112- Sié P, Caron C, Azam J, Goudemand J, Grandjean H, Boneu B, Fournié A. Reassessment of von Willebrand factor (VWF), VWF propeptide, factor VIII:C and plasminogen activator inhibitors 1 and 2 during normal pregnancy. Br J Haematol. 2003 Jun;121(6):897-903. PubMed PMID: 12786801.

113- Fleur Cohen Aubart, Mathieu Gautier, Christel Jublanc, Eric Bruckert. Hypothyroïdie et risque cardiovasculaire : principaux messages pour le clinicien. Sang Thrombose Vaisseaux 2005 ; 17, n° 7 : 318-24

114- Goudemand J, Samor B, Caron C, Jude B, Gosset D, Mazurier C: Acquired type II von Willebrand's disease: demonstration of a complexed inhibitor of the von Willebrand factorplatelet interaction and response to treatment. *Br J Haematol* 1988, 68(2):227-233.

115- Facon T, Caron C, Courtin P, Wurtz A, Deghaye M, Bauters F, Mazurier C, Goudemand J: Acquired type II von Willebrand's disease associated with adrenal cortical carcinoma. *Br J Haematol* 1992, 80(4):488-494.

116- Mannucci PM, Lombardi R, Bader R, Horellou MH, Finazzi G, Besana C, Conard J, Samama M: Studies of the pathophysiology of acquired von Willebrand's disease in seven patients with lymphoproliferative disorders or benign monoclonal gammopathies. *Blood* 1984, 64(3):614-621.

117- Budde U, Dent JA, Berkowitz SD, Ruggeri ZM, Zimmerman TS: Subunit composition of plasma von Willebrand factor in patients with the myeloproliferative syndrome. *Blood* 1986, 68(6):1213-7.

118- Vincentelli A, Susen S, Le Tourneau T, Six I, Fabre O, Juthier F, Bauters A, Decoene C, Goudemand J, Prat A et al: Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. N Engl J Med 2003, 349(4):343-349.

119- Uriel N, Pak SW, Jorde UP, Jude B, Susen S, Vincentelli A, Ennezat PV, Cappleman S, Naka Y, Mancini D: Acquired von Willebrand syndrome after continuous-flow mechanical device support contributes to a high prevalence of bleeding during long-term support and at the time of transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2010, 56(15):1207-1213.

120- Van Galen KPM, Mauser-Bunschoten EP, Leebeek FWG. Hemophilic arthropathy in patients with von Willebrand disease. Blood Rev 2012; 26: 261-6.

121- de Wee EM, Sanders YV, Mauser-Bunschoten EP, et al. Determinants of bleeding phenotype in adult patients with moderate or severe von Willebrand disease.Thromb Haemost 2012; 108: 683-92

122- Sanders YV, Fijnvandraat K, Boender J, et al. Bleeding spectrum in children with moderate or severe von Willebrand disease: relevance of pediatric-specific bleeding. Am J Hematol 2015; 90: 1142-8.

123- frederici AB, Bucciarelli P, Castaman G, Mazzucconi MG, Morfini M, Rocino A,Schiavoni M, Peyvandi F, Rodeghiero F, Mannucci PM. The bleeding score predicts clinical outcomes and replacement therapy in adults with von Willebrand disease. Blood. 2014 Jun 26;123(26):4037-44. doi: 10.1182/blood-2014-02-557264.

124- M. Elbatarny , S. Mollah, J. Grabell. Normal range of bleeding scores for the ISTH-BAT: adult and pediatric data from the merging project. Haemophilia. 2014 November ; 20(6): 831–835.

125- Anne Goodeve,1 Jeroen Eikenboom,2 Giancarlo Castaman. PHENOTYPE AND GENOTYPE IN TYPE 1 VWD.BLOOD, 1 JANUARY 2007 _ VOLUME 109, Number 1.

126- Augusto B. Federici. Classification of inherited von Willebrand disease and implications inclinical practice. Thrombosis Research 124 (2009) S2–S6.

127- Current Clinical Practice Guidelines and Reports. The Diagnosis, Evaluation and Management of von Willebrand Disease. **NHLB** 2006.

128- Anne-Sophie Ribba, Jean-Maurice Lavergne, Jean-Pierre Girma, Dominique Meyer. Bases moléculaires de la maladie de Willebrand. Hématologie. 1995;1(3):191-8.

129- V. Siguret, A.-S. Ribba, D. Meyer. Diagnostic biologique de la maladie de Willebrand. Annales de Biologie Clinique, Novembre- Décembre 1997. Vol.55, N°6, p : 601-6.

130- TOSETTO, G. CASTAMAN and F. RODEGHIERO. Bleeding scores in inherited bleeding disorders: clinical or research tools?. Hematology Department, S. Bortolo Hospital, Vicenza, Italy

131- RODEGHIERO, F., TOSETTO, A., ABSHIRE, T., ARNOLD, D. M., COLLER, B., JAMES, P., NEUNERT, C., LILLICRAP, D. AND ON BEHALF OF THE ISTH/SSC JOINT VWF AND PERINATAL/Pediatric hemostasis subcommittees working group 2010, ISTH/SSC BLEEDING ASSESSMENT TOOL: A standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. JOURNAL OF THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, 8: 2063–2065.

132- Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G, Goodeve A, Federici AB, Batlle J, Meyer D, Fressinaud E, Mazurier C, Goudemand J, Eikenboom J, Schneppenheim R, Budde U, Ingerslev J, Vorlova Z, Habart D, Holmberg L, Lethagen S, Pasi J, Hill F, Peake I. A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1 VWD). J Thromb Haemost 2006; 4: 766–73.

133- Recommandations pour les prélèvements destinés aux tests d'hémostase - 2007: Groupe de travail coordonné par **C. Boinot, B. Delahousse, C Droulle, M.F. Hurtaud, B. Polack et A. Robert** : mise à jour des données concernant les variables préanalytique (membres GEHT).

134- Fressinaud E. Diagnostic clinique, biologique et moléculaire. Hematologie 2014 ; 20 : 30-49.

135- Buchanan GR, Holtkamp CA. A comparative study of variables affecting the bleeding time using two disposable devices. Am J Clin Pathol. 1989 Jan;91(1):45-51. PubMed PMID: 2910014.

136- Poller L, Thomson JM, Tomenson JA. The bleeding time: current practice in the UK. Clin Lab Haematol. 1984;6(4):369-73.

137- Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, Bucciarelli P. Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. Thromb Haemost 1999 Jul;82(1):35–39.

138- Dean JA, Blanchette VS, Carcao MD, Stain AM, Sparling CR, Siekmann J, Turecek PL, Lillicrap D, Rand ML. von Willebrand disease in a pediatric-based population--comparison of type 1 diagnostic criteria and use of the PFA-100 and a von Willebrand factor/collagen-binding assay. Thromb Haemost. 2000 Sep;84(3):401-9.

139- Quiroga T, Goycoolea M, Munoz B, Morales M, Aranda E, Panes O, Pereira J, Mezzano D. Template bleeding time and PFA-100 have low sensitivity to screen patients with hereditary mucocutaneous hemorrhages: comparative study in 148 patients. J Thromb Haemost 2004 Jun;2(6):892–898.

140- Podda GM, Bucciarelli P, Lussana F, Lecchi A, Cattaneo M. Usefulness of PFA-100 testing in the diagnostic screening of patients with suspected abnormalities of hemostasis: comparison with the bleeding time. J Thromb Haemost. 2007 Dec; 5(12):2393-8.

141- Penel-Page M, Meunier S, Fretigny M, Le Quellec S, Boisseau P, Vinciguerra C, Ternisien C, Rugeri L. Differential diagnosis of neonatal alloimmune thrombocytopenia: Type 2B von Willebrand disease. Platelets. 2017 Apr 24:1-4.

142- Kauskot A, Poirault-Chassac S, Adam F, Muczynski V, Aymé G, Casari C, BordetJC, Soukaseum C, Rothschild C, Proulle V, Pietrzyk-Nivau A, Berrou E, Christophe OD, Rosa JP, Lenting PJ, Bryckaert M, Denis CV, Baruch D. LIM kinase / cofilin dysregulation promotes macrothrombocytopenia in severe von Willebrand disease-type 2B. JCI Insight. 2016 Oct 6;1(16):e88643.

143- Paula D. James, MD and Anne C. Goodeve, PhD. von Willebrand Disease. Genetics in Medicine (2011) 13, 365–376;

144- Paula D. James, MD and Anne C. Goodeve, PhD. Diagnosis of von Willebrand disease subtypes: implications for treatment. *Budde U Haemophilia. 2008 Nov; 14 Suppl 5():27-38.*

145- Ragni MV. von Willebrand factor: factor VIII protector and friend. J Thromb Haemost 2012; 10: 2324–7.

146- Von Willebrand reagent. SIEMENS reference OUBD23. Avril 2010.

147- Murdock PJ, Woodhams BJ, Matthews KB, Pasi KJ, Goodall AH. Von Willebrand factor activity detected in a monoclonal antibody based ELISA: an alternative to the ristocetin cofactor platelet agglutination assay for diagnostic use. Thromb Haemost 1997 Oct; 78(4):1272–1277.

148- Vanhoorelbeke K, Pareyn I, Schlammadinger A, Vauterin S, Hoylaerts MF, Arnout J, Deckmyn H. Plasma glycocalicin as a source of GPIb-alpha in the von Willebrand factor ristocetin cofactor ELISA. Thromb Haemost 2005 Jan;93(1):165–171.; 169-171.

149- Cedric Hermans Javier Batlle. Autosomal Dominant von Willebrand Disease Type 2M. Acta Haematol 2009; 121:139–144.

150- Federici AB, Canciani MT, Forza I, Cozzi G. Ristocetin cofactor and collagen binding activities normalized to antigen levels for a rapid diagnosis of type 2 von Willebrand disease—single center comparison of four different assays. Thromb Haemost. 2000Dec ;84(6):1127–1128.

151- Favaloro EJ, Lillicrap D, Lazzari MA, Cattaneo M,Mazurier C, Woods A, Meschengieser S,Blanco A, Kempfer AC, Hubbard A, et al.von Willebrand disease: laboratory aspects of diagnosis and treatment. Haemophilia 2004 Oct;10 Suppl 4:164–168.

152- Frontroth JP, Hepner M, Sciuccati G, Feliú Torres A, Pieroni G, Bonduel M. Prospective study of low-dose ristocetin-induced platelet aggregation to identify type 2B von Willebrand disease (VWD) and platelet-type VWD in children. Thromb Haemost. 2010 Dec;104(6):1158-65. doi: 10.1160/TH10-04-0213. Epub 2010 Oct 12.

153- Scott JP, Montgomery RR. The rapid differentiation of type IIb von Willebrand's disease from platelet type (pseudo-) von Willebrand's disease by the "neutral" monoclonal antibody binding assay. Am J Clin Pathol 1991 Dec;96(6):723–728.

154- Casonato A, Cattini MG, Daidone V, Pontara E, Bertomoro A, Prandoni P.Diagnostic Value of Measuring Platelet Von Willebrand Factor in Von Willebrand Disease. PLoS One. 2016 Aug 17;11(8):e0161310.

155- Muriel Meiring , Philip N. Badenhorst /,Mareli Kelderman. Performance and utility of a cost-effective collagen-binding assay for the laboratory diagnosis of Von Willebrand disease. Clin Chem Lab Med 2007;45(8):1068–1072.

156- Flood VH, Gill JC, Christopherson PA, Wren JS, Friedman KD, Haberichter SL, Hoffmann RG, Montgomery R. Comparison of type I, type III and type VI collagen binding assays in diagnosis of VWD. J Thromb Haemost 2012; 10: 1425–32.

157- Kroner PA, Foster PA, Fahs SA, Montgomery RR. The defective interaction between von Willebrand factor and factor VIII in a patient with type 1 von Willebrand disease is caused by substitution of Arg19 and His54 in mature von Willebrand factor. Blood 1996 Feb;87(3): 1013–1021.

158- Rodgers SE, Lerda NV, Favaloro EJ, Duncan EM, Casey GJ, Quinn DM, Hertzberg M, Lloyd JV. Identification of von Willebrand disease type 2N (Normandy) in Australia: a cross-laboratory investigation using different methods. Am J Clin Pathol 2002 Aug;118(2):269–276.

159- Castaman G, Goodeve A, Eikenboom J; European Group on von Willebrand Disease. Principles of care for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. Haematologica. 2013 May;98(5):667-74. doi: 10.3324/haematol.2012.077263.

160- András Gézsi, Ulrich Budde, István Deák, Eszter Nagy, Adrienn Mohl, Ágota Schlammadinger, Zoltán Boda, Tamás Masszi, J. Evan Sadler, and Imre Bodó. Accelerated clearance alone explains ultra-large multimers in von Willebrand disease Vicenza. J Thromb Haemost 2010; 8: 1273-80.

161- Di Paola, J., Federici, A.B., Mannucci, P.M., Canciani, M.T., Kritzik, M., Kunicki, T.J. Nugent, D. Low platelet alpha2 beta1 levels in type I von Willebrand disease correlate with impaired platelet function in a high shear stress system. Blood 1999; 93(11):3578-82.

162- Sadler, J.E. Von Willebrand disease type1: a diagnosis in search of a disease. Blood 2003;101(6):2089-93.

163- Baronciani, L., Cozzi, G., Canciani, M.T., Peyvandi, F., Srivastava, A., Federici, A.B. et Mannucci, P.M. Molecular characterization of a multiethnic group of 21 patients with type 3 vonWillebrand disease. Thromb Haemost 2000; 84(4):536-40.

164- Meyer, D., Fressinaud, E., Hilbert, L., Ribba,A.S., Lavergne, J.M. et Mazurier, C. Type 2 von Willebrand disease causing defective von Willebrand factor-dependent platelet function. Best Pract Res Clin Haematol 2001; 14(2):349-64.

165- Cedric Hermans Javier Batlle. Autosomal Dominant von Willebrand Disease Type 2M. Acta Haematol 2009; 121:139–144.

166- Ribba, A.N., Hilbert, L., Lavergne, J.M., Fressinaud, E., Boyer-Neumann, C., Ternisien, C., Juhan-Vague, I., Goudemand, J., Girma, J., Mazurier, C. et Meyer, D. The arginine-552-cysteine(R1315C) mutation within the A1 loop of von Willebrand factor induces an abnormal folding with a

loss of function resulting in type 2A-like phenotype of von Willebrand disease: study of 10 patients and mutated recombinant von Willebrand factor. Blood 2001; 97(4):952-9.

167- Schneppenheim, R., Federici, A.B., Budde, U., Castaman, G., Drewke, E., Krey, S., Mannucci, P.M., Riesen, G., Rodeghiero, F., Zieger, B. et Zimmermann, R. Von Willebrand Disease type 2M "Vicenza" in Italian and German patients: identification of the first candidate mutation (G3864A; R1205H) in 8 families. ThrombHaemost 2000; 83(1):136-40.

168- L. Hilbert (1) , P .V. Jenkins (2) , C. Gaucher (1) , E. Meriane (3) , P. W. Collins (2) , K. J. Pasi (2) , C. Mazurier (1)From (1) CRTS and LFB, Lille, France; (2) Haemophilia Centre, Department of Haematology, Royal Free Hospital and School of Medicine, London, UK; (3) CTS-CHU, Alger, Algeria. Type 2M vWD Resulting from a Lysine Deletion within a Four Lysine Residue Repeat in the A1 Loop of von Willebrand Factor. TY - JOUR PY - 2000 JO - Thrombosis and Haemostasis.SN - 0340-6245VL - 84IS - 2TI.

169- Type 2N von Willebrand disease: clinical manifestations, pathophysiology, laboratory diagnosis and molecular biologyBest Practice & Research Clinical. Haematology.Vol. 14, No. 2, pp. 337±347, 2001

170- Veyradier A, Fressinaud É, Goudemand J, Meyer D. La maladie de Willebrand. Hematologie ´ 2011 ; 17 (4) : 278-88.

171- Nichols WL, Rick ME, Ortel TL, Montgomery RR, Sadler JE, Yawn BP, James AH, Hultin MB, Manco-Johnson MJ, Weinstein M. Clinical and laboratory diagnosis of von Willebrand disease: a synopsis of the 2008 NHLBI/NIH guidelines. Am J Hematol. 2009 Jun;84(6):366-70.

172- Castaman G, Goodeve A, Eikenboom J, European Group on von Willebrand Disease. Principles of care for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. Haematologica. 2013 May; 98(5):667-74.

173- Giancarlo Castaman* and Silvia Linari. Diagnosis and Treatment of von Willebrand Disease and Rare Bleeding Disorders. J Clin Med. 2017 Apr; 6(4): 45.

174- Sadler JE, Rodeghiero F. on behalf of the ISTH SSC Subcommittee on von Willebrand Factor. Provisional criteria for the diagnosis of VWD type 1. J Thromb Haemost 2005; 3: 775–7.

175- Casonato A, Pontara E, Sartorello F, Cattini MG, Perutelli P, Bertomoro A, Gallinaro L, Pagnan A. Identifying carriers of type 2N von Willebrand disease: procedures and significance. Clin Appl Thromb Hemost. 2007 Apr; 13(2):194-200.

176- Lavin M, O'Donnell JS. New treatment approaches to von Willebrand disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2016 Dec 2;2016(1):683-689.

177- Kaufmann JE, Vischer UM. Cellular mechanisms of the hemostatic effects of desmopressin (DDAVP). J Thromb Haemost 2003 Apr;1(4):682–689.

178- Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB, Gunther G, Rosenthal W, Vischer UM. Vasopressin induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. J Clin Invest 2000 Jul;106(1):107–116.

179- Rodeghiero F, Castaman G, Di Bona E, Ruggeri M. Consistency of responses to repeated DDAVP infusions in patients with von Willebrand's disease and hemophilia A. Blood 1989 Nov;74(6):1997–2000.

180- Revel-Vilk S, Schmugge M, Carcao MD, Blanchette P, Rand ML, Blanchette VS. Desmopressin (DDAVP) responsiveness in children with von Willebrand disease. J Pediatr Hematol Oncol 2003 Nov;25(11):874–879.

181- Heijdra JM, Cnossen MH, Leebeek FWG. Current and Emerging Options for the Management of Inherited von Willebrand Disease. Drugs. 2017 Aug 8.

182- Makris M, Conlon CP, Watson HG. Immunization of patients with bleeding disorders. Haemophilia. 2003 Sep; 9(5):541-6.

183- Turecek PL, Mitterer A, Matthiessen HP, Gritsch H, Varadi K, Siekmann J, Schnecker K, Plaimauer B, Kaliwoda M, Purtscher M, Woehrer W, Mundt W, Muchitsch EM, Suiter T, Ewenstein B, Ehrlich HJ, Schwarz HP. Development of a plasma- and albumin-free recombinant von Willebrand factor. Hamostaseologie. 2009 Oct; 29 Suppl 1( ):S32-8.

184- Mannucci PM, Federici AB. Antibodies to von Willebrand factor in von Willebrand disease. Adv Exp Med Biol. 1995; 386( ):87-92.

185- World Federation of Hemophilia report on the annual global survey 2015 publier octobre 2016.

186- Joseph Henny. The IFCC recommandations for determining reference intervals: strengths and limitations. J Lab Med 2009;33(2):45–51.

187- CLSI, le document c28 a3 de 2008.

188- S. Kitchen, A. Mc Craw, M. Echenagucia. Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders. A LABORATORY MANUAL. WFH 2010.

189- Frontroth JP, Favaloro EJ. Ristocetin-Induced Platelet Aggregation (RIPA) and RIPA Mixing Studies. Methods. Mol Biol. 2017;1646:473-494.

190- Favaloro EJ, Grispo L, Dinale A, Berndt M, Koutts J. von Willebrand's disease: laboratory investigation using an improved functional assay for von Willebrand factor. Pathology. 1993;25(2):152–158.

191- Flood VH, Gill JC, Friedman KD, et al. Zimmerman Program Investigators. Collagen binding provides a sensitive screen for variant von Willebrand disease. Clin Chem. 2013;59(4):684–691.

192- Ribba AS, Loisel I, Lavergne JM, et al. Ser968Thr mutation within the A3 domain of von Willebrand factor (VWF) in two related patients leads to a defective binding of VWF to collagen. Thromb Haemost. 2001;86(3):848–854.

193- Riddell AF, Gomez K, Millar CM, et al. Characterization of W1745C and S1783A: 2 novel mutations causing defective collagen binding in the A3 domain of von Willebrand factor. Blood. 2009;114(16):3489–3496.

194- Flood VH, Lederman CA, Wren JS, et al. Absent collagen binding in a VWF A3 domain mutant: utility of the VWF:CB in diagnosis of VWD. J Thromb Haemost. 2010;8(6):1431–1433.]

195- Favaloro EJ. Utility of the von Willebrand factor collagen binding assay in the diagnosis of von Willebrand disease. Am J Hematol. 2017 Jan;92(1):114-118.

196- Favaloro EJ. Collagen binding assay for von Willebrand factor (VWF:CBA): detection of von Willebrands Disease (VWD), and discrimination of VWD subtypes, depends on collagen source. Thromb Haemost. 2000;83(1):127–135.

197- Mike A. Laffan, Will Lester, James S. O'Donnell, Andrew Will, Robert Campbell Tait, Anne Goodeve, Carolyn M. Millar1and David M. Keeling. The diagnosis and management of von Willebrand disease: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology. British Journal of Haematology, 2014, 167, 453–465.

198- Favaloro EJ, Bonar R, Kershaw G, Sioufi J, Thom J, Baker R, Hertzberg M, Street A, Lloyd J, Marsden K. Laboratory diagnosis of von Willebrand disorder: use of multiple functional assays reduces diagnostic error rates. Lab Hematol. 2005;11(2):91-7.

199- Favaloro EJ, Bonar RA, Mohammed S, Arbelaez A, Niemann J, Freney R, Meiring M, Sioufi J, Marsden K. Type 2M von Willebrand disease - more often misidentified than correctly identified. Haemophilia. 2016 May;22(3):e145-55.

200- A. Casonato, E. Pontara, A. Bertomoro, F. Sartorello. Von Willebrand factor collagen binding activity in the diagnosis of von Willebrand disease: an alternative to ristocetin co-factor activity? British Journal of Haematology, 2001, 112, 578±583

201- Baronciani L, Federici AB, Cozzi G, Canciani MT, Mannucci PM. von Willebrand factor collagen binding assay in von Willebrand disease type 2A, 2B, and 2M. J Thromb Haemost 2006; 4: 2088–90.

202- Alberto Tosetto, Giancarlo Castaman, and Francesco Rodeghiero. Evidence-based diagnosis of type 1 vonWillebrand disease: a Bayes theorem approach. Blood, 15 april 2008 volume 111, number 8.

203- Gill JC, Enfres-Brooks J, Bauer PJ et al. The effect of ABO blood groups on the diagnosis of von Willebrand disease. Blood 1987; 69: 1691–5.

204- A. TOSETTO, F. RODEGHIERO, G. CASTAMAN et al. Impact of plasma von Willebrand factor levels in the diagnosis of type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1VWD). Journal of Thrombosis and Haemostasis, 5: 715–72

205- A.C.GOODEVE, S.ROSEN, B.VERBRUGGEN. Haemophilia A and von Willebrand's disease. Haemophilia (2010), 16 (Suppl. 5), 79–84

206- Mohlke KL, Ginsburg D. von Willebrand disease and quantitative variation of von Willebrand factor. J Lab Clin Med 1997; 130: 252–61.

207- Brian Boylan, Anne S. Rice, Christine De Staercke, M. Elaine Eyster, Hassan M. Yaish, Christine M. Knoll, Christopher J. Bean, Connie H. Miller. Evaluation of von Willebrand factor phenotypes and genotypes in Hemophilia A patients with and without identified F8 mutations. J Thromb Haemost. 2015 June ; 13(6): 1036–1042.

208- Veyradier A, Caron C, Ternisien C, Wolf M, Trossaert M, Fressinaud E, Goudemand J. Validation of the first commercial ELISA for type 2N von Willebrand's disease diagnosis. Haemophilia. 2011 Nov;17(6):944-51.

209- Zhukov O, Popov J, Ramos R, Vause C, Ruden S, Sferruzza A, Dlott J, Sahud M. Haemophilia. Measurement of von Willebrand factor-FVIII binding activity in patients with suspected von Willebrand disease type 2N: application of an ELISA-based assay in a reference laboratory. 2009 May;15(3):788-96.

210- Mattias Karlman, Margareta Holmström, Björn Wiman. A new method measuring the interaction between von Willebrand factor and coagulation factor VIII. Thrombosis Research 127 (2011) 47–50.

211- U. BUDDE, R. SCHNEPPENHEIM, J.EIKENBOOM. Detailed von Willebrand factor multimer analysis in patients with von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 von Willebrand disease (MCMDM-1VWD). J Thromb Haemost 2008; 6: 762–71.

212- Ferhat-Hamida MY, Boukerb H, Hariti G. Contribution of the collagen binding activity (VWF:CB) in the range of tests for the diagnosis and classification of von Willebrand disease. Ann Biol Clin (Paris). 2015 Jul-Aug;73(4):461-8.

213- Favaloro EJ. An update on the von Willebrand factor collagen binding assay: 21 years of age and beyond adolescence but not yet a mature adult. Semin Thromb Hemost. 2007 Nov;33(8):727-44.

214- F.Rodeghiero, G.Castman, A.Tosseto et al. The discriminant power of bleeding history for the diagnosis of type 1 Von Willebrand disease : an international, multicenter study. J Thromb Haemost 2005; 3 :2619-26.

215- Tuddenham EG. Von Willebrand factor and its disorders: an overview of recent molecular studies. Blood Rev 1989; 3: 251–62.

216- Lenk H, Nilsson IM, HolmbergL, Weissbach G. Frequency of different types of VWD in the GDR. Acta Med Scand 1988; 224: 275–80.

217- Hoyer LW, Rizza CR, Tuddenham EG, Carta CA, Armitage H, Rotblat F. Von Willebrand factor multimer patterns in von Willebrand's disease. Br J Haematol.1983 Nov;55(3):493-507.

218- Awidi AS. A study of VWD in Jordan. Ann Hematol 1992; 64: 299–302.

219- Berliner SA, Seligson U, Zivelin A, Zwang E, Sofferman G. A relative high frequency of severe (type 3) VWD in Israel. Br J Haematol 1986; 62: 535–43.

220- Federici AB, Mannucci PM, Castaman G et al. The 20-year (1978–98) natural history of von Willebrand disease in Italy: a multicentre retrospective analysis on diagnosis and therapy in 1234 patients. Haemophilia 2000; 6: 9.

221- Ben Lakhal F, El Borgi W, Gouider E, Meddeb B, Ben Salah N, Hafsia R. Monocentric study of Willebrand's disease in Tunisia: assets and difficulties.Tunis Med. 2015 Oct;93(10):628-32.

222- Florence Suzan, Katia Pouymayou, Albert Faradji et al. Clinical characteristics of patients with von Willebrand disease included in the FranceCoag Network. Congrées de la WFH juin 2012 paris, France.

223- A. B. FEDERICI, G. CASTAMAN and P. M. MANNUCCI, FOR THE ITALIAN ASSOCIATION OF HEMOPHILIA CENTERS (AICE). Guidelines for the diagnosis and management of von Willebrand disease in Italy Haemophilia. (2002), 8, 607–621

224- Silwer J 1973. von Willebrand's disease in Sweden. Acta Paediatr Scand; 238: 1–159.

225- Lak M, Peyvandi F, Mannucci PM. Prevalence of bleeding manifestations, hepatitis and alloantibodies to von Willebrand factor in 348 Iranian patients with type 3 von Willebrand disease. Br J Haematol 1999; 107: 104–206.

226- Penel-Page M, Meunier S, Fretigny M, Le Quellec S, Boisseau P, Vinciguerra C, Ternisien C, Rugeri L. Differential diagnosis of neonatal alloimmune thrombocytopenia: Type 2B von Willebrand disease. Platelets. 2017 Apr 24:1-4.

227- Baronciani L, Federici AB, Beretta M, Cozzi G, Canciani MT, Mannucci PM. Expression studies on a novel type 2B variant of the von Willebrand factor gene (R1308L) Characterized by defective collagen binding. J Thromb Haemost 2005; 3: 2689–94.

228- Agnes Veyradier, Pierre Boisseau, Edith Fressinaud, Claudine Caron, Catherine Ternisien, Mathilde Giraud, Christophe Zawadzki, Marc Trossaert, Nathalie Itzhar-Baı¨kian, Marie Dreyfus, Roseline d'Oiron, Annie Borel-Derlon, Sophie Susen, Ste´phane Bezieau, Cecile V. Denis, and Jenny Goudemand. A Laboratory Phenotype/Genotype Correlation of 1167 French Patients From 670 Families With von Willebrand Disease. Medicine Volume 95, Number 11, March 2016.

229- Paula D. James,Colleen Notley,Carol Hegadorn,Jayne Leggo,Angie Tuttle,Shawn Tinlin,Christine Brown,Chandler Andrews,Andrea Labelle,Yvette Chirinian,Lee O'Brien,Maha Othman,Georges Rivard,Dilys Rapson,Christine Hough, and David Lillicrap. The mutational spectrum of type 1 vonWillebrand disease: results from a Canadian cohort study. BLOOD, 1 JANUARY 2007 VOLUME 109, NUMBER 1

230- A. Tosseto, F. Rodeghiero, G. Castaman et al. Impact of plasma von Willebrand factor levels in the diagnosis of type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1VWD). Journal of Thrombosis and Haemostasis, 5: 715–72.

231- Syx D, Malfait F, Van Laer L, Hellemans J, Hermanns-Lê T, Willaert A, Benmansour A, De Paepe A, Verloes A. The RIN2 syndrome: a new autosomal recessive connective tissue disorder caused by deficiency of Ras and Rab interactor 2 (RIN2). Hum Genet. 2010 Jul;128(1):79-88.

232- Aslanger AD[1], Altunoglu U, Aslanger E, Satkın BN, Uyguner ZO, Kayserili H. Newly described clinical features in two siblings with MACS syndrome and a novel mutation in RIN2. Am J Med Genet A. 2014 Feb;164A(2):484-9

233- Rosato S, Syx D, Ivanovski I, Pollazzon M, Santodirocco D, De Marco L, Beltrami M, Callewaert B, Garavelli L, Malfait F. RIN2 syndrome: Expanding the clinical phenotype. Am J Med Genet A. 2016 Sep;170(9):2408-15

234- Benlaldj D, Moueden MA, Seghier F. Von Willebrand disease type 3 falsely diagnosed as hemophilia A: a case report. Rev Med Brux. 2017;38(1):36-38.

ANNEXES

Annexe 1 : questionnaire.

Service d'hémobiologie CHU d'Oran

Unité d'hémostase et thrombose

Chef de service : Pr SEGHIER

Date :

Nom : …….. **Prénom :** ……..

Service : ……..

Date et lieu de naissance : ……

Adresse :

……
……

Wilaya : …….

Numéro de téléphone : …….

Origine ethnique: Père :…… Mère : ……

Profession des parents : Mère ..... **Père** ……

Consanguinité : ……..

<u>Antécédents familiaux :</u>

……
……

……
……
……

<u>Antécédents personnels :</u>

Vous vous êtes déjà plaint d'hémorragies : Oui : Non:

On vous a déjà diagnostiqué un trouble hémorragique : Oui : Diagnostic :

Non :

Groupe sanguin :

Êtes-vous réglées : Oui : Non : Age du début :

Prenez vous des pilules contraceptives : Oui : Non : Précisez le type :

Si traitement pharmacologique ou phytothérapeutique au cours des 30 jours précédents précisez :

Nom : Durée du traitement : Voie d'administration :

Autres :

<u>Epistaxis :</u> Non : Si oui : insignifiant Signifiant

<u>Age maximal de sévérité :</u> 0 - 4 ans.
4 - 8 ans.
8 - 12 ans.
12 - 16 ans.
16 - 20 ans.

Nombre d'épisodes/ an :

< 1
1 - 5
6 - 12
> 12

Durée des épisodes :

< 1 minute
1-10 minutes
> 10 minutes

Circonstances de survenue :

Spontanée : Oui Non
Les deux narines : Oui Non
Apres prise médicamenteuse : Oui Non
Saisonnière : Oui préciser: Non

Cessation : Spontanée.
Après compression.
Apres intervention médicale .Rapportez le traitement de l'épisode le plus sévère :

- Consultation seulement.
- Méchage : Précisez combien de fois.
- Cautérisation : Précisez combien de fois.
- Anti fibrinolytiques : Précisez combien de fois.
- Desmopressine : Précisez combien de fois.
- Transfusion sanguine : Précisez combien de fois.

Symptômes Cutanés : Non Si Oui : Insignifiant Signifiant

Type : Pétéchies.
Ecchymoses.
Hématomes.

Localisation des lésions : Sites exposes.
Sites non exposes.
Bilatérales.

Taille des lésions : < 1 cm
1 – 5 cm
> 5 cm

Survenue spontanée ou suite a un traumatisme minime : Oui Non

L'épisode le plus sévère a t'il nécessité une intervention médicale:

Non Si oui précisez :

- Consultation seulement
- Autre :

Saignement suite aux traumatismes mineurs :

Non Si Oui : Insignifiant Signifiant

Nombre d'épisodes/an : < 1
1 - 5
6 - 12
> 12

Durée des épisodes :

< 5 min.
> 5 min.

L'épisode le plus sévère a nécessité une intervention médicale:

Non Si oui précisez :

- Consultation seulement
- Hémostase chirurgicale Nombre de fois.
- Anti fibrinolytiques Nombre de fois.
- Désmopressine Nombre de fois.
- Transfusion sanguine Nombre de fois.

Hémorragies de la cavité buccale :

Non Si Oui : Insignifiant Signifiant

Type d'hémorragie :

Eruption dentaires.

Spontanée.
Brossage des dents ou mâchage de Chewing-gum.
Apres morsure de la langue et/ou de la lèvre.
Bulles hémorragiques.

L'épisode le plus sévère a t'il nécessité une intervention médicale ?:

Non Si oui précisez :

- Consultation seulement
- Hémostase chirurgicale Nombre de fois
- Anti fibrinolytiques Nombre de fois
- Désmopressine Nombre de fois
- Transfusion sanguine Nombre de fois

Extraction dentaires hémorragiques :

Non Si Oui **:** Insignifiant Signifiant

Nombre total d'extractions…… Nombre d'extractions hémorragiques……..

Pour L'épisode le plus sévère précisez :

Age :

Type d'extraction : Dents de lait Dents définitives

Prophylaxies avant extraction :

Non Anti fibrinolytiques Désmopressine

Gestes effectués pour arrêter le saignement :

Aucun Consultation seulement

Suture Compression

Anti fibrinolytiques Desmopressine

Transfusion sanguine

Hémorragies Gastro-intestinales : Non Oui

Nombre d'épisodes …….

Type d'hémorragie :

Hématémèse Méléna Hémoptysie

Présence de maladies associées : Non Oui précisez :

L'épisode le plus sévère a t'il nécessité une intervention médicale :

Non Oui : précisez :

- Consultation seulement
- Hémostase chirurgicale Nombre de fois.
- Anti fibrinolytiques Nombre de fois.
- Désmopressine Nombre de fois.
- Transfusion sanguine Nombre de fois.

Chirurgie : Non si Oui, insignifiante Signifiante

Nombre Total de Chirurgies …….
Nombre Total de Chirurgies suivi de saignements ……. Préciser :

Episode le plus sévère :

L'âge ……..
Type de Chirurgie :
Prophylaxie avant la Chirurgie :

Aucune Anti fibrinolytiques
Désmopressine

Saignement après la Chirurgie : Non Oui

Actions faites pour contrôler le Saignement :

- Aucune
- Consultation seulement
- Restauration chirurgicale
- Anti fibrinolytiques
- Désmopressine
- Transfusion sanguine

Ménorragies : Non Oui

Durée des menstruations (jours) : ……..

Episode le plus sévère :

Age de sévérité maximale : 8-12
13-16
17-20
>20 ans

A t'il nécessité une intervention médicale :
Non Oui : précisez :

- Consultation
- Usage de la Pilule
- Anti fibrinolytiques
- Dilatation & curettage
- Désmopressine
- Transfusion sanguine
- Hystérectomie

<u>Hémorragies Post-partum :</u>
Non si Oui, insignifiante Signifiante
Nombre Total d'accouchements :
Nombre d'accouchements compliqués d'hémorragie :
Episode le plus sévère :
A quel âge : …….
Mode d'accouchement : spontané
Assisté
Césarienne
Prophylaxie avant l'accouchement : Aucune
Anti fibrinolytiques
Desmopressin

Actions faites pour contrôler le saignement :

Aucune
Consultation seulement
Suture/Chirurgie
Anti fibrinolytiques
Desmopressine
Transfusion
Hystérectomie

Hématomes musculaires : Non Oui Nombre de cas :

Episode le plus sévère : veillez préciser :

Le type : Post-trauma? Oui Non
Le siège :
Prophylaxie :

Aucune
Anti fibrinolytiques
Desmopressine

A t'il nécessité une intervention médicale :

Non Oui :

Intervention chirurgicale

Desmopressine

Transfusion

Hémarthroses : Non Oui Nombre total : ….

Episode le plus sévère : veillez préciser :

Le type : Post-trauma? Oui Non
Le siège :
Prophylaxie : Aucune Anti fibrinolytiques Désmopressine

A t'il nécessité une intervention médicale : Non Oui :

Intervention chirurgicale

Désmopressine

Transfusion

<u>Hémorragies cérébrales</u> : Non Oui : précisez :

Intra cérébrales. Extra durales.

<u>Autres hémorragies :</u>

Non Oui : précisez :

Hémorragie ombilicale.

Hémorragie lors de la circoncision

Hématome cérébrale

Hémorragie conjonctivale

Hématurie macroscopique

Episode le plus sévère : veillez préciser :

Le type :

A t'il nécessité une intervention médicale :

Non Oui : précisez : Consultation seulement

Intervention chirurgicale

Désmopressine

Transfusion sanguine

Hémostase chirurgicale

Anti-fibrinolytiques

Annexe 2 :

Liste du Matériel et consommables nécessaires pour la réalisation des différents tests :

- Automate STA compact CT
- Une centrifugeuse.
- Des aliquotes pour la congélation.

- Des tubes à hémolyse.
- Des portoirs.
- Un bain marie (37°C, 56°C).
- Des pipettes de 100 µl ,200 µl, 1000µl.
- Des embouts.
- Chaine ELISA (laveur et lecteur de plaque ELISA).
- Automate pour FNS type Beckman and coulter

Annexe 3 :

Description du Beckman Coulter HMx:

Le Beckman Coulter HMx est un analyseur d'hématologie conçu pour rendre de façon entièrement automatisée un bilan hématologique complet incluant la numération et la formule leucocytaire. Il pratique une formule sanguine au moyen d'un Cytometre en flux. IL sépare

les 5 sous populations leucocytaires dans un espace tridimensionnel. Chaque cellule se localise dans un volume cubique en fonction des trois coordonnées fournies par les mesures :

Le volume cellulaire est obtenu par variation d'impédance;

La quantité de lumière diffractée au passage d'un faisceau laser à travers la cellule reflète la granularité du cytoplasme et la nature des granules cytoplasmiques;

L'opacité, un indice permettant d'évaluer les modifications d'un courant alternatif de haute fréquence par la cellule, reflète le rapport nucléocytoplasmique et la structure du noyau.

Numération des plaquettes est mesuré par variation d'impédance. Le décompte des éléments (2 à 3000 pour un sang normal) se fait de 2 à 30 fl, avec un seuil mobile entre les plaquettes et globules rouges jusqu'à un maximum de 30 fl.

Annexe 4 :

Description de STA Compact® CT :

Automate de laboratoire conçu pour réaliser des tests in vitro destiné au diagnostic des pathologies liées à l'hémostase ainsi pour aider à la surveillance des traitements anticoagulants Il permet de réaliser des tests de chronométrie (mesure d'un temps de

coagulation), de colorimétrie et d'immunologie (méthode des micro-latex) sur des échantillons de plasma. La ligne de réactif code-barres STA® offre une gamme complète de paramètres permettant une gestion totale et sécurisée des produits incluant la pré calibration des réactifs de routine. Il est conçu pour fonctionner 24h/24h **(Figure)** .



Figure : STA Compact® CT

Annexe 5 :

Liste de réactifs utilisés sur automate STA Compact ct:

STA®-C.K.Prest : Chaque coffret contient un papillon code-barres. Ce code renferme les informations suivantes: numéro de lot, référence du coffret, référence du réactif, date de péremption.

Réactif 1: Céphaline (substitut plaquettaire) préparé selon Bell et Alton à partir de tissu cérébral de lapin, lyophilisé

Réactif 2: flacon de 5 ml, suspension tamponnée de Kaolin à 5 mg/ml.

STA®- Néoplastine : chaque coffret contient un papillon code-barres. Ce code renferme les informations suivantes: numéro de lot, référence du coffret, référence du réactif, date de péremption, et le les informations sur la calibration (réactif pré-calibré); STA-Néoplastine est un plasma humain citraté, lyophilisé contenant du facteur tissulaire en excès et des phospholipides procoagulant.

STA®-Fibrinogène : Chaque coffret renferme un papillon avec code-barres. Ce code contient les informations suivantes : numéro de lot, référence du coffret, référence du réactif, date de péremption, paramètres de calibration du réactif.

Grace au code-barres, l'utilisation d'un étalon n'est pas nécessaire lors du dosage du fibrinogène avec le réactif STA-Fibrinogène sur les appareils de ligne ; STA®-Fibrinogène 5 contient de la thrombine calcique titrée, lyophilisée, d'origine humaine, contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine permettant le dosage du fibrinogène sur le plasma de patients traités par cet anticoagulant.

STA®-Déficient VIII : Chaque coffret contient une feuille de codes à barres. Ce code à barres contient les informations suivantes: numéro de lot, kit de référence, réactif de référence et la date d'expiration. STA - Déficient VIII contient du plasma humain citraté lyophilisé qui a été éliminé de son facteur VIII par immunoadsorption sélective.

STA - Liatest® VWF: Ag : Chaque coffret contient une feuille de codes à barres. Ce code à barres contient les informations suivantes: numéro de lot, référence du coffret, la datte d'expiration du réactif.

Réactif 1: un flacon de 5 ml de tampon glycine.

Réactif 2: flacon avec 2 ml de suspension de billes de latex revêtues d'anticorps de lapin anti-VWF et stabilisé par la suite (à l'albumine bovine).

Réactif 3: flacon de 4 ml. La solution contient de la glycine pour diluer le réactif de latex (réactif 2).

Réactifs auxiliaires

STA®-CaCl2 0.025 M
STA®-Unicalibrator
STA®-Owren-Koller
STA®-System Control N + P

Annexe 6 :

ASSERACHROM VWF : CB

Dosage de la capacité de liaison du facteur Willebrand au collagène (VWF : CB) par méthode ELISA.

Composition :

Réactif 1: barrette de 16 puits recouverte de collagène humain placentaire de type III.

Réactif 2 : immunoglobulines de lapin anti VWF humain couplées à la peroxydase, lyophilisées.

Réactif 3 : flacon de 8 ml de tétraméthylbenzidine (TMB inférieur à 1%), prêt à l'emploi

Réactif 4 : flacon de 50 ml de tampon phosphate, prêt à l'emploi

Réactif 5 : flacon de 15 ml de solution de lavage. 20 fois concentrée

Réactif 6 : plasma humain lyophilisé contenant après reconstitution une quantité connue de VWF : CB. Cette quantité est déterminée par apport à un étalon secondaire du standard international 07/316 établi en 2009.

Réactif 7 : plasma humain lyophilisé contenant après reconstitution une quantité connue de VWF : CB. Cette quantité est déterminée par apport à un étalon secondaire du standard international 07/316 établi en 2009.

Mode Opératoire :

1. Etalonnage : L'étalonnage est réalisé dans des tubes en plastique à l'aide du réactif 6. Préparer la solution mère 1. En diluant le réactif 6 au 1/51 en Réactif 4 (20 µl de Réactif 6+1 ml de Réactif 4). Cette solution constitue le point le plus élevé de l'étalonnage dont la valeur est indiquée sur le papillon inclus dans le coffret. A partir de cette solution mère, préparer la gamme d'étalonnage ci-dessous en Réactif 4.

Dilution des différents points de la gamme	t	t/2	t/4	t/8	t/16
Réactif 6(µl)	20				
Solution mère ou sa dilution (µl)		500	500	500	500
Réactif 4 (µl)	1000	500	500	500	500

Tableau : dilution de la solution mère.

2. Plasmas à tester :

Les plasmas sont dilués dans des tubes en plastique au 1/51 en Réactif 4 (20 µl de plasma + 1 ml de Réactif 4) et, si besoin, au ½ en Réactif 4 de cette dilution au 1/51.Le taux lu sur la courbe d'étalonnage pour cette deuxième dilution sera multiplié par 2.

3. Contrôle :

Le contrôle de qualité est effectué à l'aide du Réactif 7 .Celui-ci est testé sur 2 dilutions réalisées dans des tubes en plastique, une dilution au 1/51 en Réactif 4 et la dilution au 1/2 en Réactif 4 de cette dilution au 1/51. Le taux lu sur la courbe d'étalonnage pour cette deuxième dilution sera multiplié par 2.

4. Dosage :

Sitôt les barrettes sorties de leur emballage, distribuer en double :

- ✓ Les dilutions étalon ainsi que les contrôles et plasmas diluées à tester (dans l'heure suivant leur préparation).
- ✓ Le Réactif 4 (blanc réactif)

La durée totale des dépôts sur la plaque ne doit pas dépasser 10 minutes.

Déposer dans le puits :		
FIXATION DE L'ANTIGENE	Echantillon	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 1 heure à température ambiante (18-25 °C).	
Laver 5 fois en Réactif 5 puis ajouter immédiatement		
FIXATION DE L'IMMUNOCONJUGUÉ	Réactif 2	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 1 heure à température ambiante (18-25 °C).	
Laver 5 fois en Réactif 5 puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre		
Coloration	TMB (Réactif 3)	200 µl
	Attendre très exactement 5 minutes à 18-25 °C pour chaque échantillon puis ajouter	
	H_2SO_4 1M	50 µl

Après avoir distribué l'acide dans tous les puits, agiter la plaque
15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction mesurer l'absorbance à 450 nm (ajuster le 0 sur le blanc réactif).

Résultats :

Sur du papier bi logarithmique, portez en abscisse le taux de VWF : CB (%) des différents points de la gamme d'étalonnage et en ordonnée la valeur de l'absorbance correspondante. Tracer la courbe d'étalonnage (mode non linéaire). Le calibrant et les plasmas étant dilués de façon scientifique, Le taux de VWF : CB (%) des échantillons testés est lu directement sur la courbe d'étalonnage.

Calculer le ration [VWF : CB]/[VWF :Ag] le résultat dont être interpréter en fonction de l'état clinique et biologique du patient .

Vérifier que les résultats obtenus pour le Réactif 7 se situent dans la fourchette indiquée sur le papillon inclus dans le coffret. Si ce n'est pas le cas, s'assurer du bon fonctionnement du test : conditions opératoires, réactifs, étalonnage, plasmas à tester, etc.Si besoin, recommencer les dosages.

Annexe 7 :

ASSERACHROM VWF : VIIIB

Dosage de la capacité de liaison du facteur Von Willebrand au facteur VIII (VWF : FVIIIB) par méthode ELISA. Le dosage du VWF : FVIII constitue un outil de diagnostic différentiel de la maladie de Willebrand de type 2N et de l'hémophilie A mineure ou modérée.

Composition :

Réactif 1:barrette de 16 puits recouverte de fragments F(ab')2 d'anticorps de lapin anti-VWF humain

Réactif 2a : facteur VIII recombinant humain, lyophilisé.

Réactif 2b : anticorps monoclonal de souris anti-facteur VIII humain couplé à la peroxydase, lyophilisé.

Réactif 3 : flacon de 8 ml de tétraméthylbenzidine (TMB inférieur à 1%), prêt à l'emploi

Réactif 4a : flacon de 15 ml de tampon phosphate, prêt à l'emploi

Réactif 4b : flacon de 20 ml de tampon Tns. Prêt à l'emploi

Réactif 5 : flacon de 50 ml de solution de lavage ,20 fois concentrée

Réactif 6 : plasma humain lyophilisé contenant après reconstitution une quantité connue de VWF : FVIIIB

Réactif 7 : plasma humain lyophilisé contenant après reconstitutionune quantité connue de VWF : FVIII

Mode Opératoire :

1. Etalonnage :

L'étalonnage est réalisé dans des tubes en plastique à l'aide du réactif 6. Le réactif 6 reconstitué constitue le point le plus élevé de l'étalonnage dont la valeur (t) est indiquée sur le papillon inclus dans le coffret. A partir de celui-ci, préparer la gamme d'étalonnage ci-dessous en réactif 4a.

Dilution des différents points de la gamme	t	t/2	t/4	t/8	t/16
Réactif 6 ou sa dilution (ul)	500	500	500	500	500
Réactif 4a (ul)	0	500	500	500	500

Tableau : dilution du réactif 6.

2. Plasmas à tester :

Les plasmas doivent être préalablement dosés en VWF : Ag à l'aide des kits Asserachrom®-VWF : Ag (REF 00942) ou SAT®-Liatest VWF : Ag (REF 00518). Ils sont ensuite dilués en réactif 4a (R4a) dans des tubes en plastique afin d'obtenir une concentration en VWF : Ag de 0.1 Ul/ml (10 %). Le volume final de l'échantillon dilué doit être compris entre 0,5 et 1 ml.

A titre d'exemple, un plasma à 1,4 Ul/ml (140 %) de VWF sera dilué comme suit : 50 µl de plasma + 650 µl de réactif 4a. Le volume de plasma pur testé ne doit pas être inférieur à 10 µl.

3. Contrôle : Le contrôle de qualité est réalisé à l'aide du réactif 7. Celui-ci est testé pur et au 1/2. La dilution est effectuée dans un tube plastique en réactif 4a (R4a). Le taux lu sur la courbe d'étalonnage pour la dilution au 1/2 sera multiplié par 2.

4. Dosage :

Sitôt les barrettes sorties de leur réalisé emballage, distribuer en double.

- Les dilutions étalon ainsi que les contrôles et les plasmas dilués à tester (dans l'heure suivant leur préparation).
- Le réactif 4a (blanc réactif)

La durée totale des dépôts sur la plaque ne doit pas dépasser 10 minutes

	Déposer dans le puits :	
FIXATION DE L'ANTIGENE ET DISSOCIATION DU COMPLEXE VWF : FVIII	Echantillon	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 1 heure à température ambiante (18-25 °C).	
Laver 5 fois en Réactif 5 puis ajouter immédiatement		
FIXATION DU FVIIIr	Réactif 2a	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 1 heure à température ambiante (18-25 °C).	
Laver 5 fois en Réactif 5 puis ajouter immédiatement		
FIXATION DE L'IMMUNOCONJUGUE	Réactif 2b	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 1 heure à température ambiante (18-25 °C).	
Laver 5 fois en Réactif 5 puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre		
Coloration	TMB (Réactif 3)	200 µl
	Attendre très exactement 5 minutes à 18-25 °C pour chaque échantillon puis ajouter	
	H_2SO_4 1M	50 µl
Après avoir distribué l'acide dans tous les puits, agiter la plaque		

15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction mesurer l'absorbance à 450 nm (ajuster le 0 sur le blanc réactif).

Résultats :

Sur du papier bi logarithmique, portez en abscisse le taux de VWF : FVIIIB (%) des différents points de la gamme d'étalonnage et en ordonnée la valeur de l'absorbance correspondante. tracer la courbe d'étalonnage (mode non linéaire). Le taux de VWF : FVIIIB (%) des échantillons testés est lu directement sur la courbe d'étalonnage.

Les patients avec une capacité de liaison du VWF au facteur VIII inférieure ou égale à 20 % dans le système Asserachrom VWF : FVIIIB sont considérés comme présentant une maladie de Willebrand de type 2N. Un taux modérément abaissé suggère l'existence d'une hétérozygotie 2N mais n'exclut pas une hémophilie A. Le résultat doit être interprété en fonction de l'état clinique et biologique du patient.

Vérifier que les résultats obtenus pour le Réactif 7 se situent dans la fourchette indiquée sur le papillon inclus dans le coffret. Si ce n'est pas le cas, s'assurer du bon fonctionnement du test : conditions opératoires, réactifs, étalonnage, plasmas à tester, etc. Si besoin, recommencer les dosages.

Limites de la méthode :

Un taux de VWF :Ag supérieur ou égal à 15 % est nécessaire pour une bonne interprétation des résultats de VWF :FVIIIB.

Grâce à l'utilisation de fragments F (ab') 2 pour la sensibilisation des barrettes , l'interférence du facteur rhumatoïde est élimin**ée .**

Annexe 8 :

Centile à 97.5% : Les centiles correspondent à des valeurs qui divisent un ensemble d'observations en 100 parties égales.

Le rang centile 97.5% correspond à la proportion des valeurs d'une distribution inférieure ou égale à cette valeur.

RESUMES

Résumé :

La fréquence élevée de la maladie de Von Willebrand contraste avec le nombre faible de patients diagnostiqués en Algérie. Ceci reflète un problème de dépistage de cette maladie hémorragique dont les critères de diagnostic font l'objet de révisions régulières et les stratégies diagnostiques sont en constante évolution.

L'objectif principal est d'établir une stratégie et un logigramme guide de diagnostic pour la classification de la maladie de Von Willebrand, basés sur des critères cliniques et biologiques.

Cette étude descriptive a été réalisée au niveau du service d'hémobiologie du CHU d'Oran, portant sur 740 patients adressés par les services d'hématologie et de pédiatrie de 10 wilayas de l'Ouest Algérien. Pour chaque patient nous avons réalisé des tets de dépistage (TCA, TQ, fibrinogène et taux de plaquettes) et à chaque fois que le score hémorragique est ≥ 3 avec ou sans histoire hémorragique familiale, on a réalisé des tests spécifiques de première ligne

(VWF:RCo, VWF:Ag, FVIII et VWF:CB), tous ces tests ont été complétés par un VWF:VIIIB ou un RIPA.

Nous avons diagnostiqué 96 patients atteints d'une maladie de Von Willebrand, dont 53 patients sont de type 1 et type 1 probable, 32 patients de type 2, 10 patients de type 3 et un patient présente une maladie de Von Willebrand acquise. La fréquence de la maladie de Von Willebrand dans l'Ouest Algérien est de 12 cas par million d'habitants. La consanguinité représente 44% et les antécédents familiaux 59%. Les écchymoses, épistaxis et hémorragies buccales sont les signes cliniques les plus fréquents.

Le diagnostic de la maladie de Von Willebrand est complexe du fait de la fluctuation du taux plasmatique du VWF et la grande série de tests fonctionnels disponibles. Un bon diagnostic doit reposer sur une démarche claire qui permet de hiérarchiser les tests afin d'allier une meilleure spécificité et une meilleure sensibilité pour un diagnostic correct.

Abstract :

The high frequency of Von Willebrand's disease and the decreased number of patients diagnosed in Algeria, reflects a screening problem for this bleeding disorder whose diagnostic criteria are regulary revised and diagnostic strategies are constantly in evolution.

The aims of our studies is to establish a strategy and a diagnostic flow chart for screening Von Willebrand disease, based on clinical and biological criteria.

This descriptive study was conducted at hemobiology department of the Oran University Hospital, 740 patients referred to the hematology and pediatric departments of 10 wilayas in western Algeria. For each patient we performed screening tests (TCA, TQ, fibrinogen and platelets levels) and each time the bleeding score is ≥ 3 with or without a family bleeding history, we performed a specific first line tests (VWF: RCo, VWF: Ag, FVIII and VWF: CB) and completed by VWF: VIIIB or RIPA.

We diagnosed 96 patients with von Willebrand disease. 53 of type 1 and low VWF, 32 of type 2, 10 of type 3 and one patient has acquired Von Willebrand disease. The frequency of von Willebrand's disease in the West is 12 cases per million. Consanguinity represents 44% and family history is present in 59%. Ecchymosis, epistaxis and oral bleeding are the most common bleeding.

The diagnosis of von Willebrand disease is complex because of the variability of VWF plasma levels and the big series of functional tests available for diagnosis, a good diagnosis must be based on a clear process to combine a better specificity and sensitivity for a correct diagnosis.

ملخص :

يتناقض ارتفاع وتيرة مرض فون ويلبراند مع انخفاض عدد المرضى الذين تم تشخيصهم في الجزائر. وهذا يعكس مشكلة الفحص لهذا الاضطراب النزيف الذي يتم مراجعة معايير التشخيص بانتظام والاستراتيجيات التشخيصية تتطور باستمرار والهدف الرئيسي هو وضع استراتيجية ودليل التشخيص لتصنيف مرض فون ويلبراند، على أساس المعايير البيولوجية وقد أجريت هذه الدراسة الوصفية على مستوى قسم علم أمراض الدم بمستشفى جامعة وهران، حيث شملت 740 مريضا تمت إحالتهم من قبل أقسام أمراض الدم والأطفال في 10 ولايات في غرب الجزائر. لكل مريض أجرينا اختبارات الفحص ابتدائي وكل مرة كانت درجة النزف ≤ 3 مع أو بدون تاريخ نزف عائلي، تم إجراء اختبارات خط أول محددة استكملت اختبارات تكميلية قمنا بتشخيص 96 مريضا يعانون من مرض فون ويلبراند، منها 53 مريضا من نوع 1، 32 نوع 2 10 نوع 3 ، ومريض واحد مع مرض فون ويلبراند المكتسبة. وتيرة مرض فون ويلبراند في غرب الجزائر هي 12 حالة لكل مليون نسمة. يمثل زواج الأقارب 44٪ والتاريخ العائلي 59٪. الكدمات، رعاف والنزيف عن طريق الفم هي العلامات السريرية الأكثر شيوعا. تشخيص مرض فون ويلبراند معقد بسبب تقلب مستويات البلازما فوف وسلسلة كبيرة من الاختبارات الوظيفية المتاحة. يجب أن يستند التشخيص الجيد إلى عملية واضحة تسمح بتحديد أولويات الاختبارات من أجل الجمع بين خصوصية أفضل وحساسية أفضل للتشخيص الصحيح.