CAHIER DE
Formation
Biologie médicale
N° 22
Octobre 2001

SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES

BIOFORMA

CAHIER DE

Formation

Biologie médicale

Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE MEDICALE en FRANCE.

TOUT LE CONTENU DE CE FICHIER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schèmas et photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront poursuivies devant les tribunaux compétents.

Seule une impression pour une copie personnelle (étudiant, interne, biologiste de labm) est permise.

BIOFORMA

230 bd raspail 75014 Paris

Cher Confrère,

La pratique quotidienne des Biologistes s'enrichit régulièrement de nouveaux défis analytiques qu'il nous appartient de relever.

La formation continue est à cet égard l'outil de choix.

Nous souhaitons, en vous présentant ce nouveau numéro des Cahiers de Formation BIOFORMA, faire le point des enjeux techniques posés par le Syndrome des Antiphospholipides.

Dans ce domaine les attentes des patients et des cliniciens sont très exigeantes. Le laboratoire a donc une responsabilité de premier plan au niveau du dialogue avec le clinicien et aussi dans la présentation et l'explication des résultats.

Les industriels du réactif n'ont pas, jusqu'à présent, proposé des trousses de qualité indiscutable apportant au Biologiste la sécurité de l'analyse.

C'est à lui qu'il appartient, comme il est expliqué dans ce Cahier, de mener ses investigations et ses gestes techniques en vue d'assurer la sécurité du résultat rendu.

Avec l'aide d'experts reconnus qui ont signé ce Cahier numéro 22, nous espérons vous y aider en mettant à votre disposition les éléments de connaissance actuellement disponibles qui fondent le savoir dans cette discipline.

Nous vous souhaitons une bonne réception de cet ouvrage et espérons que sa qualité technique répondra à vos attentes.

Nous vous prions d'agréer, Cher Confrère, nos cordiales et confraternelles salutations.

Fidèlement

Adrien BEDOSSA
Président

230 Bd Raspail 75014 PARIS ☎ : 01 56 54 39 39 Fax : 01 56 54 39 30
Site internet : http://perso.wanadoo.fr/bioforma E mail : bioforma@wanadoo.fr
Association régie par la Loi 1901 – Siret : 391 155 74 00017 – Code APE : 913 E

SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES

Ouvrage réalisé sous la direction de :

Docteur Bach-Nga PHAM, Hôpital Beaujon, Clichy
Professeur Jean-Louis PREUD'HOMME, CHU de Poitiers

LISTE DES AUTEURS

- Jean-Louis PREUD'HOMME Président de la sous-section 47-03,
  Immunologie, du Conseil National des Universités
  Professeur des Universités - Praticien Hospitalier
  Laboratoire d'Immunologie et Immunopathologie
  CNRS ESA 6031 Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers La Milètrie,
  BP 577
  86021 POITIERS CEDEX

- Alexandre SOMOGYI
  Chef de Clinique - Assistant Service de Médecine Interne Hôpital Foch
  40, rue Worth
  92151 SURESNES CEDEX

- Olivier BLETRY
  Président de la Société Nationale Française de Médecine Interne
  Professeur des Universités - Praticien Hospitalier
  Service de Médecine Interne Hôpital Foch
  40, rue Worth
  92151 SURESNES CEDEX

- Dominique ARNOUX
  Praticien Hospitalier
  Fédération Auto-Immunité et Thrombose
  Laboratoire d'Hématologie et d'Immunologie
  Hôpital de la Conception
  147, boulevard Baille
  13385 MARSEILLE CEDEX OS

- Josiane ARVIEUX
  Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier
  Laboratoire d'Immunologie
  Institut de Synergie des Sciences et de la Santé
  Centre Hospitalier Universitaire
  BP 824
  29609 BREST CEDEX

- Marielle SANMARCO
  Praticien Hospitalier
  Fédération Auto-Immunité et Thrombose
  Service d'Immunologie
  Hôpital de la Conception
  147, boulevard Baille
  13385 MARSEILLE CEDEX O5

S O M M A I R E

SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES

SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : ASPECTS CLINIQUES ET THÉRAPEUTIQUES

I - GÉNÉRALITÉS 11

II - MANIFESTATIONS CLINIQUES 14
- **II.1-** Manifestations dermatologiques 14
- **II.2-** Manifestations vasculaires 15
- **II.3-** Manifestations cardiaques 16
- **II.4-** Manifestations neurologiques 18
- **II.5-** Manifestations obstétricales 20
- **II.6-** Manifestations respiratoires 21
- **II.7-** Manifestations digestive 21
- **II.8-** Manifestations rénales 22
- **II.9-** Manifestations endocriniennes 22
- **II.10-** Syndrome catastrophique des anti-phospholipide 23
- **II.11-** Autres manifestations 23

III - DIFFÉRENCES ENTRE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES PRIMAIRE ET SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES SECONDAIRE AU LUPUS ÉRYTHÉMATEUX SYSTÉMIQUE 23

IV - ÉVOLUTION ET PRONOSTIC 24

V - TRAITEMENT 24
- **V.1-** Prévention primaire 24
- **V.2-** Prise en charge des thromboses 25
- **V.3-** Prise en charge des complications obstétricales 26
- **V.4-** Prise en charge des valvulopathies 26
- **V.5-** Prise en charge des thrombopénies 27
- **V.6-** Prise en charge du syndrome catastrophique des anti-phospholipides 27

VI – CONCLUSION 27

VII – BIBLIOGRAPHIE 28

LES ANTICOAGULANTS ANTI-PHOSPHOLIPIDES DÉTECTÉS PAR LES TESTS DE COAGULATION : LES ANTICOAGULANTS LUPIQUES

I –INTRODUCTION 33

II - CARACTÉRISTIQUES IMMUNOLOGIQUES DES LA (LUPUS ANTICOAGULANTS) 33

III - CIRCONSTANCES DE SURVENUES DES LA 34

IV - LA ET ANTICORPS ANTI-CARDIOLIPINE : DES ENTITÉS DISTINCTES 35

V - PLACE DES LA EN TANT QUE MARQUEURS DU RISQUE THROMBOTIQUE 37

VI - PHYSIOPATHOLOGIE DES THROMBOSES ASSOCIÉES AUX LA 37

VII - LES ÉCUEILS DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES LA 39

VIII - LES ÉTAPES DU DIAGNOSTIC 40

VIII.1- Les tests de dépistage 40

VIII.1.1- Le temps de céphaline avec activateur (TCA) 41

VIII.1.2- Le temps de coagulation avec kaolin (kaolin clotting time, KCT) 41

VIII.1.3- Le temps (ou test) de thromboplastine diluée (TTD) 41

VIII.1.4- Le temps de venin de vipère Russell dilué (DRVVT) 42

VIII.1.5- Autres venins 42

VIII.2- Mise en évidence d'une activité inhibitrice 42

VIII.3- Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur 43

VIII.4- Exclusion d'une coagulopathie associée 45

IX - INTERFÉRENCE DES LA DANS D'AUTRES TESTS DE COAGULATION 46

X - STRATÉGIE DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES LA 47

XI - BIBLIOGRAPHIE 48

BIOLOGIE DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : LES TESTS IMMUNOLOGIQUES

I - GÉNÉRALITÉS 53
I.1- Perspective historique 53
I.2- Nouvelle conception des anticorps anti-phospholipides 53

II - PRINCIPALES CIBLÉS ET PATHOGÉNICITÉ DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES 54

III - TESTS IMMUNOLOGIQUES DÉ DÉTECTION DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES 57
III.1- Leur place par rapport aux autres tests 57
III.2- Principes généraux 58
III.3- Prélèvement - Conservation des échantillons 59
III.4- Anticorps anti-cardiolipine 59
III.5- Anticorps anti- β_2-glycoprotéine I 63
III.6- Les autres anticorps associés au syndrome des anti-phospholipides 65

IV - INTERPRÉTATION DÉS RÉSULTATS 67
IV.1- Remarques générales 67
IV.2-Études cliniques 68
IV.3- En pratique 69

V - INDICATIONS DÉ LA RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES 70
V.1- Situation du problème 70
V.2- En pratique 70

VI - BIBLIOGRAPHIE 72

ÉDITORIAL

À la lecture de la synthèse des aspects cliniques du syndrome des anti phospholipides (SAPL) rédigée par A. Somogyi et O. Blétry pour ce volume, il est facile d'apprécier l'importance croissante prise par ce syndrome depuis sa définition initiale il y a seulement 14 ans (qui a d'ailleurs évolué depuis), non seulement dans les maladies thrombotiques, mais aussi dans diverses pathologies affectant pratiquement tous les organes, en particulier obstétricales, cardiaques, neurologiques, dermatologiques, etc., dans des contextes cliniques variés et non restreints aux maladies auto-immunes. En dehors de la clinique, les outils diagnostiques font appel à la caractérisation d'auto-anticorps sériques par des techniques immunologiques (décrites par J. Arvieux et M. Sanmarco) et des tests de coagulation (revus par D. Arnoux). Ces tests biologiques se sont aussi considérablement développés et raffinés depuis une dizaine d'années, avec un nombre croissant de cibles antigéniques de mieux en mieux caractérisées, et des corrélations de mieux en mieux établies entre la présence et les caractéristiques (spécificité fine, isotypie, etc) des anticorps et la clinique, comme en témoigne une littérature extrêmement abondante (et pas toujours concordante).

Ceci ne signifie nullement que ces outils diagnostiques sont parfaits, bien au contraire (voir les synthèses de J. Arvieux, M. Sanmarco et de D. Arnoux). Comme pour la plupart des tests immuno-enzymatiques commercialisés en France, la plupart des « kits » ELISA disponibles ne comportent pas de contrôle négatif (puits dépourvus d'antigène), situation hautement anormale, responsable de résultats faussement positifs. Les techniques artisanales utilisées dans beaucoup de laboratoires spécialisés varient sur des points apparemment de détail, en fait cruciaux. Par exemple, comme ceci est habituellement recommandé, la plupart des laboratoires recherchent les anticorps anti-cardiolipine avec des plaques saturées en sérum, animal ou humain (qui ne détectent pas obligatoirement les mêmes spécificités) comme source de co facteurs, β_2GPI notamment. Notre propre stratégie est de faire cette recherche en l'absence de sérum pour la saturation. Nous saturons en sérum albumine bovine (BSA) car nous avons observé, dans quelques cas de SAPL cliniquement certains, la présence d'anticorps réagissant avec la cardiolipine en l'absence de sérum ajouté, et pas avec la même préparation de cardiolipine après saturation en sérum de bœuf ni avec la β_2GPI. Bien entendu, nous recherchons toujours conjointement les anticorps anti-β_2GPI, qui se « recouvrent » en bonne partie avec les anticorps anti-cardiolipine recherchés après saturation en sérum et détectent des épitopes additionnels de la β_2GPI. Quelle que soit la technique, il nous paraît indispensable que ces deux types de recherche d'autoanticorps soient pratiqués dans tous les cas, ainsi que celle d'autres spécificités dans des cas particuliers. En effet, les résultats sont aussi influencés par les lots d'antigène (ce qui nous oblige à recalibrer la technique avec un grand nombre de sérums normaux à chaque changement de lot), de qualité très variable malgré leur coût très élevé (et il n'est pas toujours facile d'obtenir d'un fournisseur le remplacement d'un lot défectueux), le lot de BSA, etc., certains sérums de malades « sortant » ou non selon les conditions, sans que nous puissions savoir quel est le « vrai » résultat. On peut donc se poser la question de savoir si la pratique croissante de ces recherches d'auto-anticorps, fortement stimulée par son importance médicale et les pressions commerciales, ne devrait pas être restreinte à un nombre limité de laboratoires susceptibles de poser les problèmes méthodologiques correspondants, sans pour autant être forcément assurés d'être capables de les résoudre entièrement.

Professeur J.L. Preud'homme

SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : ASPECTS CLINIQUES ET THÉRAPEUTIQUES

SOMOGYI, O. BLETRY

I. GÉNÉRALITÉS : historique, définition, prévalence, physiologie

Depuis l'introduction de la sérologie syphilitique par Bordet et Wassermann en 1906, on connaît l'existence de faux positifs, avec réaction de déviation du complément positive (utilisant des antigènes lipidiques) et réactions tréponémiques plus spécifiques négatives (TPHA, Nelson), comme l'a décrit Moore en 1952. Ces sérologies dissociées étaient en particulier observées chez de jeunes femmes lupiques. En 1963, Bowie découvrait que des anticoagulants circulants dits lupiques (encore appelés anti-prothrombinase) étaient associés à la survenue de thromboses veineuses ou artérielles. En 1980, Soulier et Boffa constataient que ces anticoagulants circulants étaient également associés à des pertes fœtales répétées. En 1983, Harris, cherchant à comprendre le mécanisme de ces sérologies dissociées, mettait en évidence des anticorps anti-cardiolipine à l'aide d'un test radio-immunologique. Quatre ans plus tard, cette découverte lui permettait d'individualiser le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) avec des équipes sud-africaines et anglaises [33]. Les critères de ce syndrome, et particulièrement les critères obstétricaux, ont été affinés en 1999. Le SAPL a été défini comme l'association de thromboses (artérielles, veineuses ou capillaires) ou de pertes embryofœtales répétées et d'anticorps anti-phospholipides [69] (tableau I).

Les premiers antigènes cibles des anticorps anti-phospholipides découverts furent des phospholipides anioniques (cardiolipine, phosphatidylsérine...). On a ensuite montré que la liaison antigène-anticorps nécessitait la présence d'un co-facteur, la bêta 2 glycoprotéine I (β_2GPI) ou apoprotéine H, et que ces patients ayant une histoire clinique caractéristique de SAPL n'était pas

Tableau I

Définition du syndrome des anti-phospholipides
UNE MANIFESTATION CLINIQUE parmi :
- ≥ 1 thrombose vasculaire : artérielle, veineuse profonde, capillaire confirmée par imagerie ou histologie
- Complications obstétricales : ≥ 3 FCS[a] consécutives inexpliquées
≥ 1 MFIU[b] inexpliquée avec fœtus de morphologie normale
≥ 1 accouchement prématuré avec fœtus de morphologie normale par prééclampsie sévère, éclampsie ou insuffisance placentaire
ET
UNE ANOMALIE BIOLOGIQUE à 2 déterminations séparées d'au moins 6 semaines parmi :
- Anticoagulant circulant de type lupique
- Anticorps anti-cardiolipine IgG ou IgM

a - Fausse couche spontanée : avant la dixième semaine de gestation.
b - Mort fœtale *in utero :* après la dixième semaine de gestation.
c - Accouchement prématuré : avant la trente-quatrième semaine de gestation.

Tableau II

Activité procoagulante des anticorps anti-phospholipides
- Baisse de la prostacycline - Inhibition de la protéine C, de la protéine S, de l'antithrombine, de la β_2GPI - Inhibition de la fibrinolyse facteur XII dépendante - Augmentation de l'activité de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène - Diminution de l'annexine V - Augmentation du thromboxane A2 - Augmentation d'un inducteur de la coagulation d'origine monocytaire

tous porteurs d'anticorps anti-β_2GPI [1]. D'autres patients n'ont que des anticorps dirigés contre des phospholipides neutres (phosphatidyléthanolamine...) qui ne nécessitent pas l'intervention d'un co-facteur pour avoir une activité thrombogène.

Il n'y a pas de consensus sur le mécanisme des thromboses chez les patients ayant des anticorps anti-phospholipides [20]. Parmi les hypothèses indiquées dans le tableau II, les plus explorées sont une baisse de production de prostacycline par la paroi artérielle et une anomalie du système protéine C/protéine S/thrombomoduline. Par ailleurs, l'association d'anticorps anti-phospholipides et d'une autre thrombophilie génétique ou acquise n'est pas exceptionnelle et, en particulier, une résistance à la protéine C activée peut être recherchée.

Les anticorps anti-phospholipides sont trouvés dans 5 à 10 % de la population générale et jusqu'à 50 % chez les sujets âgés, généralement à taux faible. Il apparaît que les anticorps anti-phospholipides à taux faibles sont rarement associés à des manifestations cliniques. Ils peuvent être associés à des manifestations cliniques. Ils peuvent être associés à de nombreuses maladies auto-immunes, néoplasiques ou infectieuses, ainsi qu'à la prise de certains médicaments (tableau III). Dans les autres cas, le SAPL est dit primaire. Parmi les SAPL secondaires, le plus fréquent est celui associé au lupus érythémateux systémique (LES) [12]. Les études prospectives montrent qu'on trouve des anticorps anti-phospholipides chez plus d'un tiers des lupiques mais que seule la moitié d'entre eux développe un SAPL au cours d'un suivi de dix ans [16, 53, 63]. Le taux des anticorps anti-phospholipides fluctue et peut se normaliser transitoirement notamment lors d'événements thrombotiques [28].

Une recherche d'anticorps anti-phospholipides doit être effectuée dans les situations cliniques indiquées au tableau N [9] notamment dès qu'un diagnostic de LES est posé, d'autant que leur positivité constitue un critère de lupus dans la classification récente (tableau V) [34], et lorsqu'il existe un autre cas familial de SAPL, surtout chez les femmes stériles. En effet, l'étude de familles a permis de mettre en évidence une prédisposition génétique : HLA DR4, DR7 et DRw53 [62] et des gènes portés par le chromosome 1 [42]. La recherche d'anticorps anti-phospholipides comprend en routine : recherche d'anticoagulant circulant, d'anticorps anti-cardiolipine de type IgG et IgM ainsi que d'un VDRL (positif) avec TPHA (négatif). Si ces examens sont négatifs mais qu'il existe un contexte clinique évocateur, les dosages seront répétés et des anticorps anti β_2GPI et anti-phosphatidyléthanolamine seront recherchés.

Tableau III

Situations associées à la présence d'anticorps anti-phospholipides
MALADIES AUTO-IMMUNES
- Lupus érythémateux systémique, lupus discoïde, connectivite mixte - Polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjögren - Sclérodermie, polychondrite atrophiante - Thyroïdite auto-immune, diabète insulinodépendant - Myasthénie, sclérose en plaques - Purpura thrombopénique immunologique
AFFECTIONS MALIGNES
- Thymomes, cancers solides - Syndromes myéloprolifératifs, leucémies - Lymphomes, maladie de Waldenström
MALADIES INFECTIEUSES
- Syphilis, maladie de Lyme, typhus, fièvre Q, leptospirose - Infections à mycoplasme et à chlamydia - Infections à : staphylocoque doré, streptocoques, salmonelles, E. Coli - Tuberculose, lèpre, endocardites bactériennes - VIH, VHA, VHB, VHC, CMV, EBV, parvovirus B 19, adénovirus - Rougeole, oreillons, rubéole, varicelle - Paludisme, toxoplasmose
AUTRES
- Maladies de Horton et de Takayasu, périartérite noueuse - Spondylarthropathies, maladies inflammatoires de l'intestin - Cirrhose, insuffisance rénale terminale, hémodialyse - Intoxication éthylique - Médicaments : - phénothiazines, hydantoïnes, éthosuximide - pénicillines, streptomycine, quinine - β bloquants, hydralazine, quinidine, hydrochlorothiazide - œstroprogestatifs - interféron α - procaïnamide

Tableau IV

Circonstances devant motiver la recherche d'anticorps anti-phospholipides
- Antécédents de thromboses artérielles et veineuses - Thromboses veineuses et embolies pulmonaires récidivantes - Thrombose veineuse de siège inhabituel (cave inférieure, sus-hépatique, rénale) - Thrombose artérielle chez un sujet de moins de 45 ans - Une mort fœtale ou fausses couches précoces répétées (≥ 3) - Thrombopénie persistante inexpliquée - Sérologie syphilitique dissociée - Lupus érythémateux systémique - Éclampsie ou prééclampsie atypique, retard de croissance *in utero,* décollement placentaire - Livedo racémeux, manifestation dermatologique thrombotique non inflammatoire - Végétation ou épaississement valvulaire inexpliqué avant 45 ans, thrombose intracardiaque - Chorée non familiale, hémorragie surrénalienne bilatérale, microangiopathie thrombotique

Tableau V

Critères diagnostiques de lupus	
l. Érythème malaire en aile de papillon	
2. Lupus discoïde	
3. Photosensibilité	
4. Ulcérations buccales et/ou nasopharyngées	
5. Polyarthrite non érosive	
6. Péricardite et/ou pleurésie	
7. Psychose et/ou convulsions	
8. Néphropathie :	- protéinurie > 0,5 g/24 h - cylindres urinaires
9. Cytopénies :	- anémie hémolytique - leucopénie < 4 000/mm^3 - lymphopénie < 1 500/mm^3 - thrombopénie < 100 000/mm^3
10. Désordre immunologique :	- anticorps anti-ADN natif - anticorps anti-Sm - anticorps-cardiolipine - anticoagulant circulant - VDRL + avec TPHA-
11. Anticorps anti-nucléaires	
Nécessité de 4 critères sur 11 pour définir un lupus	

II. MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

II.1- Manifestations dermatologiques

La première manifestation du SAPL est cutanée dans 40 % des cas [22]. Le livedo (photo 1) est le signe cutané le plus fréquent (40 % des SAPL). Il est souvent situé sur le tronc, racémeux, diffus, non infiltré et persistant. Au cours du LES, il est associé aux anti-corps anti-phospholipides dans 70 % des cas. Suivant les séries, le livedo est trouvé jusqu'à 23 fois plus souvent dans le LES, lorsque des anticorps anti-phospholipides sont présents [24]. La biopsie cutanée peut révéler des lésions thrombotiques. L'association du livedo à un accident vasculaire cérébral ischémique constitue le syndrome de Sneddon; il existe des anticorps anti-phospholipides dans 41 % des cas [23].

Les ulcérations cutanées sont fréquentes (20 % des SAPL). Près de 90 % des lupiques ayant des ulcères chroniques des membres inférieurs ont des anticorps antiphospholipides. Ces lésions sont souvent petites (0,5 à 3 cm), ovalaires, à bords irréguliers et halo purpurique. Elles siègent habituellement sur les pieds, les chevilles (photo 2) et les mollets. Elles laissent des séquelle à type d'atrophie blanche avec halo pigmenté.

Les autres manifestations cutanées sont des purpura nécrotiques, des phlébites superficielles, des nécroses (photos 3a et 3b) notamment digitales ou des hémorragies sous-unguéales en flammèche, très évocatrices mais non spécifiques. Des cas d'anétodermie ont récemment été décrits [45]. Une mélanodermie doit faire rechercher un infarctus des surrénales.

Photo 1 : *Livedo des membres inférieurs*

Photo 2 *: Ulcère de la malléole externe*

II.2- Manifestations vasculaires : tableau VI

Les thromboses sont fréquentes au cours du SAPL primaire ou du SAPL secondaire au LES. Elles sont rares dans les autres circonstances associées à la présence d'anticorps anti-phospholipides, sans qu'on en connaisse la raison. Les anticorps anti-phospholipides sont des facteurs de risque de maladie veineuse thromboembolique. Ces thromboses, fréquemment bilatérales et multiples, atteignent les veines profondes des membres inférieurs, la veine cave inférieure (photo 4) mais aussi les veines sous-clavières ou axillaires. Les thromboses profondes sont compliquées d'embolie pulmonaire dans un tiers des cas. De multiples autres localisations de thromboses veineuses profondes ou superficielles ont été décrites.

Les thromboses artérielles représentent 40 % des thromboses dans le cadre du SAPL et semblent corrélées à la présence d'anticorps anti-cardiolipine de type IgM. Elles affectent principalement la circulation cérébrale, mais de nombreux autres sièges sont possibles.

L'association d'anticorps anti-phospholipides avec un athérome précoce est classique mais difficile à interpréter, lorsqu'il s'agit de lupiques, en raison du caractère athérogène.

Photo 3a : *Nécrose cutanée*

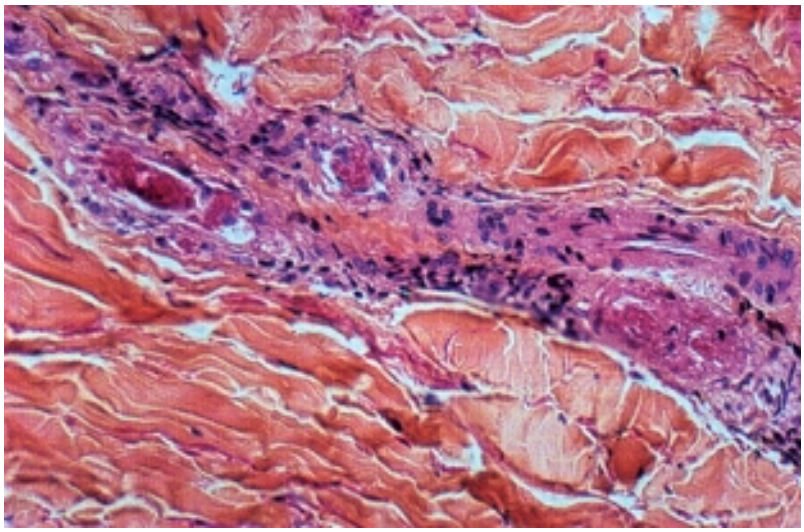


Photo 3b *: Histologie de la nécrose cutanée : thrombus sans vascularité*

de la corticothérapie fréquemment utilisée chez ces patients. Au cours de l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs, la prévalence des anticorps anti-cardiolipine est de 16 % et leur présence est un facteur indépendant de mauvais pronostic. En effet, lorsqu'existent des anticorps anti-cardiolipine de type IgG, le risque relatif de décès à 42 mois est de 2,1 (46 % versus 21 % p = 0,0003) [59].

Les anticorps anti-phospholipides sont corrélés à de plus fréquentes resténoses après angioplastie coronaire [13] et à de plus fréquentes thromboses de pontages tant coronaires [46] que pour artériopathie oblitérante des membres inférieurs [49].

II.3- Manifestations cardiaques

Les anomalies valvulaires sont fréquentes (48 % versus 15 % des LES sans anticorps anti-phospholipides). Elles affectent principalement la valve murale (35 %) et la valve aortique (10 %). Il s'agit d'insuffisances (26 %) et d'épaississements plus que de sténoses (1 %) [48]. La fréquence de ces atteintes semble être corrélée au taux d'anticorps anti-cardiolipine et à l'ancienneté du SAPL. Elles se compliquent rarement d'endocardites bactériennes, mais

Tableau VI

	Manifestations associées aux anticorps anti-phospholipides
Appareils	**Manifestations**
Cutané	Livedo racémeux[a] - ulcérations cutanées - hémorragie sous-unguéale en flammèche - purpura nécrotique - nécroses distales - anétodermie
Cardiovasculaire	Infarctus du myocarde - valvulopathies mitrales ou aortiques - embolies - insuffisance cardiaque - thrombose intracardiaque - endocardites pseudo-infectieuses ou infectieuses - thromboses veineuses superficielles ou profondes des membres inférieurs ou supérieurs, de la veine cave - thromboses artérielles
Neurologique	Accidents vasculaires cérébraux[a] transitoires ou constitués - occlusion d'artère ou de veine rétinienne - thrombophlébites cérébrales - chorée - hémiballisme - syndrome extrapyramidal - épilepsie - migraine - démence - myélite transverse
Reproducteur	Fausses couches spontanées - mort fœtale *in utero* - prématurité - retard de croissance *in utero* - hématome rétroplacentaire - infarctus placentaire - éclampsie - toxémie gravidique
Respiratoire	Embolies pulmonaires - hypertension artérielle pulmonaire - syndrome de détresse respiratoire aiguë - capillarite pulmonaire - hémorragie intra-alvéolaire
Digestif	Thrombose veineuse portale, sus-hépatique, mésentérique - cholécystite alithiasique - pancréatite - hyperplasie nodulaire régénérative hépatique
Rénal	Thromboses artérielles ou veineuses - microangiopathie thrombotique - insuffisance rénale – hypertension artérielle - thrombose de fistule de dialyse
Endocrinien	Insuffisance surrénale par thrombose veineuse bilatérale - dysthyroïdies – atteintes hypothalamo-hypophysaires exceptionnelles
Hématologique	Thrombopénie - anémie hémolytique - syndrome HELLPb
Divers	Ostéonécrose aseptique [7] - perforation de la cloison nasale [58]

a - Le syndrome de Sneddon est défini par l'association d'un accident vasculaire cérébral ischémique et d'un Livedo.
b - *Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets :* hémolyse, élévation des enzymes hépatiques, thrombopénie.

l'antibioprophylaxie est nécessaire en cas de geste à risque d'endocardite bactérienne. L'endocardite de Libman-Sacks est une endocardite pseudo-infectieuse, parfois fébrile, se manifestant par des végétations valvulaires souvent mitrales (6 % des SAPL). Dans ce contexte, la négativité des hémocultures, l'absence d'hyperleucocytose et d'élévation de la protéine C réactive, ainsi qu'un taux très élevé d'anticorps anti-cardiolipine, tendent à confirmer son caractère non infectieux. Ces valvulopathies sont liées à un risque accru de thromboses artérielles, notamment cérébrales. Elles pourraient être aggravées par la corticothérapie.

Un infarctus du myocarde touche environ 5 % des lupiques, en partie en raison de l'athérome précoce et de la corticothérapie, mais aussi en relation directe avec le SAPL. Le risque relatif d'infarctus du myocarde lié aux anticorps anti-phospholipides à taux élevé serait de 2 [66]. Les thromboses du SAPL intéressent parfois uniquement les artérioles et sont responsables d'infarctus étendus à coronarographie normale. Des cas de cardiomyopathie diffuse microthrombotique aiguë ou chronique ont été décrits.

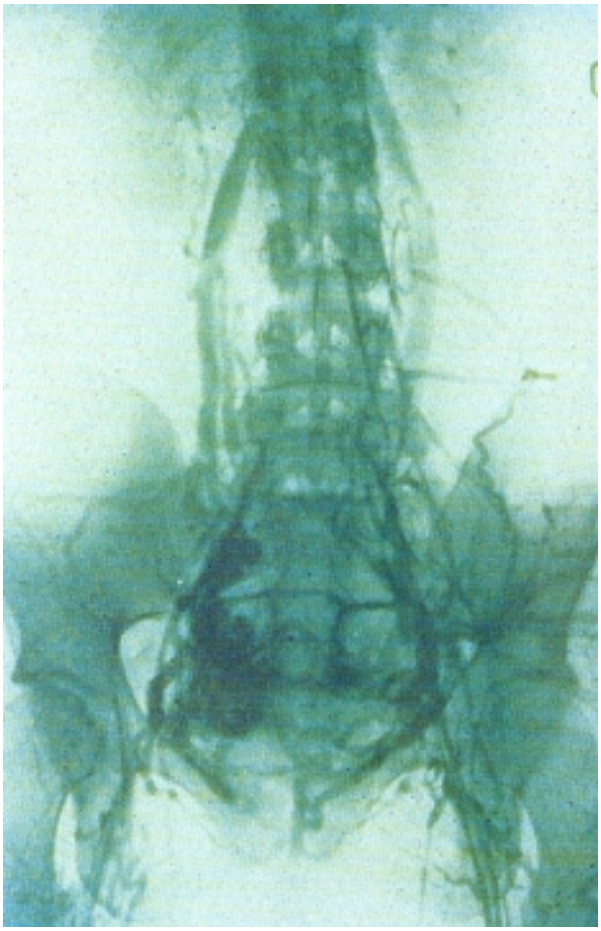


Photo 4 *: Thrombose de la veine cave inférieure*
(en postpartum, d'où le calibre important des veines lombo-ovariennes)

En dehors du SAPL, la relation entre infarctus du sujet jeune et les anticorps antiphospholipides a été très controversée. Après la première étude de Hamsten [30], de nombreux travaux contradictoires ont été publiés. L'étude de Zuckerman est assez convaincante : elle montre que des anticorps anti-phospholipides sont retrouvés dans 14 % des cas d'infarctus survenus avant 64 ans. Leur présence au décours d'un infarctus du myocarde est associée à un risque significatif de récidive d'autres événements thromboemboliques dans les mois suivants [71].

Au cours du LES, la présence d'anticorps anti-phospholipides semble associée à la survenue de cardiomyopathies dilatées. Enfin, des thromboses intracardiaques peuvent survenir (photo 5) [36] et poser le problème du diagnostic différentiel avec les tumeurs cardiaques, d'autant que des myxomes peuvent être associés à des anticorps anti-phospholipides.

II.4- Manifestations neurologiques

Les anticorps anti-phospholipides sont plus fréquemment retrouvés chez les lupiques présentant des troubles neurologiques que chez ceux n'en présentant pas (55 % versus 20 %). Le système nerveux central est le siège le plus fréquent des thromboses artérielles liées au SAPL (photo 6). Ce dernier peut se manifester par des accidents ischémiques transitoires ou constitués, souvent limités, laissant peu de séquelles, mais volontiers récurrents (30 %),

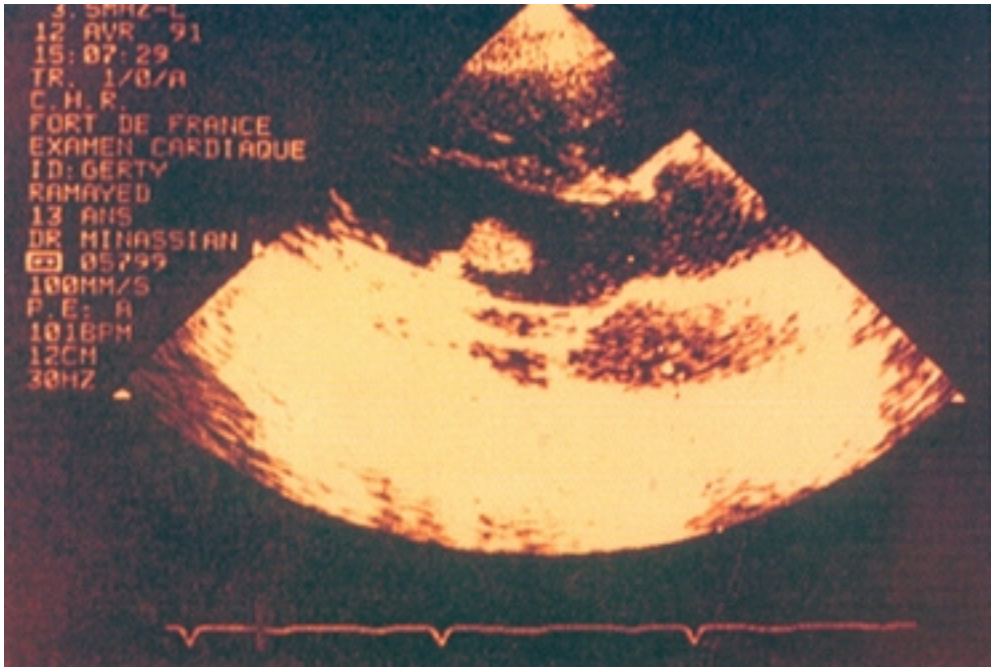


Photo 5 : *Thrombus intracardiaque appendu à la valve mitrale*

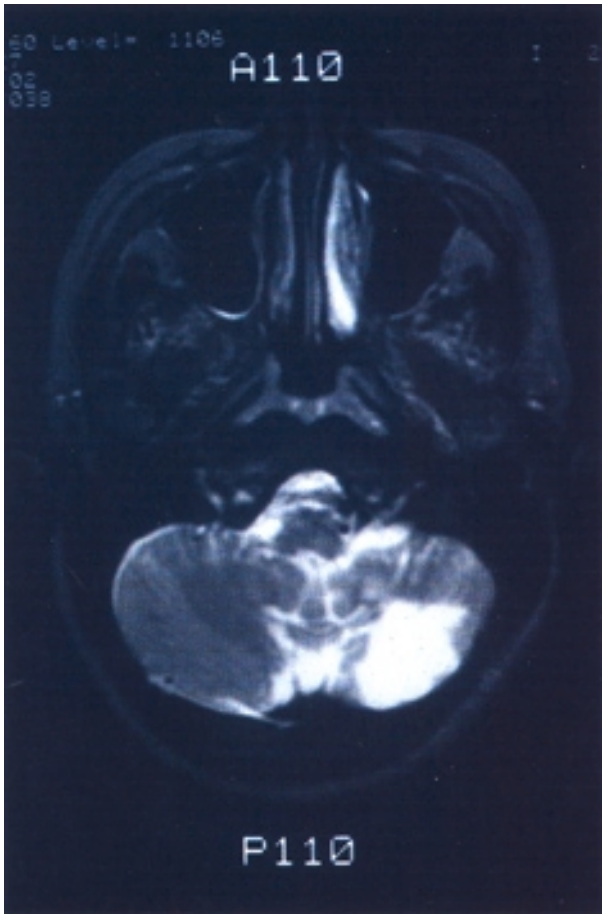


Photo 6 : *Infarctus cérébelleux*

d'autant plus qu'existe un taux élevé d'anticorps anti-cardiolipine de type IgG. Les territoires sylviens sont les plus affectés. Les thromboses récidivantes peuvent participer à la constitution d'états démentiels, parfois révélateurs du SAPL [56].

L'IRM peut notamment révéler des images de séquelles ischémiques cortico-sous-corticales ou des hypersignaux en T2 de la substance blanche périventriculaire, semblables à ceux rencontrés dans la sclérose en plaques [56].

Les manifestations ischémiques cérébrales sont souvent associées à un livedo (syndrome de Sneddon) et/ou à une valvulopathie cardiaque. Un thrombus intracardiaque est trouvé dans 4 % des cas de SAPL avec accident vasculaire cérébral ischémique.

Des thrombophlébites cérébrales peuvent survenir, notamment favorisées par la grossesse, le post-parfum, la contraception œstro-progestative ou les inductions d'ovulation. Une hydrocéphalie à pression normale ou une myélite transverse peuvent être rencontrées.

Des manifestations non thrombotiques ont été également décrites : chorée [26], hémiballisme, syndrome extrapyramidal [43], comitialité [52], migraines fréquentes. Des cas d'occlusion de veine ou d'artère centrale de la rétine ont été publiés [44].

II.5- Manifestations obstétricales

La grossesse est une période à risque majoré de complications thrombotiques liées aux anticorps anti-phospholipides en raison des modifications de l'hémostase, du retour veineux et de l'activité physique.

Les anticorps anti-phospholipides peuvent être associés à certaines stérilités [68]. En leur présence, le risque de perte embryofœtale est évalué à 30 % à la première grossesse et paraît augmenté après une ou plusieurs fausses couches, jusqu'à 90 %. Un caryotype embryonnaire normal, des infarctus placentaires (photo 7) et une inflammation chronique de la déciduale ou des espaces intervilleux sont des arguments en faveur d'une imputabilité au SAPL [10]. Outre les phénomènes thrombotiques, une réaction croisée des anticorps anti-phospholipides avec des phospholipides trophoblastiques, suivie de l'action destructrice de cellules cytotoxiques maternelles pourrait être en cause.

Plus que les fausses couches précoces (risque relatif 2,56 en présence d'anticorps anti-phospholipides), les pertes fœtales (risque relatif 26,6 en présence d'anticorps anti-phospholipides) sont évocatrices de SAPL en raison de la moindre fréquence d'autres causes à ce terme plus avancé [70].

Par ailleurs, ces anomalies placentaires peuvent favoriser des retards de croissance intra-utérine (30 %, risque relatif 6,22), des hématomes rétroplacentaires et des accouchements prématurés (risque relatif 2,93). Le risque fœtal paraît majoré en cas de thrombopénie ou d'élévation inexpliquée de l'alpha-fœtoprotéine sérique maternelle.

Le risque maternel est plus élevé en fin de grossesse et dans la période de post-parfum. Entre la vingtième semaine d'aménorrhée et la première semaine postpartum peuvent apparaître des oedèmes, une hypertension artérielle et une protéinurie dont l'association définit la toxémie gravidique, parfois compliquée de convulsions dénommées éclampsie (risque relatif 6,22). La survenue de cette dernière est souvent précédée d'une hyperréflexie ostéotendineuse et de céphalées. La relation entre anticorps anti-phospholipides et première éclampsie reste discutée par certains [19]. Le syndrome HELLP *(hemolysis, ele-*

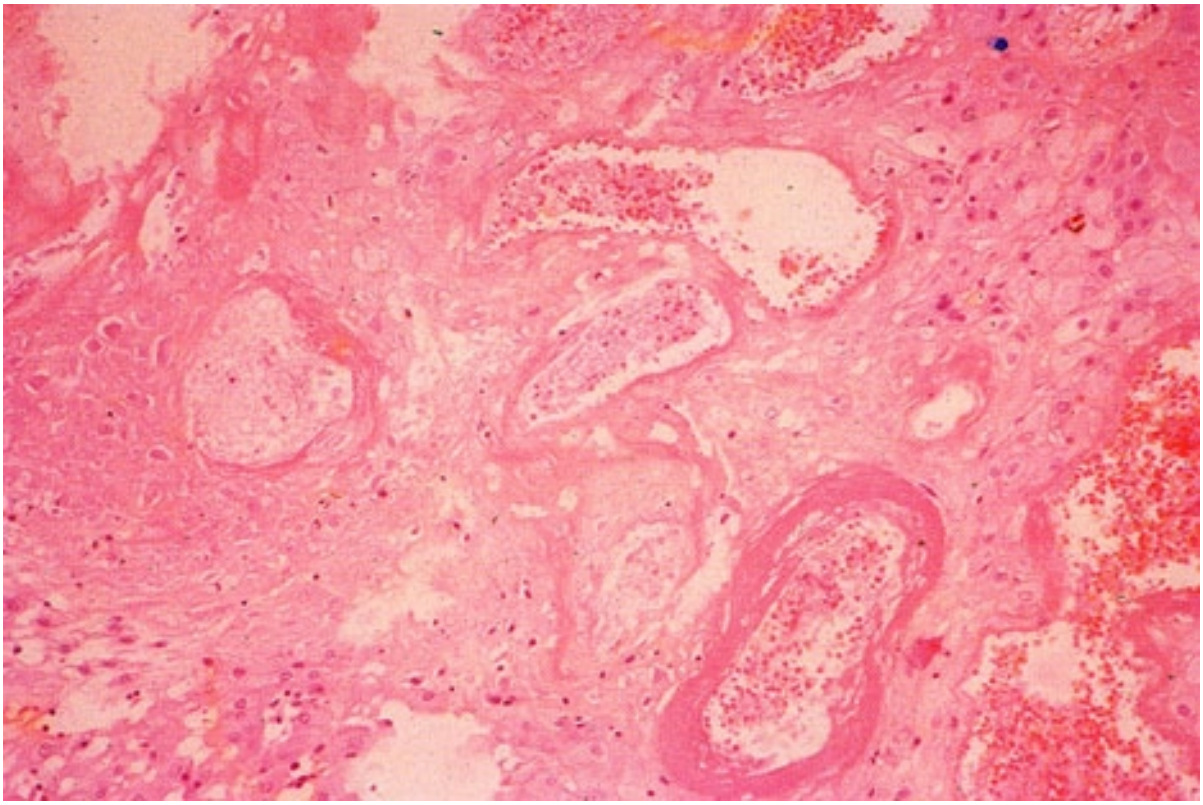


Photo 7 : *Infarctus placentaires et épaississement pariétal des vaisseaux placentaires*

vated liver enzymes, low illatelets : hémolyse, élévation des enzymes hépatiques, thrombopénie) est aussi favorisé par les anticorps anti-phospholipides. Il doit être dépisté mensuellement et au moindre doute clinique par un hémogramme ainsi qu'un dosage de lactate déshydrogénase, haptoglobine et transaminases. C'est également dans cette période qu'ont été observés de nombreuses maladies veineuses thrombo-emboliques (prévalence 10 %) [70] et des accidents ischémiques cérébraux probablement favorisés par l'arrêt de l'aspirine [35].

II.6- Manifestations respiratoires

Les embolies pulmonaires sont fréquentes, parfois révélatrices et doivent être recherchées en cas d'épanchement pleural dans le cadre d'un LES. Les hypertensions artérielles pulmonaires (photo 8) rencontrées dans les SAPL peuvent être en relation avec ces embolies, avec des microthrombi pulmonaires, ou avec l'action des anticorps anti-phospholipides sur le thromboxane et la prostacycline. La prévalence des anticorps anti-phospholipides au cours des hypertensions artérielles pulmonaires lupiques est évaluée à 68 % [6].

Plus rarement sont trouvés des capillarites pulmonaires, un syndrome de détresse respiratoire aiguë ou des hémorragies intra-alvéolaires. Un syndrome respiratoire post-partum a été décrit : il comprend une pleurésie bilatérale douloureuse fébrile et des infiltrats pulmonaires [4].

II.7- Manifestations digestives

Des thromboses de veines sus-hépatiques (syndrome de Budd-Chiari) ou de veine porte peuvent être responsables d'hypertension portale. On a décrit également des infarctus hépatiques ou intestinaux, des cholécystites ischémiques ou des pancréatites aiguës [3].

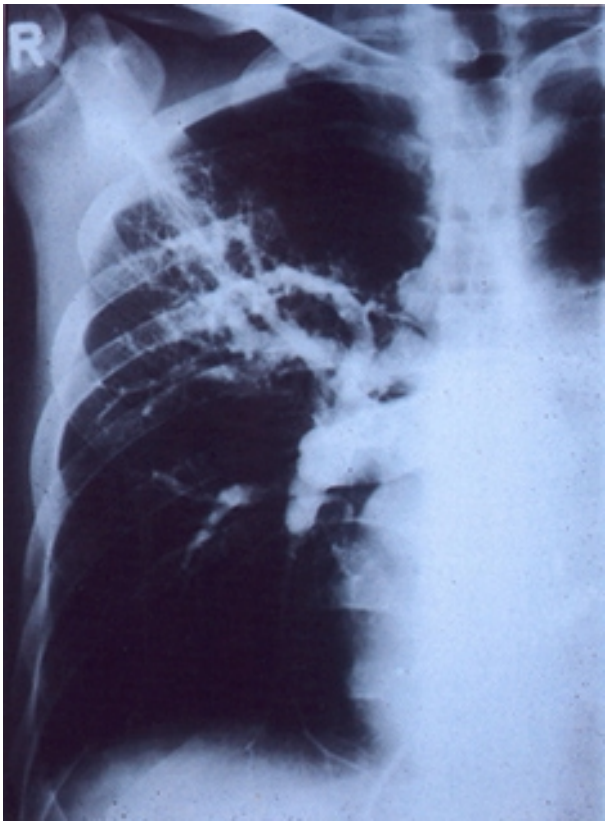


Photo 8 : *Hypertension artérielle pulmonaire : raréfaction de la vascularisation périphérique du poumon gauche*

II.8- Manifestations rénales

La néphropathie du SAPL se manifeste comme une néphropathie vasculaire associant une hypertension artérielle, une insuffisance rénale (87 %) chronique modérée (75 %) plus souvent qu'aiguë (12 %), avec protéinurie et hématurie.

Des thromboses d'artères rénales peuvent être responsables d'hypertension artérielle rénovasculaire. Des thromboses artériolaires ou capillaires peuvent se manifester par une hypertension artérielle ou une insuffisance rénale. Des thromboses de veines rénales peuvent s'associer à des syndromes néphrotiques [57].

La biopsie rénale montre le plus souvent une hyperplasie intimale fibreuse (75 %) mais peut révéler des lésions thrombotiques glomérulaires ou artériolaires (68 %), une atrophie corticale focale (62 %) ou une micro-angiopathie thrombotique (31 %) [50].Les lupiques en insuffisance rénale terminale ont plus souvent des anticorps anti-phospholipides que les lupiques non néphropathes. Ces anticorps sont fréquemment associés à des thromboses de fistule de dialyse [57].

II.9- Manifestations endocriniennes

On a décrit des infarctus bilatéraux des surrénales et des thromboses veineuses surrénaliennes avec hémorragie secondaire puis atrophie. Ils se manifestent par une insuffisance surrénale aiguë ou parfois par de simples douleurs abdominales résolutives chez les lupiques sous corticothérapie. Le déficit est le plus souvent définitif.

Des cas de dysthyroïdie ou d'exceptionnelles atteintes hypothalamo-hypophysaires ont été publiés [3].

II. 10- Syndrome catastrophique des anti-phospholipides

Il est défini par un nombre d'organes atteints par le SAPL supérieur ou égal à trois, et survient fréquemment dans des circonstances particulières telles qu'une infection, une intervention chirurgicale, l'introduction de certains médicaments ou l'arrêt d'un traitement anticoagulant. Une soixantaine de cas de défaillance multiviscérale aiguë par micro-vasculopathie ont été décrits [65].

Il touche, par ordre de fréquence décroissante, les reins, les poumons, le système nerveux central et la peau (80 à 50 %) [51]. Une thrombopénie, une coagulation intravasculaire disséminée et une hémolyse immunologique ou mécanique s'y associent fréquemment. Il est fatal dans plus de la moitié des cas [5].

II.11- Autres manifestations : tableau VI

La thrombopénie est la manifestation hématologique la plus fréquente. Elle est corrélée à la présence d'anticorps anti-cardiolipine de type IgG [32]. Habituellement, elle est comprise entre 50 000 et 100 000/mm^3 et n'est pas associée à un risque hémorragique. Elle est plus importante une fois sur cinq [14]. Dans la moitié des cas, la thrombopénie est liée à la présence d'auto-anticorps de la même spécificité que celle rencontrée au cours du purpura thrombopénique immunologique, anti-glycoprotéine plaquettaire IIbIIIa. Ces anti-corps ne paraissent pas avoir d'activité anti-phospholipides [27]. Par ailleurs, parmi les patients ayant un purpura thrombopénique immunologique, 26 % sont porteurs d'anti-corps anti-phospholipides et 11 % ont un authentique SAPL [25].

L'anémie hémolytique auto-immune est statistiquement liée à la présence d'anticorps anti-cardiolipine de type IgM [17].

III. DIFFÉRENCES ENTRE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES PRIMAIRE ET SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES SECONDAIRE AU LUPUS ÉRYTHÉMATEUX SYSTÉMIQUE

Le livedo et les valvulopathies sont plus fréquents au cours du SAPL secondaire au LES que dans le SAPL primaire (72 % versus 32 % et 67 % versus 37 % respectivement), contrairement aux thromboses artérielles et aux pertes fœtales répétées (13 % versus 44 % et 46 % versus 80 % respectivement) [1], mais cela est possiblement lié à la définition même du SAPL primaire. Biologiquement, la thrombopénie et l'anémie hémolytique auto-immune sont plus fréquentes dans le SAPL secondaire au LES que dans le SAPL primaire (53 % versus 28 % et 22 % versus 7 % respectivement) [67].

Certains critères tentant de distinguer ces deux entités ont été dégagés; ils figurent dans le tableau VII [54]. Cependant, de rares cas se présentant comme des SAPL primaires (3%) ont secondairement des manifestations clinico-biologiques de LES [47].

Tableau VII

Critères d'exclusion du syndrome des anti-phospholipides primaire
- Arthrite franche - Éruption malaire - Lupus discoïde - Ulcération orale ou pharyngée - Pleurésie sans embolie pulmonaire ni insuffisance cardiaque - Péricardite sans infarctus du myocarde ni insuffisance rénale marquée - Protéinurie > 0,5 g/j par glomérulonéphrite par complexes immuns prouvée histologiquement - Lymphopénie inférieure à 1 000/mm^3 - Anticorps anti-nucléaires à titre supérieur à 1/320 - Anticorps anti-ADN natif - Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles - Traitement connu comme inducteur : - phénothiazines, hydantoïnes, éthosuximide - pénicillines, streptomycine, quinine - β bloquants, hydralazine, quinidine, chlorothiazide - œstroprogestatifs - interféron α - procaïnamide

IV. EVOLUTION-PRONOSTIC

Le risque de récidive thrombotique est élevé (69 %) à moyen terme (délai médian 1 an) [37], souvent dans le même type de vaisseaux [61]. Il est très réduit par le traitement anticoagulant au long cours par anti-vitamine K avec INR entre 3 et 4 (1,5 %/patient/an) [37]. Dans des études anciennes, le SAPL paraissait grever le pronostic du lupus [18], mais il semble que, bien traité, il l'altère peu [2].

V. TRAITEMENTS : tableau VIII

Les autres facteurs de risque vasculaire doivent naturellement être traités et les médicaments connus comme inducteurs d'anticorps anti-phospholipides doivent être arrêtés. L'allongement, même sensible, du TCA par la présence d'un anticoagulant circulant lupique n'est pas associé à un risque hémorragique et ne doit absolument pas faire modifier une anticoagulation à dose curative qui devra être exclusivement adaptée à l'héparinémie si une héparine non fractionnée est utilisée.

V.1- Prévention primaire

En présence d'anticoagulant circulant, d'une « fausse sérologie syphilitique » ou d'un taux élevé d'anticorps anti-cardiolipine (> 40 U) sans manifestation clinique, un traitement par aspirine à faibles doses peut être institué. Il paraît d'autant plus indiqué dans le contexte du LES, de grossesse, de facteurs de risque vasculaire associés ou d'images en hypersignal T2 sur une IRM cérébrale. Ce traitement est connu pour réduire le risque d'accident vasculaire.

Tableau VIII

TRAITEMENTS		
Thromboses	Prévention primaire	Aspirine 100 mg/j
	Traitement curatif et prévention secondaire	Anticoagulation à dose curative : - Héparines adaptées à l'héparinémie ou à l'activité anti-Xa - Anti-vitamine K avec INR > 3
	Syndrome catastrophique des anticorps anti-phospholipides	Anticoagulation à dose curative + corticothérapie + plasmaphérèses
Complications obstétricales	Prévention primaire ou secondaire	Aspirine 100 mg/j jusqu'à la 35^{e} semaine d'aménorrhée
	Échec de l'aspirine	Idem + héparine à dose curative (avec calcium, vitamine D)
	Échec d'héparine + aspirine	Idem + corticothérapie Immunoglobulines intraveineuses
Valvulopathies	Remplacement valvulaire si besoin puis anticoagulant à dose efficace	
Thrombopénie	< 50 000/mm^3 ou hémorragies	Corticothérapie, danazol, dapsone, immunoglobulines intraveineuses, voire splénectomie

cérébral ischémique et de perte embryofœtale [29]. Les autres antiagrégants plaquettaires n'ont pas été évalués dans cette indication.

Dans les situations à risque majoré de thrombose, notamment veineuse, une prévention par héparine de bas poids moléculaire à dose isocoagulante s'impose.

V.2- Prise en charge des thromboses

Le traitement curatif des thromboses veineuses ou artérielles est sans particularité en dehors de l'adaptation du traitement anticoagulant. Les doses d'héparine doivent être adaptées à la seule héparinémie car le TCA n'est pas fiable dans le cadre du SAPL, du fait de la présence fréquente et fluctuante d'un anticoagulant circulant.

Sous anti-vitamine K, l'objectif est d'obtenir un INR compris entre 3 et 3,5. En effet, plusieurs études ont montré que les récidives thrombotiques sont fréquentes lorsque l'INR est inférieur à 3 et exceptionnelles au-delà [37, 55, 61].

Le traitement anticoagulant doit être poursuivi au long cours, car la récidive thrombotique est fréquente sans traitement : 50 % à 2 ans et 78 % à 8 ans. Bien équilibré, son efficacité est proche de 100 %, puisque le risque de récidive de thrombose est alors de l'ordre de 1,5 % par an. Ce risque est majeur (54 %) durant les six mois qui suivent l'arrêt du traitement anti-vitamine K. Ce sevrage apparaît donc à éviter formellement [37].

Le risque hémorragique de ce traitement au long cours a été bien étudié, notamment par Khamashta sur une série représentant 410 patients-années [37]. Des hémorragies sont survenues avec une incidence de 7 %/patient/an, mais ont rarement été sévères : 1,7 %/

patient/année. Dans cette série, aucune n'a été fatale, alors que 3 des 5 décès observés étaient liés à des événements thrombotiques. Dans l'étude de Rosove [61], des hémorragies sévères ne sont survenues que lors de surdosages (INR > 4). Le bénéfice de l'anticoagulation est donc considéré comme supérieur à son risque et on peut conseiller la pratique d'un INR bimensuel en phase d'équilibre du traitement par anti-vitamine K.

V.3- Prise en charge des complications obstétricales

La découverte d'anticorps anti-phospholipides chez une femme enceinte, asymptomatique et sans antécédent évocateur de SAPL, n'impose pas de traitement car la probabilité de mener cette grossesse à terme est de l'ordre d'une chance sur deux. Toutefois, un traitement par aspirine à dose antiagrégante, dont l'innocuité est prouvée, peut être envisagé dès le début de la grossesse.

En revanche, en cas d'antécédent de pertes fœtale(s), un traitement est impératif dès le début de la grossesse. On peut commencer par l'aspirine seule (50 à 150 mg/j) dont l'efficacité est au moins de 40 % (jusqu'à 100 % dans une étude [64]). Elle est habituellement arrêtée à la 35^{e} semaine d'aménorrhée afin de permettre une anesthésie péridurale.

En cas d'échec de l'aspirine seule, le traitement de référence est l'association aspirine/ héparine sous-cutanée qui permet d'obtenir 70 à 80 % de réussite [11, 3 8, 60]. L'héparine doit être interrompue aussi brièvement que possible lors de l'accouchement. L'adjonction de corticoïdes proposée en 1983 par une équipe néo-zélandaise [40] garde encore sa place, permettant d'obtenir 83 % de réussite [11] au prix d'un risque majoré d'ostéoporose (à prévenir par calcium et vitamine D), de prééclampsie, de prématurité et de diabète gestationnel.

En cas d'échec de ces médicaments, un traitement par immunoglobulines intraveineuses permet la naissance d'un enfant viable dans plus de 80 % des cas [41].

La surveillance d'une grossesse dans le cadre d'un SAPL doit être attentive, rapprochée, effectuée conjointement par un obstétricien et un interniste [39]. L'échographie obstétricale avec doppler des artères utérines doit être régulièrement pratiquée, au moins à partir de la 22^{e} semaine de grossesse. La surveillance biologique comprend chaque mois : hémogramme, lactate déshydrogénase, haptoglobine, protéine C réactive, créatinine, uricémie et transaminases [8].

V.4- Prise en charge des valvulopathies

L'antibioprophylaxie de l'endocardite bactérienne doit être appliquée malgré la rareté des surinfections. Un traitement symptomatique notamment diurétique peut être indiqué dans environ 5 % des cas.

Des cas d'amélioration de valvulopathies sous corticoïdes (1 mg/kg/j) ont été décrits, mais aucune étude n'en a prouvé l'intérêt. Dans environ 2 % des cas, un remplacement valvulaire est nécessaire; il doit être suivi d'une anticoagulation efficace, quelle que soit la nature de la valve et même en l'absence d'antécédent thrombotique. La mortalité péri-opératoire peut atteindre 25 % [15].

V.5- Prise en charge des thrombopénies

L'objectif thérapeutique est de maintenir les plaquettes au-delà de 50 000/mm^3. La corticothérapie est souvent suffisante. En cas d'échec, le danazol, la dapsone ou les immunoglobulines intraveineuses peuvent être efficaces. En dernière ligne, la splénectomie est efficace dans 90 % des cas [21], y compris durant la grossesse [31].

V.6- Prise en charge du syndrome catastrophique des anti-phospholipides

L'association d'une anticoagulation à dose curative, d'une corticothérapie et de plasmaphérèses permet de réduire à 30 % la mortalité de cette complication gravissime [5].

VI. CONCLUSION

Le SAPL est à présent mieux connu et ses traitements plus codifiés. Ses implications pronostiques et thérapeutiques motivent un diagnostic précoce, suivi d'une prise en charge multidisciplinaire. Des erreurs aux conséquences désastreuses doivent être évitées, notamment par l'information du patient et de tous les praticiens impliqués.

Des progrès sont encore à réaliser afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique, notamment des études prospectives et la recherche de nouveaux facteurs prédictifs de thrombose.

BIBLIOGRAPHIE

1- ALARCON-SEGOVIA D., CABRAL A.R. Antiphospholipid/cofactor syndromes. In Rose N.R., McKay I.R. eds. The autoimmune diseases. New York : Academic press, 1998 : 299-316.

2- ALARCON-SEGOVIA D., PEREZ-RUIZ A., VILLA A.R. Long term prognosis of antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. J. Autoimmunity, 2000; 15 : 157-161.

3- ASHERSON R.A. Adrenal and other intraabdominal manifestations in the antiphospholipid syndrome. In Asherson R.A., Cervera A., Piette J.C. et al. The antiphospholipid syndrome. CRC press, 1996 : 183-193.

4- ASHERSON R.A., CERVERA R. Review : antiphospholipid antibodies and the lung. J. Rheumatol., 1995; 22 : 62-66.

5- ASHERSON R.A., CERVERA R., INGELMO M. Catastrophic antiphospholipid syndrome. Clinical and laboratory features of 50 patients. Medicine, 1998; 77 :195-207.

6- ASHERSON R.A., HIGENBOTTAM T.W., DINH XUAN A.T., KHAMASHTA M.A., HUGHES G.R. Pulmonary hypertension in a lupus clinic : experience with twenty-four patients. J. Rheumatol., 1990; 17 :1292-1298.

7- ASHERSON R.A., LIOTE F., PAGE B. et al. Avascular necrosis of bone and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. J. Rheumatol., 1993; 20 : 284-288.

8- BLETRY O., PIETTE A.M. Recurrent fetal loss and antiphospholipid antibodies : clinical and therapeutic aspects. Infect. Dis. Obstet. Gynecol., 1997; 5 :183-191.

9- BOFFA M.C., PIETTE J.C. Anticorps antiphospholipides : recommandation Paris - 1995. Nouv. Rev. Fr. Hématol., 1995; 37 (suppl. II) : S 117-5120.

10- BRANCH B.W., SILVER R.M. Criteria for antiphospholipid syndrome : early pregnancy loss, fetal loss, or recurrent pregnancy loss, Lupus, 1996; 5 : 409-413.

11- BRANCH B.W., SILVER R.M., READING J.C. et al. Outcome of treated pregnancies in women with antiphospholipid syndrome : an update of the Utah experience. Obstet. Gynecol., 1992; 80 : 614-620.

12- CERVERA R., FONT J., URBANO-MARQUEZ A. Isotype distribution of anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus : prospective analysis of a series of 100 patients. Ann. Rheumatol. Dis., 1990; 49 : 109-113.

13- CHIARUGI L., PRISCO D., CAPANNI M. et al. Antiphospholipid antibodies : a new risk factor for restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty ? Autoimmunity, 1998; 27 : 141-148.

14- CUADRADO M.J., MUJIC F., HUGHES G.R. et al. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. Ann. Rheum. Dis., 1997; 56 : 194-196.

15- DAJEE H., HURKEY E.J., SZARNICKI R.J. Cardiac valve replacement in systemic lupus erythematosus. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 1983; 85 : 718-726.

16- DE BRANDT M., BENALI K., GUILLEVIN L. et al. Longitudinal determination of antiphospholipid antibodies in lupus patients without previous manifestations of antiphospholipid syndrome. J. Rheumatol., 1999; 26 : 91-96.

17- DELEZE M., ALARCON-SEGOVIA D., ORIA C.V. Hemocytopenia in systemic lupus erythematosus. J. Rheumatol., 1989; 16 : 926-930.

18- DRENKARD C., VILLA A.R., ALARCON-SEGOVIA D., PEREZ-VAZQUEZ et al. Influence of the antiphospholipid syndrome in the survival of patients with systemic lupus erythematosus. J. Rheumatol., 1994; 21 : 1067-1072.

19- DREYFUS M., HEDELIN G., KUTNAHORSKY R. et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia : a case-controle study. Obstet. Gynecol., 2001; 97 : 29-34.

20- ESCHWEGE V. Cibles antigéniques et pathogénicité. Réflex. Rhumatol., 1999; 16 : 4-7.

21- FONT J., JIMENEZ S., CERVERA R. et al. Splenectomy for Evans'syndrome associated with antiphospholipid antibodies. Ann. Rheum. Dis., 2000; 59 : 920-923.

22- FRANCES C., BLETRY O., PIETTE J.C. Dermatologic manifestations in the anti-phospholipid syndrome. In Asherson R.A., Cervera R., Piette J.C. et coll. The antiphospholipid syndrome. CRC Press, Boca Raton, 1996; 201-212.

23- FRANCES C., PAPO T., WECHSLER B. et al. Sneddon syndrome with or without antiphospholipid antibodies. Medicine, 1999; 78 : 209-219.

24- FRANCES C., PIETTE J.C. Cutaneous manifestations of Hughes syndrome occuring in the context of lupus erythematosus. Lupus, 1997; 6 : 139-144.

25- FUNAUCHI M., HAMADA K., ENOMOTO H. et al. Characteristics of the clinical findings in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura who are positive for anti-phospholipid antibodies. Intern. Med., 1997; 36 : 882-885.

26- FURIE R., ISHIKAWA T., DHAWAN V., EIDELBERG D. Alternating hemichorea in primary antiphospholipid syndrome : evidence for contralateral striatal hypermetabolism. Neurology, 1994; 44 : 2197-2199.

27- GODEAU B., PIETTE J.C., FROMONT P. et al. Specific antiplatelet glycoprotein autoantibodies are associated with the thrombocytopenia of primary antiphospholipid syndrome. Br. J. Haematol., 1997; 98 : 873-879.

28- GOMEZ-PACHECO L., VILLA A.R., DRENKARD C. et al. Serum anti-(β_2 glycoprotein I and anticardiolipin antibodies during thrombosis in systemic lupus erythematosus. Am. J. Med., 1999; 106 : 417-423.

29- HACHULLA E., PIETTE A.M., HATRON P.Y., BLETRY O. Aspirine et syndrome des antiphospholipides. Rev. Med. Interne, 2000; 21 (suppl. 1) : 83-88.

30- HAMSTEN M., BJORKHOLM M., NORBERG R., DE FAIRE U., HOLM G. Antibodies to cardiolipin in young survivors of myocardial infarction : an association with recurrent cardiovascular events. Lancet, 1986; 1 : 114-117.

31- HARDWICK R.H., SLADE R.R., SMITH P.A., THOMPSON M.H. Laparoscopic splenectomy in pregnancy. J. Laparoendose Adv. Surg. Tech. A, 1999; 9 : 439-440.

32- HARRIS E.N., ASHERSON R.A., GHARAVI A.E. et al. Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders. Br. J. Haematol., 1985; 59 : 227-230.

33- HARRIS E.N., BAGULEY E., ASHERSON R.A., HUGHES G.R.V. Clinical and serological features of the « antiphospholipid syndrome ». Br. J. Rheumatol., 1987; 26 (Suppl. 2) : 19.

34- HOCHBERG M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum., 1997; 40 : 1725.

35- HUONG D.L.T., WECHSLER B., EDELEMAN P. et al. Postpartum cerebral infarction associated with aspirin withdrawal in the antiphospholipid antibody syndrome. J. Rheumatol., 1993; 20 : 1229-1232.

36- KAPLAN S.D., CHARTASH E.K., PIZZARELLO R.A., FURIE R.A. Cardiac manifestations of the antiphospholipid syndrome. Am. Heart J., 1992; 124 : 1331-1338.

37- KHAMASHTA M.A., CUADRADO M.J., MUJIC F. et al. Management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. N. Engl. J. Med., 1995; 332 : 993-997.

38- KUTTEH W.H. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. Am. J. Obstet. Gynecol., 1996; 174 : 15 84-15 89.

39- LIMA F., KHAMASHTA M.A., BUCHANAN N.M. et al. A study of sixty pregnancies in patients with antiphospholipid syndrome. Clin. Exp. Rheumatol., 1996; 14 : 131-134.

40- LUBBE W.F., BUTLER W.S., PALMER S.J., LIGGINS G.C. Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus-anticoagulant. Lancet, 1983; 1 : 1361-1363.

41- MARZUSCH K., DIETL J., KLEIN R. et al. Recurrent first trimester spontaneous abortion associated with antiphospholipid antibodies : a pilot study of treatment with intravenous immunoglobulin. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 1996; 75 : 922-926.

42- MICHEL M., MEYER O., FRANCES C. et al. Bases immunogénétiques du lupus chez l'homme. Rev. Med. Interne, 1998; 19 : 726-730.

43- MILANOV I., BOGDANOVA D. Antiphospholipid syndrome and dystonia-parkinsonism. A case report. Parkinsonism Relata Disord., 2001; 7 :139-141.

44- MISEROCCHI E., BALTATZI S., FOSTER S. Ocular features associated with anticardiolipin antibodies : a descriptive study. Am. J. Ophtalmol., 2001; 131 : 451-456.

45- MONTILLA C., ALARCON-SEGOVIA D. Anetoderma in systemic lupus erythematosus : relationship to antiphospholipid antibodies. Lupus, 2000; 9 : 545-547.

46- MORTON K.E., GAVAGHAN T.P., KRILIS S.A. et al. Coronary artery bypass graft failure - an autoimmune phenomenon ? Lancet, 1986; 2 : 1353-1357.

47- MUJIC F., CUADRADO M.J., LLOYD M. et al. Primary antiphospholipid syndrome evolving into systemic lupus erythematosus. J. Rheumatol., 1995; 22 : 1589-1592.

48- NESHER G., ILANY J., ROSENMANN D., ABRAHAM A.S. Valvular dysfunction in antiphospholipid syndrome : prevalence, clinical features and treatment. Semin. Arthritis Rheum., 1997; 27 : 27-35.

49- NIELSEN T.G., NORDESTGAARD B.G., VON JESSEN F. et al. Antibodies to cardiolipin may increase the risk of failure of peripheral vein bypasses. Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg., 1997; 14 : 177-184.

50- NOCHY D., DAUGAS E., HUONG D.L. et al. Kidney involvement in the antiphospholipid syndrome. J. Autoimmunity, 2000; 15 :127-132.

51- PAPO T., PIETTE J.C. Syndrome catastrophique des antiphospholipides. Sang Thrombose Vaisseaux, 1999; 11 : 150-154.

52- PELTOLA J.T., HAAPALA A.M., ISOJARVI J.I. et al. Antiphospholipid antibodies and antinuclear antibodies in patients with epilepsy or new onset seizure disorders. Am. J. Med., 2000; 109 : 712-717.

53- PEREZ-VAZQUEZ M.E., VILLA A.R., DRENKARD C. et al. Influence of disease duration, continued follow up and further antiphospholipid testing on the frequency and classification category of antiphospholipid syndrome in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus. J. Rheumatol., 1993; 20 : 437-442.

54- PIETTE J.C., WECHSLER B., FRANCES C. et al. Exclusion criteria of primary anti-phospholipid syndrome. J. Rheumatol., 1993; 20 : 1802-1804.

55- PIETTE J.C. Prevention of recurrent thromboses in the antiphospholipid syndrome. Lupus, 1994; 3 : 73-74.

56- PIETTE J.C., AMOURA Z., WECHSLER B. et al. Manifestations neurologiques du syndrome des antiphospholipides. Rev. Med. interne, 1998; 19 (suppl. 1) : 39-45.

57- PIETTE J.C., CACOUB P., WECHSLER B. Renal manifestations of the antiphospholipid syndrome. Semin. Arthrites Rheum., 1994; 23 : 357-366.

58- PIETTE J.C., PAPO T., GODEAU B. Nasal septal perforation : a new manifestation associated with antiphospholipid antibodies. Lupus, 1994; 3 : 345.

59- PUISIEUX F., DE GROOTE P., MASY E. et al. Association between anticardiolipin antibodies and mortality in patients with peripheral arterial disease. Am. J. Med., 2000; 109 : 635-640.

60- RAI R., COHEN H., DAVE M., REGAN L. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). BMJ, 1997; 314 : 253-257.

61- ROSOVE M.H., BREWER P.M.C. Antiphospholipid thromboses : clinical course after the first thrombotic event. Ann. Intern. Med., 1992; 117 : 303-308.

62- SEBASTIANI G.D., GALEAZZI M., MOROZZI G., MARCOLONGO R. The immunogenetics of the antiphospholipid syndrome, anticardiolipin antibodies, and lupus anticoagulant. Semin. Arthrites Rheum., 1996; 25 : 414-420.

63- SHAH N.M., KHAMASHTA M.A., ATSUMI T. et al. Outcome of patients with anticardiolipin antibodies : a 10 year follow up of 52 patients. Lupus, 1998; 117 : 3-6.

64- SILVER R.K., MACGREGOR S.N., SHOLL J.S. et al. Comparative trial of prednisone plus aspirine versus aspirine alone in the treatment of anticardiolipin antibody positive obstetric patients. Am. J. Obstet. Gynecol., 1993; 169 : 1411-1417.

65- TRIPLETT D.A., ASHERSON R.A. Pathophysiology of the catastrophic antiphospholipid syndrome. Am. J. Hematol., 2000; 65 : 154-159.

66- V AARLA O., MANTTARI M., MANNINEN V., TENKANEN L., PUURUNEN M. et al. Anticardiolipin antibodies and risk of myocardial infarction in a prospective cohort of middle aged men. Circulation, 1995; 91 : 23-27.

67- VIANNA J.L., KHAMASHTA M.A., LOPEZ-SOTO A. et al. Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome : a european multicenter study of 114 patients. Am. J. Med., 1994; 96 : 3-9.

68- VINATIER D., DUFOUR P., COSSON M., HOUPEAU J.L. Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriages. Eur. J. Obster. Gynecol. and Reprod. Biol., 2001; 96: 37-50.

69- WILSON W.A., GHARAVI A.E., KOIKE T. et al. International consensus statement on priliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome : report of an international workshop. Arthritis Rheum., 1999; 42: 1309-1311.

70- YASUDA M., TAKAKUWA K., TANAKA K. et al. Prospective studies of the association between ailticardiolipin ailtibody and outcome of pregnancy. Obstet. Gynecol., 1995; 86; 555-559.

71- ZUCKERMAN E., TOUBI E., SHIRAN A. et al. Anticardiolipin antibodies and acute myocardial infarction in non-systemic lupus erythematosus patients : a controlled prospective study. Am. J. Med., 1996; 171 : 381-386.

LES ANTICOAGULANTS ANTI-PHOSPHOLIPIDES DÉTECTÉS PAR LES TESTS DE COAGULATION: LES ANTICOAGULANTS LUPIQUES

D.ARNOUX

I. INTRODUCTION

Au sein de la famille hétérogène des anticorps anti-phospholipides, le terme d'anticoagulant lupique (LA pour lupus anticoagulant) désigne des anticorps définis par leur capacité de prolonger certains tests de coagulation dépendants des phospholipides. Décrit pour la première fois en 1952 par Conley et Hartmann chez des patients lupiques [13], ce type d'anticorps a ensuite été retrouvé dans des circonstances cliniques très diverses en dehors du lupus érythémateux systémique (LES). C'est pourtant la dénomination de LA, proposée en 1972 par Feinstein et Rapaport [20], qui, bien qu'ambiguë puisque ces anticorps ne sont nullement spécifiques du lupus, a été retenue par les experts internationaux pour les désigner. Ces anticorps sont également connus sous les termes « d'anti-prothrombinase » ou « d'anti-thromboplastine ». Cette terminologie est également inadéquate du fait du caractère exceptionnel des manifestations hémorragiques qui leur sont associées. Les LA n'exercent d'effet anticoagulant qu'in vitro, et ne s'accompagnent d'une tendance hémorragique que dans les rares cas où ils sont associés à un déficit acquis en prothrombine ou à une thrombopénie majeure. Ils s'opposent en cela aux anticorps dirigés contre un facteur de la coagulation ou inhibant la fibrinoformation. Bien au contraire, leur présence persistante s'accompagne d'une augmentation du risque thrombotique. Elle représente, au même titre que celle d'anticorps anti-cardiolipine, l'un des critères biologiques définissant le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) [59].

Depuis l'individualisation de cette entité clinique associant la survenue d'accidents thrombotiques et/ou de pertes fœtales récidivantes avec la présence persistante d'anticorps anti-phospholipides, en 1987 [28], les LA n'ont cessé de susciter un grand intérêt, dont témoigne le nombre de publications scientifiques qui leur sont consacrées (plus de 1 500 références dans la banque Medline au cours des 10 dernières années).

II. CARACTÉRISTIQUES IMMUNOLOGIQUES DES LA

Les LA sont en général des anticorps polyclonaux (bien que des LA monoclonaux puissent s'observer dans le cadre des syndromes lymphoprolifératifs). Ils peuvent être d'isotype IgG, IgM ou IgA ou associer plusieurs classes d'immunoglobulines. Il est maintenant admis que les LA ne sont souvent pas dirigés directement contre les phospholipides mais contre des protéines plasmatiques capables de se lier à ces phospholipides (« cofacteurs »). Deux tels co-facteurs protéiques des LA ont été bien caractérisés : la β_2 glycoprotéine I (β_2GPI) [22, 40], qui joue également ce rôle de co-facteur pour les anticorps

anti-cardiolipine dits β_2GPI -dépendants, et la prothrombine [8, 36]. Les anticorps peuvent reconnaître sur ces protéines des néo-antigènes formés après interaction avec les phospholipides ou, dans certains cas, les protéines sous leur forme native. L'activité LA des anticorps dépendants de la β_2GPI semble liée à leur capacité de former des complexes stables bivalents avec la β_2GPI sur une surface phospholipidique [3]. Dans des contextes auto-immuns, comme le LES ou le SAPL, les deux types de spécificités (anti-β_2GPI et anti-prothrombine) coexistent habituellement chez un même patient.

III. CIRCONSTANCES DE SURVENUES DES LA

Les LA peuvent se voir à tout âge, avec une plus grande fréquence chez les femmes, notamment dans des contextes auto-immuns. Leur prévalence dans une population « normale » est estimée entre 1,5 et 4 % [42], avec une tendance à l'augmentation avec l'âge.

Chez l'enfant, il n'est pas rare de les voir apparaître dans un contexte infectieux en particulier viral. Ils sont souvent détectés fortuitement par l'allongement du temps de céphaline avec activateur (TCA) lors d'un bilan pré-opératoire [37]. Les LA associés à une pathologie infectieuse sont généralement transitoires et disparaissent quelques semaines après l'affection en cause lorsque celle-ci est curable. Ils n'exposent les sujets qui en sont porteurs à aucun risque hémorragique particulier, sauf dans les très rares cas où ils s'accompagnent d'un déficit acquis sévère en prothrombine. Dans ce cas, il existe des anticorps reconnaissant la prothrombine avec une forte affinité, qui entraînent sa clairance accélérée [7, 35].

Dans la population adulte, les étiologies des LA sont très diverses. On peut les détecter dans le cadre d'affections auto-immunes, principalement le LES, avec une prévalence dans cette affection estimée à 30 à 50 %, mais aussi au cours d'autres maladies auto-immunes ou inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, maladie de Gougerot-Sjögren, maladie de Horton, maladie de Behçet, sclérodermie...). Ils peuvent aussi être associés à des maladies néoplasiques, tumeurs solides ou hémopathies lymphoïdes (lymphomes, leucémie à tricholeucocytes, leucémie lymphoïde chronique, maladie de Waldenström). Comme chez l'enfant, ils peuvent être secondaires à des maladies infectieuses bactériennes, virales ou parasitaires. On les observe par exemple chez des sujets infectés par le VIH avec une prévalence atteignant 70 % dans certaines études, avec un caractère fluctuant en fonction des infections concomitantes. Les LA ont parfois une origine iatrogène. La chlorpromazine est le médicament le plus fréquemment incriminé [51], mais d'autres produits peuvent être en cause : procaïnamide, hydralazine, quinidine, phénytoïne, divers antibiotiques, interféron.

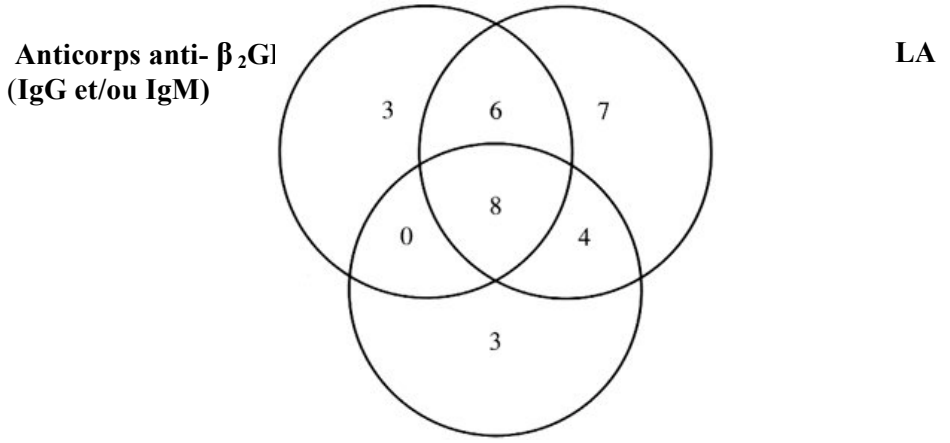
Enfin, en dehors de tout contexte clinique identifié, on peut les détecter à l'occasion de bilans étiologiques de thromboses veineuses ou artérielles insolites ou de pertes fœtales récidivantes inexpliquées, l'un ou l'autre de ces critères cliniques permettant de définir, en cas de persistance du LA (et/ou d'un anticorps anti-cardiolipine), l'existence d'un SAPL primaire [59].

IV. LA ET ANTICORPS ANTI-CARDIOLIPINE : DES ENTITÉS DISTINCTES

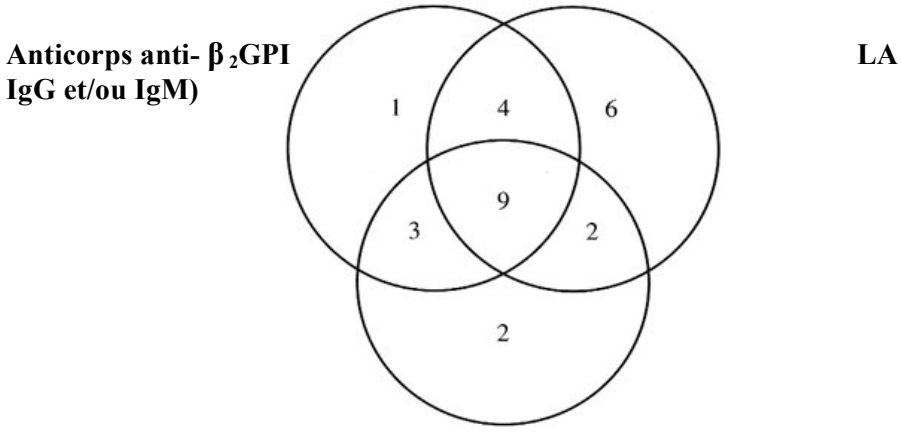
Bien qu'ils soient rencontrés dans des contextes cliniques similaires, les LA et les anticorps anti-phospholipides mis en évidence par des méthodes immunologiques constituent bien des entités distinctes. *In vitro*, plusieurs auteurs ont réussi à séparer, à partir de sérums de patients, les anticorps présentant une activité « anticoagulante » de type LA de ceux identifiés comme anticorps anti-cardiolipine [11, 18]. Il est également bien démontré que, chez des patients présentant une pathologie auto-immune, LES ou SAPL, les « profils anti-phospholipides » détectés sont très hétérogènes, et que les différents types d'anticorps ne sont pas systématiquement associés. Leur taux de recouvrement n'est que de 60 % environ. Il est donc fréquent de rencontrer un LA en l'absence d'autres anticorps anti-phospholipides ou, à l'inverse, des anticorps anti-cardiolipine sans LA associé.

Les études évaluant la prévalence des différents types d'anticorps anti-phospholipides dans des populations cliniques définies sont difficiles à comparer du fait de l'hétérogénéité des techniques mises en oeuvre [27, 43]. Des progrès ont été accomplis, en ce qui concerne la détection des LA, avec la formulation de recommandations internationales par le sous-comité « lupus anticoagulant » de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis [9, 19] et des essais de standardisation sont aussi en cours pour le dosage des anticorps anti-phospholipides par méthode ELISA [53]. Néanmoins, il reste difficile d'avoir une idée précise du degré de concordance biologique des différents types d'anticorps dans une situation clinique donnée. À titre d'exemple, l'étude d'une cohorte de patients (Hopkins lupus cohort) atteints de SAPL avec des manifestations thrombotiques veineuses ou artérielles secondaires à un LES [42] a montré la présence de LA, seuls ou associés à un autre anticorps anti-phospholipides, dans 74 % des cas de thrombose veineuse et 65 % des cas de thrombose artérielle. Environ 30 % des patients avaient un LA isolé, 15 % des anticorps anti-cardiolipine isolés et 5 % des IgG anti-β_2GPI isolés. Des anticorps anti-cardiolipine et des IgG anti-β_2GPI, seuls ou associés à un autre anticorps anti-phospholipides, étaient présents dans respectivement 58 % et 53 % des cas de thrombose veineuse et 65 % et 43 % des cas de thrombose artérielle.

Ces résultats sont concordants avec notre expérience personnelle. Dans une cohorte de patients suivis dans le cadre de la Fédération Auto-Immunité et Thrombose de l'hôpital de la Conception, nous avons étudié la prévalence des anticorps anti-phospholipides « classiques » : LA, anticorps anti-cardiolipine (IgG et/ou IgM) et anticorps anti-β_2GPI (IgG et/ou IgM) chez 62 patients atteints de maladie auto-immune (LES dans la grande majorité des cas) sans complication thrombotique et chez 27 patients ayant un SAPL primaire ou secondaire. Dans le groupe des pathologies auto-immunes sans thrombose (figure 1A), le sérum de 50 % des patients contenait au moins un anticorps anti-phospholipides. Parmi eux, 7 sur 31 (22 %) avaient un LA isolé, 3 sur 31 (10 %) des anti-corps anti-cardiolipine isolés, et 3 sur 31 (10 %) des anticorps anti-β_2GPI uniquement. Ainsi, chez 42 % des patients « positifs », l'un des trois anticorps était donc retrouvé isolément, avec une plus grande fréquence de LA. Dans le groupe des SAPL (figure 1B), 6 sur 27 (22 %) des patients avaient un LA isolé, 2 sur 27 (7,5 %) des anticorps anti-cardiolipine isolés et un seul patient (3,5 %) n'avait que des anticorps anti-β_2GPI; le tiers des patients n'avait donc qu'un seul type d'anticorps. Dans cette série, la recherche de LA seul aurait



1 A : 62 patients atteints de maladie auto-immune (LES) sans thrombose : répartition des anticorps chez les 31 patients « positifs ».



1 B : 27 patients atteints de SAPL primaire ou secondaire.

Figure 1

donc permis de faire le diagnostic du SAPL dans 78 % des cas, la recherche d'anticorps anti-cardiolipine dans 59 % des cas, et celle d'anticorps anti-β_2GPI chez 63 % des patients.

Dans le contexte obstétrical, une étude récemment publiée de la prévalence des anticorps anti-phospholipides dans une large population de femmes ayant des antécédents de pertes fœtales spontanées récidivantes inexpliquées (qui constituent l'un des critères cliniques du SAPL) souligne également l'hétérogénéité des « profils anti-phospholipides » de ces patientes [26]. Il apparaît en effet que, si plusieurs types d'anticorps (LA, IgG anti-β_2GPI et IgM anti-phosphatidyléthanolamine notamment) sont statistiquement associés aux événements cliniques, ces différents anticorps sont présents de façon isolée dans la plupart des

cas. En effet, seuls des LA étaient détectés dans 58 % des cas, des anticorps anti-phosphatidyléthanolamine dans 73 % des cas et des IgG anti-β_2GPI dans 70 % des cas. Ces observations prouvent, s'il en est encore besoin, que la mise en œuvre de différents types de tests de recherche d'anticorps anti-phospholipides, tests immunologiques et tests d'hémostase, est indispensable dans un contexte clinique évocateur. Loin d'être redondantes, ces approches sont complémentaires.

V. PLACE DES LA EN TANT QUE MARQUEURS DU RISQUE THROMBOTIQUE

Différentes études se sont attachées à déterminer quels anticorps anti-phospholipides étaient le mieux corrélés avec le risque thrombotique, tant chez des lupiques qu'en dehors de cette situation clinique. Leurs résultats concordent sur le fait que les LA, quel que soit le contexte clinique considéré, représentent le plus fort marqueur du risque thrombotique. Cette notion apparaît clairement en ce qui concerne les thromboses veineuses [14, 24, 29, 41, 50, 58]. La méta-analyse de D. Wahl et coll. [58] montre, par exemple, que chez des lupiques le risque de survenue de thromboses veineuses (thromboses veineuses profondes et embolie pulmonaire) est multiplié par 6 chez les patients ayant un LA et par 2 en cas d'anticorps anti-cardiolipine (par rapport aux patients n'ayant pas d'anticorps anti-phospholipides). Cette association préférentielle thrombose/LA semble également se vérifier dans le cadre de la pathologie thrombotique artérielle [1, 14, 39, 42]. Parmi les tests de détection des LA, la positivité du test au venin de vipère Russel dilué (DRVVT, voir ci-dessous) pourrait être la plus prédictive de la survenue d'événements thrombotiques [1, 23].

VI. PHYSIOPATHOLOGIE DES THROMBOSES ASSOCIÉES AUX LA

Les mécanismes physiopathologiques des thromboses et des accidents obstétricaux associés aux anticorps anti-phospholipides ont fait l'objet de nombreux travaux. Des hypothèses très diverses ont été évoquées pour tenter d'expliquer les manifestations cliniques caractéristiques du SAPL [48]. Les LA et, plus largement, les anticorps anti-phospholipides pourraient exercer leur effet en perturbant des mécanismes antithrombotiques physiologiques : système anticoagulant thrombomoduline/ protéine C/protéine S; activation de l'antithrombine par les héparane-sulfates endothéliaux, effet anticoagulant de l'annexine V placentaire ou endothéliale; équilibre entre l'activation et l'inhibition de la fibrinolyse; synthèse endothéliale de prostacycline anti-agrégante (figure 2). Les anticorps anti-phospholipides pourraient aussi exercer leur effet à travers un processus d'activation cellulaire : expression de facteur tissulaire par l'endothélium et les monocytes; génération de microvésicules procoagulantes à partir des plaquettes et de l'endothélium; expression accrue des molécules d'adhérence E-Sélectine, VCAM-1 et ICAM-1 par les cellules endothéliales (figure 3). Compte tenu de la grande hétérogénéité des anticorps associés au SAPL, il est très probable que plusieurs de ces mécanismes pourraient en réalité être impliqués, rendant ainsi compte de la diversité clinique de cette pathologie.

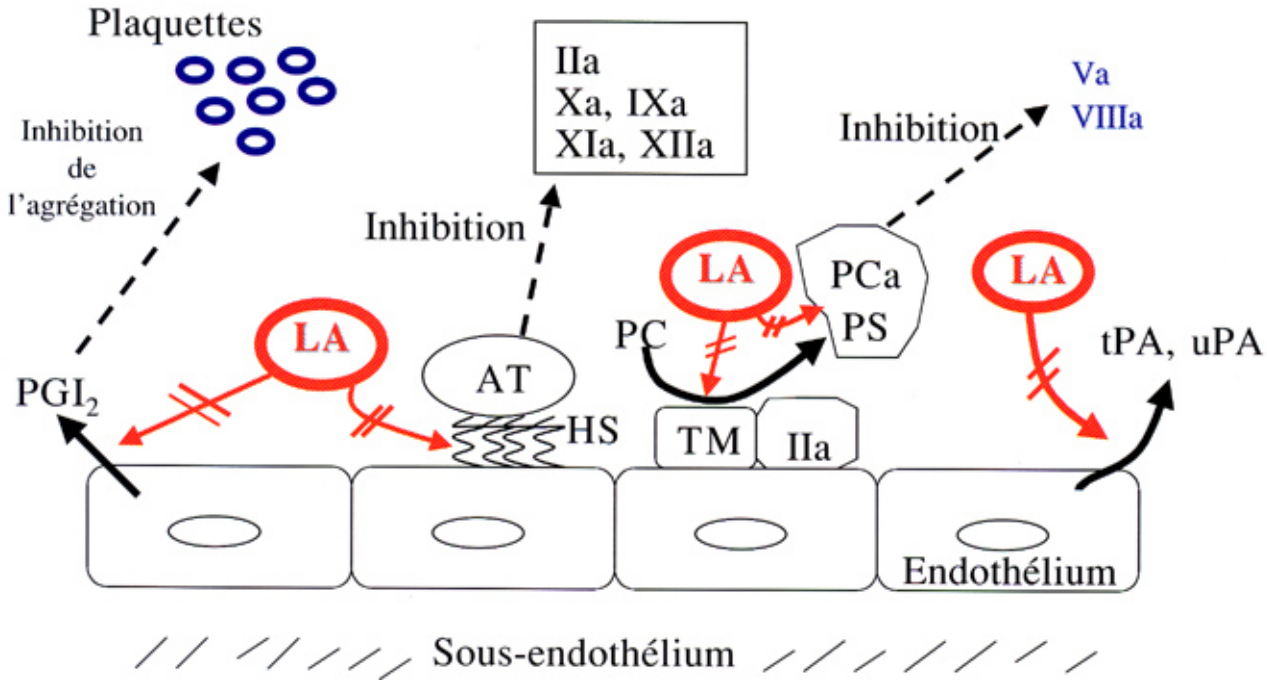
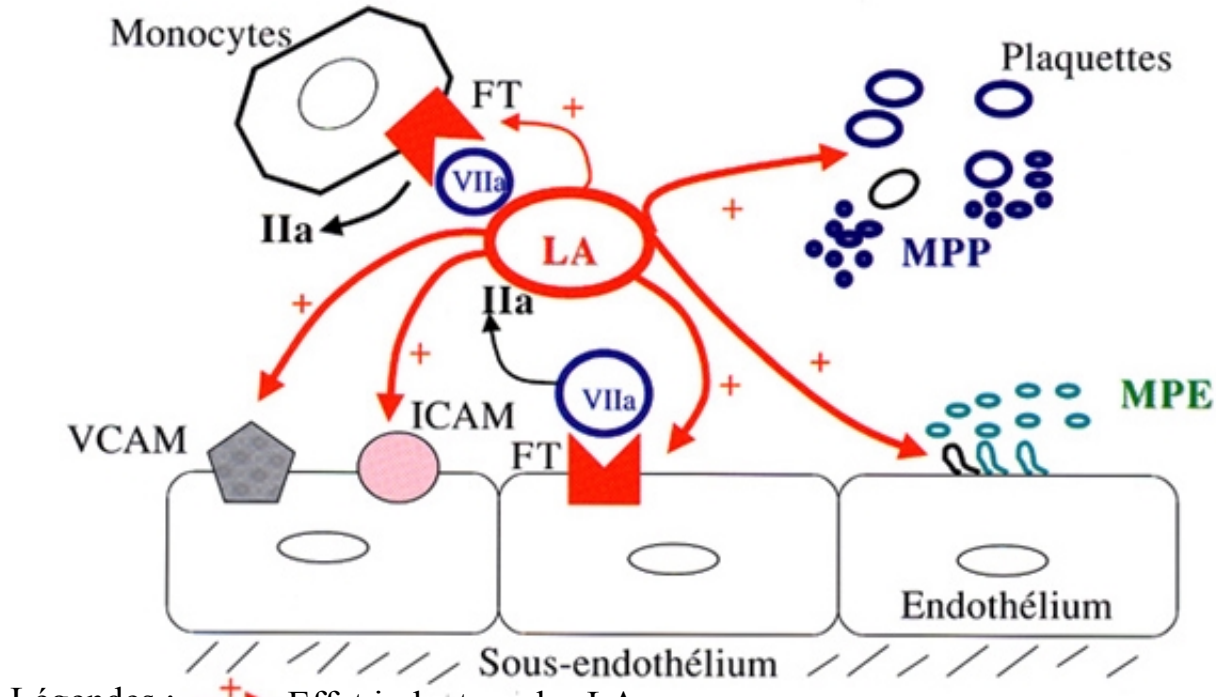


Figure 2



Légendes : + → Effet inducteur des LA

-MPP : microparticules plaquettaires -FT : Facteur tissulaire (initiation de la coagulation)
-MPE : microparticules endothéliales -IIa : Thrombine
-VACAM, : ICAM : molécules d'adhésion pour leucocytes et/ou plaquettes

Figure 3

VII. LES ÉCUEILS DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES LA

La mise en évidence des LA, bien que faisant appel à des tests de coagulation simples, peut s'avérer délicate, en raison de plusieurs difficultés :

- Le premier point critique est leur hétérogénéité biologique. En effet, comme déjà souligné plus haut, la mise en évidence d'une activité LA correspond le plus souvent à la présence concomitante d'anticorps polyclonaux d'isotypes et de spécificités diverses (anti-β_2GPI et/ou anti-prothrombine). Cette diversité s'accompagne de profils biologiques extrêmement variables, en fonction de la sensibilité respective des tests de détection des différents anticorps présents [23]. Ceci impose la mise en œuvre d'une combinaison de tests alliant sensibilité et spécificité.

- La qualité du prélèvement est d'une grande importance. Il est essentiel de disposer d'un plasma citraté parfaitement exempt de plaquettes résiduelles ($< 10 \times 10^9$/l). En effet, les phospholipides libérés lors de la lyse des plaquettes résiduelles pourraient neutraliser un éventuel LA présent en faible concentration, en particulier si le plasma est utilisé après décongélation. Pour disposer d'un plasma parfaitement exempt de plaquettes résiduelles, il est conseillé de procéder soit à une double centrifugation (deux étapes de centrifugation de 10 min à 3 500 t/min, séparées par une décantation en tube plastique), soit à une filtration du plasma sur filtre de faible porosité (0.22 microns).

- Une autre source d'erreur potentielle est représentée par la présence d'héparine (héparine non fractionnée ou héparine de bas poids moléculaire) dans les échantillons. Elle peut être facilement dépistée par la réalisation d'un temps de thrombine. Bien que certains tests de diagnostic soient réputés insensibles à l'héparine (grâce à l'ajout aux réactifs de produits neutralisants), la recherche de LA dans des prélèvements contenant de l'héparine est déconseillée. En revanche, elle est possible chez des patients recevant un traitement anti-coagulant oral équilibré.

- L'appareillage utilisé pour le diagnostic (mode de détection électromécanique ou optique du caillot) est aussi un paramètre dont il faut tenir compte, car il semble pouvoir influencer notablement la sensibilité et la spécificité des tests de détection des LA [34].

- Enfin, une autre limite du diagnostic est liée à l'absence de standard biologique de LA. Aucun matériel de référence permettant une évaluation quantitative de l'activité LA d'un plasma n'est à ce jour disponible. Le résultat rendu est qualitatif, indiquant seulement « l'absence » ou la « présence » d'un LA, éventuellement « fort » ou « faible » en fonction du degré de positivité des tests biologiques. Seuls des plasmas de contrôle « positifs » ou « négatifs » sont proposés par certains fabricants. Ce problème pourrait dans l'avenir trouver une solution, grâce au développement d'anticorps monoclonaux anti-β_2GPI et anti-prothrombine doués d'une activité anticoagulante de type LA et qui, isolément ou en mélange, pourraient permettre de calibrer les tests de diagnostic [4, 5]. Ceci aurait à la fois un intérêt technique (standardisation intra ou inter-laboratoires, comparaison de différents réactifs ou de lots de fabrication d'un même réactif) et un intérêt clinique, en recherchant une éventuelle corrélation entre le degré de positivité des LA et les manifestations thrombotiques qui leur sont associées.

VIII. LES ÉTAPES DU DIAGNOSTIC

Le sous-comité « lupus anticoagulant/phospholipid-dependent antibodies » de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis a formulé, il y a quelques années, des recommandations pour le diagnostic des LA [9, 19]. Ces recommandations s'avèrent essentielles si l'on considère l'hétérogénéité des résultats fournis par différentes études multicentriques et contrôles de qualité inter-laboratoires nationaux ou internationaux, réalisés au cours des dernières années [6, 10, 31, 49]. À titre d'exemple, lors du premier contrôle de qualité français Étalonorme réalisé en 1994 [49], sur un échantillon contenant un LA de forte activité, seuls 1 862 laboratoires parmi les 4 029 ayant donné une réponse, l'avaient correctement identifié. Dans une autre étude britannique impliquant 220 centres plus spécialisés en coagulation, près de la moitié des centres participants s'étaient avérés incapables de mettre en évidence un LA de faible activité et, à l'inverse, le quart d'entre eux avaient porté un faux diagnostic de LA pour un échantillon de déficit en facteur IX [31].

Les experts préconisent l'utilisation d'une procédure comportant quatre étapes

1. Dépistage des LA : mise en évidence de l'allongement de tests de coagulation faisant intervenir des phospholipides.

2. Mise en évidence d'une activité inhibitrice : absence de correction de l'allongement après mélange du plasma à tester avec du plasma normal.

3. Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur.

4. Exclusion d'une anomalie associée (déficit ou inhibition spécifique de l'un des facteurs de la coagulation).

Les trois premières de ces étapes peuvent être combinées dans certaines procédures diagnostiques dites intégrées.

VIII.1- Les tests de dépistage

Les LA représentent un paradoxe par leur effet « anticoagulant » parfois très marqué *in vitro* alors que, comme déjà souligné, ils s'accompagnent *in vivo* d'une tendance thrombotique plutôt qu'hémorragique. Cette apparente contradiction s'explique par le fait que, dans les tests de coagulation concernés, les phospholipides nécessaires à l'activation des facteurs coagulants sont présents en quantité limitée. Les LA, en perturbant l'assemblage des facteurs coagulants avec ces phospholipides, entraînent un allongement des temps de coagulation d'autant plus important que la concentration en phospholipides dans le réactif est plus faible. *In vivo,* au contraire, ces phospholipides ne constituent pas un facteur limitant des réactions de coagulation, car ils sont disponibles en quantité illimitée, notamment à la surface des plaquettes activées. Les LA, en dépit de leur dénomination, n'exercent donc pas, en général, dans ces conditions, d'effet anticoagulant.

Les tests de coagulation sensibles à l'effet des LA sont divers. Quelle que soit sa sensibilité, aucun test n'est à lui seul capable de détecter la totalité des LA. Pour optimiser l'efficacité du dépistage, il est donc recommandé de mettre en oeuvre au moins deux, voire trois tests reposant sur des principes différents [25, 26].

VIII.l.l - Le temps de céphaline avec activateur (TCA)

Réalisé dans les conditions standard, il est de loin le test le plus couramment usé pour le dépistage des LA, mais sa sensibilité varie considérablement en fonction du réactif utilisé. La composition en phospholipides (concentration totale et teneur en phosphatidylsérine), conditionne en partie la sensibilité. Toutefois, la nature de l'activateur intervient aussi : les réactifs à base de silice ou d'acide ellagique sont reconnus plus sensibles que ceux utilisant le kaolin ou la célite [15]. Cependant, quel que soit le réactif employé, le TCA seul permet au mieux de dépister entre 50 et 70 % des LA. La sensibilité du TCA est également affectée par toute augmentation significative du facteur VIII, liée à un contexte inflammatoire, qui peut masquer l'effet de LA « faibles ». **La normalité du TCA n'exclut donc en aucun cas la présence d'un LA**. Différentes variantes du TCA « standard » ont été décrites dans le cadre du diagnostic des LA. Elles reposent soit sur l'utilisation de réactifs sensibilisés à teneur réduite en phospholipides spécifiquement destinés à la recherche de LA, soit sur la modification de la durée d'incubation du plasma avec la céphaline/activateur (comparaison des TCA mesurés après deux temps d'incubation différents) [44].

VIII.l.2- Le temps de coagulation avec kaolin (kaolin clotting time, KCT)

Il ne doit pas être confondu avec le temps de céphaline kaolin (TCK), car il ne fait intervenir aucun phospholipide exogène, les phospholipides étant apportés à l'état de traces par le plasma à tester. Très sensible, ce test est particulièrement dépendant de la préparation de l'échantillon plasmatique qui doit être rigoureusement déplaquetté. Il est en outre difficile à standardiser et à automatiser. Le KCT détecterait préférentiellement des LA ayant pour co-facteur la prothrombine, qui paraissent être associés à un risque thrombotique modéré [23].

VIII.1.3- Le temps (ou test) de thromboplastine diluée (TTD)

Sauf exception, le temps de Quick pratiqué dans les conditions standard, n'est pas influencé par les LA. Le TTD consiste à le sensibiliser grâce à l'utilisation d'une forte dilution de la thromboplastine (habituellement au 1/500^{e}) dans du chlorure de sodium 25 mM. Comme pour le TCA, bien que dans une moindre mesure, la sensibilité du TTD dépend de la nature du réactif mis en œuvre.

Pour certains auteurs, les thromboplastines synthétiques, à base de facteur tissulaire recombinant humain relipidé, posséderaient la meilleure sensibilité dans les tests de détection des LA [2, 21]. Cette différence de sensibilité entre thromboplastines d'extraction et recombinantes n'a cependant pas été retrouvée dans toutes les études [25].

Le TTD est un test de dépistage relativement simple à pratiquer, automatisable, peu coûteux. Il nécessite la préparation extemporanée de la dilution de thromboplastine et la mesure systématique, pour chaque série de tests, du temps « témoin ». En revanche, le TTD ainsi mesuré est très peu spécifique des LA. Il est affecté par toute diminution, même mineure, de l'un des facteurs explorés par le temps de Quick (VII, X, V, II). Sa spécificité est également influencée par la concentration en fibrinogène, ce qui suggère l'utilité d'appliquer au TTD un facteur de correction en cas d'hyperfibrinogénémie [16]. Il peut aussi être faussement positif en présence d'anticorps anti-facteur VIII de titre élevé. Enfin, dans

une forte dilution de la thromboplastine, les agents neutralisants ne sont plus en concentration suffisante pour rendre le TTD insensible à la présence d'héparine.

VIII.I.4- Le temps de venin de vipère Russel dilué (DRVVT)

Ce test fait intervenir un venin activateur du facteur X agissant en présence de phospholipides [52]. Il présente l'avantage de ne pas être influencé par les déficits touchant les facteurs situés en amont du facteur X dans la cascade de la coagulation (facteurs VII, VIII, IX ou facteurs du système contact) ou par les inhibiteurs, même de titre élevé, spécifiquement dirigés contre ces facteurs (anticorps anti-facteur VIII notamment). De plus, dans certains réactifs commerciaux, il est rendu insensible à l'héparine, jusqu'à une concentration de 1 U/ml au moins. Comme dans le cas du TCA et du TTD, les performances du DRVVT varient en fonction des caractéristiques du réactif utilisé [57]. Les réactifs commerciaux diffèrent les uns des autres par leur concentration et leur composition en phospholipides, par l'origine du venin, par la présence ou non d'un agent neutralisant l'héparine. Ainsi, la sensibilité du DRVVT varie en fonction des réactifs, de 85 à 100 % et sa spécificité de 50 à 75 % [57].

Le DRVVT détecterait préférentiellement les LA ayant pour co-facteur la β_2GPI [23]. À la lumière d'études récentes, c'est le test de dépistage des LA qui aurait la meilleure valeur prédictive du risque thrombotique, en particulier artériel [1, 23, 29]. Plus spécifique des LA que le TCA ou le TTD, le DRVVT permet, en cas de franche normalité, d'exclure la présence d'un LA devant un TTD « limite » et un TCA subnormal, situation fréquemment observée, par exemple, en présence de traces d'héparine ou d'hyperfibrinogénémies importantes. À l'inverse, dans un nombre significatif de cas, il peut mettre en évidence certains LA non dépistés par les autres tests chez les patients présentant les critères cliniques d'un SAPL.

VIII.I.5. Autres venins

D'autres venins sont utilisables pour le diagnostic des LA :

- **Le venin de vipère Taïpan** active la prothrombine en présence de phospholipides. Son action est indépendante du facteur V et il est insensible aux déficits (ou inhibiteurs) touchant tous les facteurs autres que la prothrombine [46].

- **La textarine**, autre activateur de la prothrombine, diffère du précédent par sa dépendance du facteur V. En revanche, le temps de textarine est, parmi les tests de dépistage, le seul à ne pas être influencé par les traitements anti-vitamine K, la textarine activant aussi bien la prothrombine sous sa forme native que sous sa forme acarboxylée [55].

VIII.2- Mise en évidence d'une activité inhibitrice

Devant l'anomalie d'un ou plusieurs tests de dépistage, la démonstration de la présence d'un inhibiteur fait appel à une épreuve de « correction », après mélange du plasma à tester avec un pool de plasma normal. L'absence de correction de l'allongement initial signe la présence d'un inhibiteur, qui reste à caractériser. Au contraire, la normalisation du temps de coagulation du mélange est en faveur d'un déficit touchant l'un au moins des facteurs explorés par le test. Il est à noter que, dans certains cas, le temps de coagulation du

mélange est paradoxalement supérieur à celui du patient. Cet effet du plasma normal est appelé « Lupus Cofactor ».

Plusieurs points pratiques sont à souligner :

- La préparation du plasma normal destiné aux tests de mélange doit être aussi rigoureuse que celle des échantillons à tester. Idéalement, il s'agit d'un pool de plasmas frais provenant de sujets sains (20 au minimum), préparé dans les meilleurs délais suivant le prélèvement. Ce pool plasmatique doit subir une double centrifugation ou une filtration afin d'en éliminer totalement les plaquettes. Il peut être conservé congelé (par fractions de 0,5 ml environ) plusieurs mois à - 80°C, quelques semaines à - 20°C. L'utilisation dans le test de mélange d'un seul plasma jugé « normal » sur la base d'un bilan de coagulation standard est à proscrire. L'emploi de plasmas lyophilisés commerciaux, utile devant la difficulté de certains laboratoires à réaliser un pool frais de bonne qualité, est une source de variabilité des résultats.

- La proportion idéale d'échantillon à tester et de pool normal peut varier. Habituellement, le mélange est effectué à parties égales, mais l'utilisation de proportions différentes (deux parties de plasma à tester pour une partie de pool) permet dans certains cas de sensibiliser le test.

- L'incubation du mélange 2 heures à 37°C peut mettre en évidence une activité inhibitrice progressive, observée pour environ 10 % des LA [12], alors que cette dépendance vis-à-vis du temps et de la température est la règle pour les inhibiteurs spécifiques (en particulier anticorps anti-facteur VIII).

- Les critères d'interprétation de l'épreuve de correction varient selon les tests mis en œuvre. Les critères de positivité habituellement retenus figurent dans le tableau I.

• Pour le TCA, on prend généralement en compte l'indice de Rosner [47] calculé selon la formule : 100 X [(TCA Mélange - TCA Témoin)/TCA Patient].

• Pour le TTD, on considère le rapport Temps du Mélange/Temps Témoin.

• Le DRVVT peut être interprété selon le même critère mais en pratique, il s'inscrit habituellement dans une procédure de confirmation (voir ci-dessous) et n’est pratiqué sur un mélange (plasma patient + plasma normal) que dans le cas où le patient a un déficit significatif en facteur(s) du complexe prothrombinique, notamment lors d'un traitement par anti-vitamine K.

VIII.3- Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur

L'absence de correction significative des tests de dépistage lors de l'épreuve de mélange signe la présence d'un anticoagulant circulant qui reste à caractériser. Avant d'affirmer qu'il s'agit d'un LA, il faut prouver sa dépendance en phospholipides. **Cette étape assure donc le diagnostic différentiel entre LA et anticorps anti-facteur de la coagulation.** Elle consiste à reprendre le(s) tests de dépistage initialement allongés en augmentant la concentration en phospholipides des réactifs, afin de neutraliser au moins partiellement l'activité LA. Un raccourcissement du temps de coagulation traduit la présence d'un LA. Le degré de raccourcissement considéré comme significatif varie selon les tests. La nature des phospholipides mis en oeuvre dans cette procédure de neutralisation est diverse. Le test

***Tableau I** : Critères de positivité des tests usuels de diagnostic des LA*

	NÉGATIF	**DOUTEUX**	**POSITIF**
Test de correction du TCA*	< 12	12-15	> 15
TTD**	< 1,10	1,10-1,20	> 1,20
DRVVT - Dépistage*** - Confirmation**** (Test de neutralisation)	 < 1,10 < 1,10	 1,10-1,20 1,10-1,20	 > 1,20 > 1,20

* Interprétation du test de correction du TCA : calcul de l'indice de Rosner.

** TTD (test de thromboplastine diluée) réalisé sur une dilution au 1 /500^{e} de la thromboplastine en chlorure de calcium 25 mM.
Interprétation du rapport temps mélange (Patient + Témoin)/Temps témoin.
Chez des patients recevant un traitement anticoagulant oral avec INR > 3, le seuil de positivité peut être relevé à 1,3.

*** Interprétation du rapport Temps Patient/Temps Témoin (ou Mélange/Témoin en cas de déficit en facteurs) X, V, II).

**** DRVVT mesuré après ajout de phospholipides (seulement en cas de dépistage positif). Interprétation du rapport normalisé :
[DRVVT Dépistage Patient/DRVVT Confirmation Patient] / [DRVVT Dépistage Témoin/DRVVT Confirmation Témoin]

Un résultat « douteux » impose de renouveler le test sur un autre prélèvement et/ou de faire appel à un test reposant sur un principe différent.

original de Triplett faisait intervenir les lysats plaquettaires [54], mais d'autres sources de phospholipides sont utilisables avec la même efficacité.

Plusieurs trousses commerciales reposant soit sur le principe du TCA ou sur celui du DRVVT sont disponibles sur le marché. Les tests de neutralisation utilisant le DRVVT ont dans l'ensemble une meilleure spécificité pour la détection des LA, en évitant les fausses positivités observées dans le système TCA avec des anticorps anti-facteur VIII de titre élevé. Pour améliorer la performance des tests de confirmation mettant en oeuvre le DRVVT, notamment en terme de spécificité, il est recommandé d'exprimer leur résultat sous forme de « rapport normalisé ». Il s'obtient en divisant le rapport (DRVVT Patient dépistage/DRVVT Patient confirmation) par le rapport calculé de la même manière avec un pool de plasmas normaux (à tester dans chaque série de mesure) [17]. Les critères de positivité habituellement retenus sont indiqués dans le tableau I.

Les trois premières étapes de diagnostic des LA qui viennent d'être développées peuvent être intégrées en une seule procédure. L'étape de dépistage faisant intervenir une faible concentration de phospholipides est alors pratiquée directement sur le mélange plasma patient + plasma normal, ainsi que l'étape de confirmation, dans laquelle la concentration en phospholipides est beaucoup plus élevée. Le rapport des deux temps obtenus est alors interprété. Des tests commerciaux reposant sur ce principe sont disponibles tant dans le système TCA que dans le système DRVVT.

Idéalement, il est souhaitable de « normaliser » les résultats en divisant le rapport des deux temps (faible/forte concentration en phospholipides) obtenu sur le mélange (Patient + Normal) par le rapport calculé dans les mêmes conditions pour le plasma normal seul.

$$\text{Rapport normalisé (lupus ratio)} = \frac{\dfrac{\text{Temps mélange (faible concentration en phospholipides)}}{\text{Temps mélange (forte concentration en phospholipides)}}}{\dfrac{\text{Temps témoin (faible concentration en phospholipides)}}{\text{Temps témoin (forte concentration en phospholipides)}}}$$

En l'absence de LA, ce rapport est peu différent de 1. Son augmentation significative est en faveur de la présence d'un LA. Ce mode d'interprétation appelé « lupus ratio » [30] a été validé dans le système TCA mais il est potentiellement applicable à d'autres tests. Il permet un diagnostic à la fois sensible et spécifique des LA et optimise la concordance des résultats inter-laboratoires.

VIII.4- Exclusion d'une coagulopathie associée

Il s'agit d'éliminer toute autre cause que le LA susceptible de contribuer à l'allongement des tests de dépistage : déficit en facteurs de la voie endogène (facteurs VIII, IX, XI, XII, facteurs contact dans le cas d'un allongement très marqué du TCA), déficit en facteurs du complexe prothrombinique devant une perturbation importante du TTD ou du DRVVT.

- La mesure chronométrique des facteurs de la voie endogène, pratiquée dans le système TCA, peut être faussée par la présence d'un LA, entraînant un déficit apparent touchant habituellement plusieurs ou l'ensemble des facteurs. Devant ce type de résultats, la mesure des facteurs doit être réalisée avec des dilutions plus importantes du plasma à tester. Si le LA est seul en cause, on observe alors une normalisation du taux des facteurs. En revanche, la persistance de l'abaissement de l'un des facteurs est en faveur d'un déficit (ou d'un inhibiteur spécifique) associé au LA. Il est à noter que des déficits en facteur XII sont assez fréquemment associés à des LA [32]. Ces déficits, sans conséquence clinique, sont liés à la présence d'anticorps anti-facteur XII [33]. En cas de doute, le recours à des méthodes de dosage non influencées par les LA, chromogéniques ou faisant intervenir des plasmas déficients d'origine animale, peut s'avérer utile.

- Devant un allongement concomitant du temps de Quick et du TCA, on doit exclure l'éventualité rare d'un déficit acquis en prothrombine associé à la présence d'un LA, qui peut s'accompagner d'un grave syndrome hémorragique. Ce syndrome d'hypoprothrombinémie acquise, rencontré le plus souvent chez des enfants dans un contexte auto-immun ou infectieux, est dû à la présence d'anticorps anti-prothrombine non neutralisants mais responsables d'une épuration rapide des complexes antigène-anticorps [7, 35].

- Le principe du diagnostic différentiel entre LA, déficit en facteur et inhibiteur anti-facteur est résumé dans le tableau II.

***Tableau II** : Diagnostic différentiel entre LA, anticorps anti-facteur de la voie endogène et déficit en facteur*

	LA	**Anticorps anti-facteur voie endogène**	**Déficit facteur voie endogène**
Temps de Quick	Normal (sauf déficit associé F II)	Normal	Normal
TCA	±↗	↗	↗
Test de mélange sur TCA (Indice de Rosner)	> 15	> 15 après incubation	< 12
TTD Mélange/Témoin	POSITIF (≥ I.2)	NÉGATIF Faux positif possible avec anticorps anti-F VIII	NÉGATIF
DRVVT (normalisé) Dépistage/Confirmation	POSITIF	NÉGATIF	NÉGATIF
Facteurs voie endogène (méthode chronométrique)	Normaux ou ↘ de plusieurs facteurs. Correction par dilution du plasma	↘ Facteur cible Non correction par dilution du plasma	↘ d'un facteur

IX. INTERFÉRENCE DES LA DANS D'AUTRES TESTS DE COAGULATION

Outre les tests utilisés pour leur diagnostic, les LA peuvent perturber de manière artefactuelle divers temps de coagulation faisant intervenir des phospholipides. La mesure des facteurs de la voie endogène en représente un exemple, mais d'autres cas peuvent être cités :

- Le temps de Quick, en principe peu sensible aux LA, peut exceptionnellement être influencé par la présence d'un anticorps de forte activité. Le diagnostic doit être évoqué devant un allongement du TCA et du temps de Quick, mais des facteurs du complexe prothrombinique (facteurs II, V, VII + X) beaucoup moins abaissés que le temps de Quick ne le laissait prévoir, voire normaux (l'effet artefactuel du LA sur leur mesure étant minimisé par la dilution du plasma). Cette interférence peut poser problème lors du suivi de patients traités par anticoagulants oraux; car le temps de Quick/INR ne reflète alors plus le degré réel d'anticoagulation. Les thromboplastines synthétiques faisant intervenir du facteur tissulaire recombinant seraient plus sensibles à cet effet que les réactifs d'extraction [45].

Dans cette situation, le recours à des tests non influencés par les LA, comme la détermination du taux de facteur X par méthode chromogénique ou la mesure du Prothrombin Proconvertin Time (pratiqué sur une dilution du plasma) représente une alternative [38].

- Le diagnostic de certaines anomalies prothrombotiques de la coagulation, comme le dépistage d'une résistance à la protéine C activée, peut également être faussé par la présence d'un LA, en particulier si le test de dépistage repose sur le principe du TCA. L'utilisation de techniques incluant une prédilution de l'échantillon dans un plasma réactif déficient en facteur V améliore la spécificité du test de détection de la mutation Leiden mais

n'est pas toujours suffisante, ce qui impose dans certains cas le recours au diagnostic génotypique ou à une méthode de dépistage non influencée par les LA.

X. STRATÉGIE DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA (LUPUS ANTICOAGULANT)

La prescription d'une recherche de LA impose de mettre en œuvre au moins deux tests de dépistage. Une stratégie raisonnable consiste, après avoir exclu la présence éventuelle d'héparine, à réaliser en première intention un TCA (avec un réactif de sensibilité adéquate) et un TTD (en considérant le rapport Mélange/Témoin). En cas d'allongement significatif du TCA, un test de mélange est pratiqué (incluant si nécessaire une étape d'incubation du mélange) et l'indice de Rosner calculé.

- Devant une positivité nette et immédiate des deux tests, on peut conclure à la présence d'un LA, car le TTD interprété sur le rapport mélange/témoin est considéré à la fois comme un test de dépistage et de confirmation. En présence d'un allongement important du TCA et/ou de la positivation du test de mélange après incubation à 37°C, le dosage des facteurs de la voie endogène (facteurs VIII, IX, XI, XII) est toutefois indispensable pour exclure un déficit associé, en facteur VIII ou surtout en facteur IX.

- Devant un TCA normal ne permettant pas de test de mélange et un TTD seul positif, on prendra soin de vérifier les facteurs pouvant influencer la spécificité de ce dernier : hyperfibrinogénémie, existence d'un traitement par anti-vitamine K, diminution importante des facteurs du complexe prothrombinique, présence de traces d'héparine dans le prélèvement. Si aucun de ces éléments n'est retenu, la franche positivité du test (TTD mélange/témoin $\geq 1,3$) suffit à poser le diagnostic de LA. En revanche, en cas de résultat ambigu, la réalisation d'un DRVVT, avec éventuellement une épreuve de correction, puis d'une étape de neutralisation, permet d'éliminer les fausses positivités du TTD.

- Un résultat « douteux » de l'ensemble des tests impose de renouveler la recherche sur un autre prélèvement.

- La double normalité du TCA et du TTD rend improbable la présence d'un LA. Toutefois, dans un contexte clinique évocateur de SAPL, la réalisation d'un DRVVT est recommandée, car elle peut parfois révéler des anticorps ne réagissant que dans ce système. Dans notre expérience, cette situation est rencontrée chez environ 10 % des patients atteints de SAPL.

- La positivité d'une recherche de LA conduit, dans la mesure du possible, à renouveler le test à distance (8 à 10 semaines plus tard au minimum) pour préciser le caractère transitoire ou persistant de l'anomalie. La vérification de cette persistance est indispensable pour poser le diagnostic de SAPL.

BIBLIOGRAPHIE

1- AMES P.R.J., PYKE S., IANNACCONE L., BRANCACCIO V. Antiphospholipid antibodies, haemostatic variables and thrombosis a survey of 144 patients. Thromb. Haemos. 1995; 73 : 768-773.

2- ARNOUT J., VANRUSSELT M., HYUBRECHTS E., VERMYLEN J. Optimisation of the dilute prothrombin tune for the detection of the lupus anticoagulant by use of a recombinant tissue thromboplastin. Thromb. Haemost. 1993; 69 : 1222 (abstract).

3- ARNOUT J., WITTEVRONGEL C., VANRUSSELT M., HOYLAERTS M., VERMYLEN J. Beta-2-glycoprotein I dependent LA form stable bivalent antibody beta-2-Glycoprotein I complexes on phospholipid surfaces. Thromb. Haemost. 1998; 79 : 79-86.

4- ARNOUT J., VANRUSSELT M., WITTEVRONGEL C., VERMYLEN J. Monoclonal antibodies against beta-2-Glycoprotein I : use as reference material for lupus anticoagulant tests. Thromb. Haemost. 1998; 79 : 955-958.

5- ARNOUT J., VANRUSSELT M., NEVENS C., SMANS K., WITTEVRONGEL C., VERMYLEN J. Some murine monoclonal antibodies against human prothrombin have lupus anticoagulant activity. Thromb. Haemost. 1999; Supp. August : 65 (abstract).

6- ARNOUT J., MEIJER P., VERMYLEN J. Lupus anticoagulant testing in Europe : An analysis of results from the first European concerted action on thrombophilia (ECAT) survey using plasmas spiked with monoclonal antibodies against human (32-Glycoprotein I. Thromb. Haemost. 1999; 81 : 929-934.

7- BAJAJ S.P., RAPAPORT S.I., FIERER D.S., HERBST K.D., SCHWARTZ D.B. A mechanism for the hypoprothrombinemia of the acquired hypoprothrombinemia - Lupus anticoagulant syndrome. Blood, 1983; 61 : 684-692.

8- BEVERS E.M. Lupus Anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. Thromb. Haemost. 1991; 66 : 629-632.

9- BRANDT J.T., TRIPLETT D.A., ALVING B., SCHARRER I. Criteria for the diagnoses of LA : an update. Thromb. Haemost. 1995; 74 : 1185-1190.

10- BRANDT J.T., BOA L.K., TRIPLETT D.A. Laboratory identification of LA : results of the second international workshop for identification of LA. On behalf of the Subcommittee on LA/antiphospholipid antibodies of the ISTH. Thromb. Haemost. 1995; 74 : 1597-1603.

11- CHAMLEY L.W., PATTISON N.S., MCKAY E.J. Separation of lupus anticoagulant from anticardiolipin antibodies by ion-exchange and gel filtration chromatography. Haemostasis 1991; 21 : 25.

12- CLYNE L.P., WHITE P.F. Time dependance of lupus like anticoagulants. Arch. Int. Med. 1988; 148 : 1060-1063.

13- CONLEY C.L., HARTMANN R.C. A hemorrhagic disorder caused by circulating anti-coagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. J. Clin. Invest. 1952; 31 : 621.

14- D'ANGELO A., SAFA O., CRIPPA L., GARLANDO A., SABBADINI A.M., VIGANO D'ANGELO S. Relationship of lupus anticoagulant, anticardiolipin, anti-β_2GPI and ante-prothrombin autoantibodies with history of thrombosis in patients with the clinical suspicion of APA-syndrome. Thromb. Haemost. 1997; 78 : 967-968.

15- DENIS-MAGDELAINE A., FLAHAULT A., VERDY E. Sensitivity of sixteen APTT reagents for the presence of lupus anticoagulant. Haemostasis 1995; 25 : 98-105.

16- ESCHWEGE V., SEDDIKI S., ROBERT A. The tissue thromboplastin inhibition test in the detection of LA : importance of a correction factor eliminating the influence of fibrinogen level. Thromb. Haemost. 1996; 76 : 65-68.

17- EXNER T., HOHNEN-BEHRENS C., NEWMAN P., DARGAN W. Effects of instruments on lupus anticoagulant testing. Thromb. Haemost. 2000; 83 : 345-346.

18- EXNER T., SAHMAN N., TRUDINGER B. Separation of anticardiolipin antibodies from Lupus anticoagulant on a phospholipid-coated polstyrene column. Biochem. Bio-phys. Res. Comm. 1988; 155 : 1001-1007.

19- EXNER T., TRIPLETT D.A., TABERNER D., MACHIN S.J. Guidelines for testing and revised criteria for LA. Thromb. Haemost. 1991; 65 : 320-322.

20- FEINSTEIN D.I., RAPAPORT S.I. Acquired inhibitors of blond coagulation. In Progress in Hemostasis and Thrombosis, Vol. 1 edited by T. Spaet, New York, Grune & Stratton, 1972, p. 75.

21- FORASTIERO R.R., CERRATO G.S., CARRERAS L.O. Evaluation of recently described tests for detection of the lupus anticoagulant. Thromb. Haemost. 1994; 72 : 728-733.

22- GALLI M., COMFURIUS P., BARBUI T., ZWAAL R.F.A., BEVERS E.M. Anti-coagulant activity of (3-2-Glycoprotein I is potentiated by a distinct subgroup of anticardiolipin antibodies. Thromb. Haemost. 1992; 68 : 297-300.

23- GALLI M., FINAZZI G., NORBIS F., MARZIALI S., MARCHIALI R., BARBUI T. The risk of thrombosis in patients with LA is predicted by their specific coagulation profile. Thromb. Haemost. 1999; 81 : 695-700.

24- GINSBERG J.S., WELLS P.S., BRILL-EDWARDS P., DONOVAN D., MOFFAT K., JOHNSTON M., STEVENS P., HIRSH J. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. Blond 1995; 86 : 3685-3691.

25- GOUDEMAND J., CARON C., DE PROST D., DERLON A., BORG J.Y., SAMPOL J., SIE P. Evaluation of sensitivity and specificity of a standardized procedure using different reagents for the detection of LA. Thromb. Haemost. 1997; 77 : 336-342.

26- GRIS J.C., QUERE I., SANMARCO M., BOUTIÈRE B., MERCIER E., AMIRAL J., HUBERT A.M., RIPART-NEVEU S., HOFFET M., TAILLAND M.L., ROUSSEAU O., MONPEYROUX F., DAUZAT M., SAMPOL J., DAURES J.P., BERLAN J., MARES P. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. The Nîmes Obstetricians and Haematologists Study 4 - NOHA4. Thromb. Haemost. 2000; 84 : 228-236.

27- Haemostasis Commitee of the « Société Française de Biologie Clinique ». Laboratory heterogenity of lupus anticoagulant : a multicenter study using different clotting assays on a panel of 78 samples. Thromb. Res. 1992; 66 : 349-364.

28- HARRIS E.N., BAGULEY E., ASHERSON R.A., HUGUES G.R.V. Clinical and Serological features of the « antiphospholipid syndrome ». Br. J. Rheumatol. 1987; 26 (suppl. 2) : 19.

29- HORBACH D.A., OORT E., DONDERS R.C., DERKSEN R.H., DE GROOT P.G. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. Thromb. Haemost. 1996; 76 : 916-924.

30- JACOBSEN E.M., BARNA-CLER L., TAYLOR J.M., TRIPLETT D., WISLOFF F. The lupus ratio test - An interlaboratory study on the detection of LA by an APTT - based, integrated, and semi-quantitative test. From the Fifth International Survey of LA - ISLA 5. Thromb. Haemost. 2000; 83 : 704-708.

31- JENNINGS I., KITCHEN S., WOODS T.A.L., PRESTON F.E., GREAVES M. (on behalf of the UK National External Quality Assessment Scheme for blond coagulation). Potentially clinically important inaccuracies in testing for the lupus anticoagulant : an analysis of results from three surveys of the UK National External Quality Assessment Scheme (NEQAS) for Blond Coagulation. Thromb. Haemost. 1997; 77 : 934-937.

32- JONES D.W., GALLIMORE M.J., HARRIS S.L., WINTER M. Antibodies to factor XII associated with lupus anticoagulant. Thromb. Haemost. 1999; 81 : 387-390.

33- JONES D.W., GALLIMORE M.J., HARRIS S.L., WINTER M. Reduced factor XII levels in patients with the antiphospholipid syndrome are associated with antibodies to factor XII. Br. J. Haematol. 2000; 110 : 721-726.

34- LAS A.S., MACKIE LJ., PURDY G., MACHIN S.J. The sensitivity and specificity of commercial reagents for the detection of LA show marked differences in performance between photo-optical and mechanical coagulometers. Thromb. Haemost. 1999; 81 : 758-762.

35- LEE M.T., NARDI M.A., HU G., HADZI-NESIC J., KARPATKIN M. Transient hemorrhagic diathesis associated with an inhibitor of prothrombin with lupus anticoagulant in a 1 1/2 year old girl. Report of a case and review of the literature. Am. J. Hematol. 1996; 51 : 307-314.

36- LOELIGER E.A. Prothrombin as cofactor of circulating lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus. Thromb. Diath. Haermorrh. 1956; 3 : 237-256.

37- MALE C., LECHNER K., EICHINGER S., KYRLE P.A., KAPIOTIS S., WANK H., KAIDER A., PABINGER I. Clinical significance and course of LA in children. J. Pediatr. 1999; 134 : 199-205.

38- MOLL S., ORTEL T.L. Monitoring warfarin therapy in patients with LA. Ann. Intern. Med. 1997; 127 :177-185.

39- NOJIMA J., SUEHISA E., AKITA N., TOKU M., FUSHIMI R., TADA H., KURATSUNE H., MACHNI T., KITANI T., AMINO R. Risk of arterial thrombosis in patients with anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant. Br. J. Haematol. 1997; 96 : 447-450.

40- OOSTING J.D., DERKSEN R., ENTJES H.T., BOUMA B.N., DE GROOT P.G. Lupus anticoagulant activity in frequently dependent on the presence of (32 Glycoprotein I. Thromb. Haemost. 1992; 67 : 499-502.

41- PAPADOPOULOS E., MAGDER L., PETRI M. Antiphospholipid antibodies and venous Thrombosis (VT) in S.L.E. Arthritis Rheum. 1999; 42 (suppl.) : S 369.

42- PETRI M. Epidemiology of the Antiphospholipid Antibody Syndrome. J. Autoimmun. 2000; 15 : 145-151.

43- REBER G., ARVIEUX J., COMBY E., DEGENNE D., DE MOERLOOSE P., SAN-MARCO M., POTRON G. On behalf of the working group on methodologies in haemostasis from GENT group, France. Multicenter evaluation of nine commercial kits for the quantitation of anticardiolipin antibodies. Thromb. Haemost. 1995; 73 : 444-452.

44- ROBERT A. Two different incubation tunes for the activated partial thromboplastin tune (APTT) : a new criterion for diagnosis of lupus anticoagulant. Thromb. Haemost. 1994; 71 : 220-224.

45- ROBERT A., LE QUERREC A., DELAHOUSSE B., CARON C., HOUBOUYAN L., BOUTIÈRE B., HORELLOU M.H., REBER G., SIÉ P. Control of oral anticoagulation in patients with the Antiphospholipid syndrome. Influence of the lupus anticoagulant on International Normalized Ratio. Thromb. Haemost. 1998; 80 : 99-103.

46- ROONEY A.M., MC NALLY T., MACKIE I.J., MACHIN S.J. The Taïpan snake venom tune : a new test for lupus anticoagulant. J. Clin. Pathol. 1994; 47 : 497-501.

47- ROSNER E., PAUZNER R., LUSKY A., MODAN M., MANY A. Detection and quantitative evaluation of lupus circulating anticoagulant activity. Thromb. Haemost. 1987; 57 : 144-147.

48- ROUBEY R.A.S. Mechanisms of auto antibodies - mediated thrombosis. Lupus 1998; 7 (suppl. 2) : S 114-5119.

49- ROUSSI J., ROISIN J.P., GOGUEL A. LA. First french interlaboratory etalonorme survey. Am. J. Clin. Pathol. 1996; 105 : 788-793.

50- SIMIONI P., PRANDONI P., ZANON E., SARACINO M.A., SCUDELLER A., VILLALTA S., SCARANO L., GIROLAMI B., BENEDETTI L., GIROLAMI A. Deep venous thrombosis and lupus anticoagulant. A case-control study. Thromb. Haemost. 1996; 76 : 187-189.

51- STEEN V.D., RAMSEY-GOLDMAN R. Phenothiazin-induced systemic lupus erythematosus with superior vena cava syndrome. Case report and review of the literature. Arthritis Rheum. 1988; 31 : 923-926.

52- THIAGARAJAN P., PENGO V., SHAPIRO S.S. The use of the dilute Russell viper venom tune for the diagnosis of LA. Blood 1986; 68 : 869-874.

53- TINCANI A., BALESTRIERI G., ALLEGRI F., CINQUINI M., VIANELLI M., TAGLIETTI M., SANMARCO M., ICHIKAWA K., KOIKE T., MERONI P., BOFFA M.C. Overview on anticardiolipin ELISA Standardization. J. Autoimmun. 2000; 15 : 195-197.

54- TRIPLETT D.A., BRANDT J.T., KACZOR D., SCHAEFFER J. Laboratory diagnosis of lupus inhibitors : a comparison of the tissue thromboplastin inhibition procedure with a new platelet neutralization procedure. Am. J. Clin. Pathol. 1983; 79 : 678-682.

55- TRIPLETT D.A., STOCKER K.F., LINGER G.A., BARNA L.K. The Textarin/Ecarin ratio : a confirmatory test for lupus anticoagulant. Thromb. Haemost. 1993; 70 : 925-931.

56- TRIPLETT D.A. Many faces of LA. Lupus 1998; 7 (suppl. 2) : S 18-522.

57- TRIPLETT D.A. Use of the Dilute Russel Viper Venom Time (DRVVT) : its importance and pitfalls. J. Autoimmun 2000; 15 : 173-178.

58- WAHL D.G., GUILLEMIN F., DE MAISTRE E., FERRET C., LECOMFTE T., THIBAUD G. Risk for venous thrombosis related to antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus - A meta-analysis. Lupus 1997; 6 : 467-473.

59- WILSON W.A., GHARAVI A.E., KOIKE T., LOCKSHIN M.D., BRANCH D.W., PIETTE J.C., BREY R., DERKSEN R., HARRIS E.N., HUGUES G.R.V., TRIPLETT D.A., KHAMASHTA M.A. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum. 1999; 42: 1309-1311.

BIOLOGIE DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : LES TESTS IMMUNOLOGIQUES

J. ARVIEUX, M. SANMARCO

I. GÉNÉRALITÉS

Le syndrome des anticorps anti-phospholipides (SAPL), le plus fréquent des états thrombophiliques acquis, fait l'objet d'une abondante littérature, dont plusieurs revues générales récentes [5, 19, 27, 33, 38, 42, 46, 55], depuis son individualisation comme entité clinico-biologique au cours des années 1980. La détection des anticorps anti-phospholipides, en tant que critères diagnostiques incontournables du SAPL, repose sur la mise en œuvre conjointe de tests immunologiques de type ELISA et de tests de coagulation. Elle occupe une place croissante dans la pratique quotidienne de la biologie. Une parfaite maîtrise des techniques utilisées et de l'interprétation des résultats est plus que jamais nécessaire en raison de la chronicité et de la gravité potentielle de cette pathologie auto-immune affectant souvent des sujets jeunes et des implications thérapeutiques d'un tel diagnostic (prescription au long cours d'un traitement anticoagulant par exemple).

I.1- Perspective historique

Les travaux pionniers concernant les anticorps anti-phospholipides remontent à la mise au point des premiers tests sérologiques de la syphilis, avec la réaction de fixation du complément de Bordet-Wassermann puis le VDRL, test d'agglutination passive de particules de cholestérol revêtues de lécithine et de cardiolipine. Appliqués à un dépistage de masse de la syphilis dans les années 1950, ces tests se sont parfois révélés « faussement positifs » en cas de désordre auto-immun. Parallèlement, les premiers anticoagulants circulants (ou LA pour « lupus anticoagulants »), inhibiteurs in vitro de la coagulation dont l'activité peut être adsorbée par le réactif du VDRL ou par d'autres phospholipides, ont été décrits chez des patients atteints de lupus érythémateux systémique (LES). Une association, a priori paradoxale, entre ces anomalies biologiques et la survenue de thromboses ou de fausses couches répétées, rapportée dès 1980 par Soulier et Boffa [52], a conduit Harris à développer des tests en phase solide (radio-immunologiques puis immuno-enzymatiques) utilisant la cardiolipine, un phospholipide anionique ainsi dénommé car extrait du cœur de bœuf. Il s'en est suivi l'individualisation rapide du concept de SAPL, puis son autonomisation partielle vis-à-vis du LES (SAPL primaire). Les années 1990 ont été marquées par la découverte de « co-facteurs », notamment la β_2 glycoprotéine I (β_2GPI) et autres protéines associées aux phospholipides, qui paraissent en fait constituer les véritables principales cibles des anticorps rencontrés dans les maladies auto-immunes.

I.2- Nouvelle conception des anticorps anti-phospholipides

Ambigu mais consacré par l'usage, le terme générique d'anticorps anti-phospholipides désigne une famille très hétérogène d'autoanticorps reconnaissant des phospholipides anioniques

ou neutres (« vrais » anticorps anti-phospholipides) et/ou des protéines plasmatiques ou endothéliales qui leur sont associées [46]. Les anticorps anti-phospholipides détectés dans les tests de coagulation et les tests immunologiques courants, c'est-à-dire LA et anticorps anticardiolipine, sont des critères biologiques du diagnostic de SAPL, bien que leur spécificité soit médiocre [59]. Des anticorps anti-phospholipides peuvent en effet se rencontrer dans de nombreuses situations cliniques qui ne s'accompagnent généralement pas de thrombophilie [38]. Seuls les anticorps anti-phospholipides présumés pathogènes (potentiellement thrombogènes) sont caractéristiques de pathologies auto-immunes telles que le SAPL primaire ou secondaire au LES. Ils se caractérisent généralement par une stricte dépendance de co-facteurs/cibles protéiques pour leur fixation *in vitro* et *in vivo*. La reconnaissance de protéines liant les phospholipides, β_2GPI (reconnue par les anticorps anti-cardiolipine et une fraction des LA), prothrombine (par certains LA) ou protéine C, protéine S, annexine V et kininogènes (par des anticorps anti-phospholipides associés au SAPL non détectés par les tests usuels) a fait évoluer nos conceptions sur l'origine et la pathogénicité de ces anticorps [5, 19].

II. PRINCIPALES CIBLES ET PHATOLOGENICITE DES ANTICORPS

Le développement de plusieurs modèles murins de SAPL, spontanés ou induits expérimentalement, plaide en faveur du rôle pathogène de certains anticorps et aide à la compréhension des mécanismes lésionnels et à l'expérimentation de nouvelles thérapeutiques [10, 23, 33, 55]. Certaines lignées de souris lupiques se caractérisent par une réduction de la taille des portées et une thrombopénie, conjointement à l'apparition d'anticorps anti-phospholipides β_2GPI-dépendants. Le transfert passif d'anticorps anti-phospholipides polyclonaux ou monoclonaux (anti- β_2GPI) à des souris gestantes accroît la fréquence des résorptions fœtales et entraîne une diminution du poids des placentas. Les aspects obstétricaux, et peut-être neurologiques, du SAPL peuvent être reproduits chez la souris par immunisation avec des anticorps anti-phospholipides de malades (par perturbation du réseau idiotypique) ou de la β_2GPI hétérologue. Par ailleurs, l'effet thrombogène des anticorps anti-phospholipides a été démontré en étudiant les caractéristiques du thrombus induit par pincement de la veine fémorale chez ces souris immunisées. Enfin, plusieurs modèles murins semblent corroborer les liens complexes unissant chez les malades SAPL et artériosclérose précoce [22], probablement par la fixation préférentielle de la β_2GPI aux LDL sous forme oxydée et l'augmentation de leur phagocytose par les macrophages en présence d'anticorps anti- β_2GPI.

Le rôle prépondérant de la β_2GPI a conduit à la recherche directe des anticorps anti-β_2GPI par ELISA en l'absence de tout phospholipide [46]. Néanmoins, les phospholipides ne peuvent être relégués au second plan et leur rôle *in vivo* est probablement crucial, tant dans la production simultanée d'anticorps contre plusieurs protéines de liaison des phospholipides que dans les mécanismes lésionnels. Les phospholipides incriminés dans le SAPL (tableau I) sont des constituants normaux des membranes biologiques, organisés en bicouche et classés selon leur charge nette à pH physiologique. Cette charge est négative pour la cardiolipine et la phosphatidylsérine, neutre pour la phosphatidyléthanolamine. La cardiolipine est absente de la surface cellulaire alors que les deux autres phospholipides mentionnés ci-dessus sont des aminophospholipides séquestrés dans le feuillet interne de la membrane plasmique (figure 1), puis exposés à la surface de la cellule et des micro-

Tableau I *: Les phospholipides*

Phospholipides anioniques	**Phospholipides neutres**
Cardiolipine	Phosphatidyléthanolamine
Phosphatidylsérine	Sphingomyéline
Acide phosphatidique	Phosphatidylcholine
Phosphatidylinositol	
Phosphatidylglycérol	

particules qui s'en détachent après stimulation appropriée, phénomène à l'origine de l'assemblage des complexes enzymatiques de la coagulation. Il est généralement admis que la β_2GPI et les protéines apparentées, liées à des phospholipides rendus accessibles à la suite de l'activation ou de la mort cellulaire, représentent les principales cibles *in* vivo d'anticorps anti-phospholipides produits dans un contexte auto-immun.

De nombreux travaux ont tenté de déterminer les mécanismes pathogéniques potentiels des anticorps anti-phospholipides en étudiant *in vitro* les conséquences de l'interaction des

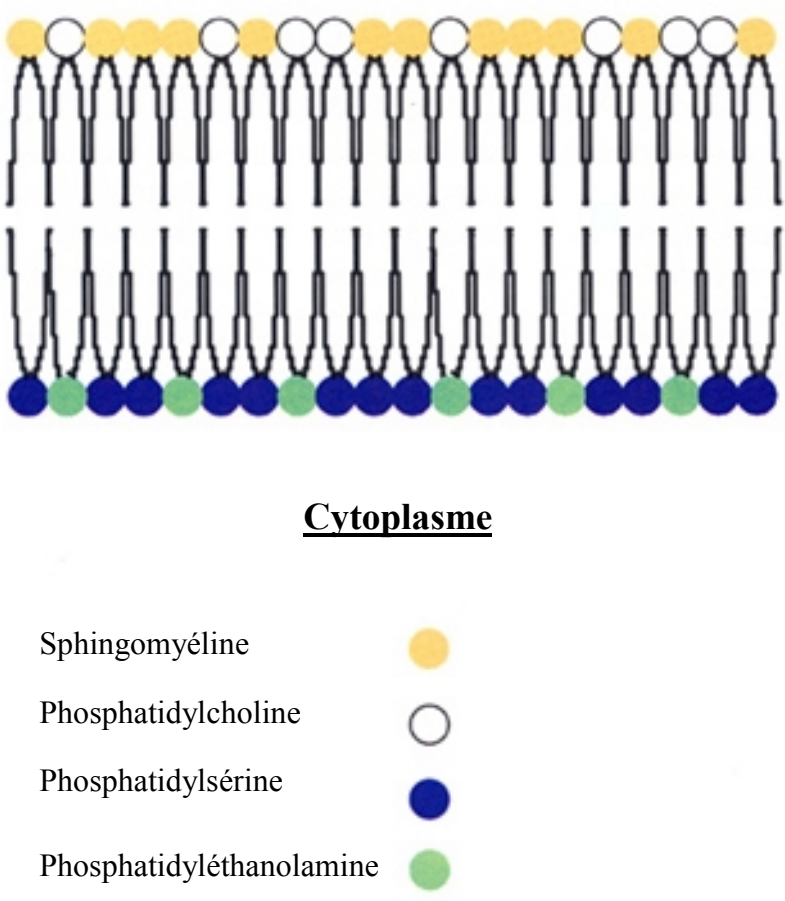
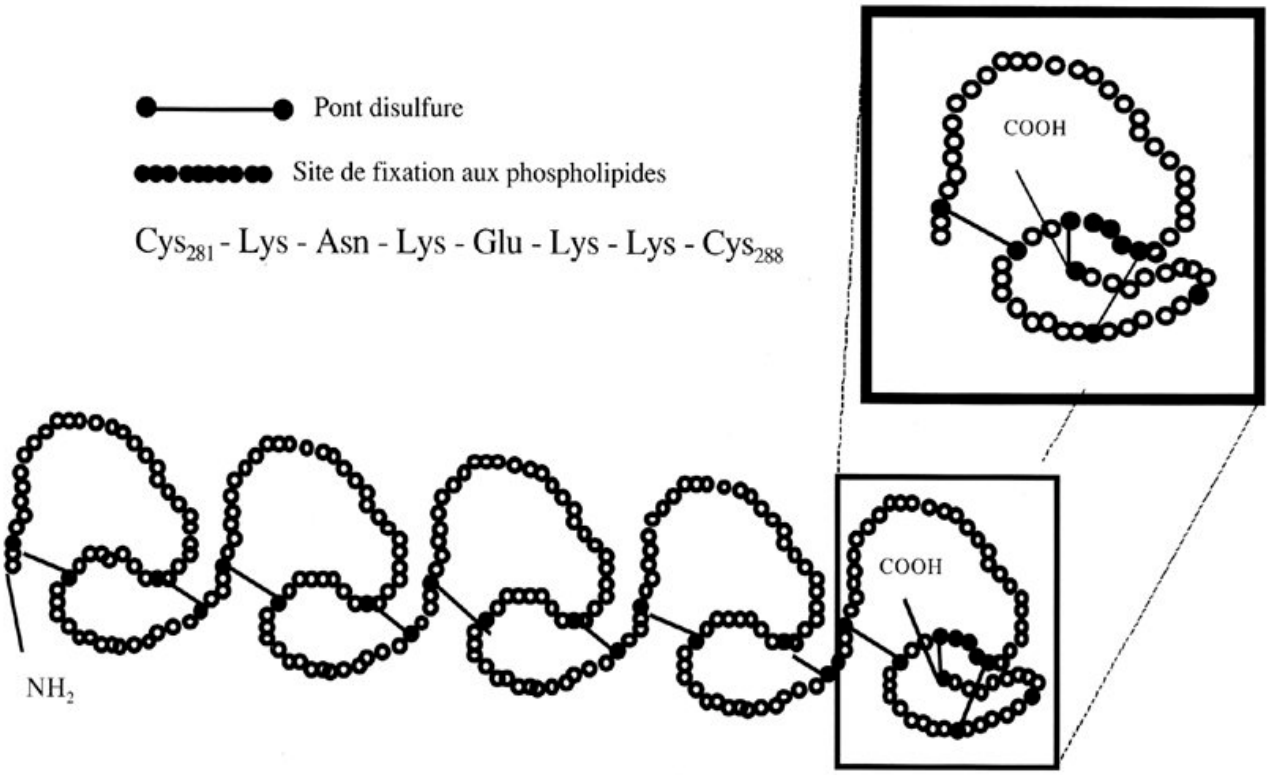


Figure 1 *: Distribution des phospholipides sur la membrane plasmique*



5 unités répétitives de 60 acides aminés

Figure 2 *: Structure en domaines de la* β_2GPI

différentes variétés d'anticorps anti-phospholipides avec des protéines impliquées dans la coagulation ou la fibrinolyse, ou avec les cellules productrices de ces facteurs, endothélium, plaquettes, monocytes, trophoblaste. Les anticorps anti-β_2GPI étant les plus étroitement associés aux complications thrombotiques, les caractéristiques biochimiques et fonctionnelles de cette protéine méritent d'être rappelées [33, 55] (tableau II; figure 2). L'affinité de la β_2GPI pour des membranes riches en phosphatidylsérine, relativement faible dans les conditions physiologiques de concentration saline et calcique, est fortement majorée en présence d'anticorps anti- β_2GPI fixés de façon bivalente [60]. Les complexes β_2GPI-anti-β_2GPI ainsi stabilisés à l'interface phospholipidique peuvent interférer avec la fixation d'autres protéines de la coagulation et affecter les mécanismes hémostatiques qui en dépendent [33, 46]. Par exemple, les anticorps anti-β_2GPI et la β_2GPI pourraient, de manière synergique, inhiber les fonctions anticoagulantes de la protéine C activée et de l'annexine V (protéine anticoagulante placentaire I), à l'origine respectivement de thromboses veineuses et d'infarctus placentaires [46]. Formés à la surface de cellules endothéliales, ces mêmes complexes β_2GPI-anti-β_2GPI induisent leur activation, qui peut être appréciée par la sécrétion d'interleukine 6, l'expression de molécules d'adhérence et l'adhérence des monocytes [15]. Par ailleurs, des anticorps anti-prothrombine polyclonaux et monoclonaux augmentent la fixation de la prothrombine à des cellules endothéliales et la quantité de thrombine générée dans ce système [42]. Une synthèse des mécanismes physiopathologiques susceptibles de rendre compte des manifestations thrombotiques du SAPL est effectuée dans le chapitre consacré aux LA.

Ainsi le paradoxe entre l'allongement parfois considérable de certains tests de coagulation in vitro dû à l'interférence des LA avec la fonction procoagulante des phospholipides (facteur

Tableau II *: Caractéristiques de la β_2 glycoprotéine I*

Biochimie
• 1 chaîne de 326 acides aminés, fortement glycosylée (50 kDa) • 5 domaines répétitifs (I-V) • 1 séquence linéaire du domaine V = site de liaison aux phospholipides anioniques et aux cellules • Polymorphisme allélique • Forte homologie de séquence entre espèces • Concentration plasmatique = 200 mg/L environ (sauf déficit) • Formes libre et associée aux lipoprotéines (apolipoprotéine H)
Interactions
• Molécules chargées négativement Phospholipides, ADN, héparine • Particules Mitochondries, virus, corps apoptotiques Plaquettes activées, lipoprotéine Lp (a) • Cellules épithéliales Récepteurs d'endocytose (mégaline)
Fonctions
• Inhibitrices *in vitro* Agrégation plaquettaire Activation de la phase contact et de la prékallicréine Génération des facteurs Xa et IIa Activité du facteur tissulaire Interaction entre protéine S et C4b binding protein Voie de la protéine C • *In vivo* Anticoagulante ? Anti-athérogène ? Opsonine ?

limitant des étapes d'activation du facteur X et de la prothrombine), et l'augmentation du risque thrombotique *in vivo* n'est qu'apparent [42]. Les LA ne se manifestent, en effet, par des troubles hémorragiques que dans les rares cas où ils s'accompagnent d'une thrombopénie sévère ou d'une hypoprothrombinémie acquise, traduction de la présence d'anticorps anti-prothrombine de forte affinité se complexant avec la prothrombine circulante et l'éliminant.

III. TESTS IMMUNOLOGIQUES DE DÉTECTION DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES

III.1- Leur place par rapport aux autres tests

Étant donné l'extrême diversité des anticorps anti-phospholipides [4-7, 47] en termes de classes et sous-classes d'immunoglobulines, d'affinité et avidité et surtout des épitopes reconnus sur différentes protéines (humaines et/ou animales) complexées ou non à des

phospholipides, il n'est pas surprenant que leur détection requière la mise en œuvre de plusieurs tests, dont la standardisation s'est avérée difficile [26, 45]. Les critères internationaux récemment élaborés pour la classification du SAPL retiennent, sur le plan biologique, deux variétés d'anticorps détectés par des tests dépendants des phospholipides [59]. Il s'agit des anticorps anti-cardiolipine (anticorps dépendants de la β_2GPI mesurés par un ELISA standardisé) et des LA (combinaison de tests de coagulation et d'étapes selon les recommandations émises par l'ISTH, International Society on Thrombosis and Haemostasis), l'un ou l'autre devant être présent à au moins deux occasions espacées de six semaines minimum [59]. LA et anticorps anti-cardiolipine doivent être recherchés conjointement puisque leur taux de recouvrement est d'environ 60 % dans le SAPL, mais seuls les tests immunologiques seront détaillés ici. Les réactions sérologiques de la syphilis, donnant une positivité dissociée, sont plus rarement utilisées car leur sensibilité est faible dans le cadre du SAPL, de l'ordre de 5 %. Le diagnostic devrait par contre bénéficier d'une large diffusion de tests ELISA reposant sur l'immobilisation directe des protéines cibles des anticorps anti-phospholipides, en particulier la β_2GPI.

III.2- Principes généraux

Les anticorps anti-cardiolipine sont théoriquement détectables par ELISA, « fluoro-allergo-sorbent » test (FAST), cytofluorométrie sur microsphères, ou encore chromatographie en couche mince suivie d'un immunomarquage. Les anticorps anti-β_2GPI sont eux aussi détectables par différents types d'immuno-essais tels qu'ELISA, immunodot et immunoblotting, ce dernier test comportant une électrophorèse en gel de polyacrylamide pratiquée dans des conditions non dénaturantes, afin de ne pas détruire les épitopes conformationnels, très importants pour la réactivité de ces autoanticorps. Pourtant, seul l'ELISA s'est développé en pratique quotidienne, par des techniques « maison » ou des « kits » commerciaux. Étant donné l'enjeu commercial constitué par le diagnostic biologique du SAPL, un grand nombre d'industriels proposent de telles trousses de dosage des anticorps anti-β_2GPI et des anticorps anti-cardiolipine, qui donnent parfois entre elles des résultats fort disparates [45].

Le schéma de base de ces ELISA sandwich est classique; il comporte successivement : 1) l'adsorption de l'antigène adéquat sur les cupules d'une microplaque, 2) le blocage des sites de liaison résiduels du support par un excès de protéines irrelevantes ou de détergent, afin de réduire la fixation non spécifique ultérieure des immunoglobulines du sérum à tester, 3) l'incubation du sérum à tester à la dilution appropriée, suivie de lavages, 4) enfin l'addition d'anticorps anti-immunoglobulines couplés à une enzyme, puis du substrat chromogénique donnant une densité optique proportionnelle à la quantité d'anticorps fixés. Les aspects propres à chacune des techniques de détection des anticorps anti-β_2GPI ou d'anticorps anti-cardiolipine, tels que problèmes de standardisation ou choix du plastique et des tampons, seront évoqués aux paragraphes suivants.

La détermination du seuil de positivité est délicate car les taux d'anticorps dans les populations de référence (donneurs de sang par exemple) ne suivent généralement pas une loi normale de distribution, mais sont répartis selon une courbe dissymétrique pour les valeurs les plus élevées. Surtout, ces taux d'anticorps varient (de même que certains résultats en pathologie) selon la source de l'antigène utilisé (fournisseur et lot chez un même fournisseur),

ce qui conduit à ré-étalonner la technique à chaque changement de lot. Plusieurs modes de calcul peuvent être employés dans ce but, source importante de variabilité des résultats entre laboratoires : moyenne des sérums normaux additionnée de n déviations standard (n peut varier de 2 à 5) ou percentiles (95-98^{e} le plus souvent). L'expression en densités optiques est critiquable en raison de la grande variabilité d'une plaque ELISA à l'autre. On peut utiliser des unités arbitraires ou standardisées, calculées à partir des résultats de sérums « standards » positifs et négatifs inclus dans chaque plaque (voir infra). La prise en compte, pour chaque sérum testé, de sa fixation non spécifique sur des puits non sensibilisés par l'antigène (« blanc sérum ») est nécessaire (faux positifs), malheureusement impossible à appliquer avec la plupart des trousses commerciales qui en sont dépourvues. La soustraction de ce « blanc sérum »est surtout utile pour contrôler tout sérum trouvé positif, mais facultative pour le dépistage. Comme pour toute technique ELISA, les résultats peuvent être influencés par la présence, dans le sérum à tester, de cryoglobulines (faux-négatifs) ou de facteurs rhumatoïdes (risque d'erreur d'isotype).

III.3- Prélèvement - Conservation des échantillons

Comme pour tout auto-anticorps, le dosage des anticorps anti-phospholipides s'effectue sur du sérum. Le prélèvement doit donc être réalisé sur tube sec. À la rigueur, la détection des anticorps anti-phospholipides par ELISA peut éventuellement être réalisée sur du plasma, et les résultats ne semblent pas influencés par les plaquettes résiduelles ou l'anticoagulant utilisé. Après centrifugation, le sérum est décanté et réparti en aliquotes destinés au dosage immédiat et à la sérothèque. La répétition des congélations et décongélations doit être évitée, car elle s'accompagne d'une baisse des taux d'anticorps détectés. Le chauffage des sérums à 56°C, parfois réalisé pour inactiver le VIH, est très fortement déconseillé, car l'agrégation des IgG qui en résulte est une source de « faux-positifs lorsque les anticorps anti-cardiolipine sont recherchés par technique ELISA (ELISA-aCL), en particulier [28].

III.4- Anticorps anti-cardiolipine

Comme déjà indiqué, les anticorps révélés par l'ELISA-aCL habituel reconnaissent aussi les autres phospholipides anioniques (tableau I). La cardiolipine est néanmoins le phospholipide anionique le plus utilisé, aussi bien dans les tests « maison » que dans les trousses commercialisées, pour des raisons historiques (ce furent les premiers anticorps anti-phospholipides décrits), et parce que toutes les tentatives de standardisation de cette technique immuno-enzymatique l'utilisent comme antigène.

Bien que le principe général de ce test soit le même que celui de nombreux ELISA, la sensibilité et la spécificité de l'ELISA-aCL dépendent d'un certain nombre de facteurs (tableau III) dont nous allons analyser l'impact.

• ***L'antigène :*** *La cardiolipine* (le terme français est « cardiolipine ») a été longtemps considérée uniquement comme un constituant de la membrane interne des mitochondries où elle aurait pour rôle de rendre cette dernière imperméable aux ions. Une étude récente a montré sa présence dans le plasma humain normal sous forme complexée aux lipoprotéines plasmatiques, principalement les LDL [14]. La majorité des tests utilisent de la cardiolipine extraite à partir de cœur de bœuf, mais certains lui préfèrent une préparation de

Tableau III : *Les éléments du test ELISA anti-cardiolipine (ELISA-aCL)*

• La microplaque
• L'antigène
• Le tampon de saturation
• Le blanc échantillon
• L'antisérum
• L'expression des résultats
• La gamme
• La méthode de calcul

synthèse. La cardiolipine est un diphosphatidylglycérol constitué de 2 groupes phosphates et de 4 chaînes d'acides gras polyinsaturés très rapidement oxydés au contact de l'air (figure 3).

Certains auteurs ont montré que la réactivité des sérums vis-à-vis de la cardiolipine augmente avec le temps d'exposition à l'air. Cette oxydation serait nécessaire à la réactivité de

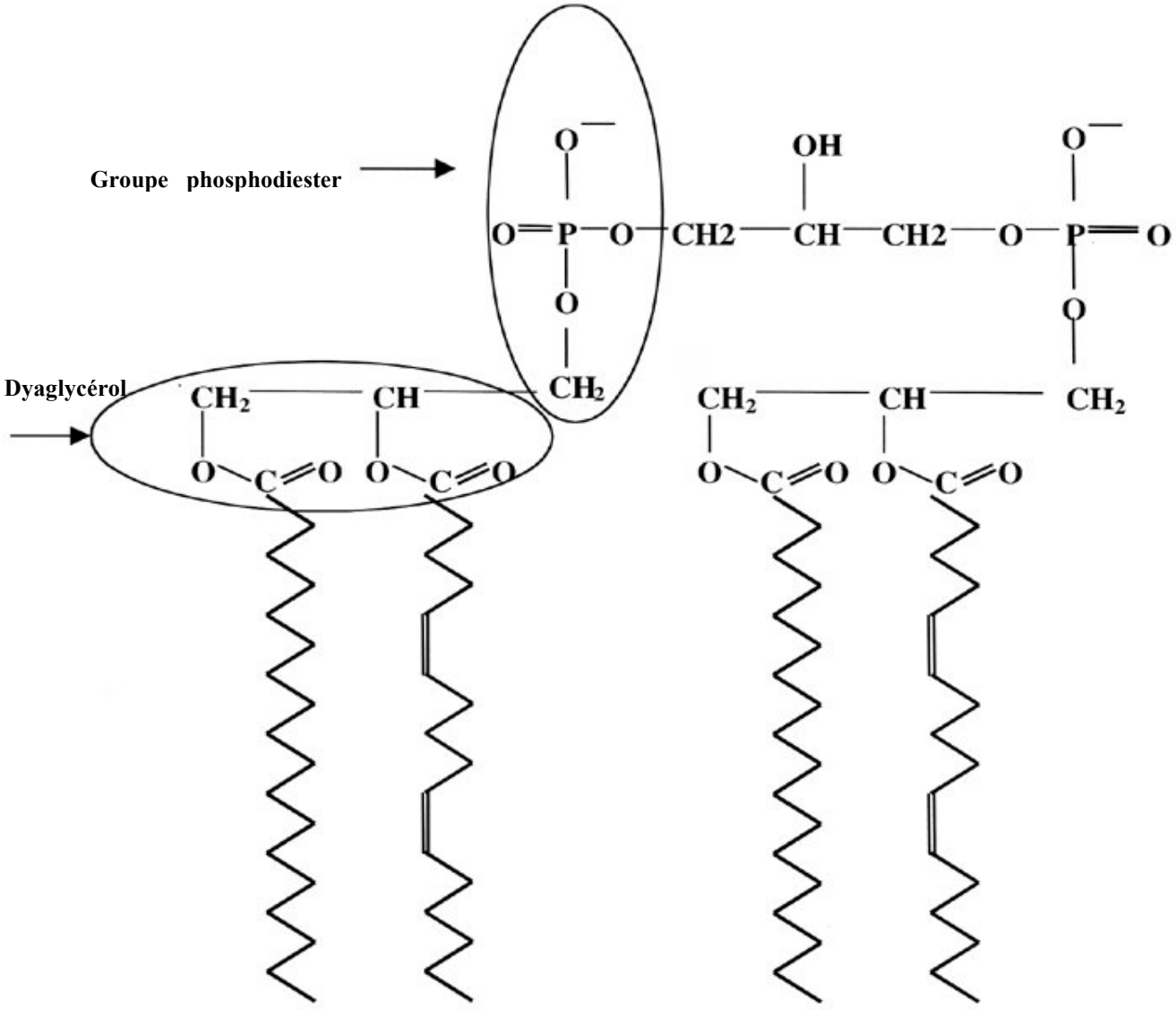


Figure 3 *: Structure de la cardiolipine*

la plupart des anticorps anti-cardiolipine parce que ces anticorps reconnaîtraient des néo-épitopes présents sur la cardiolipine oxydée ou générés par la formation de complexes, entre des produits de dégradation du phospholipide oxydé et des protéines comme la β_2GPI [31]. Cependant, une exposition trop prolongée augmente la réactivité des sérums de patients ayant un SAPL, mais aussi de sérums normaux. C'est pourquoi les conditions de fixation de la cardiolipine sur la plaque ELISA doivent être bien définies. La plupart des protocoles de standardisation recommandent de l'adsorber sur les plaques une nuit après évaporation de la solution alcoolique (à cause de la toxicité du méthanol on utilise préférentiellement l'éthanol) à 4°C, afin d'éviter une oxydation trop importante. On peut aussi préparer les plaques par évaporation de l'éthanol sous un courant d'azote. On observe également des différences d'oxydation entre les différents lots de cardiolipine et selon la durée et les conditions de conservation de la préparation de cardiolipine. Une préparation, conservée plus d'un mois au congélateur et ouverte plusieurs fois, est plus fortement oxydée qu'une préparation fraîche, et peut être responsable de résultats faussement positifs.

Classiquement, dans les maladies auto-immunes, contrairement aux maladies infectieuses, le complexe cardiolipine/β_2GPI représente la cible privilégiée des anticorps anti-cardiolipine. C'est pourquoi, dans les ELISA utilisés pour la recherche et le dosage de ces anticorps, les tampons de saturation et/ou de dilution des échantillons doivent contenir du sérum ou du plasma d'origine animale, afin d'apporter une quantité suffisante de β_2GPI. La sensibilité et la spécificité du test sont dépendantes de la quantité de β_2GPI dans le milieu réactionnel. Parce que sa concentration est très variable d'une source de sérum animal à l'autre, certains préfèrent utiliser de la β_2GPI humaine, purifiée en quantité bien définie, pour une meilleure reproductibilité et une optimisation du test. Toutefois, un tel procédé est très onéreux et la plupart des laboratoires utilisent une solution tampon contenant du sérum animal en proportion suffisante (environ 10 %) pour apporter une quantité saturante de β_2GPI, ce sérum devant être préalablement sélectionné pour un effet co-facteur optimal. L'étape de saturation est très importante parce qu'elle conditionne la spécificité du test en évitant la fixation non spécifique des immunoglobulines. Outre l'apport de β_2GPI, l'addition de sérums animaux aux tampons permettrait une meilleure saturation que l'albumine bovine ou de la gélatine. Le temps d'incubation nécessaire à une saturation optimale de la plaque est d'environ une heure.

• ***La dilution des échantillons*** *:* Selon les trousses, les échantillons sont dilués au 1/100^e ou au 1/50^e. Pour certains, la dilution au 1/50^e permet d'apporter une quantité suffisante de β_2GPI endogène pour révéler certains anticorps anti-cardiolipine dont la réactivité est spécifique de la présence de β_2GPI humaine. Il y a environ 80 % d'homologie entre les β_2GPI bovine et humaine et la plupart des anticorps ne sont pas spécifiques d'espèce. Cependant, on a décrit quelques sérums qui réagissent seulement avec la β_2GPI humaine [2].

• ***Le temps d'incubation des sérums*** *:* Les anticorps anti-cardiolipine sont des anticorps de faible avidité et il est recommandé que le temps d'incubation soit suffisant (environ une heure) pour permettre une liaison optimale de ces anticorps à la cardiolipine adsorbée sur la plaque.

• ***Les isotypes*** *:* La détermination de la classe de ces anticorps est très importante. En effet, l'isotype IgG est le plus fortement associé à la pathogénie. L'isotype IgM est moins fréquemment

présent et, dans la majorité des cas, il est associé à l'isotype IgG. Isolé, l'isotype IgM est rare au cours du SAPL; le plus souvent, il est transitoire, asymptomatique et associé à un contexte infectieux ou à la prise de certains médicaments (en particulier, des anti-épileptiques). On peut dans un premier temps faire un dépistage des anticorps anti-cardiolipine avec un antisérum polyvalent afin de rechercher tous les isotypes, puis ensuite identifier l'isotype de ces anticorps avec des antisérums monospécifiques. Cette démarche est plus longue et plus coûteuse, c'est pourquoi dans notre laboratoire, nous préférons utiliser un antisérum spécifique d'une classe d'immunoglobuline et c'est l'isotype IgG qui est principalement recherché. Les anticorps de classe IgM ne sont recherchés que dans le cas d'une négativité des IgG anti-cardiolipine et de signes cliniques évocateurs de SAPL. Enfin, la plupart des calibrateurs disponibles sont des IgG ou des IgM anti-cardiolipine. L'isotype IgA ne semble pas très informatif pour le clinicien [50]. Bien que des anticorps de cette classe uniquement aient été rapportés en association avec une vasculite et des signes cutanés, ils sont rares au cours du SAPL et quasiment toujours associés à l'isotype IgG. Aussi, leur recherche en routine ne paraît pas indispensable.

• ***La quantification*** *:* Elle est d'autant plus indiquée qu'il existe une forte corrélation entre un taux élevé d'anticorps, en particulier d'isotype IgG, et le risque de survenue d'un SAPL. Pour quantifier les anticorps anti-cardiolipine, il est recommandé d'utiliser au moins cinq standards pour construire une courbe de référence. De nombreuses trousses commercialisées utilisent des standards internes dont la valeur a été définie par rapport à celle de standards produits par l'Université de Louisville (USA) et couramment appelés « standards Harris » [26], dont les valeurs sont exprimées en unités GPL pour l'isotype G et MPL pour l'isotype M. Une unité GPL ou MPL correspond à une concentration d'anticorps anti-cardiolipine de 1 µg/ml. Cependant, différents lots de ces standards ont été produits et il y a peu de concordance d'un lot à l'autre. Une telle variabilité est un facteur favorisant les discordances des résultats obtenus avec des trousses différentes. Ainsi, avec des trousses dont les standards ont été calibrés avec un lot de standard Harris, certains sérums auront des taux d'anticorps anti-cardiolipine 2 à 3 fois supérieurs à ceux obtenus avec des trousses calibrées avec un autre lot [2]. Dans une étude multicentrique sur les performances de neuf trousses commerciales pour la quantification des IgG et IgM anti-cardiolipine, il a été montré une grande divergence entre les valeurs d'un lot de standards « Harris » octroyées par l'Université de Louisville et celles mesurées dans certaines trousses [45]. Ainsi, les termes d'unités GPL ou MPL n'impliquent pas que la standardisation de l'ELISA-aCL soit effective. Il faut souligner que des différences dans la quantification des anticorps anti-cardiolipine peuvent avoir pour conséquence des différences dans le diagnostic et la prise en charge thérapeutique des patients. C'est pourquoi un protocole européen de standardisation des anticorps anti-cardiolipine a été entrepris par le Forum Européen des Antiphospholipides à l'initiative du Pr A. Tincani [56]. Les résultats de cette étude multicentrique devraient permettre de proposer une méthode de consensus. Le problème le plus difficile à résoudre est le choix de standards permettant une reproductibilité des résultats dans le temps. Dans ce but, l'utilisation d'anticorps monoclonaux est en cours d'analyse.

• ***La valeur seuil*** *:* La valeur seuil diffère considérablement d'une trousse à l'autre, pouvant aller de 5 à 23 unités GPL et de 5 à 25 unités MPL. Une des raisons d'une telle fluctuation est, comme nous l'avons déjà indiqué, l'utilisation de différentes méthodes de

calcul : moyenne + n déviations standard, percentiles. La distribution des anticorps ant-cardiolipine dans la population dite normale n'étant pas gaussienne, la méthode des percentiles paraît être la plus adaptée. Cependant, l'usage des percentiles n'a pas été adopté par tous les laboratoires, malgré les recommandations internationales [27]. Ainsi, la détermination de la valeur seuil est un élément supplémentaire de variations entre les trousses ELISA-aCL. Rappelons l'habitude de certains laboratoires travaillant avec des réactifs « maison » de calibrer de nouveau le test, en cas de changement de réactif, par l'étude systématique d'au moins 50 sérums normaux. Parmi les autres causes pouvant expliquer ces différences de valeur seuil d'une trousse à l'autre, on peut aussi invoquer des choix différents entre une sensibilité ou une spécificité plus grande, une absence de concordance de valeur entre les standards utilisés, et peut-être aussi, des variations dans la qualité des supports plastiques utilisés entraînant des variations de fixation non spécifique, non évaluables dans les trousses dépourvues de « blancs » appropriés.

III.5- Anticorps anti β_2 glycoprotéine I

Après de nombreuses polémiques, il a été reconnu que la β_2GPI était l'un des antigènes majeurs réagissant avec les anticorps anti-phospholipides dans les maladies auto-immunes [41, 31, 36]. La recherche directe des anticorps anti- β_2GPI (β_2GPI-ELISA) nous paraît être beaucoup plus simple et informative que l'analyse de la dépendance vis-à-vis de la β_2GPI telle qu'elle est réalisée dans un ELISA-aCL modifié.

La fixation des anticorps anti-β_2GPI sur des puits revêtus uniquement de β_2GPI humaine purifiée, en l'absence de phospholipides, impose le choix de certaines plaques, polystyrène préalablement irradié ou chlorure de polyvinyle [36, 57]. Les différentes trousses commerciales disponibles répondent à cet impératif technique. L'irradiation -y, réalisée par certains fabricants pour augmenter la sensibilité des tests (plaques qualifiées de « high binding »), a pour effet d'oxyder le polystyrène en introduisant des groupements carbonyle chargés négativement qui pourraient « mimer » les phospholipides. Les deux interprétations suivantes (non mutuellement exclusives) ont été proposées pour expliquer la réactivité particulière des anticorps anti-β_2GPI dans ces tests (figure 4). Il est possible que le(s) changements de conformation de la β_2GPI après immobilisation sur une surface phospholipidique ou sur du polystyrène irradié expose(nt) des épitopes cryptiques, ce qui permettrait la fixation des anticorps [40, 36]. Plus probablement, la densité de β_2GPI fixée est augmentée par le traitement préalable du plastique, favorisant la liaison d'anticorps de faible affinité par des interactions bivalentes [46, 55]. Les mêmes remarques s'appliquent à la détection des anticorps anti-prothrombine par ELISA [20].

Il n'existe pas de consensus quant au choix de l'anticorps révélateur: anti-immunoglobulines polyvalent (anti-IgG+IgM+IgA), anti-IgG[H+L] ou anti-γ spécifique. Nous avons choisi de déterminer simultanément les trois isotypes à l'aide d'un anticorps polyvalent. Cette approche globale est financièrement rentable puisque, devant un résultat positif, l'identification de (ou des) isotype(s) impliqué(s) n'est pas nécessaire en pratique quotidienne. L'utilisation d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif est, bien sûr, indispensable dans chaque essai. La préparation d'un pool de sérums dont la concentration est ajustée pour repérer la limite de positivité, déterminée localement ou indiquée par le fournisseur, est

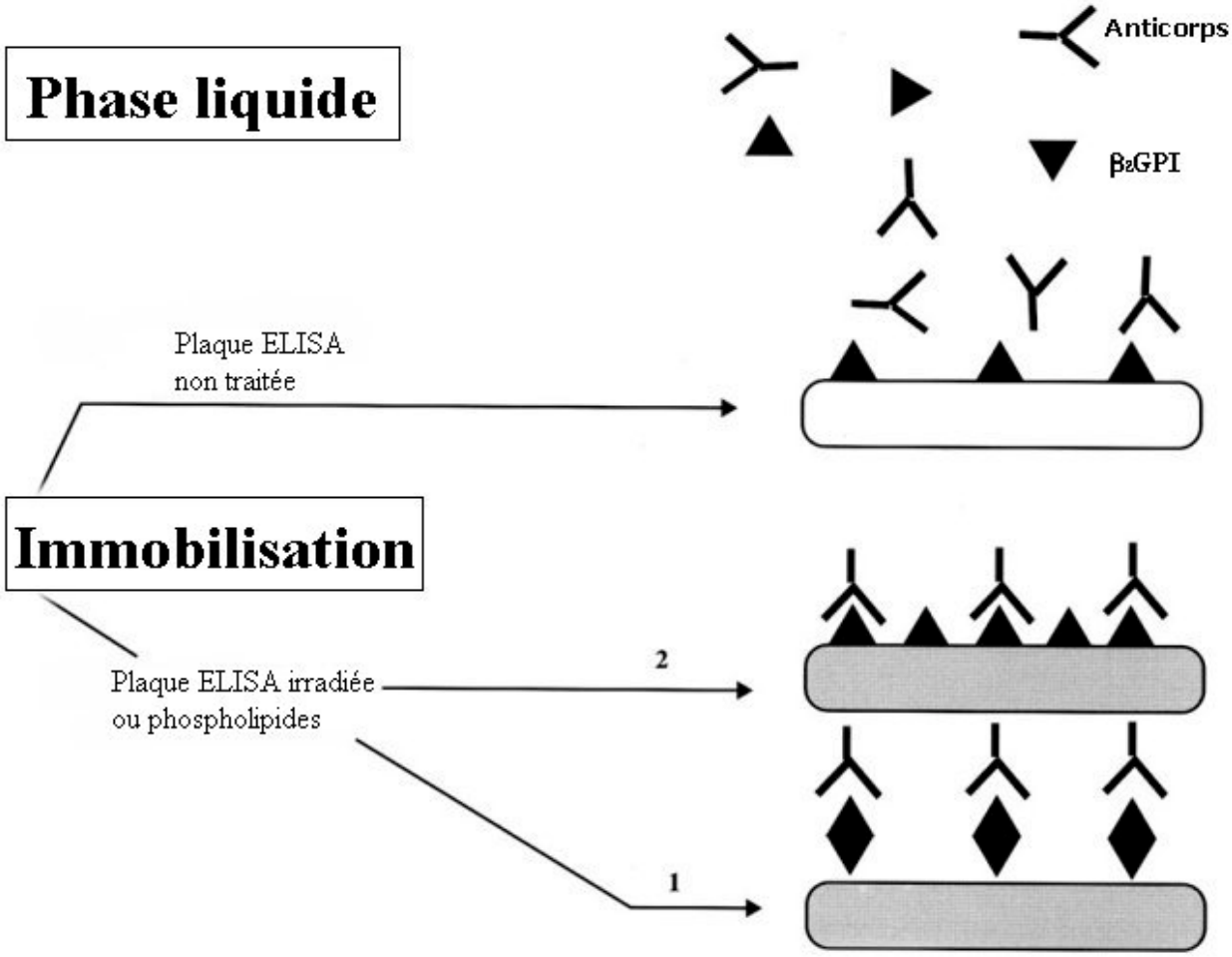


Figure 4 *: Interprétation de la réactivité des anticorps anti-β_2GPI faisant intervenir un changement de conformation de la protéine (1) ou la faible affinité des anticorps (2).*

très utile pour apprécier la reproductibilité. Les problèmes sont dans l'ensemble analogues à ceux discutés plus haut.

Le choix entre technique « maison » et trousses commerciales doit répondre aux besoins du laboratoire. Ces dernières proposent un système de calibration en un seul point, ou mieux, une véritable courbe de calibration à plusieurs points, permettant d'exprimer le titre de chaque échantillon en unités arbitraires. L'utilisation des mêmes standards de référence devrait permettre la comparaison et l'harmonisation des résultats obtenus avec différents systèmes de dosage. Pourtant, dans une étude multicentrique récente du β_2GPI-ELISA placée sous l'égide du Forum Européen des Antiphospholipides, de grandes disparités persistaient entre participants malgré l'adoption d'unités de mesure communes pour fixer le seuil de positivité. Tout se passe comme si les performances d'un système de dosage donné variaient en fonction des sérums testés et des populations d'anticorps anti-β_2GPI qu'ils contiennent. Il faut être conscient que la « qualité » de la β_2GPI purifiée servant au coating représente une source de variabilité importante, les résultats pouvant différer d'un fournisseur à l'autre, mais aussi d'un lot de protéine à l'autre chez le même fournisseur.

La comparaison de l'ELISA-aCL conventionnel avec le β_2GPI-ELISA a fait apparaître la possibilité de résultats discordants du type anticorps anti-cardiolipine-/anticorps anti-β_2GPI+, illustration supplémentaire de l'hétérogénéité de ces derniers. Les explications possibles sont au moins au nombre de deux

- de rares anticorps anti-β_2GPI reconnaissent des épitopes rendus inaccessibles par l'interaction β_2GPI-phospholipides;

- certains anticorps, préférentiellement d'isotype IgM, sont spécifiques d'espèce reconnaissant la β_2GPI humaine (utilisée dans le β_2GPI-ELISA) mais non la β_2GPI bovine (prépondérante dans l'ELISA-aCL). Cependant, la majorité des anticorps anti-β_2GPI reconnaissent des zones d'homologie entre espèces animales, ce qui se traduit par la positivité des deux tests précédents. Les avantages du β_2GPI-ELISA par rapport à l'ELISA-aCL résident donc dans la détection de l'ensemble des anticorps anti-β_2GPI (y compris les deux variétés précédentes : incapables de reconnaître la β_2GPI liée à la cardiolipine et spécifiques de la β_2GPI humaine), et dans l'ignorance des « vrais » anticorps anti-cardiolipine (habituellement, mais pas toujours, sans conséquence clinique).

III.6- Les autres anticorps associés au SAPL

D'autres anticorps ont été décrits au cours du SAPL et constituent le « puzzle des anti-phospholipides ». Certains sont anecdotiques alors que d'autres, en particulier les anti-corps anti-phosphatidyléthanolamine, paraissent, à travers diverses études, être de nouveaux marqueurs possibles du syndrome.

• **Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine :** La phosphatidyléthanolamine est un phospholipide neutre dont la présence sur la membrane cellulaire s'avère indispensable à l'expression de l'activité anticoagulante de la protéine C activée [16]. Sous forme hexagonale, la phosphatidyléthanolamine est capable d'inhiber spécifiquement la capacité de certains LA de prolonger le temps de coagulation, et, ainsi, certains LA pourraient correspondre à un sous-groupe d'anticorps anti-phosphatidyléthanolamine [44]. La réactivité des anticorps dirigés contre la phosphatidyléthanolamine peut être mise en évidence par ELISA et, comme précédemment, les résultats divergent selon les réactifs utilisés. Le co-facteur des anticorps anti-phosphatidyléthanolamine ne serait pas la β_2GPI, mais le kimnogène de haut poids moléculaire [53] ainsi que d'autres protéines plasmatiques, la.prékallicréine ou le facteur XI, ou des protéines non identifiées. Selon le sérum animal présent dans le tampon de saturation, l'apport en co-facteurs peut être différent. Pour certains auteurs, le sérum ou le plasma de bœuf adulte permettrait une meilleure détection des anticorps anti-phosphatidyléthanolamine que le sérum de veau fœtal [37], ce qui ne fait pas l'unanimité [9]. Dans notre expérience, la réactivité des anticorps anti-phosphatidyléthanolamine est significativement supérieure en présence de sérum de veau fœtal que de sérum de bœuf adulte, aussi bien pour les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine d'isotype IgM que d'isotype IgG. Il faut noter qu'il existe certainement une grande hétérogénéité parmi ces anticorps, qui pourrait expliquer la grande variabilité des résultats de leur recherche selon les conditions du test utilisé.

La signification clinique des anticorps anti-phosphatidyléthanolamine semble être surtout liée à leur classe. Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine d'isotype IgG semblent être les plus dépendants des co-facteurs, les anticorps d'isotype IgM ou IgA l'étant peu. Ces anticorps ont été rapportés chez des patients ayant un lupus associé ou non à des symptômes du SAPL, accidents thromboemboliques ou pertes fœtales à répétition [37]. Des anticorps des deux isotypes, IgG et IgM, peuvent être présents simultanément ou isolément. Les anticorps IgG seraient plus fréquents au cours du lupus, presque toujours associés à d'autres anticorps anti-phospholipides, anticorps anti-cardiolipine, LA et anti- β_2GPI. La détection de l'isotype IgM paraît avoir d'autant plus d'intérêt que les anticorps

anti-phosphatidyléthanolamine d'isotype IgM ont été décrits comme les seuls anticorps anti-phospholipides présents de façon persistante au cours de pertes fœtales récurrentes ou d'anomalies thrombotiques inexpliquées, en absence de maladie auto-immune avérée [25, 48, 8]. Pour ces auteurs, les IgM anti-phosphatidyléthanolamine pourraient représenter un marqueur d'un syndrome « SAPL like ». Des anticorps de classe IgA prédominante ou isolée ont aussi été rapportés, notamment dans des cas de rétinopathie diabétique. Les études prospectives multicentriques en cours visent à confirmer la pertinence de la recherche de ces anticorps devant la présence de signes cliniques évocateurs de SAPL.

La réalisation de ce test est très délicate et la commercialisation de trousses ELISA n'est pas encore développée. La phosphatidyléthanolamine a tendance à se dégrader en lyso-phosphatidyléthanolamine avec le temps, ce qui la rend instable au cours de la conservation des plaques. De plus, elle est soluble dans des mélanges chloroforme/méthanol ou chloroforme/éthanol. Ces mélanges modifient la qualité de la plaque et augmentent le bruit de fond. De ce fait, l'inclusion d'un puits « blanc » par échantillon est encore plus indispensable que dans les autres tests, afin d'éliminer les réactions non spécifiques. La standardisation de cet ELISA doit impérativement être entreprise pour définir les conditions optimales de ce test et permettre son utilisation par un plus grand nombre de laboratoires.

• Les anticorps anti-prothrombine :

La prothrombine est un des co-facteurs des LA. Dans les sérums qui contiennent des anticorps anti-prothrombine, il existe généralement aussi d'autres anticorps anti-phospholipides, en particulier des LA. Le test ELISA anti-prothrombine est loin d'être standardisé et de nombreuses variables influencent les résultats

. La plaque de microtitration : comme pour les anticorps anti-β_2GPI, seules des plaques irradiées ou activées permettent la mise en évidence de ces anticorps [3]. Pour certains auteurs, la liaison des anticorps à la prothrombine est plus forte lorsqu'elle est fixée sur des plaques préalablement recouvertes de phosphatidylsérine 'en présence de calcium [20].

. La source de prothrombine : les anticorps réagissent plus fortement avec la prothrombine humaine, qu'avec la molécule bovine.

La relation entre la présence de ces anticorps et celle de complications thromboemboliques n'est pas encore établie. Seules certaines études non confirmées ont montré une association significative et la sensibilité du test est considérée comme faible. Par contre, sa spécificité serait assez élevée, mais avec de grandes variations selon les études (76 à 93 % pour les anticorps IgG et 77 à 98 % pour les IgM) [21]. Dans l'état actuel des connaissances, la recherche des anticorps anti-prothrombine ne paraît pas encore s'imposer en routine. Il faut noter qu'il n'existe pas encore de test commercialisé.

• Les anticorps anti-annexine V : D'autres anticorps ont été décrits dans des contextes de pertes fœtales ou de thromboses. Les études publiées sont peu nombreuses. La prévalence de ces anticorps dans ces cadres semble faible et leur signification clinique est loin d'être établie. C'est pourquoi nous les qualifierons « d'anecdotiques ». C'est le cas notamment des anticorps anti-annexine V. Ces anticorps ne sont en général recherchés que dans le cadre de protocoles d'études cliniques. L'annexine V est une protéine qui se lie aux phospholipides anioniques avec une très forte affinité et exerce une puissante activité anticoagulante *in vitro*. Elle est fortement exprimée à la surface apicale des microvillosités du syncytiothrophoblaste riche en phosphatidylsérine. La relation entre la présence d'anti-

corps anti-annexine V et les pertes fœtales est diversement appréciée selon les études. Kaburaki et col. les ont rapportés chez 24 % de patientes lupiques ayant eu des pertes fœtales, habituellement en association avec des LA et/ou des anticorps anti-cardiolipine [32]. De même, Gris et col. [25] ont montré que les anticorps anti-annexine V d'isotype IgG représentaient un facteur de risque de pertes fœtales dites « inexpliquées » (Odds ratio = 3,2), alors qu'une autre étude récente a montré la même prévalence (2 %) dans le SAPL avec pertes fœtales que dans un groupe contrôle [51]. Ces discordances sont peut-être la conséquence de différences dans les critères de recrutement des patients mais surtout de différences méthodologiques.

IV. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

IV.1- Remarques générales

L'importance clinique de la présence d'anticorps anti-phospholipides est encore incertaine, en raison notamment des graves problèmes méthodologiques mentionnés ci-dessus, qui rendent difficile l'interprétation d'une littérature extrêmement peu cohérente et contradictoire. Tous les malades dont le sérum contient de tels anticorps sont très loin de développer un SAPL. Comme beaucoup d'autres auto-anticorps, ceux-ci sont en général présents dans les sérums normaux, ce qui conduit à déterminer un seuil de signification pathologique, toujours arbitraire. Par définition, considérer comme pathologiques des concentrations (pour autant que la quantification en soit correcte et reproductible) supérieures à la moyenne des sérums normaux augmentés de deux écarts-types conduit à inclure des sérums normaux, et inversement. Les anticorps anti-phospholipides s'observent dans des circonstances cliniques très disparates, du LES et autres connectivites (où l'incidence d'un SAPL secondaire d'environ 25-40 %) aux infections (où la survenue de complications thrombotiques ou obstétricales - et donc du SAPL - est exceptionnelle) en passant par des pathologies tumorales, l'intoxication éthylique, la prise de certains médicaments ou encore la drépanocytose [38]. Il apparaît donc que la présence d'anticorps anti-phospholipides peut n'être qu'un épiphénomène sans signification pathologique. Une difficulté supplémentaire est que certains anticorps anti-phospholipides ne sont probablement délétères qu'en présence de facteurs thrombogènes associés, tels que chirurgie, traumatisme, immobilisation prolongée, contraception orale ou anomalie constitutionnelle de l'hémostase.

De plus, comme pour tous les dosages d'auto-anticorps, la signification diagnostique des anticorps anti-phospholipides est basée sur trois paramètres inhérents aux tests utilisés et diversement appréciés selon les études

- la sensibilité, c'est-à-dire la fréquence d'un test positif chez les patients souffrant de SAPL;

- la spécificité, c'est-à-dire la fréquence d'un test négatif chez des sujets non atteints;

- et la valeur prédictive positive, c'est-à-dire la fréquence du SAPL parmi les sujets (normaux et patients) ayant un test positif.

IV.2- Etudes cliniques

L'hétérogénéité des anticorps anti-phospholipides et la variété des situations cliniques où ils sont rencontrés posent la question cruciale de leur appartenance véritable à un SAPL. Il est classique de suspecter le caractère potentiellement pathogène des anticorps anti-phospholipides sur les éléments suivants : anticorps anti-cardiolipine d'isotype IgG et de titre élevé, association à la présence d'un LA ou d'arguments en faveur de désordres auto-immuns, persistance de ces anticorps à des déterminations séquentielles. Le large spectre des cibles protéiques des anticorps anti-phospholipides, dont l'inventaire n'est d'ailleurs pas terminé, permet de démembrer cette vaste famille d'autoanticorps, avec comme principal objectif la recherche de corrélations clinico-biologiques significatives. Les anticorps les plus étudiés dans ce contexte sont les anticorps anti-β_2GPI [13, 17, 18, 24, 39, 49], et plus récemment, les anticorps anti-prothrombine [18, 20], tous deux dépistés par ELISA sur plaques irradiées.

Bien que la plupart des études cliniques réalisées jusqu'à présent soient rétrospectives et donc peu informatives quant au risque d'accident thrombotique à venir, elles ont toutefois permis d'établir les points suivants

- En immunopathologie (SAPL primaire et LES spontané ou induit par les médicaments), la présence d'anticorps anti-β_2GPI est significativement associée à celle des anticorps anti-cardiolipine, LA ou anticorps anti-mitochondries de type M5. Les anticorps anti-β_2GPI sont généralement absents, malgré une fréquence élevée d'anticorps anti-cardiolipine, dans diverses infections, VIH, tuberculose ou syphilis.

- Les anticorps anti-β_2GPI s'avèrent constituer un marqueur biologique de choix pour le diagnostic de SAPL. Ils sont nettement supérieurs aux anticorps anti-cardiolipine, en termes de spécificité (88-99 % et 54-83 % respectivement) et de valeur prédictive positive (47-90 % et 7-34 % respectivement). La sensibilité des deux marqueurs est considérée analogue par certains auteurs, supérieure pour les anticorps anti-cardiolipine (64-87 %) que pour les anticorps anti-β_2GPI (32-83 %) pour d'autres. Des problèmes méthodologiques persistants, notamment pour ces derniers anticorps, pourraient expliquer ces divergences.

. Des anticorps anti-β_2GPI isolés (sans autre anticorps anti-phospholipides détectable par les tests conventionnels) s'observent dans certains cas de SAPL (primaire ou secondaire) dont la fréquence reste à déterminer [1, 12].

. La (peu fréquente) découverte d'anticorps anti-β_2GPI au cours d'une grossesse, chez des femmes sans antécédent particulier, implique un risque de prééclampsie, retard de croissance ou mort *in utero*.

. Le LA est assez synonyme dans le cadre des pathologies auto-immunes d'anticorps anti-β_2GPI et/ou d'anticorps anti-prothrombine possédant une activité anticoagulante. Sa présence constituerait le facteur de risque majeur de thromboses à la fois veineuses et artérielles [29]. Néanmoins, les deux variétés d'anticorps pourraient dans une certaine mesure être distinguées d'après le profil des tests de coagulation, et seuls les anticorps anti-β_2GPI comporteraient un risque thrombotique.

- Les anticorps anti-mitochondries de type M5, bien que rarement détectés, ont été trouvés associés avec des formes « hématologiques » de LES ou des avortements spontanés, mais

pas avec des accidents thromboemboliques [35]. Ils sont identifiés par immunofluorescence indirecte sur coupes multi-organes de rongeurs et leur cible antigénique précise reste à identifier.

- Un autre facteur de risque vasculaire serait les anticorps dirigés contre les LDL oxydées, qui pourraient intervenir dans la survenue des complications artérielles du SAPL par un mécanisme athérogène plutôt que thrombogène [58].

IV.3- En pratique

La fréquence des anticorps anti-cardiolipine dans la population générale doit conduire à une prudence certaine pour éviter des diagnostics par excès. Un résultat positif doit être intégré dans le contexte clinique et le reste du bilan biologique, ce qui implique un dialogue étroit et permanent entre clinicien et biologiste. Les problèmes techniques sont aussi très préoccupants. Ils peuvent conduire à des attitudes étranges de certains cliniciens qui envoient leurs prélèvements à tel ou tel laboratoire selon les résultats qu'ils en attendent. Par ailleurs, on conçoit aisément l'intérêt des classifications comportant plusieurs niveaux de probabilité diagnostique (défini, probable, douteux ou absent) de SAPL [59]. L'existence d'un SAPL est d'autant plus probable que la symptomatologie est riche et les anomalies biologiques franches et durables. Comme déjà souligné, le diagnostic ne doit pas reposer sur un seul résultat positif d'anticorps anti-cardiolipine (même classé moyen ou fort), une confirmation à 2-3 mois d'intervalle s'imposant pour exclure les anticorps anti-cardiolipine transitoires [59]. Dans le SAPL, la fluctuation des anticorps anti-phospholipides dans le temps est minime, surtout lorsque les taux d'anticorps sont élevés. On assiste parfois à une chute du taux des anticorps en cas d'accident thrombotique aigu, de syndrome néphrotique ou de traitement immunosuppresseur, les LA diminuant en général plus que les anticorps anti-cardiolipine.

D'autres éléments doivent être pris en compte dans l'interprétation des résultats :

- L'âge du patient. Une étude récente a montré une prévalence des anticorps anti-cardiolipine plus élevée chez des enfants sains que chez l'adulte [43]. Chez certains enfants, la présence d'anticorps anti-cardiolipine pourrait n'être qu'un épiphénomène consécutif à un état infectieux. Chez les sujets âgés, les anticorps anti-cardiolipine s'observent souvent à taux faibles en l'absence de symptomatologie associée.

- Une infection récente. Dans notre expérience, chez des patients infectés les concentrations les plus élevées d'anticorps anti-cardiolipine sont rencontrés au cours de la fièvre Q.

- Une hypergammaglobulinémie qui peut entraîner une fausse positivité si le test utilisé ne permet pas de soustraire la réactivité non spécifique de l'échantillon.

- Les concentrations des anticorps et leur isotype, les anticorps anti-cardiolipine d'isotype IgG et de taux élevés étant les plus associés à un SAPL.

- L'association ou non des anticorps anti-cardiolipine avec les autres marqueurs biologiques du SAPL, LA et anticorps anti-β_2GPI.

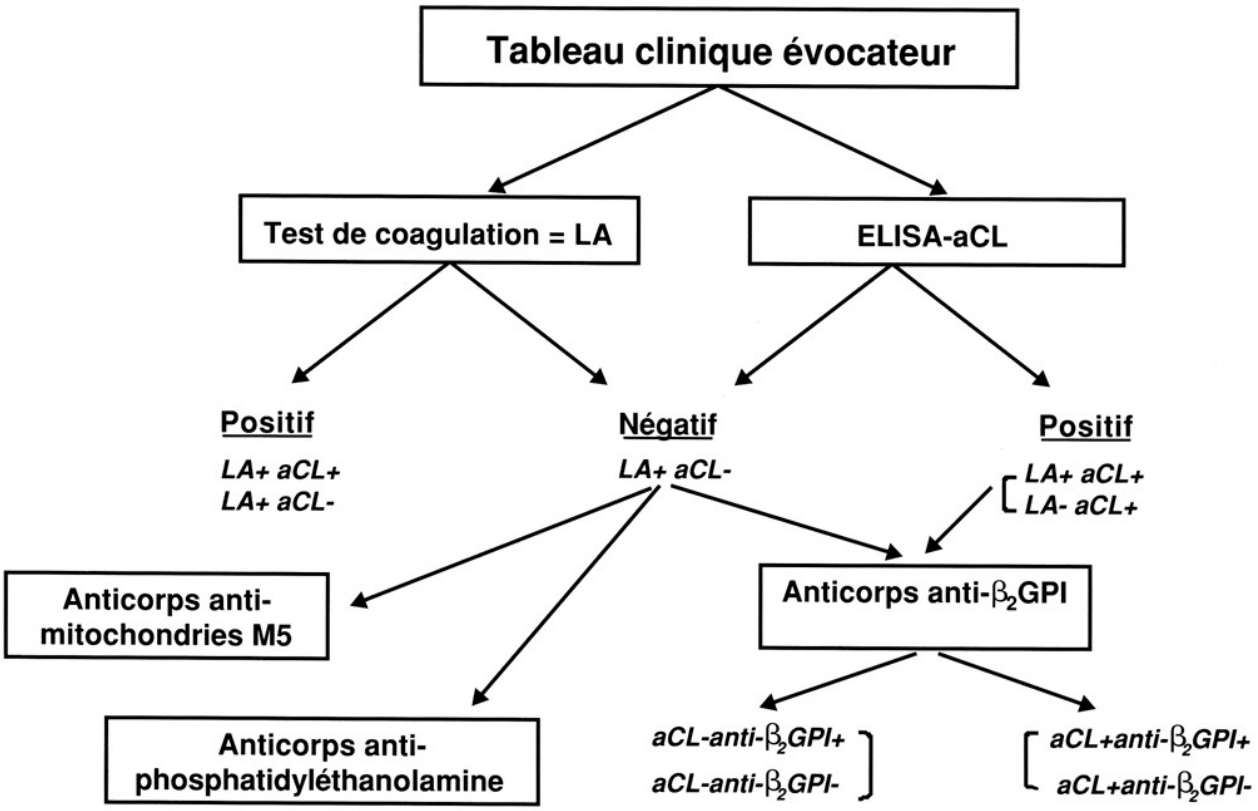


Figure 5 *: Proposition d'un algorithme pour l'exploration biologique d'un syndrome des anti-phospholipides.*
LA : anticoagulant lupique
aCL : anticorps anti-cardiolipine

V. INDICATIONS DE LA RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES

V.1- Situation du problème

Insistons à nouveau sur le fait que de nombreuses situations cliniques peuvent s'accompagner d'anticorps anti-phospholipides, mais qu'en dehors du SAPL primaire et des anticorps anti-phospholipides associés au LES, ces anticorps sont rarement responsables de manifestations cliniques. Par ailleurs, des anticorps anti-phospholipides isolés peuvent être découverts fortuitement à l'occasion d'un bilan de coagulation préopératoire, d'une consultation prénuptiale ou dans le cadre de l'enquête familiale d'un patient souffrant de SAPL.

V.2- En pratique

Les situations imposant la recherche d'anticorps anti-phospholipides doivent être consensuelles et tenir compte également des impératifs économiques. Certaines recommandations ont été proposées par Boffa et Piette [11]. La recherche d'anticorps anti-phospholipides est justifiée devant des manifestations thrombotiques survenant chez des sujets jeunes, en particulier quand elles sont répétitives, concernent des territoires veineux « atypiques » ou

associent accidents artériels et veineux. La notion de thrombophilie familiale ne doit pas faire restreindre les investigations à la seule recherche d'une anomalie constitutionnelle d'un facteur de la coagulation car le SAPL peut se présenter comme une affection familiale avec participation probable de plusieurs gènes de susceptibilité.

Le nombre de spécificités anticorps associées au SAPL s'accroît régulièrement, obligeant biologistes et cliniciens à effectuer des choix. La figure 5 propose une approche schématique pour l'exploration biologique du SAPL, avec une stratégie d'examens en cascade en fonction des résultats du bilan de première intention (anticorps anti-cardiolipine et LA) et à condition que le contexte clinique y incite. La détermination des classes IgG (surtout) et IgM des anticorps anti-cardiolipine et des anticorps anti-β_2GPI est la plus intéressante dans l'exploration du SAPL, bien que les données préliminaires sur les IgA anti-β_2GPI semblent indiquer la fréquence élevée des anticorps de cette classe et leur association à certaines manifestations cliniques du SAPL [17, 24, 50].

BIBLIOGRAPHIE

1- ALARCON-SEGOVIA D., MESTANZA M., CABIEDES J., CABRAL A.R. The antiphospholipid/cofactor syndromes. I. A variant in patients systemic lupus erythematosus with antibodies to β_2-glycoprotein I but no antibodies detectable in standard antiphospholipid assays. J. Rheumatol. 1997; 24 : 1545-1551.

2- AMIRAL J., ADAM M., CLUZEAU D., VISSAC A.M., MAILLET T. Different target specificities of phospholipid-dependent antibodies. Ann. Med. Interne 1996; 147 : 18-21.

3- ARVIEUX J., DARNIGE L., BENSA J.C., REBER G., COLOMB M.G. Development of an ELISA for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulants. Thromb. Haemost. 1995; 74 : 1120-1125.

4- ARVIEUX J., DARNIGE L., HACHULLA E., ROUSSEL B., BENSA J.C., COLOMB M.G. Species specificity of anti- β_2-glycoprotein I autoantibodies and its relevante to anticardiolipin antibody quantitation. Thromb. Haemost. 1996; 75 : 725-730.

5- ARVIEUX J., DARNIGE L., SARROT-REYNAULD F. Les nouvelles cibles des anticorps « antiphospholipides ». Rev. Méd. Interne 1997; 18 : 292-302.

6- ARVIEUX J., REGNAULT V., HACHULLA E., DARNIGE L., ROUSSEL B., BENSA J.C. Heterogeneity and immunochemical properties of anti-β_2-glycoprotein I autoantibodies. Thromb. Haemost. 1998; 80 : 393-398.

7- ARVIEUX J., PERNOD G., REGNAULT V., DARNIGE L., GARIN J. Some anticardiolipin antibodies recognize a combination of phospholipids with thrombin-modified antithrombin, complement C4b-binding protein, and lipopolysaccharide binding protein. Blood 1999; 93 : 4248-4255.

8- BERARD M., CHANTOME R., MARCELLI A., BOFFA M.C. Antiphosphatidylethanolamine antibodies as the only antiphospholipid antibodies. I. Association with thrombosis and vascular cutaneous diseases. J. Rheumatol. 1996; 23 : 1369-1374.

9- BEC M., BOFFA M.C. Influence of the phosphatidylethanolamine (PE) and bovine serum origins on anti-PE antibody detection by ELISA. Thromb. Res. 1997; 85 : 439-442.

10- BLANK M., COHEN J., TODER V., SHOENFELD Y. Induction of antiphospholipid syndrome in naive mite with mouse lupus monoclonal and human polyclonal anticardiolipin antibodies. Proc. Natl Acad. Sci. USA 1991; 88 : 3069-3073.

11- BOFFA M.C., PIETTE J.C. Anticorps antiphospholipides : Recommandations Paris, 1995. Nouv. Rev. Fr. Hématol. 1995; 37 (suppl. II) : S 117-5120.

12- CABRAL A.R., AMIGO M.C., CABIEDES J., ALARCON-SEGOVIA D. The antiphospholipid/cofactor syndromes : a primary variant with antibodies to β_2-glycoprotein I but no antibodies detectable in standard antiphospholipid assays. Am. J. Med. 1996; 101 : 472-481.

13- DAY H.M., THIAGARAJAN P., AHN C., REVEILLE J.D., TINKER K.F., ARNETT F.C. Autoantibodies to β_2-glycoprotein I in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome : clinical correlations in comparison with other antiphospholipid antibody tests. J. Rheumatol. 1998; 25 : 667-674.

14- DEGUCHI H., FERNANDEZ J.A., HACKENG T.A., BANKA C.L. AND GRIFFIN H. Cardiolipin is a normal composent of humas plasma lipoproteins. Proc. Natl Acad. Sci. USA 2000; 97 :1743-1748.

15- DEL PAPA N., SHENG Y.H., RASCHI E., KANDIAH D.A., TINCANI A., KHA-MASHTA M.A., ATSUMI T., HUGHES G.R.V., ICHIKAWA K., KOIKE T., BALESTRIERI G., KRII~IS S.A., MERONI P.L. Human β_2-glycoprotein I binds to endothelial cells through a cluster of lysine residues that are critical for anionic phospholipid binding and offers epitopes for anti- β_2-glycoprotein I antibodies. J. Immunol. 1998; 160 : 5572-5578.

16- ESMON N.L., SFA O., SMIRNOV M.D., ESMON C.T. Antiphospholipid antibodies and the protein C pathway. Lupus 2000; 15 : 221-225.

17- FANOPOULOS D., TEODORESCU M.R., VARGA J., TEODORESCU M. High frequency of abnormal levels of IgA anti-β_2-glycoprotein I antibodies in patients with systemic lupus erythematosus : relationship with antiphospholipid syndrome. J. Rheumatol. 1998; 25 : 675-680.

18- FORASTIERO R.R., MARTINUZZO M.E., CERRATO G.S., KORDICH L.C., CARRERAS L.O. Relationship of asti β_2-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies. Thromb. Haemost. 1997; 78 : 1008-1014.

19- GALLI M. Non β_2-glycoprotein I cofactors for antiphospholipid antibodies. Lupus 1996; 5 : 388-392.

20- GALLI M., BERETTA G., DALDOSSI M., BEVERS E., BARBUI T. Different anti-coagulant and immunological properties of asti-prothrombin antibodies in patients with antiphospholipid antibodies. Thromb. Haemost. 1997; 77 : 486-491.

21- GALLI M. Should we include asti-prothrombin antibodies in the screening for the antiphospholipid syndrome ? J. Autoimmunity 2000; 15 : 101-105.

22- GEORGE J., AFEK A., GILBURD B., BLANK M., LEVY Y., ARON-MAOR A., LEVKOVITZ H., SHAISH A., GOLDBERG I., KOPOLOVIC J., HARATS D., SHOENFELD Y. Induction of early atherosclerosis in LDL receptor deficient mice immunized with β_2-glycoprotein I. Circulation 1998; 15 : 1108-1115.

23- GHARAVI A.E., SAMMARITANO L.R., WEN J., ELKON K.B. Induction of antiphospholipid autoantibodies by immunization with β_2-glycoprotein I (Apolipoprotein H). J. Clin. Invest. 1992; 90 : 1109.

24- GRECO T.P., AMOS M.D., CONTI-KELLY A.M., NARANJO J.D., IJDO J.W. Testing for the antiphospholipid syndrome : importance of IgA aNti-β_2-glycoprotein I. Lupus 2000; 9 : 33-41.

25- GRIS J.C., QUERE I., SANMARCO M., BOUTIERE B., MERCIER E., AMIRAL A., HUBERT A.M., RIPART-NEVEU S., HOFFET M., TAILLAND M.L., ROUSSEAU O., MONPEYROUX F., DAUZAT M., SAMPOL J., DAURES J.P., BERLAND J., MARES P. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. Thromb. Haemost. 2000; 84 : 228-236.

26- HARRIS E.N., GHARAVI A.E., PATEL S.P., HUGHES G.R.V. Evaluation of the anticardiolipin antibody test : report of a standardization workshop held April 4th, 1986. Clin. Exp. Immunol. 1987; 68 : 215-222.

27- HARRIS E.N., EXNER T., HUGHES G.R.V., ASHERSON R.A. Phospholipid Binding Antibodies, CRC Press, Boca Raton 1991; 175-187.

28- HASSELAAR P., TRIPLETT D.A., LARDE A., DERKSEN R.H.W.M., BLOKZIJL L., DE GROOT P.G., WAGENKNECHT D.R., MCINTYRE J.A. Heat treatment of serum and plasma induces false positive results in the antiphospholipid syndrome. J. Rheumatol. 1990; 17 : 186-191.

29- HORBACH D.A., VAN OORT E.V.; DONDERS R.C.J.M., DERKSEN R.H.W.M., DE GROOT P.G. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. Comparison between different assays for the detection of antiphospholipid antibodies. Thromb. Haemost. 1996; 76 : 916-924.

30- HÖRKKÖ S., MILLER E., DUDLE E., REAVEN P., CURTIS L.K., ZVAIFLER N.J., TERKELTAUB R., PIERANGELI S., BRANCH D.W., PALINSKI W., WITZTUM J.L. Antiphospholipid antibodies are directed against epitopes of oxidized phospholipids. Recognition of cardiolipin by monoclonal antibodies to epitopes of oxidized low density lipoprotein. J. Clin. Invest. 1996; 98 : 815-825.

31- HÖRKKÖ S., MILLER E., BRANCH D.W., PALINSKI W., WITZTUM J.L. The epitope for some antiphospholipid antibodies are adducts of oxidized phospholipid and β_2-glycoprotein I (and other proteins). Proc. Natl Acad. Sci. USA 1997; 94 : 10356-10361.

32- KABURAKI J., KUWANA M., YAMAMOTO M., KAWAI S., IKEDA Y. Clinical signicance of anti-annexin V antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Am. J. Hematol. 1997; 54 : 209-213.

33- KANDIAH D.A., SALI A., SHENG Y., VICTÔRIA E.J., MARQUIS D.M., COUTTS S.M., KRILIS S.A. Current insights into the « antiphospholipid » syndrome Clinical, immunological, and molecular aspects. Adv. Immunol. 1998; 70 : 507-563.

34- KILPATRICK D.C. Factors affecting cardiolipin antibody assays : modification with polyethylene glycol compound. Br. J. Haematol. 1998; 100 : 52-57.

35- LA ROSA L., COVINI G., GALPERIN C., CATELLI L., DEL PAPA N., REINA G., MORABITO A., BALESTRIERI G., TINCANI A., GERSHWIN M.E., MERONI P.L. Anti-mitochondrial MS type antibody represents one of the serological markers for antiphospholipid syndrome distinct from anti-cardiolipin and anti- β_2-glycoprotein I antibo-dies. Clin. Exp. Immunol. 1998; 112 : 144-151.

36- MATSUURA E., IGARASHI Y., NAGAE H., YASUDA T., TRIPLETT D.A., KOIKE T. Anti-cardiolipin antibodies recognize β_2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. J. Exp. Med. 1994; 179 : 457-462.

37- MCINTYRE J.A., WAGENKNECHT D.R. Anti-phosphatidylethanolamine (aPE) antibodies : a survey. J. Autoimmunity 2000; 15 :185-193.

38- MEYER O., PIETTE J.C. Syndrome des antiphospholipides. In : Kahn M.F., Peltier A.P., Meyer O., Piette J.C. eds. Maladies et syndromes systémiques. Flammarion, Paris, 2000 : 370-396.

39- NAJMEY S.S., KEIL L.B., ADIB D.Y.R., DEBARI V.A. The association of antibodies to β_2-glycoprotein I with the antiphospholipid syndrome : a meta-analysis. Ann. Clin. Lab. Sci. 1997; 27 : 41-46.

40- PENGO V., BIASIOLO A., FIOR M.G. Autoimmune antiphospholipid antibodies are directed against a cryptic epitope expressed when β_2-glycoprotein I is bound to a suitable surface. Thromb. Haemost. 1995; 73 : 29-34.

41- PIERANGELI S. S., HARRIS E.N., DAVIS S.A., DELORENZO G. β_2-glycoprotein I (β_2GPI) enhances cardiolipin binding activity but is not the antigen for antiphospholipid antibodies. Br. J. Hemmatol. 1992; 82 : 565-570:

42- RAO L.V.M. Mechanisms of activity of lupus anticoagulants. Curr. Opin. Hematol. 1997; 4 : 344-350.

43- RAPIZZI E., RUFFATTI A., PICCOLI A., CALLIGARO A., SFRISO P. AND TODESCO S. Correction for age of anticardiolipin antibodies cut-off points. J. Clin. Lab. Anal. 2000; 14 : 87-90.

44- RAUCH J., TANNENBAUM M., NEVILLE C., FORTIN P.R. Inhibition of lupus anticoagulant activity by hexagonal phase phosphatidylethanolamine in the presence of prothrombin. Thromb. Haemost. 1998; 80 : 936-941.

45- REBER G., ARVIEUX J., COMBY E., DEGENNE D., DE MOERLOOSE P., SANMARCO M., POTRON G. Multicenter evaluation of nine commercial kits for the quantitation of anticardiolipin antibodies. Thromb. Haemost. 1995; 73 : 444-452.

46- ROUBEY R.A.S. Immunology of the antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum. 1996; 39 : 1444-1454.

47- SANMARCO M., SOLER C. Heterogeneity of anti- β_2-glycoprotein I antibodies. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 1995; 37 (suppl. II) : S57-S60.

48- SANMARCO M., AVEROUS P., SOLER C., AILLAUD M.F., BERNARD D. IgM isotype antiphosphatidylethanolamine antibodies (aPEA) in patients with thrombotic events. Lupus 1996; 5 : 511 (abstract).

49- SANMARCO M., SOLER C., CHRISTIDES C., RAOULT D., WEILLER P.J., GEROLAMI V., BERNARD D. Prevalence and clinical significance of IgG isotype anti-β_2-glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome : a comparative study with anticardiolipin antibodies. J. Lab. Clin. Med. 1997; 129 : 449-506.

50- SELVA-O'CALLAGHAN A., ORDI-ROS J., MONEGAL-FERRAN F. et al. IgA anticardiolipin antibodies. Relation with other antiphospholipid antibodies and clinical significance. Thromb. Haemost. 1998; 79 : 282-285.

51- SIAKA C., LAMBERT M., CARON C., AMIRAL J., HACHULLA E., HATRON P.Y., GOUDEMAND J. Faible prévalence des anticorps anti-annexine V dans le syndrome des antiphospholipides avec pertes foetales. Rev. Med. Interne 1999; 20 : 762-765.

52- SOULIER J.P., BOFFA M.C. Avortements à répétition, thromboses et anticoagulant circulant anti-thromboplastine. Trois observations. Nouv. Presse Med. 1980; 9 : 859-860.

53- SUGI T., MCINTYRE J.A. Autoantibodies to phosphatidylethanolamine (PE) recognize a kininogen-PE complex. Blood 1995; 86 : 3083-3089.

54- TINCANI A., SPATOLA L., PRATI E., ALLEGRI F., FERREMI P., CATTANEO R., MERONI P., BALESTRIERI G. The anti-β_2-glycoprotein I activity in human antiphospholipid syndrome sera is due to monoreactive low-affinity autoantibodies directed to epitopes located on native β_2-glycoprotein I and preserved during species'evolution. J. Immunol. 1996; 157 : 5732-5738.

55- TINCANI A., BALESTRIERI G., SPATOLA L., MERONI P., SABBADINI M.G., ROUBEY R.A.S. β_2-glycoprotein I and the antiphospholipid syndrome : *in vitro* and *in vivo* studies. In : Shoenfeld Y. ed. The decade of autoimmunity. Elsevier, Amsterdam, 1999 : 67-74.

56- TINCANI A., BALESTRIERI G., ALLEGRI F., CINQUINI M., VIANELLI M., TAGLIETTI M., SANMARCO M., ICHIKAWA K., KOIKE T., MERONI P., BOFFA M.C. Overview on anticardiolipin ELISA standardization. Lupus 2000; 15 : 195-197.

57- TSUTSUMI A., ICHIKAWA K., MATSUURA E., SAWADA K.L, KOIKE T. Heterogenous behavior of anti-β_2-glycoprotein I antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with β_2-glycoprotein I. J. Rheumatol. 2000 27 : 391-396.

58- VAARALA O. Antiphospholipid antibodies and atherosclerosis. Lupus 1996; 5 442-447.

59- WILSON W.A., GHARAVI A.E., KOIKE T., LOCKSHIN M.D., BRANCH D.W., PIETTE J.C., BREY R., DERKSEN R., HARRIS N., HUGHES G.R.V., TRIPLETT D.A., KHAMASHTA M.A. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum. 1999; 42 : 1309-1311.

60- WILLEMS G.M., JANSSEN M.P., PELSERS M.A.L., COMFURIUS P., GALLI M., ZWAAL R.F.A., BEVERS E.M. Role of divalency in thé high-affinity binding of anticadiolipin antibody- β_2-glycoprotein I complexes to lipid membranes. Biochemistry 1996; 35 : 13833-13842.

EGOPRIM
30/32 rue du Couëdic - 75014 Paris

Octobre 2001
Dépôt légal octobre 2001

ISNN :1293-2892
ISBN : 2-913633-31-5

CAHIER DE

Formation

Biologie médicale

Cahiers de formation déjà parus

N° 1 : *HÉMATOLOGIE*
N° 2 : *IMMUNOANALYSE*
N° 3 : *PARASITOLOGIE*
N° 4 : *BACTÉRIOLOGIE*
N° 5 : *HORMONOLOGIE GAZOMÉTRIE*
N° 6 : *G.B.E.A.*
N° 7 : *IMMUNO-ALLERGIE (1)*
N° 8 : *HÉMOGLOBINES GLYQUÉES LIPIDES*
N° 9 : *DOSAGE DES MÉDICAMENTS Tome 1*
N° 10 : *HÉMATOLOGIE CAS ILLUSTRÉS*
N° 11 : *AMIBES ET FLAGELLÉS INTESTINAUX*
N° 12 : *LES MALADIES A PRIONS*
N° 13 : *AUTOIMMUNITÉ ET AUTOANTICORPS*
N° 14 : *L'EXPLORATION DE LA THYROÏDE*
N° 15 : *DÉPISTAGE DE LA TRISOMIE 21*
N° 16 : *IMMUNO-ALLERGIE (2)*
N° 17 : *VIRUS DES HÉPATITES A (VHA) et E (VHE)*
N° 18 : *DOSAGE DES MÉDICAMENTS Tome II*
N° 19 : *VAGINITES ET VAGINOSES*
N° 20 : *HÉMOSTASE ET THROMBOSE*
N° 21 : *VIRUS DES HÉPATITES B (VHB), delta (VDH), C (VHC), autres*
N° 22 : *SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES*
N° 23 : *PARASITES SANGUINS*
N° 24 : *BIOCHIMIE PEDIATRIQUE*
N° 25 : *LES MOISISSURES D'INTÉRÊT MÉDICAL*

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet **www.bioforma.net** à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.