



**HAL**  
open science

# Profils cliniques et biologiques associés à la persistance des anticorps antiphospholipides au-delà de douze semaines

Gaëlle Le Roy

► **To cite this version:**

Gaëlle Le Roy. Profils cliniques et biologiques associés à la persistance des anticorps antiphospholipides au-delà de douze semaines . Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01293215

**HAL Id: dumas-01293215**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01293215>**

Submitted on 24 Mar 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

Faculté de médecine d'Amiens

ANNEE 2015

N°2015-154

**Profils cliniques et biologiques associés à la persistance  
des anticorps antiphospholipides au-delà de douze semaines**

**THESE POUR LE  
DOCTORAT EN MEDECINE  
(DIPLOME D'ETAT)**

Présentée et soutenue publiquement le 15 octobre 2015 par

Gaëlle LE ROY

Né le 07/03/1984 au Mans

Président du jury : Monsieur le Professeur Pierre DUHAUT

Membres du jury : Madame le Professeur Marie-Antoinette SEVESTRE

Madame le Docteur Brigitte GUBLER

Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT

Monsieur le Docteur Valery SALLE

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT

**DES de médecine interne**



UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE  
Faculté de médecine d'Amiens

ANNEE 2015

N°2015-154

**Profils cliniques et biologiques associés à la persistance  
des anticorps antiphospholipides au-delà de douze semaines**

**THESE POUR LE  
DOCTORAT EN MEDECINE  
(DIPLOME D'ETAT)**

Présentée et soutenue publiquement le 15 octobre 2015 par

Gaëlle LE ROY

Né le 07/03/1984 au Mans

Président du jury : Monsieur le Professeur Pierre DUHAUT

Membres du jury : Madame le Professeur Marie-Antoinette SEVESTRE

Madame le Docteur Brigitte GUBLER

Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT

Monsieur le Docteur Valery SALLE

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT

**DES de médecine interne**

**Monsieur le Professeur Pierre DUHAUT**

**Professeur des Universités-Praticien Hospitalier**

**Médecine Interne**

**Chef du service de Médecine interne et maladies systémiques**

**Pôle "Médico-chirurgical digestif, rénal, infectieux, médecine interne et endocrinologie"**

**(D.R.I.M.E)**

Pour avoir contribué à ma formation de médecin et m'avoir enseigné  
les valeurs d'un interrogatoire et d'un examen minutieux (que dis-je, policier !),  
pour m'avoir permis de m'exprimer, malgré nos désaccords,  
pour avoir accepté de juger ce travail de thèse et de présider mon jury,  
Veuillez accepter mes remerciements

**Madame le Professeur Marie-Antoinette SEVESTRE**  
**Professeur des Universités – Praticien Hospitalier**  
**Médecine vasculaire**

Merci pour votre disponibilité et, surtout, votre patience avec toutes mes ‘petites’ questions,  
pour m’avoir si bien accueillie dans votre équipe et me faire confiance pour l’intégrer,  
pour m’avoir soutenue dans mes déboires administratifs,  
pour avoir accepté de juger ce travail

**Madame le Docteur Brigitte GUBLER**  
**Maître de Conférences-Praticien Hospitalier**  
**(Immunologie)**  
**Responsable du Centre d'Activité « Oncobiologie moléculaire »**  
**Pôle « Biologie, pharmacie et santé des populations »**

Merci d'avoir accepté d'examiner ce travail  
et de faire partie de mon jury de thèse.

**Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT**  
**Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier**  
**Médecine interne**

Merci pour ta disponibilité dans le service, ton calme et ta patience en toutes circonstances  
(et dire que ta porte toujours ouverte au milieu du service n'existe plus...),  
pour ton soutien dans ce travail de thèse, pas trop pesant, mais dynamisant !  
pour le temps que tu y a consacré.

**Monsieur le Docteur Valéry SALLE**

**Praticien hospitalier**

**Médecine interne**

Merci d'avoir été là pour mes premiers pas d'interne  
et pour tous les bons moments passés dans le service.  
Les antiphospholipides, ça m'a semblé une évidence...

Les remerciements ! Ils arrivent quand se termine la thèse. L'ultime étape avant impression ! Un moment de sérénité, de joie ! Mais... voilà, ne dérogeant pas à ma règle, j'ai réduit à néant ce paisible moment et manque de temps pour remercier comme il se doit toutes les personnes qui m'ont accompagnée de près ou de loin dans ses longues, longues études... Alors, pêle-mêle :

Elise et Angèle, qui à elles-deux ont monopolisé une portion importante de ma vie

Les CAAPseurs et CAAPSeuses qui ont partagé mon quotidien pendant mes années angevines et qui ont fait de cette période quelque chose de... flou ? Les vacances Kro-Lanta; le ski et la casserole ; les pizzas surgelés sur la plage ; les vacances à Montcuq, Lagorce ou ailleurs ; les mariages, bambins et autres réjouissances ; les placards sans fond du loft ; tous les aliments 'sablés' qu'on a dû ingurgité ; les aller-retours au Mans ; la COMA ; Saillagouse et ses plaisirs de haute altitude ; la soirée de 'Château' et ses prémices humides ; Stephen King et l'ensemble de son œuvre ; les bons p'tits plats et barbecues des vacances ; l'appartement de la vieille, sa photo du pape et ses fauteuils roulants ; la coloc' ; les pâtes dans l'évier ; le cap's à deux, à quatre ou à huit ; le chevreuil, mort bêtement, mais délicieux ; Need for speed et GTA sous la couette ; les toits et leur péripéties...

Les picards qui m'ont su me faire apprécier cette région et particulièrement Nico et Emilie, Fanny et Thibaut et toute leur bande de 'pas médecins' qui fait du bien...

Toutes les personnes que j'ai croisées en stage et qui ont su me faire apprécier mon internat.

La famille Hakim, Marwan, Yvonne, Rémi et Sabine qui ont su faire avec mes différences.

Clémouille, Jérôme, Killian, Morgane, Mathis et Pierre-Alain, une vrai p'tite famille

Virginie, toutes ces années de complicité ont fait de mon enfance une très belle époque, à nous de continuer sur cette voie

Karine, tellement de différences et tellement proches à la fois, on continue à se trouver

Maman, probablement la meilleure qui soit...

Papa, le temps ne fait 'pas grand-chose' à l'affaire...

Sami, sans qui ce chemin aurait été laborieux et, mes enfants, Salomé, la Salomette et Malek, le KoumKoum, qui ne m'ont pourtant pas facilité la tâche !

# Table des matières

I. Introduction	p 11
A. Généralités concernant le syndrome des antiphospholipides	p 11
1. Epidémiologie	p 11
2. Clinique	p 12
a. Thromboses vasculaires	p 12
b. Morbidité obstétricale	p 14
c. Autres manifestations cliniques	p 15
3. Biologie	p 16
a. Rappel sur les anticorps antiphospholipides	p 16
b. Lupus anticoagulant	p 16
c. Anticorps anticardiolipine et anti- $\beta$ 2-glycoprotéine 1	p 17
i. Technique de détection des anticorps anticardiolipine	p 18
ii. Technique de détection des anticorps anti- $\beta$ 2-glycoprotéine 1	p 19
d. Autres auto-anticorps	p 19
4. Pathogénicité des anticorps antiphospholipides	p 19
a. Thromboses vasculaires	p 19
b. Morbidité obstétricale	p 21
5. Critères de classification	p 22
6. Traitement	p 23
a. Prise en charge des thromboses vasculaires	p 24
i. Prophylaxie primaire	p 24
ii. Prophylaxie de la récurrence thrombotique	p 25
b. Prise en charge des complications obstétricales	p 26
B. Rationnel et objectif de l'étude	p 27
1. Variabilité des anticorps antiphospholipides	p 28
2. Manque de reproductibilité des techniques d'analyse	p 28
3. Objectif de l'étude	p 31
II. Matériels et méthode	p 33
A. Recueil de données	p 33
B. Analyses biologiques	p 34
C. Analyses statistiques	p 35

III. Résultats	p 35
A. Population étudiée	p 35
B. Persistance des anticorps anti-phospholipides	p 37
C. Diagnostic de syndrome des antiphospholipides	p 41
IV. Discussion	p 43
V. Conclusion	p 52
Bibliographie	p 53



## I. INTRODUCTION

### A. Généralités concernant le syndrome des antiphospholipides

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une pathologie auto-immune caractérisée par la survenue d'évènements thrombotiques artériels et/ou veineux, ainsi que par une morbidité obstétricale. Ces manifestations cliniques sont associées à la présence persistante d'anticorps antiphospholipides (aPl) : le lupus anticoagulant (LA), les anticorps anticardiolipine (aCl) et les anticorps anti- $\beta$ 2-glycoprotéine 1 (a $\beta$ 2GP1).

#### 1. Epidémiologie

La prévalence du SAPL demeure inconnue ; elle serait de l'ordre de 40 à 50 pour 100000 personnes, d'après une revue de la littérature<sup>1</sup>. Par contre, les données sur la prévalence des aPl dans la population générale sont un peu plus étoffées. Ainsi, le LA était retrouvé dans le sérum de 1,2 à 3,8 % et les aCl de 1 à 5,6 % de sujets volontaires sains<sup>2</sup>. Cette prévalence semble augmenter avec l'âge et, dans une étude concernant des patients âgés de 81 ans en moyenne, la prévalence des aCl, uniquement d'isotype IgG (immunoglobuline G), était même de 51,6% (versus 2,3% chez des patients plus jeunes)<sup>3</sup>. Le LA serait un marqueur plus discriminant chez les personnes âgées<sup>4</sup>. D'autre part, seuls 30 à 40% des patients porteurs d'aPl auraient une histoire de thrombose<sup>5</sup>.

Dans l'étude de l' 'Europhospholipid project' (Euro-APS), analysant une cohorte de 1000 patients suivis pour un SAPL dans différents centres européens<sup>6</sup>, l'âge moyen d'apparition des premiers symptômes était de 34 ans et l'âge moyen au diagnostic, 42. Le sex-ratio était de l'ordre de 4.6 femmes pour 1 homme. Le SAPL était primaire chez 53,1% des patients ou associé à un lupus érythémateux disséminé (LED - 36,2%), un syndrome « lupus-like » (5%) ou d'autres pathologies (5.7%).

S'ils sont souvent associés, le risque d'évolution vers un LED pour les patients présentant un SAPL primaire semble relativement faible : 8% si l'on considère une étude portant sur 128 patients avec un suivi moyen de 8,2 ans<sup>7</sup>.

Au terme du suivi de 10 ans de la cohorte Euro-APS<sup>8</sup>, on notait une surmortalité chez les patients porteurs d'un SAPL par rapport à la population générale avec un SMR (Standardized Mortality Ratio) à 1,8 [1,4 – 2,5]. L'âge moyen au décès était de 59 ans et les évènements thromboemboliques majeurs en représentaient l'étiologie principale (36,5%). Les autres causes de décès étaient principalement les infections (26,9%), les pathologies néoplasiques (13,9%) et les accidents hémorragiques (10,7%).

## 2. Clinique

### a. Thromboses vasculaires

Les thromboses au cours du SAPL surviennent en dehors de toute lésion de la paroi vasculaire et peuvent atteindre des vaisseaux de tout type et de tout calibre, dans tous les territoires. Ainsi, dans l'Euro-APS, à l'inclusion<sup>6</sup>, 793 (79,3%) des patients avaient présenté un évènement thromboembolique. Au cours des 10 ans de suivi<sup>8</sup>, il s'agit également de la manifestation clinique la plus fréquente, touchant 16,6% des patients au cours des cinq premières années et 11,8% au cours des cinq suivantes.

Les thromboses veineuses sont les plus fréquentes (touchant 52,3% des patients, à l'inclusion), mais sont relativement aspécifiques, atteignant préférentiellement les membres inférieurs. Cependant, c'est justement le caractère inhabituel du territoire thrombosé qui doit faire suspecter un SAPL : veines caves supérieure ou inférieure, veines splanchniques, veines rénales, veines surrénales, sinus veineux cérébraux.

Une hypertension artérielle pulmonaire, le plus souvent 'post-embolique' peut venir compliquer cette pathologie, retrouvée chez 2,2% des patients de l'Euro-APS à l'inclusion<sup>6</sup>.

Les thromboses artérielles, moins fréquentes (42,2% des patients à l'inclusion), peuvent également concerner tous les territoires et survenir chez des sujets jeunes, sans facteurs de risque cardiovasculaire classiques. Elles touchent préférentiellement les troncs supra-aortiques, et notamment les artères à destinée cérébrale : dans la cohorte de l'Euro-APS, la proportion de patients ayant déjà présenté, à l'inclusion, un accident vasculaire cérébral (AVC) ou un accident ischémique transitoire (AIT) était respectivement de 19,8% et 11,1%. Au cours des dix ans de suivi<sup>8</sup>, il s'agissait des manifestations thrombotiques les plus fréquentes, survenant chez 5,3% et 4,7% des patients. L'association d'infarctus cérébraux et

d'un livedo correspond au syndrome de Sneddon, qui se complique parfois, à long terme, d'une démence vasculaire. Les infarctus du myocarde (IDM), quant à eux, touchaient 5,5 % des patients à l'inclusion et 1,9% au cours des 10 années de suivi.

Ces manifestations sont probablement multifactorielles, à la fois secondaires au phénotype thrombogène inhérent au SAPL, mais aussi, en partie liées à l'athérosclérose accélérée dans cette pathologie<sup>9</sup>. Dans une récente revue de la littérature, il semble en effet que le SAPL soit significativement associé à certains marqueurs d'athérosclérose infra-cliniques, facteurs prédictifs indépendants de survenue d'un évènement cardiovasculaire<sup>10</sup>. Une étude prospective rapportait que la présence d'aCl à taux élevés constituait un facteur de risque indépendant d'infarctus du myocarde et de décès d'origine cardio-vasculaire (risque relatif 2 fois supérieur pour le dernier quartile par rapport au reste de la population étudiée)<sup>11</sup>. Une seconde étude prospective retrouvait un risque augmenté de récurrence d'évènement cardiaque chez les patients ayant des taux élevés d'aCl IgG (HR à 1,63 [1,11 – 2,38]) comparé aux faibles taux<sup>12</sup>.

Les vaisseaux de la microcirculation peuvent également être impliqués : en effet, 8,6% des patients de l'Euro-APS n'avaient présenté qu'une thrombose isolée des micro-vaisseaux<sup>6</sup>. La symptomatologie en est très variée : livedo, nécroses cutanées circonscrites, purpura, hémorragies intra-alvéolaires, insuffisance rénale par occlusion des vaisseaux intra-parenchymateux (néphropathie du SAPL), myocardite, dysfonction ventriculaire droite et gauche, rétinite...

Dans de rares cas (moins de 1%), le SAPL peut se présenter sous une forme gravissime, avec défaillance multi-viscérale liée à une micro-angiopathie thrombotique diffuse. Le syndrome catastrophique des aPl (CAPS) atteint préférentiellement les femmes, avec, cependant, un sex-ratio moindre (2,2 femmes pour 1 homme), et les sujets jeunes (âge moyen à 38,5 ans) - d'après l'analyse des données du 'CAPS Registry'<sup>13</sup> recensant 433 patients<sup>14</sup>. Parfois inaugural, il s'installe en quelques jours ou semaines, le plus souvent au décours d'une situation précipitante (65%), au premier rang desquelles les infections (47%) ; sont aussi incriminées néoplasies, interventions chirurgicales, mauvaise observance ou déséquilibre du traitement anticoagulant, contraception oestro-progestative... L'atteinte rénale est la plus fréquente (73%), suivie des manifestations pulmonaires (59%), cérébrales (56%), cardiaques (50%) et cutanées (45,4%). Le CAPS a fait l'objet d'un consensus international proposant des critères de classification et des recommandations thérapeutiques<sup>15</sup>. Le CAPS

nécessite en effet une prise en charge thérapeutique urgente et agressive qui permettrait d'en diminuer la mortalité de 30 à 50%<sup>16</sup>.

#### b. Morbidité obstétricale

La forme obstétricale du SAPL, conséquence de l'ischémie placentaire, se caractérise par des pertes embryonnaires ou fœtales, mais également par des tableaux de pré-éclampsie précoce et sévère, pouvant être à l'origine d'une prématurité. Ces manifestations peuvent être associées à des évènements thrombotiques ou être isolées. Cependant, même en cas de SAPL obstétrical pur, il semble exister un sur-risque d'évènement thrombotique artériel ou veineux : dans une étude prospective avec un suivi moyen d'environ 8 ans, 59% des patientes ne recevant aucune prophylaxie avaient présenté une thrombose<sup>17</sup>. Dans une étude cas-témoin, la présence d'aPl chez les patientes ayant présenté des pertes fœtales à répétition était associé à un risque accru de thrombose (OR à 15,1 [3,2 ; 70,5])<sup>18</sup>.

Dans l'Euro-APS, 74% des femmes ayant mené une ou plusieurs grossesses avaient réussi à mettre au monde au moins un nouveau-né vivant, mais seules 47,7% des grossesses aboutissaient à la naissance d'un nouveau-né vivant. Les complications obstétricales constituaient l'unique critère clinique pour 15,2% de la cohorte<sup>6</sup>. Dans une étude concernant 247 patientes présentant un SAPL obstétrical pur<sup>19</sup>, les femmes concernées étaient relativement âgées, considérant une population en âge de procréer, avec un âge moyen à 39,2 ans. Cent trente-trois patientes (53,8%) avaient présenté des fausses couches précoces récurrentes, avant 10 semaines de grossesse, 77 (31,2%) des morts fœtales in-utero et 13 (5,2%) des pré-éclampsies précoces avec prématurité. L'association de plusieurs types de morbidité obstétricale était retrouvée dans 9% des cas.

Dans ce contexte, le doppler des artères utérines et ombilicales peut être d'une certaine aide. Plusieurs études soulignent l'intérêt pronostic de cet examen : une augmentation des index de résistance et la persistance de notchs (incisures proto-diastoliques) au-delà de 22 semaines d'aménorrhée, sur les flux enregistrés en artères utérines, constitueraient un facteur prédictif d'évolution défavorable de la grossesse, avec notamment un sur-risque de pré-éclampsie<sup>20 21</sup>.

Le SAPL peut également se compliquer d'un hématome rétro-placentaire, de syndrome HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count) et de thromboses, la grossesse constituant un facteur de risque surajouté.

### c. Autres manifestations cliniques

Il existe une grande variété de symptômes imputables au SAPL, dont certains n'ont aucun support thrombotique connu, mais qui semblent être associés à cette pathologie. Comme dans toute maladie auto-immune non spécifique d'organe, l'ensemble des organes peut être atteint.

En dehors des IDM, les manifestations cardiaques ne sont pas rares, au premier plan desquelles on retrouve les atteintes valvulaires. Elles concernaient 11,6 % des patients de l'Euro-APS<sup>6</sup> et, dans une autre étude, avec exploration écho-cardiographique systématique, 38 % des patients présentant un SAPL primaire, contre seulement 4% dans le groupe contrôle ( $p < 0.001$ )<sup>22</sup>. Ces anomalies, à type d'épaississement, de lésions nodulaires irrégulières et de véritables végétations abactériennes, initialement décrites dans le LED, correspondent à l'endocardite de Libman-Sacks et seraient finalement plutôt liées au SAPL. Elles peuvent être à l'origine de régurgitations, voire de sténoses, et surtout de complications emboliques, notamment cérébrales.

Sur le plan neurologique, outre l'occlusion des artères intracérébrales, de nombreuses manifestations sans support thrombotique évident sont rapportées dans le SAPL : migraine, chorée, myélite transverse, épilepsie, démence<sup>23</sup>, hyper-signaux de la substance blanche avec quelques cas décrits de pseudo-sclérose en plaque.

Du point de vue hématologique, une thrombopénie périphérique, liée à la production d'anticorps anti-plaquettes<sup>24</sup>, n'est pas rare (29,6 % des patients de l'Euro-APS<sup>6</sup>), expliquant peut-être la fréquente association du SAPL avec un 'purpura thrombopénique immunologique'. Une anémie hémolytique est également possible (9,7% dans Euro-APS).

### 3. Biologie

#### a. Rappels sur les anticorps antiphospholipides

Les anticorps antiphospholipides constituent un groupe très hétérogène d'auto-anticorps dirigés contre des phospholipides anioniques ou, plus particulièrement, contre des protéines à forte affinité pour les phospholipides anioniques ou les complexes formés par ces molécules. Les principales techniques de détection des aPI reposent sur la recherche de LA, d'aCl et plus récemment d' $\alpha$ 2GP1.

Dans la série européenne de 1000 patients suivis pour SAPL<sup>6</sup>, la recherche d'aCl était positive chez 87,9% des patients et le LA retrouvé chez 53,6%.

#### b. Anticoagulant lupique

Cette appellation ambiguë repose sur la description initiale, en 1952, d'un allongement inexplicé des tests de coagulation chez des patients lupiques.<sup>25</sup> et c'est en 1972 que le terme lupus anticoagulant est introduit<sup>26</sup>. Secondairement, ces anomalies ont été associées à des phénotypes particuliers de sujets lupiques, sujets à thrombose plutôt qu'hémorragie<sup>27</sup>. La présence de LA est ensuite décrite chez des patients non lupiques ayant présenté une maladie thromboembolique veineuse dans le cadre d'un SAPL primaire<sup>28 29</sup>.

Plus tard, des anticorps spécifiques de cette nouvelle entité ont été découverts et leur détection était fortement corrélée à la présence d'un anticoagulant circulant<sup>30</sup> : la recherche de LA mesure l'activité fonctionnelle d'un certain nombre de ces anticorps appelés antiphospholipides.

Le LA, associé in-vivo à des phénomènes thrombotiques, est paradoxalement responsable d'un allongement des tests de coagulation dépendants des phospholipides, en interférant avec la formation de la prothrombinase, d'où une spécificité dite antiprothrombinase. Ces tests sont d'autant plus sensibles que le réactif utilisé est pauvre en phospholipides.

La recherche de LA a fait l'objet de recommandations internationales, émises par le

comité scientifique de standardisation de l'ISTH – International Society of Thrombosis and Haemostasis-, en 1995<sup>31</sup>, recommandations actualisées en 2009<sup>32</sup>. Pour la détection optimale d'un anticoagulant lupique, il est recommandé de suivre ces différentes étapes :

- *Préparation des échantillons plasmatiques* par double centrifugation, afin d'obtenir un sérum déplaqueté.
- *Détection d'un LA* : aucun test utilisé seul n'est suffisamment sensible pour détecter un LA, d'où la nécessité de réaliser deux tests de dépistage, reposant sur un principe différent ; actuellement, sont recommandés le temps de venin de vipère Russell dilué et un temps de céphaline avec activateur (TCA) utilisant un réactif sensible au LA. Si les deux tests sont négatifs, la recherche est négative.
- *Mélange de plasma* afin de démontrer la présence d'un effet inhibiteur persistant malgré le mélange à proportion égale du plasma du patient et d'un pool de plasmas « témoins » (une correction du temps de coagulation permet de mettre en évidence un déficit en facteurs de coagulation).
- *Confirmation de la présence d'un LA* par la normalisation du temps de coagulation après apport d'un excès de phospholipides, démontrant le caractère dépendant des phospholipides de cette inhibition. Ceci permet de distinguer le LA des inhibiteurs spécifiques d'un facteur de coagulation.
- en cas d'allongement des tests de coagulation, même en présence d'un LA, la recherche d'un déficit spécifique en facteurs de coagulation et d'une éventuelle contamination du prélèvement par l'héparine (tube hépariné, traitement anticoagulant) est indispensable.

Les résultats sont qualitatifs : recherche de LA positive ou négative.

### c. Anticorps anticardiolipine et anti- $\beta$ 2-glycoprotéine 1

La découverte des premiers aPI date des campagnes de dépistage de la syphilis : un certain nombre de patients présentait une sérologie positive, sans aucun symptôme évocateur, et leur test d'immobilisation du tréponème était négatif<sup>33</sup>. Cette anomalie, lorsqu'elle était transitoire, a initialement été associée à diverses pathologies infectieuses et, lorsqu'elle était persistante, au LED<sup>34</sup>. Le réactif utilisé pour le test VDRL contenait un phospholipide anionique, le cardiolipide, ou, terme francisé plus employé actuellement, la cardiolipine. C'est pourquoi c'est l'antigène qui a servi à l'élaboration des tous premiers tests immunologiques

pour la recherche spécifique d'anticorps antiphospholipides, dont l'association à des phénomènes thrombotiques était alors décrite chez des patients suivis pour un LED.<sup>30</sup> Ensuite, la technique est devenue encore plus sensible avec l'utilisation d'un test ELISA<sup>35</sup>.

Cependant, la cardiolipine est un phospholipide anionique présent à la surface de la membrane interne des mitochondries ; de ce fait, il n'intervient pas dans la coagulation in vivo et ne semble pas être l'antigène impliqué dans la survenue des phénomènes thrombotiques au cours du SAPL. Ce n'est que dans les années 90 que deux équipes<sup>36 37</sup> ont établi que la fixation à la cardiolipine des aCl pathogènes est dépendante de l'adjonction de plasma, suggérant l'implication de co-facteurs présents, à l'état libre, dans le plasma. La  $\beta$ 2-glycoprotéine 1 ( $\beta$ 2GP1), protéine circulante dans le plasma et dont la fonction exacte demeure inconnue, est identifiée comme l'un des principaux co-facteurs<sup>36</sup>. Ont ensuite été développées des techniques de détection d'anticorps spécifiquement dirigés contre cet antigène : les anti- $\beta$ 2GP1.

La recherche d'aCl reste cependant recommandée, la  $\beta$ 2GP1 n'étant pas le seul co-facteur reconnu par les aCl. La prothrombine est également un co-facteur maintenant bien identifié, et le spectre des spécificités antigéniques des aPl s'accroît progressivement: annexine V, protéine S, protéine C activée, kininogènes de bas et de haut poids moléculaire, LDL oxydés, activateur tissulaire du plasminogène, facteurs de coagulation XII et VII/VIIa, fraction C4 du complément et facteur H<sup>38</sup>.

Les aCl permettent donc de dépister différents anticorps reconnaissant divers co-facteurs, dont certains nous sont probablement encore inconnus et, de fait, non accessibles à une recherche spécifique.

#### i. Technique de détection des aCl

La détection des aCl repose sur un test ELISA (Enzyme-linked Immunoabsorbant Assay). L'antigène fixé sur les plaques est la cardiolipine. La technique nécessite l'addition de sérum ou plasma animal, afin d'apporter les co-facteurs indispensables à la réactivité d'un certain nombre de ces anticorps.

Les deux isotypes, IgG et IgM, doivent être dépistés ; actuellement, il n'est pas recommandé de rechercher les IgA, aucune donnée solide ne permettant de les associer à la survenue d'évènements thrombotiques. Par ailleurs, il est conseillé d'exprimer les résultats en unités MPL pour les IgM et GPL pour les IgG, déterminées à partir de courbes de

calibration utilisant les ‘standards de Harris’ (échantillon de sérum de patients négatifs et positifs dont le taux d’anticorps est spécifié)<sup>39</sup>.

#### ii. Technique de détection des a $\beta$ 2GP1

La détection des a $\beta$ 2GP1 repose également sur une technique ELISA, réalisée en l’absence de phospholipides. Cela nécessite donc l’utilisation d’un support irradié, chargé négativement, permettant l’interaction de la  $\beta$ 2GP1 : ceci permettrait d’obtenir artificiellement une conformation similaire à celle adoptée après liaison aux phospholipides et une augmentation de la concentration de  $\beta$ 2GP1 fixée. Il est maintenant reconnu que les a $\beta$ 2GP1 reconnaissant le domaine 1 ou N-terminal de la  $\beta$ 2GP1 sont particulièrement impliqués dans la physiopathologie du SAPL<sup>40 41 42</sup> ; cependant, leur recherche n’est pas encore disponible en pratique courante.

Les deux isotypes, IgM et IgG, doivent être recherchés. Il n’y a pas, actuellement, d’unités standardisées, la plupart étant définies arbitrairement par les fabricants.

#### d. Autres auto-anticorps

D’autres auto-anticorps ont été décrits. Ils ont fait l’objet de beaucoup moins de recherche et leur association avec les phénomènes thrombotiques est nettement moins documentée. A l’heure actuelle, il s’agit d’examen de seconde intention qui doivent être réalisés en cas de tableau clinique très évocateur, en l’absence d’aPI ‘classiques’. Les deux anticorps accessibles en pratique courante sont les anti-prothrombine (aPT) et anti-phosphatidyléthanolamine.

### 4. Pathogénicité des anticorps anti-phospholipides

#### a. Thromboses vasculaires

Plusieurs études menées chez des sujets sains ont montré que la présence d’aPI était prédictive de la survenue de thromboses veineuses profondes.

Dans une méta-analyse de 1998, concernant les porteurs asymptomatiques d'aPI, la présence d'aCl était significativement associée aux thromboses veineuses profondes, avec un OR à 1,6 [1,1 ; 2,2], et ce, de façon plus marquée, si l'on ne considérait que les titres élevés (OR à 3,2 [1,1 ; 9,3]). Mais une recherche de LA positive conférait un risque encore plus important d'évènement thrombotique veineux avec un OR à 11,1 [3,8 ; 32,3]<sup>43</sup>.

Dans une étude prospective en 2014, après un suivi moyen de 9 ans, on notait effectivement un sur-risque de thrombose artérielle ou veineuse chez ces patients (7,6%). Chez les patients positifs pour un seul aPI (simple-positifs), le taux annuel de premier évènement thrombotique était similaire à celui de la population générale (0,65%), alors qu'il était deux fois plus élevé parmi les double/triple-positifs (1,27%)<sup>44</sup>. Ainsi le profil aPI initial semblait influencer le risque thrombotique. En effet, Pengo et al. ont également rapporté une importante incidence cumulée d'évènement thrombotique (37,1% à 10 ans) chez des patients asymptomatiques triple-positifs. Ainsi le taux annuel de premier évènement cardiovasculaire était de 5,5% chez les triple-positifs, bien plus élevé que dans la population générale (0,4%) ou même que chez les simple-positifs (1,4%)<sup>45</sup>.

De nombreuses études portent également sur la prévalence des différents aPI chez les patients ayant présenté un évènement thrombotique.

Une méta-analyse de 2003 se proposait de déterminer l'association des aPI aux thromboses. Concernant le LA, l'ensemble des études incluses retrouvait une association significative avec les thromboses vasculaires, quel qu'en soient le type et le site, indépendamment de la présence d'un LED ou des techniques d'analyse utilisées. Pour les aCl, les résultats étaient plus mitigés ; toutes les études ne retrouvaient pas d'association probante avec les phénomènes thrombotiques et, lorsqu'elle était décrite, il s'agissait uniquement d'isotypes IgG à des taux élevés. Finalement, l'auteure concluait que le LA était un facteur de risque plus important que les aCl, avec un OR allant de 4,1 à 16,2 par rapport aux contrôles, concernant la survenue d'une thrombose veineuse profonde ou d'un AVC<sup>46</sup>. Une seconde méta-analyse de la même équipe s'intéressant aux autres auto-anticorps, avait défini, à partir de 28 études, 60 associations avec les aβ2GPI1 (pour chaque type d'évènement dans chaque étude) : 12 sur 21 étaient significatives pour les thromboses veineuses, seulement 5 associations sur 17 l'étaient pour les thromboses artérielles et 17 sur 22 concernant les thromboses vasculaires en général.<sup>38</sup>

Une étude prospective en 2009 concernant 122 patients retrouvait également une association entre thrombose veineuse et présence d'aCl IgG à taux élevés (supérieur à 40

GPL), avec un risque 2,8 fois supérieur dans ce sous-groupe, par rapport au reste des sujets. Le LA n'était pas étudié<sup>47</sup>.

Une autre méta-analyse parue en 2014, n'incluant que les patients présentant un SAPL non associé au LED, rapportait, pour les thromboses veineuses, un OR nettement plus élevé pour le LA à 6,1 que pour les aCl (OR à 1,5 avec une borne inférieure tout juste significative à 1,06). Aucune association ne ressortait avec les a $\beta$ 2GP1 ou aPT. Concernant les thromboses artérielles, une association était retrouvée pour l'ensemble des anticorps avec un OR à 6,6 pour le LA, 3,1 pour les a $\beta$ 2GP1, 3 pour les aPT et 2,7 pour les aCl<sup>48</sup>.

Chez les patients suivis pour SAPL, Pengo et al. avaient également rapporté un haut risque de récurrence en cas de positivité multiple des tests de détection. Dans une étude rétrospective d'abord, la présence de LA ou de a $\beta$ 2GP1 était significativement associée aux thromboses avec des OR respectivement à 4,4 [1,5 ; 13,3] et 2,9 [1,1 ; 7,5] ce qui n'était pas le cas pour le aCl. Toutefois, le facteur de risque indépendant le plus fort était la triple-positivité avec un OR à 33,3 [7 ; 158]<sup>49</sup>. Ensuite, ces données ont été confirmées dans une étude prospective, où l'incidence cumulée d'événements thromboemboliques chez les SAPL triples-positifs était franchement élevée : 12,2% à 1 an, 26,1% à 5 ans et 44,2% à 10 ans. 2,5% des patients avaient récidivé sous la forme d'un CAPS<sup>50</sup>.

Ces données sont bien hétérogènes, cependant une positivité en LA semble être le critère biologique le plus fortement associé à la survenue de thromboses vasculaires et, plus récemment, un profil biologique particulier associant les trois aPI classiques permettrait de distinguer un groupe de patient à haut risque thrombotique. Un taux persistant et élevé d'aCl IgG pourrait également être prédictif vis-à-vis du risque thrombotique. Les données concernant les autres anticorps sont moins solides et ne permettent pas, à l'heure actuelle, d'affirmer leur lien avec les phénomènes thrombotiques.

## b. Morbidité obstétricale

La présence d'aPI est relativement fréquente chez les patientes suivies pour des complications obstétricales et plusieurs études se sont attachées à définir le lien entre ces deux entités.

Tout d'abord, une méta-analyse d'études contrôlées rapportait que le risque de pré-éclampsie était significativement augmenté chez les patientes ayant un antécédent de pré-éclampsie (RR à 7,2 [5,9 ; 8,8]) et celles positives pour les aPI (RR à 9,7 [4,3 ; 21,7])<sup>51</sup>.

Une autre méta-analyse de 2006, incluant 25 études, s'est proposé d'étudier l'association entre aPI et pertes fœtales récidivantes. La présence d'un LA était significativement associée aux fausses couches tardives avec un OR à 7,8 [2,3 ; 26,5]. La présence d'aCl était également prédictive, mais moins fortement, de la survenue de fausses couches précoces (OR à 3,6 [1,5 ; 8,6]) et tardives (OR à 3,6 [2,3 ; 5,7])<sup>52</sup>.

Dans une étude en 2009, la présence d'aPI augmentait significativement le risque de pré-éclampsie (OR à 2,9 [0,5 ; 5,6]) et d'insuffisance placentaire (OR à 4,6 [2 ; 10,5])<sup>53</sup>.

Là-encore, l'association de plusieurs aPI semble augmenter le risque de complications obstétricales. C'est ce que rapporte une étude rétrospective s'intéressant aux grossesses menées chez des femmes suivies pour un SAPL primaire et bénéficiant d'un traitement adapté : on notait un échec de la grossesse chez 16,9% des patientes de catégorie I et seulement 3,1% pour la catégorie II. Ce taux s'élevait même à 52,6% parmi les triple-positives<sup>54</sup>. Une seconde étude cas-témoins (appariés sur l'âge et le traitement reçu) rapportait que la triple-positivité était un facteur de risque indépendant de perte fœtale avec un OR à 4,1 ; cependant, la borne inférieure de l'intervalle de confiance était à 1<sup>55</sup>.

Ainsi, la présence d'un LA ou d'aPI multiples semblent également être des marqueurs péjoratifs concernant l'évolution d'une grossesse.

## 5. Critères de classification

Suite à la découverte d'une association entre phénomènes thrombotiques ou complications obstétricales et présence d'aPI, L'équipe de Hughes a décrit, en 1987, une nouvelle entité clinico-biologique : le SAPL<sup>56</sup>. En 1989, plusieurs équipes décrivent le 'SAPL primaire', survenant en dehors de tout contexte auto-immun<sup>28 29</sup>.

Les critères de classification du SAPL, dits de Sapporo, ont été définis lors d'un congrès en 1998<sup>57</sup>. Ces critères requièrent l'association d'au moins un signe clinique et un signe biologique. Ils ont été actualisés à l'occasion de la conférence de Sydney de 2006<sup>58</sup> (tableau 1). Les aβ2GP1 ont été inclus parmi les critères biologiques et le délai du contrôle

allongé de 6 à 12 semaines. Par ailleurs, cette dernière version a l'avantage de définir des cut-off pour la détection des anomalies biologiques.

Actuellement, il n'existe aucun critère diagnostique validé et ces critères de classification sont, tant dans les études qu'en pratique courante, utilisés pour la définition et le diagnostic du SAPL.

#### SAPL présent si au moins un des critères cliniques ET un des critères biologiques\*

<b>Critères cliniques</b>	<p><b>Thrombose vasculaire</b>            Au moins un épisode de TV ou TA ou de thrombose des petits vaisseaux, quel que soit l'organe, thrombose qui doit être confirmée par un examen objectif validé d'imagerie ou anatomo-pathologique (thrombose sans inflammation de la paroi du vaisseau)</p> <p><b>Morbidité obstétricale</b>            - Au moins un décès d'un fœtus morphologiquement normal au cours ou au-delà de la 10<sup>ème</sup> semaine de grossesse (SG)            - Au moins une naissance prématurée d'un nouveau-né morphologiquement normal avant la 34<sup>ème</sup> SG secondaire à une éclampsie/pré-éclampsie sévère ou une insuffisance placentaire documentée            - Au moins trois fausse couche spontanée inexplicables avant la 10<sup>ème</sup> SG</p>
<b>Critères biologiques</b>	<p><b>Présence d'un LA</b>            à au moins deux occasions espacées d'au moins 12 semaines, détecté selon les recommandations de l'ISTH</p> <p><b>aCl IgM et/ou IgG à taux modérés ou élevés</b>            (&gt; 40 MPL ou GPL ou &gt; 99<sup>ème</sup> percentile) à au moins deux occasions espacées d'au moins 12 semaines, détectés par un test ELISA</p> <p><b>aB2 IgM et/ou IgG à taux supérieurs au 99<sup>ème</sup> percentile</b>            à au moins deux occasions espacées d'au moins 12 semaines, détectés par un test ELISA, selon les procédures recommandées</p>

Tableau 1 - Critères révisés de classification pour le SAPL d'après *International consensus statement on an update of classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)*

\* Le diagnostic de SAPL ne peut être retenu si l'intervalle entre les manifestations cliniques et la détection d'aPI est inférieur à 12 semaines ou supérieur à 5 ans.

Les auteurs recommandent de classer les patients en 2 catégories : I, plus d'un critère biologique présent ; II, un seul critère biologique

## 6. Traitement

En l'absence de thérapeutique spécifique permettant la disparition des aPI, le traitement repose sur la prévention primaire et secondaire des complications du SAPL.

En premier lieu, la découverte d'aPI, symptomatiques ou non, doit faire rechercher et corriger, de la façon la plus optimale possible, les facteurs de risque cardio-vasculaire modifiables.

## a. Prise en charge des thromboses vasculaires

### i. Prophylaxie primaire

Comme nous l'avons décrit, le risque de thrombose est plus important chez les patients porteurs asymptomatiques d'aPl que dans la population générale. Ainsi plusieurs études se sont proposé d'étudier l'efficacité de l'aspirine au titre de la prévention primaire des phénomènes thrombotiques.

Dans une première méta-analyse, incluant 11 études, l'aspirine semblait jouer un rôle protecteur contre la survenue des thromboses artérielles avec un OR à 0,48 [0,28 ; 0,82]. Même si la tendance était la même pour les thromboses veineuses, l'intervalle de confiance n'était pas significatif (OR à 0,58 [0,32 ; 1,06]). L'efficacité était, au total, très discutable, puisque, si l'on ne retenait que les études prospectives, l'OR était à 0,91 [0,52 ; 1,59] pour l'ensemble des phénomènes thrombotiques<sup>59</sup>.

Dans une seconde méta-analyse, réalisée à partir des mêmes études, par la même équipe, un an plus tard, les données personnelles des patients ont été colligées afin de pouvoir effectuer une analyse plus approfondie ; ainsi, 6 des études étaient exclues, les données personnelles des patients n'ayant pu être récupérées. Chez les patients traités par aspirine, la survenue d'un premier évènement thrombotique était significativement moins fréquente que chez les patients non traités, avec un hazard ratio (HR) à 0,5 [0,3 ; 0,82]. La différence était même un peu plus marquée après ajustement sur l'âge, le sexe et les facteurs de risques cardio-vasculaires (HR à 0,43 [0,25 ; 0,76]<sup>60</sup>.

La performance de l'aspirine en prophylaxie primaire est donc très discutée. Cependant, un groupe de travail, ayant émis des recommandations sur la gestion du risque thrombotique des aPl, propose une prescription systématique d'aspirine à faible dose chez les porteurs asymptomatiques d'un profil aPl à haut risque<sup>61</sup>.

Ce groupe recommande également la prescription systématique d'une anticoagulation préventive par héparines de bas poids moléculaire dans les situations à haut risque thrombotique telles que l'alitement, l'immobilisation prolongée ou le post-partum<sup>61</sup>.

## ii. Prophylaxie de la récurrence thrombotique

L'anticoagulation à dose curative constitue la pierre angulaire de la prise en charge des thromboses vasculaires, avec ou sans SAPL. Cependant, plusieurs travaux ont rapporté un risque particulièrement élevé de récurrence après un premier événement thromboembolique chez les patients porteurs d'APL, ainsi qu'un rôle protecteur d'une anticoagulation à dose curative sur le long-terme.

Dans une étude rétrospective, 69% des patients avaient présenté une ou plusieurs récurrences. Le délai médian pour la récurrence était de 12 mois et le taux de récurrence était plus élevé pendant les 6 mois suivant l'interruption d'un traitement anticoagulant. Un traitement par warfarine à haute dose (INR supérieur ou égal à 3) semblait plus efficace que le traitement de faible intensité pour la prévention de la récurrence. L'aspirine n'apportait aucun bénéfice dans ce contexte<sup>62</sup>. Dans une autre étude, 53% des patients présentaient une récurrence ; la récurrence était moins fréquente en cas de traitement par la warfarine, mais, cette différence n'était, de nouveau, significative que pour les fortes doses<sup>63</sup>. Dans une troisième étude, la probabilité de survie sans événement était de 100% à 8 ans dans le groupe traité par anticoagulants oraux et de 50% à 2 ans et 78% à 8 ans dans le groupe non traité<sup>64</sup>.

L'important risque de récurrence objectivé par ces études et l'influence positive d'un traitement anticoagulant, implique la mise en place d'une anticoagulation efficace au long cours, parfois à vie. Mais, ces études ont également cautionné l'utilisation de fortes doses d'anti-vitamine K (AVK) avec un INR cible supérieur à 3. Cependant, une anticoagulation intensive, si elle peut permettre une meilleure protection vis-à-vis des phénomènes thrombotiques, expose aussi à un plus grand risque hémorragique. Dans l'Euro-APS, les hémorragies représentaient quand-même 10,7% des étiologies de décès (les modalités thérapeutiques dans ce groupe spécifique de patients n'étaient pas décrites).

Ainsi, en 2003 et 2005, deux études randomisées ont comparé deux intensités de traitement par warfarine (INR inférieur ou supérieur/égal à 3) pour la prévention de la récurrence thrombotique dans le SAPL. Dans la première, parue en 2003, incluant 114 patients, le taux de récurrence était plus important dans le groupe « haute intensité » (10,7% contre 3,4%), sans différence significative<sup>65</sup>. Dans la seconde, les données étaient similaires (11,1% versus 5,5%)<sup>66</sup>. Il ne ressortait aucun bénéfice d'une anticoagulation agressive et, bien que ces études souffrent de faiblesses méthodologiques, le faible taux d'événement dans les deux groupes suggérait une efficacité de l'anticoagulation 'faible intensité'. Ainsi, une intensité élevée d'anticoagulation n'ayant pas fait preuve de son efficacité, les recommandations

consistent en un traitement anticoagulant prolongé avec un INR cible entre 2 et 3. Cependant, un INR-cible supérieur à 3 peut être discuté dans le cas des thromboses artérielles, d'autant plus qu'il existe un profil aPI à haut risque<sup>61</sup>.

Les anticoagulants oraux directs ne doivent pas être utilisés dans le SAPL en l'absence de données solides concernant leur efficacité dans ce contexte spécifique. Cependant, deux études sont actuellement débutées, au stade de recrutement. L'une prospective a pour but de démontrer la non-infériorité du rivaroxaban par rapport à la warfarine dans le SAPL vasculaire. L'autre est une étude observationnelle de patients SAPL traités au long cours par rivaroxaban.

Dans les cas difficiles où il existe un haut risque hémorragique, des difficultés d'équilibration du traitement ou des thromboses récidivantes, les HBPM, l'hydroxychloroquine et les statines peuvent être envisagées<sup>61</sup>.

#### b. Prise en charge des formes obstétricales

Tout d'abord, la prise en charge du SAPL obstétrical est sous-tendue par le haut risque de complications lors des grossesses ultérieures. Ces données sont soutenues par différents travaux. En effet, une étude prospective retrouvait que 53,7% des grossesses menées chez des patientes suivies pour un SAPL se soldaient par une perte fœtale, et ce risque serait encore supérieur en cas d'antécédent similaire<sup>67</sup>.

Il s'agit également de prévenir la récurrence et de permettre à ces femmes de mener à bien une ou plusieurs grossesses. Plusieurs études ont rapporté l'efficacité de l'association aspirine et héparine à bas poids moléculaire.

Dans une méta-analyse de cinq études randomisées contrôlées, les taux de réussite des grossesses (nouveau-né vivant) était de 74,3% dans le groupe aspirine-héparine (héparine non fractionnée -HNF- ou héparine de bas poids moléculaire -HBPM-) versus 55,8% dans le groupe aspirine seule avec un RR à 1,3 [1,04 ; 1,6]<sup>68</sup>.

Ces données ont été confirmées dans une étude prospective : parmi les patientes positives en aPI, 79% des patientes recevant l'association aspirine-héparine avaient un nouveau-né vivant contre 62% des patientes traitées par aspirine seule (OR ajusté à 2,7 [1,3 ; 5,8]). Aucun bénéfice de cette association n'était retrouvé chez les patientes aPI-négatives<sup>69</sup>.

Dans une revue de la Cochrane, le traitement par aspirine en association à l'héparine réduisait significativement le risque de récurrence de fausse couche spontanée par rapport à l'aspirine seule, mais uniquement pour l'HNF (RR à 0,5 [0,3 ; 0,7]). Cette association n'était pas significative pour les HBPM (RR à 0,8 [0,4 ; 1,6])<sup>70</sup>. Depuis, plusieurs études ont comparé les HBPM à l'HNF et il n'y avait aucune différence, en termes de pronostic obstétrical, entre les deux groupes<sup>71 72</sup>.

L'association prednisone-aspirine semble aussi efficace que celle de l'aspirine avec l'héparine, mais au prix de complications obstétricales telles qu'hypertension gravidique, diabète gestationnel et prématurité. Les immunoglobulines intraveineuses n'ont pas fait la preuve de leur efficacité<sup>73</sup>.

En pratique, l'association 'aspirine-HBPM à dose préventive' est volontiers prescrite, ces dernières offrant une meilleure maniabilité, avec un risque moindre de complications (thrombopénie induite à l'héparine et ostéoporose notamment). L'idéal est de programmer une consultation pré-conceptionnelle afin d'expliquer les risques inhérents à toute grossesse menée dans ce contexte et mettre en place précocement les thérapeutiques permettant d'en améliorer le pronostic. Un suivi rapproché de la grossesse doit également être organisé à cette occasion.

Dans les cas de récurrence malgré un traitement adapté, de faibles doses de corticoïdes, la majoration des doses d'héparine et l'adjonction d'un traitement par hydroxychloroquine peuvent être discutés.

Les patientes anticoagulées au long cours bénéficient d'un traitement par HBPM à dose curative associé à l'aspirine, tout au long de la grossesse.

Il est classique de proposer un traitement par aspirine aux patientes porteuses asymptomatiques d'aPl, au cours de la grossesse, ainsi qu'une prophylaxie de la maladie thromboembolique veineuse par HBPM dans les six semaines du post-partum.

## B. Rationnel et objectif de l'étude

Une lacune des critères de classification du SAPL est le manque de standardisation et de reproductibilité des analyses biologiques.

## 1. Variabilité inter et intra-individuelle des anticorps antiphospholipides

La mise en évidence de ces anticorps est rendue difficile par leur grande diversité. Comme nous l'avons vu, ces anticorps sont très hétérogènes dans leurs spécificités antigéniques. De fait, parmi les patients suivis pour SAPL, il existe un large panel d'antigènes reconnus, et, en l'absence de recouvrement total entre les différentes techniques de détection, il est indispensable de réaliser plusieurs tests différents afin d'optimiser la recherche d'aPI.

Si les complexes antigéniques reconnus par les aPI varient d'un patient à l'autre, cela peut également être le cas, chez un même individu. Une équipe a étudié 7 anticorps monoclonaux isolés à partir du sérum de deux patients et leur analyse avait révélé trois profils de réactivité différents<sup>74</sup>. Dans une autre étude, l'analyse clonale des lymphocytes B, producteurs d'aCl, chez un patient suivi pour un SAPL primaire, révélait que les anticorps monoclonaux avaient des spécificités antigéniques différentes, mais également des affinités et une dépendance aux co-facteurs différentes<sup>75</sup>.

## 2. Manque de standardisation des techniques de détection des aPI

Au-delà de ces considérations moléculaires, l'une des difficultés d'interprétation des recherches d'aPI est liée au fait que chaque technique est capable de détecter différents anticorps :

- en ce qui concerne le LA, cela semble évident, puisqu'il ne s'agit que de la mise en évidence indirecte de tout un panel d'anticorps, interférant d'une manière ou d'une autre avec les étapes de coagulation dépendante des phospholipides et donc susceptibles d'entraîner un allongement du TCA.
- pour les aCl, même si l'adjonction de sérum permet la réactivité des aCl dépendant de co-facteurs, cette technique détecte également les aCl dit « vrais » interagissant directement avec la cardiolipine, réputés non pathogènes. Des tests ELISA combinés, permettant la comparaison des résultats en l'absence et en présence de sérum animal ont été proposés afin de distinguer les aPI pathogènes, mais la co-existence chez un même patient de différents auto-anticorps rend leur interprétation délicate. La positivité des aCl, analysée seule, ne présage donc en rien de leur valeur prédictive vis-à-vis du diagnostic de SAPL.

- pour les a $\beta$ 2GP1, la technique détecte spécifiquement les anticorps dirigés contre la  $\beta$ 2GP1, mais, ils peuvent, au sein de cette molécule, reconnaître différents épitopes: ceux présents sur la molécule native ou ceux exposés ou nouvellement formés après changement conformationnel (après liaison à des phospholipides anioniques ou une plaque irradiée ELISA, par exemple).

La stratégie actuelle repose sur la détection d'un large éventail d'auto-anticorps, révélant l'activité aPI polyclonale, sans discrimination de leur association ou non aux critères cliniques du SAPL. La caractérisation précise des aPI pourvoyeurs de thromboses est un but important pour mieux stratifier le risque thrombotique. Cependant les travaux de recherche fondamentale sont peu nombreux et les mécanismes physiopathologiques de ce syndrome sont encore incompris.

Outre la détection d'anticorps différents par une même technique, il existe d'importantes différences dans la réalisation de ces techniques par les laboratoires, avec notamment l'utilisation de différentes trousse commerciales. Plusieurs équipes, se sont penchées sur la rédaction de règles de bonnes pratiques, régulièrement mises à jour : les recommandations de l'ISTH<sup>31</sup>, actualisées en 2009<sup>32</sup> pour la recherche de LA et de nombreux travaux nationaux, homogénéisés à l'occasion du 13<sup>ème</sup> congrès international sur les aPI pour la détection des aCI et a $\beta$ 2GP1<sup>76 77</sup>.

La recherche de LA semble donc être très bien encadrée, avec une description relativement précise de l'ensemble des étapes techniques. Cependant, l'harmonisation des résultats est délicate. D'une part, le choix des deux tests de détection est laissé aux laboratoires et, d'autre part, il existe de multiples kits commerciaux (réactifs variables, notamment dans leur concentration en phospholipides). Ces composantes peuvent avoir un impact majeur sur l'issue de l'analyse. Par ailleurs, la détermination de ses propres cut-off pour chaque laboratoire, à partir des sérums de volontaires sains issus de la population locale, se confronte à un manque de moyen et de nombreux laboratoires sont contraints d'utiliser des pools de plasma de sujets sains fournis par des fabricants industriels. L'étape de mélange des plasmas est indispensable et requière une préparation adéquate du plasma témoin qui doit être similaire à celle du plasma testé ; malheureusement, les informations concernant la technique de préparation et, notamment, la concentration résiduelle en phospholipides ne sont pas toujours clairement décrites par le fabricant et constituent un véritable biais pour cette analyse.

Les techniques immunologiques ont également fait l'objet de très nombreux travaux, mais il persiste des étapes peu standardisées, notamment pré-analytiques. La détermination de cut-off « maison », pour les aCl et les a $\beta$ 2GP1, est également difficile et la plupart des laboratoires utilisent les seuils de positivité proposés par les kits commerciaux, qui ne sont pas forcément définis selon les recommandations (au 99<sup>ème</sup> percentile par des tests non paramétriques). Pour les aCl, outre des recommandations très techniques, les spécialistes du domaine se sont attachés à définir des unités standards, dont l'utilisation semblait pouvoir uniformiser, si ce n'est la méthode d'analyse, l'expression des résultats. Par ailleurs, la définition-même d'un titre élevé d'aCl (supérieur à 40 MPL ou GPL ou au 99<sup>ème</sup> percentile) dans les critères actualisés tend à créer une certaine confusion, puisque ces seuils ne correspondent pas du tout aux mêmes taux ; selon la valeur utilisée, les critères seront plus ou moins stricts vis-à-vis du diagnostic de SAPL et ne semblent pas cibler les mêmes profils de patients<sup>78</sup>.

Malgré de nombreux travaux et efforts de standardisation, les experts déplorent toujours un manque de reproductibilité des méthodes de détection. En effet, plusieurs études rapportent les grandes disparités dans les résultats fournis par les différents laboratoires ou kits commerciaux. L'une des premières raisons est le manque de compliance des laboratoires aux règles de bonne pratique. En effet, dans une étude concernant la recherche de LA, une proportion importante de laboratoires n'appliquait pas strictement l'ensemble des recommandations<sup>79</sup>. Dans une autre étude, ayant pour but la détermination d'un cut-off, il existait une différence significative entre différents laboratoires, concernant les résultats des tests de détection du LA, lorsqu'ils étaient exprimés en secondes ; cette différence disparaissait lorsque les ratios étaient utilisés<sup>80</sup>. De même, un rapport présenté à l'occasion du 10<sup>ème</sup> congrès international des aPI, comparait 3 méthodes ELISA pour la détection des a $\beta$ 2GP1. Parmi 22 patients SAPL, les taux de détection d'a $\beta$ 2GP1 par les différentes techniques étaient d'une part très variables, mais également relativement faibles pour certains kits (73, 55 et 45%)<sup>81</sup>.

Toutefois, une étude récente souligne de nets progrès dans la reproductibilité des tests ; en effet, l'évaluation de kits commerciaux dans différents laboratoires montrait une certaine homogénéité dans les résultats obtenus pour les aCl et les a $\beta$ 2GP1 et il existait une bonne corrélation de la positivité parmi les différents tests utilisés, tout au moins, pour la détection des IgG<sup>82</sup>.

### 3. Objectif de l'étude

Etant donné la prévalence élevée des manifestations cliniques répondant aux critères du SAPL, le diagnostic repose souvent sur la positivité des anticorps. Cependant, certains anticorps, transitoires, n'ont pas de conséquence clinique et sont réputés non pathogènes. Ce sont des auto-anticorps induits dans de nombreuses situations, dont certaines constituent elles-mêmes un facteur de risque de thrombose : maladies auto-immunes, utilisation de traitements inducteurs, notamment les anti-TNF alpha<sup>83</sup>, infections<sup>84</sup>, cancers solides ou hématologiques<sup>85</sup>. On peut aussi les retrouver chez des sujets totalement asymptomatiques, et notamment dans l'entourage familial de patients SAPL. Dans ce cas, comme nous l'avons déjà décrit, il s'agit le plus souvent d'aCl non dépendants de co-facteurs, qui reconnaissent directement la cardiolipine ou un autre phospholipide. Les aCl  $\beta$ 2GP1-dépendants ou cofacteurs-dépendants, dirigés contre les complexes phospholipides-cofacteurs, semblent, eux, être persistants et responsables des manifestations cliniques du SAPL.

De fait, le caractère transitoire de certains aPl ainsi que le manque de standardisation et la reproductibilité médiocre des différents tests, ont pour corolaire la nécessité d'un contrôle de la positivité de ces auto-anticorps. Pour cette raison, l'une des conditions *sine qua non* pour établir le diagnostic de SAPL, selon les critères révisés de Sydney, est la persistance au-delà de 12 semaines d'un LA ou d'un taux élevé d'aCl ou d'a $\beta$ 2GP1.

Ce délai de 12 semaines peut pourtant poser problème dans certaines circonstances cliniques où la décision thérapeutique est influencée par le diagnostic d'un éventuel SAPL. Si pour les phénomènes thrombotiques, la découverte d'aPl n'a d'incidence que sur les modalités de poursuite du traitement anticoagulant, d'autres situations cliniques pourraient nécessiter un recours précoce à l'anticoagulation, en cas de SAPL avéré. Par exemple, dans un contexte d'IDM, d'AVC ischémique ou d'AIT, il est licite de discuter d'emblée une anticoagulation curative en présence d'aPl. Il a en effet décrit que le risque de récurrence est majeur et ce, précocement, après le premier épisode, surtout en l'absence de traitement<sup>62</sup>. Pour les IDM, aucune étude n'a été menée comparant un traitement anticoagulant au traitement antiplaquettaire, pierre angulaire de la prise en charge. Concernant les patients SAPL ayant présenté un AVC, une étude prospective, contrôlée, randomisée retrouvait une incidence cumulée de nouvel AVC significativement supérieure dans le groupe 'aspirine' versus 'aspirine associée à une anticoagulation' ; il n'y avait pas de différence en termes de

complications hémorragiques<sup>86</sup>. Ces données sont controversées, d'autant plus que dans une large cohorte, la présence d'aPI chez des patients ayant présenté un AVC n'exposait pas à un risque accru de récurrence, quel que soit le traitement (aspirine et AVK)<sup>87</sup>. Quoiqu'il en soit, la prescription d'un traitement anticoagulant n'est pas anodine dans ces situations.

De même, dans un contexte de défaillance multi-viscérale avec positivité des aPI, le diagnostic de CAPS peut s'avérer délicat, d'autant plus que coexistent fréquemment d'autres causes pouvant induire la présence d'aPL. Dans ce cas, la confirmation du profil immunologique ne répond pas aux exigences de l'urgence thérapeutique.

Dans ces situations, les dossiers doivent être discutés au cas par cas et, étant donné les implications du recours ou non à un traitement anticoagulant (risque hémorragique non justifié en cas d'aPI transitoires ou risque de récurrence précoce en cas de véritable SAPL), tout argument supplémentaire clinique et/ou biologique pouvant présager du caractère persistant des aPI ne peut qu'être apprécié de la communauté médicale.

Il semble donc intéressant de définir un profil de patients associé à une confirmation de la positivité des aPL à 12 semaines. Cuffaro et al. ont étudié, entre juin 2007 et mai 2008, le taux de confirmation et les facteurs prédictifs de cette confirmation chez 113 sujets testés positifs. 59,3% des patients étaient contrôlés positifs. La confirmation survenait plus souvent chez les patients ayant un taux initial élevé d'anticorps et chez les patients de catégorie 1. Le diagnostic de SAPL était posé chez 8 des 113 patients (7.1%).<sup>88</sup> L'étude de Pengo et Al, en 2013, s'est proposée de définir quel profil immunologique était prédictif d'une persistance des aPL à 12 semaines. Ils ont retrouvé que les patients à haut risque, triple-positifs, étaient contrôlés positifs dans 98% des cas. Les « double positifs » l'étaient dans 84% des cas et les « simples positifs » dans 40%.<sup>89</sup>

Le but de notre étude était d'établir si certains profils cliniques et biologiques peuvent être associés à une persistance des aPI au-delà de 12 semaines. Ceci permettrait dès le premier dosage et dans certaines situations cliniques, d'apporter des arguments supplémentaires en faveur du diagnostic de SAPL, avant même la réalisation du second dosage. Nous nous proposons donc de comparer les patients avec persistance ou non des antiphospholipides.

## II. Matériels et méthode

Nous avons recensé tous les patients ayant eu un premier dosage positif dans le cadre de la recherche d'anticorps antiphospholipides (lupus anticoagulant et/ou anticardiolipine IgG/IgM et/ou anti- $\beta$ 2GP1 IgG/IgM) et ayant été contrôlés après 12 semaines, au CHU d'Amiens, entre 2004 et 2014. Ont été exclus de ce travail : les patients contrôlés dans un délai jugé non raisonnable (supérieur à 18 mois) et les patients pour lesquels des données biologiques étaient incomplètes.

### A. Recueil de données

Un recueil rétrospectif des données épidémiologiques, cliniques et biologiques, au moment du premier dosage, a été effectué pour chacun des patients. Nous avons colligé :

- Le sexe, l'âge des patients
- La notification par le médecin prescripteur d'une éventuelle indication au dosage : thrombose veineuse/artérielle unique ou récidivante, morbidité obstétricale, suivi d'un LED, suivi d'un SAPL, anomalie des tests d'hémostase ; l'absence d'indication évidente ou exposée par le praticien a également été recueillie
- les données correspondant aux critères cliniques de SAPL : 1- thromboses vasculaires – artérielle ou veineuse -, avec leur nombre, leur localisation, leur date de survenue et d'éventuels facteurs de risque associés, 2 - morbidité obstétricale avec le nombre et le type des évènements, ainsi que leur date de survenue
- les données concernant des situations cliniques pouvant être à l'origine de la présence d'aPl, en dehors de tout SAPL : antécédents familiaux de SAPL, maladie auto-immune, notamment la présence d'un éventuel LED, l'utilisation de traitements inducteurs, la notion d'infection (documentée ou non) ou de pathologie néoplasique concomitante.
- le taux et le type (IgG/IgM) des anticorps anticardiolipine et des anticorps anti- $\beta$ 2GP1, ainsi que les dates du premier et du deuxième dosage
- le caractère négatif ou positif de la recherche d'un anticoagulant circulant de type lupique, ainsi que les dates du premier et du deuxième dosage.

Les patients ont été classés en simple, double et triple positifs au premier dosage.

Au deuxième dosage, nous avons également renseigné si le diagnostic de SAPL était posé par le clinicien en charge du dossier et s'il était réellement retenu, en nous appuyant sur les critères révisés de Sapporo.

## B. Analyses biologiques

Toutes les analyses ont été réalisées au sein des laboratoires du CHU d'Amiens.

En ce qui concerne la recherche de LA, les sérums étaient prélevés dans des tubes de solution de citrate trisodique (0.109M). Au laboratoire, les prélèvements subissaient une double centrifugation, afin d'assurer l'obtention d'un plasma déplaqueté (plaquettes < 10000/mm<sup>3</sup>). Depuis 2004, les deux tests de détection utilisés étaient : la mesure du temps de céphaline + activateur et le temps de venin de vipère Russel dilué.

Les kits commerciaux pour la détermination du TCA + activateur étaient le PTT-LA (réactif présentant une sensibilité pour la détection des LA qui, sans être parfaite, est particulièrement importante) pour la détection et le STACLOT<sup>®</sup> LA pour la confirmation, du laboratoire Stago (Asnières, France). La détection était considérée positive si le TCA malade était supérieur d'au moins 8 secondes par rapport au TCA témoin (pool de plasma). Pour la confirmation, la diminution du TCA du plasma après adjonction de PL devait être d'au moins 8 secondes par rapport au test pratiqué avec une solution tampon.

La technique du temps de venin de vipère Russel dilué reposait également sur l'utilisation de kits du laboratoire Stago : STACLOT<sup>®</sup> dRVV Screen et STACLOT<sup>®</sup> dRVV Confirm. La détection était positive si le Ratio Screen (rapport entre le temps de coagulation du patient et le temps de coagulation d'un pool de plasmas témoins) était supérieur à 1,2. Pour la confirmation, on calculait le Ratio Confirm (test réalisé en présence de phospholipides) et le rapport entre le Ratio Screen et le Ratio Confirm (Ratio normalisé) devait être supérieur ou égal à 1,2 pour affirmer la présence de LA.

Un test de dépistage positif, quelle que soit la technique, impliquait de refaire le test avec un mélange du plasma patient et d'un pool de plasmas témoins, afin de ne pas méconnaître un déficit en un ou plusieurs facteurs de la coagulation. L'absence de correction du TCA confirmait la présence d'un inhibiteur.

La recherche des anticorps aCl reposait sur un test ELISA du laboratoire INOVA diagnostics (San Diego, CA) : QUANTA Lite<sup>®</sup> ACA IgM III et IgG III. Les résultats sont exprimés en MPL pour les IgM et GPL pour les IgG. Le laboratoire INOVA diagnostics fournissait un cut-off à 12.5 MPL et 15 GPL, seuils retenus pour la positivité au sein du CHU. En l'absence d'information sur les données du 99<sup>ème</sup> percentile en tests non paramétriques, nous avons retenus le seuil de 40 GPL, conformément aux critères de Sapporo révisés.

Pour les aβ2GP1, il s'agit de tests ELISA, également fournis par INOVA Diagnostics : QUANTA Lite<sup>®</sup> β2GPI IgM ELISA et QUANTA Lite<sup>®</sup> β2GP1 IgG ELISA. Les unités utilisées sont les USM et les USG. Le seuil de positivité proposé par le fournisseur était de 20 USM ou USG. Sans informations sur le 99<sup>ème</sup> percentile pour le seuil de significativité de la détection des aβ2GP1, nous avons retenu, par défaut, ce seuil de 20 unités.

### C. Statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS v. 9.2 (SAS Institute Inc., USA). Pour les variables quantitatives, la tendance centrale était exprimée par la moyenne (+/- écart-type) en cas de distribution normale et par la médiane [25<sup>ème</sup> - 75<sup>ème</sup> percentiles] en cas de distribution non-normale. Pour la comparaison de deux groupes, le test de Wilcoxon a été utilisé pour les variables quantitatives (à distribution non-normale) et le test de Khi-2 pour les variables qualitatives (test de Fisher en cas d'effectifs faibles). Les analyses en régression logistique uni- et multivariée ont été utilisées pour déterminer la force de l'association des différentes variables avec la persistance des antiphospholipides

Pour tous les tests, le seuil de significativité retenu était  $p < 0.05$ .

## III. Résultats

### A. Population étudiée

Du 8 juillet 2004 au 7 avril 2014, les sérums de 10582 patients ont été testés pour la recherche d'anticoagulant circulant, ceux de 12506 patients pour la recherche d'aβ2GP1 (IgM et IgG) et ceux de 17672 patients pour la recherche d'aCl (IgM et IgG). Parmi ceux-ci, 234

étaient positifs pour le LA, 176 pour les aβ2GP1 IgM, 310 pour les aβ2GP1 IgG, 194 pour les aCl IgM et 188 pour les aCl IgG. Parmi eux, ces analyses ont été contrôlées au-delà de 12 semaines chez 128 patients positifs pour le LA, 78 pour les aβ2GP1 IgM, 167 pour les aβ2GP1 IgG, 103 pour les aCl IgM et 101 pour les aCl IgG. Un total de 400 patients ayant eu au moins l'un des tests positif et contrôlé au-delà de 12 semaines, a été inclus. Parmi ces patients, 170 avaient des prélèvements incomplets et 64 un délai au deuxième prélèvement excédant 18 mois, et ont donc été exclus de ce travail. (Fig. 1). Pour 14 patients, les données biologiques étaient complètes, mais aucune donnée clinique n'était disponible ; l'analyse des paramètres cliniques est donc effectuée sur 184 patients.

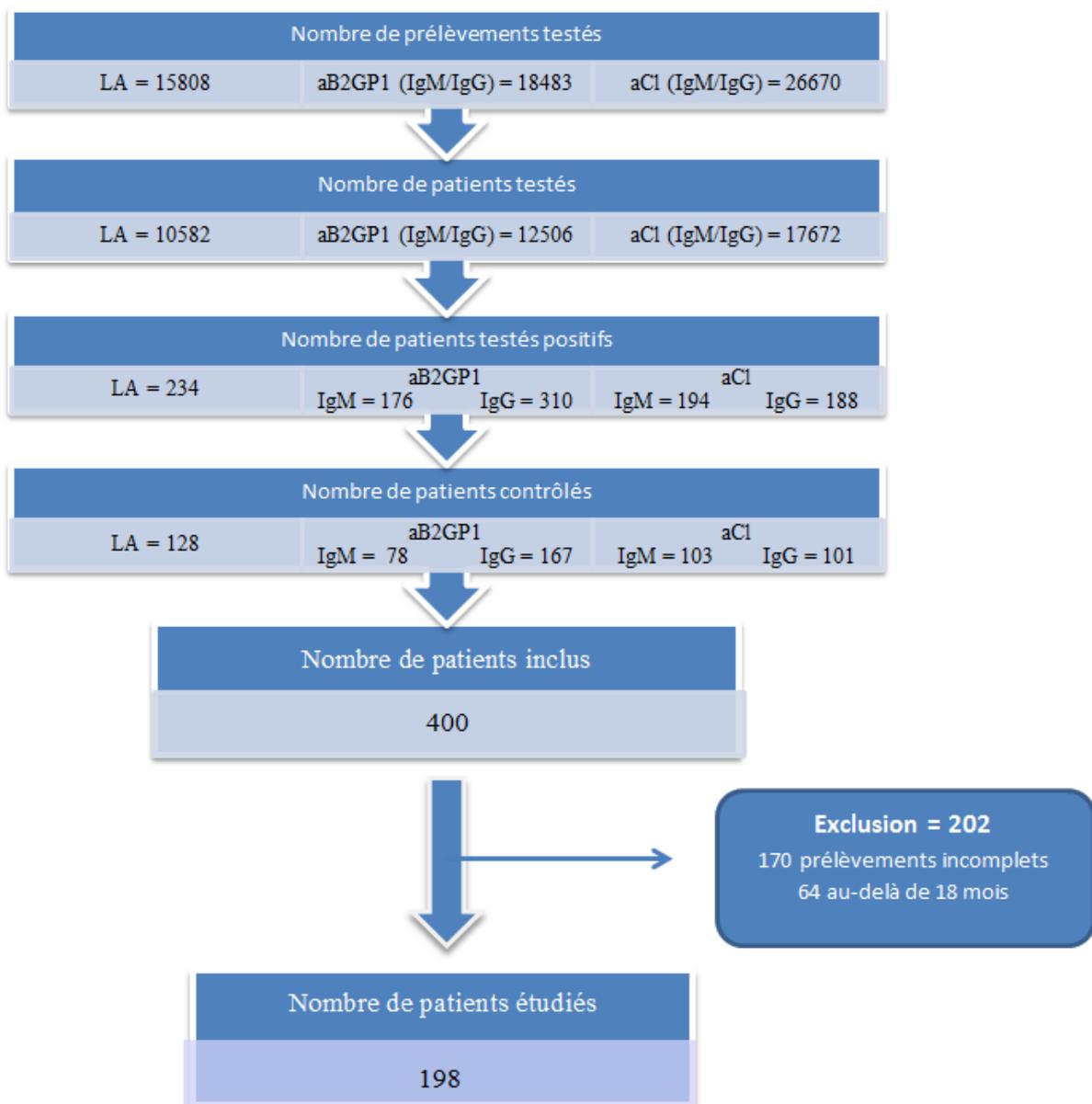


Figure 1 - Flow-chart

## B. Persistance des anticorps antiphospholipides

Parmi les 198 patients étudiés, l'âge moyen était de 46,7 ans et le sex-ratio à 2,4 (141 femmes pour 59 hommes). Cent vingt-sept patients (64.1%) étaient contrôlés positifs et 71 (35.9%) négatifs. Leurs caractéristiques démographiques, biologiques et cliniques, selon que les aPI persistent ou non, sont résumées dans les tableaux 2 et 3.

	<b>Persistants n = 127 (%)</b>	<b>Non persistants n=71 (%)</b>	<b>P</b>
<b>Age (ans)</b>	50.9 [33.3 – 63.6]	42.7 [27.7 – 52.4]	0.0123
<b>Sexe (hommes/femmes)</b>	28 (22) / 99 (78)	30 (42.3) / 41 (57.7)	0.0027
<b>Positivité aβ2GP1</b>	79 (62.2)	32 (45.1)	0.0198
<b>Positivité aCl</b>	51 (40.2)	21 (29.6)	0.3217
<b>Positivité LA</b>	60 (47.2)	17 (23.9)	0.0013
<b>Nombre d'aPI positifs</b>			
<b>Simple-positivité</b>	83 (65,3)	69 (97,2)	< 0.001
<b>Double-positivité</b>	24 (18,9)	2 (2,8)	
<b>Triple-positivité</b>	20 (15,8)	0	
<b>Catégorie I / II</b>	44 (34.7) / 83 (65.3)	2 (2.8) / 69 (97.2)	
<b>Taux d'anticorps</b>			
<b>aβ2GP1 IgM (USM)</b>	2 [0 - 16]	1 [0 – 2]	0.0023
<b>aβ2GP1 IgG (USG)</b>	15 [2 – 53]	5 [2 – 25]	0.0399
<b>aCl IgM (MPL)</b>	7 [2 – 32]	4 [2 – 10]	0.0491
<b>aCl IgG (GPL)</b>	8 [3 – 40]	5 [2 – 16]	0.0311
<b>Isotype aβ2GP1</b>			
<b>IgM</b>	19(15)	3 (4.2)	0.0136
<b>IgG</b>	51 (40.2)	28 (39.4)	
<b>IgM + IgG</b>	9 (7.1)	1 (1.4)	
<b>Aucun</b>	48 (37.8)	39 (54.9)	
<b>Isotype aCl</b>			
<b>IgM</b>	20 (15.8)	10 (14.1)	0.2522
<b>IgG</b>	22 (17.3)	10 (14.1)	
<b>IgM + IgG</b>	9 (7.1)	1 (1.4)	
<b>Aucun</b>	76 (59.8)	50 (70.4)	
<b>Délai de contrôle (semaines)</b>	24.7 [16.3 – 49.1]	35.4 [18.6 – 54.9]	0.0322

Tableau 2 – Données démographiques et biologiques des groupes 'persistants' et 'non-persistants'

Les données quantitatives sont exprimées par leur médiane [25<sup>ème</sup>-75<sup>ème</sup> percentiles]

Dans le groupe 'aPI persistants', la médiane d'âge était de 50.9 ans contre 42.7 ans pour les 'non-persistants' (p = 0.0149). On comptait 78% de femmes dans le groupe 'persistants' contre 57,7 dans le groupe 'non-persistants' (p = 0,002). Le fait d'être initialement positif en LA et en aβ2GP1 était significativement plus fréquent dans le groupe 'persistants' (p = 0,001 et 0,02), ce qui n'était pas le cas pour les aCl (p = 0,32). Les aβ2GP1

IgM et IgM + IgG étaient significativement plus fréquents dans le groupe ‘persistants’ ( $p = 0.01$ ).

Les taux d’anticorps étaient significativement plus élevés dans le groupe ‘persistants’, pour les a $\beta$ 2GP1 et aCl, et cela quel que soit l’isotype. En ne considérant que les patients initialement positifs pour chaque anticorps, l’analyse retrouvait également une différence significative pour les aCl IgG et les a $\beta$ 2GP1 IgM et IgG (figure 2): Les taux d’anticorps étaient plus élevés chez les ‘persistants’ : 70 versus 47 GPL pour les aCl-IgG, 47,5 versus 25 USM pour les B2-IgM, 58 versus 30,5 USG pour les B2-IgG. La différence n’était pas significative pour les aCl-IgM.

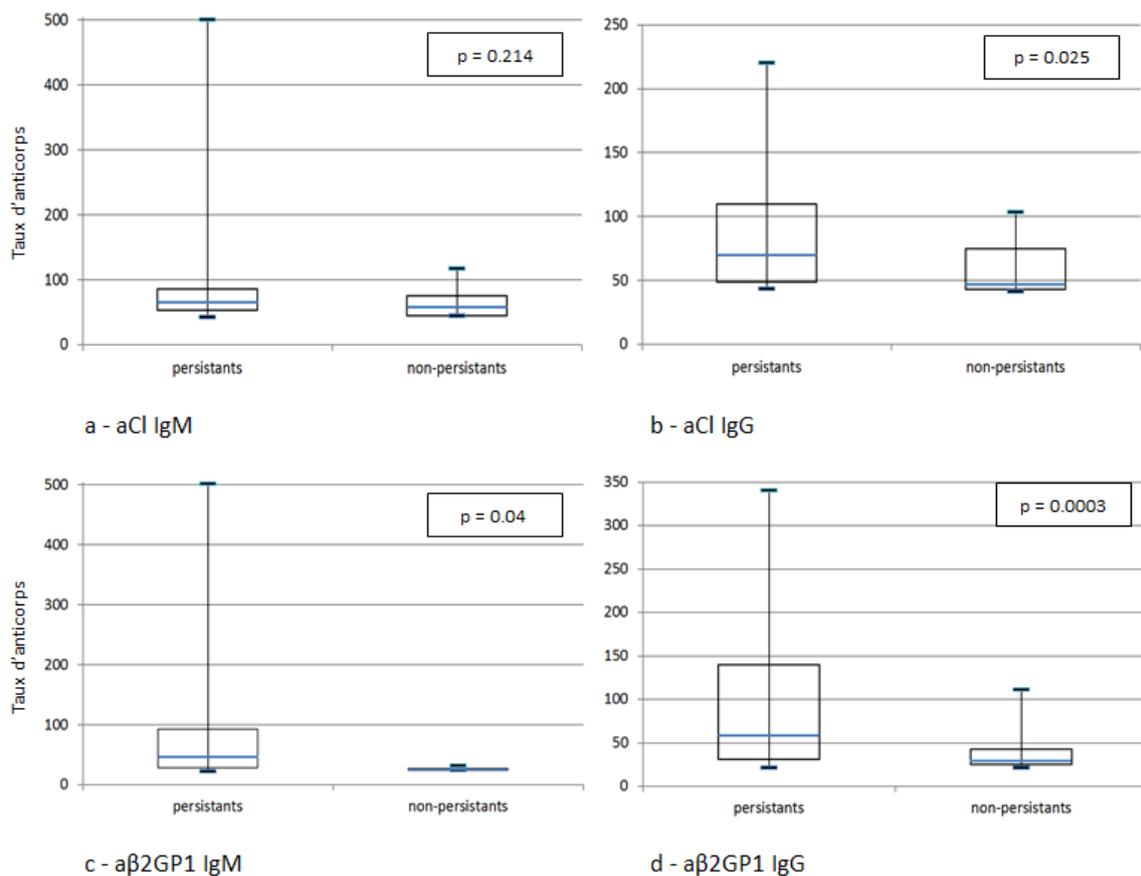


Figure 2 - Taux d’aCl et d’a $\beta$ 2GP1 selon que les aPI persistent ou non au-delà de 12 semaines

Unités : aCl IgM en MPL, aCl IgG en GPL, a $\beta$ 2GP1 IgM en USM et a $\beta$ 2GP1 IgG en USG

Parmi les patients ‘persistants’, les triple- et double-positifs étaient plus nombreux, respectivement 15,8 versus 0% et 18,9 versus 2,8%, alors que la quasi-totalité des ‘non-persistants’ (97,8 %) étaient simple-positifs ( $p < 0.001$ ). Les taux de confirmation selon le profil simple, double ou triple-positif sont rapportés en figure 3.

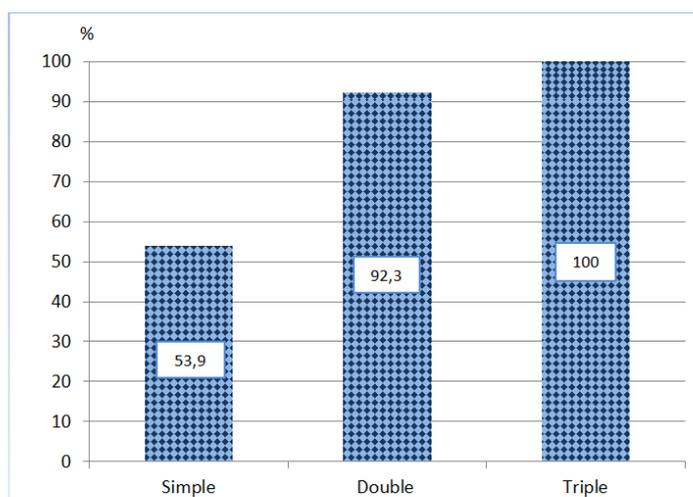


Figure 3 – Taux de persistance des aPI au-delà de 12 semaines selon le profil aPI initial : simple-, double- ou triple-positifs.

Sur le plan clinique, il n’y avait pas de différence significative entre les deux groupes pour la survenue d’un évènement thromboembolique ou obstétrical ou selon qu’il existait ou non un facteur de risque associé à la thrombose vasculaire. Il y avait significativement plus de pathologies auto-immunes dans le groupe ‘persistants’ (45,8 versus 28,4%,  $p = 0,02$ ).

	<b>Persistants n = 119 (%)</b>	<b>Non persistants n=66 (%)</b>	<b>P</b>
<b>Thrombose veineuse</b>	66 (55.5)	30 (45.5)	0.1919
<b>Avec facteur(s) de risque</b>	37/59 (62.7)	23/29 (79.3)	0.1161
<b>Thrombose artérielles</b>	21 (17.7)	13 (19.7)	0.7302
<b>Avec facteur(s) de risque</b>	10/19 (63.2)	10/11 (90.9)	0.0976
<b>Morbidité obstétricale</b>	25/93 (26.9)	9/39 (25)	0.6483
<b>SAPL retenu*</b>	63 (52.9)	8 (12.3)	<0.001
<b>SAPL **</b>	68 (57.1)	1 (1.5)	< 0.001
<b>Autres causes d’aPI</b>			
<b>Antécédents familiaux de SAPL</b>	2 (1.7)	1 (1.5)	0.9374
<b>Maladie auto-immune</b>	55 (45.8)	19 (28.4)	0.0191
<b>Traitement inducteur</b>	2 (1.7)	1 (1.5)	0.9374
<b>Infection</b>	6 (5)	5 (7.6)	0.4761
<b>Néoplasie</b>	3 (2.5)	2 (3)	0.8306
<b>Facteurs de risque cardiovasculaire</b>			
<b>Diabète</b>	11 (9.2)	2 (3.1)	0.1219
<b>Hypertension artérielle</b>	41 (34.2)	17 (26.15)	0.2621
<b>Dyslipidémie</b>	47 (39.2)	19 (29.2)	0.1781
<b>BMI</b>	26.2 [23.4 – 32.7]	26.6 [21.8 – 31.8]	0.4449
<b>Tabagisme</b>	43 (35.8)	27 (42.2)	0.3978
<b>Tabagisme actif</b>	17 (13.4)	11 (15.5)	0.6832

Tableau 3 - Données cliniques des groupes ‘persistants’ et ‘non-persistants’

\* SAPL retenu par le clinicien en charge du dossier ; \*\*SAPL retenu selon les critères révisés de Sydney  
Les données quantitatives sont exprimées par leur médiane [25<sup>ème</sup>-75<sup>ème</sup> percentiles]

Le diagnostic de SAPL était retenu, selon les critères révisés de Sydney chez 68 (57,1%) des ‘persistants’ et 1 (1,5%) des ‘non-persistants’. L’unique patiente ‘SAPL’ parmi les ‘non-persistants’ étaient suivie pour un SAPL ancien et ses anticorps étaient fluctuants au cours des contrôles itératifs

En régression logistique univariée (figure 4), un âge supérieur ou égal à 50 ans était positivement associé à une persistance des aPI avec un odds ratio (OR) à 2,6 [1,4 ; 4,7]. De même, le sexe féminin conférait un risque similaire de voir les aPI persister (OR à 2,6 [1,4 ; 4,9]). Concernant les variables biologiques, seule la positivité des aCl n’était pas corrélée à une persistance des antiphospholipides (OR à 1,6 [0,9 ; 3,1]). Les aβ2GP1 et le LA étaient, eux, associés à une persistance des antiphospholipides avec, respectivement, un OR à 2 [1,1 ; 6,6] et 2,9 [1,5 ; 5,4]. Un profil ‘aPI multiples’ était également associé à la confirmation (OR à 10 [2,3 ; 43,7] pour les double-positifs versus simple-positifs). Il n’y avait pas de corrélation entre les différents isotypes d’aCl et la persistance ; pour les aβ2GP1, seule l’association avec l’isotype IgM était significative (OR à 5,1 [1,4 ; 18,7]). La co-existence d’une autre pathologie auto-immune était également associée à la persistance avec un OR à 2,1 [1,1 ; 4,1].

Un délai de contrôle supérieur à 6 mois était négativement associé à la persistance avec un OR 0,5 [0,3 à 0,9].

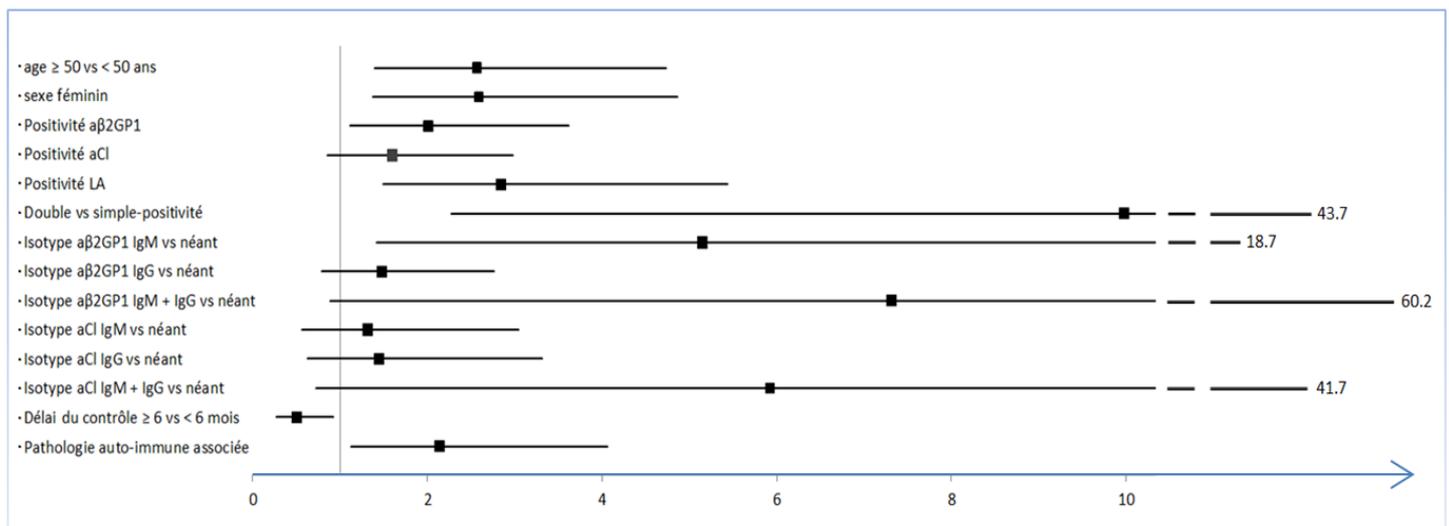


Figure 4 – Association de différentes variables avec la persistance des aPI (OR par régression logistique univariée)

Ajustés sur les autres variables, les facteurs les plus fortement associés à une persistance des anticorps anti-phospholipides étaient la positivité de chaque aPI avec des OR ajustés à 16,3 [3,2 ; 85,6] pour les aCl, 45 [7,7 ; 262,4] pour les a $\beta$ 2GP1 et 62,7 [9,9 ; 397,9] pour le LA. L'âge supérieur à 50 ans (OR ajusté à 5,5 [2,4 ; 12,3]) et le sexe féminin (OR ajusté à 4 [1,8 ; 9,1]) sont également liés, mais moins fortement, à un contrôle positif. Le délai de contrôle supérieur à 6 mois était lui un facteur indépendant de négativation des aPI (OR ajusté à 0.5 [0.2 ; 0.99]). (tableau 4)

	OR ajusté [ IC ]	p
Age $\geq$ 50 vs < 50 ans	5.47 [2.43 ; 12.32]	< 0.0001
Sexe féminin	4.05 [1.8 ; 9.08]	0.0007
Absence de Pathologie auto-immune	0.54 [0.24 ; 1,24]	0.0850
Positivité a $\beta$ 2GP1	45.04 [7.73 ; 262.38]	< 0.0001
Positivité aCl	16.33 [3.23 ; 85.58]	0.0007
Positivité LA	62.65 [9.87 ; 397.87]	< 0.0001
Délai du contrôle $\geq$ 6 vs < 6 mois	0.46 [0.21 ; 0.99]	0.0285

Tableau 4 – Association de différentes variables avec la persistance des aPI (OR ajustés par régression logistique multivariée)

### C. Diagnostic de SAPL

Le diagnostic de SAPL était retenu chez 69 patients. La médiane d'âge des patients, lors du premier prélèvement, était 50,9 ans. Le sex-ratio était de 3,3 femmes pour 1 homme. Le SAPL était primaire chez 41 patients (59,4%) et était associé au lupus, uniquement chez 8 patients (11,6%). Deux patients (2,9%) étaient suivis pour un syndrome de Gougerot-Sjögren, 3 (4,3%) pour une polyarthrite rhumatoïde et 6 (8,7%) pour une thyroïdite auto-immune.

Dans un second temps, il nous a semblé intéressant de comparer les groupes de patients selon que le diagnostic de SAPL pouvait être retenu ou non (tableau 5).

Parmi les critères cliniques, les thromboses veineuses étaient les plus fréquentes touchant 82,6% des patients. Des thromboses artérielles étaient survenues chez 24,6% des patients et 37,7% des femmes ont déplorés une ou plusieurs complications obstétricales. Seules les thromboses artérielles n'étaient pas significativement plus nombreuses dans le groupe 'SAPL'.

Comparé au groupe ‘SAPL négatifs’, la présence initiale d’aβ2GP1, aCl et LA était plus fréquente dans le groupe ‘SAPL’, mais cette différence n’était significative que pour le LA. En ce qui concerne les taux d’anticorps, seuls les taux d’aCl IgG était significativement plus élevé dans le groupe ‘SAPL’. Les isotypes IgG et IgM+IgG étaient significativement plus nombreux dans le groupe ‘SAPL’, pour les aβ2GP1 et les aCl.

	SAPL n = 69 (%)	SAPL négatifs n=115 (%)	p
Age (ans)	50.9 [31.7 – 62.6]	46.4 [30.2 – 61.7]	0.4863
Sexe (hommes/femmes)	16 (23.2) / 53 (76.8)	38 (33) / 77 (67)	0.1552
Positivité B2	43 (62.3)	60 (52.2)	0.1796
Positivité aCl	31 (44.9)	38 (33)	0.1070
Positivité LA	38 (55.1)	33 (28.7)	0.0004
<b>Nombre d’aPI positifs</b>			
Simple-positivité	40 (58)	100 (86)	< 0.001
Double-positivité	14 (20.3)	11 (9.6)	
Triple-positivité	15 (21.7)	4 (3.4)	
<b>Taux d’anticorps</b>			
aβ2GP1 IgM (USM)	2 [0 – 10]	1 [0 – 5]	0.5854
aβ2GP1 IgG (USG)	22 [3 – 53]	6 [2 – 27]	0.0853
aCl IgM (MPL)	8 [4 – 26]	5 [2 – 19]	0.2345
aCl IgG (GPL)	11 [4 – 52]	6 [3 – 21]	0.0284
<b>Isotype aβ2GP1</b>			
IgM	6 (8.7)	15 (13)	0.0392
IgG	30 (43.5)	43 (37.4)	
IgM + IgG	7 (10.1)	2 (1.7)	
Aucun	26 (67.7)	55 (47.8)	
<b>Isotype aCl</b>			
IgM	8 (11.6)	21 (18.3)	0.0114
IgG	16 (23.2)	15 (13)	
IgM + IgG	7 (10.1)	2 (1.7)	
Aucun	38 (55.1)	77 (67)	
Délai de réalisation du contrôle	21.6 [15.7 – 44]	31.7 [18.6 – 53.3]	0.0284
Thrombose veineuse	57 (82.6)	39 (33.9)	<0.001
Avec facteur(s) de risque	32/51 (62.8)	28/37 (75.7)	0.2492
Thrombose artérielle	17 (24.6)	17 (14.8)	0.0954
Avec facteur(s) de risque	9/15 (60)	13/15 (86.7)	0.2148
Morbidité obstétricale	20/53 (37.7)	13/77 (16.9)	0.0073
SAPL retenu par clinicien	57 (83.8)	12 (10.5)	<0.001
<b>Autres causes d’aPI</b>			
ATCD familiaux	1 (1.5)	2 (1.7)	0.8805
Maladie auto-immune	28 (40.6)	45 (39.1)	0.8458
Traitement inducteur	1 (1.5)	2 (1.7)	0.8805
Infection	1 (1.5)	10 (8.7)	0.0447
Néoplasie	1 (1.5)	4 (3.5)	0.4125

Tableau 5 - Caractéristiques des groupes selon que le diagnostic de SAPL était retenu ou non

Les données quantitatives sont exprimées en médiane [25<sup>ème</sup>-75<sup>ème</sup> percentiles]

Dans le groupe ‘SAPL’, les triple- et double-positifs étaient plus nombreux, respectivement 21,7 versus 3,4% et 20,3 versus 9,6%, alors qu’une proportion importante (86%) des ‘SAPL négatifs’ était simple-positifs ( $p < 0.001$ ). Les taux de patients pour lesquels le diagnostic de SAPL était retenu, selon le profil aPI initial, sont rapportés en figure 5.

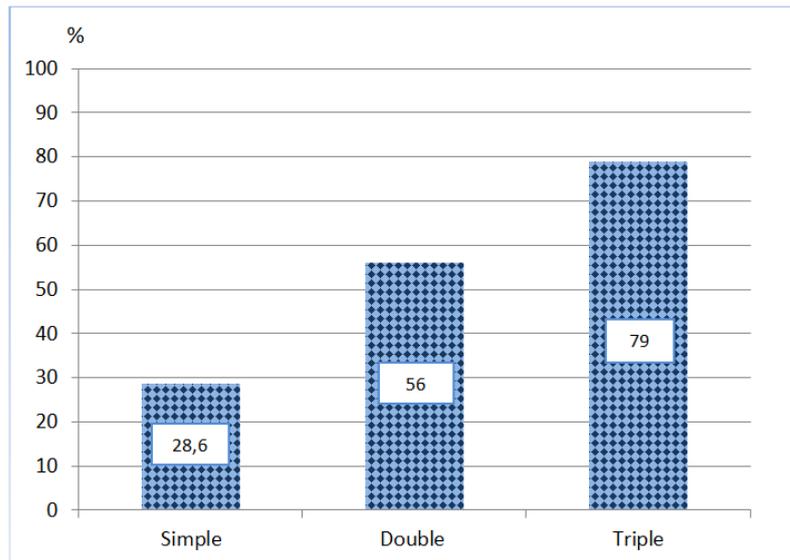


Figure 5 - Pourcentage de patients diagnostiqués SAPL selon leur profil aPI Initial : simple-, double- ou triple-positifs.

Le délai de réalisation du second prélèvement était significativement plus long dans le groupe ‘SAPL négatifs’ : 31,7 versus 21,6 semaines ( $p = 0.028$ )

Le diagnostic de SAPL était retenu par le clinicien en charge du dossier seulement chez 83,8% des patients qui remplissaient les critères de Sapporo révisés. A contrario, 10,3% des patients ‘SAPL négatifs’ étaient étiquetés SAPL.

#### IV. Discussion

Dans notre étude, sur l’ensemble des patients testés, seuls 2,2% étaient positifs pour la recherche de LA, 1,4% pour les a $\beta$ 2GP1 IgM, 2,5% pour les a $\beta$ 2GP1 IgG et 1,1% pour les aCl IgM et IgG. Ces taux semblent très bas comparés aux autres études de ce type. Pengo et al.<sup>89</sup> rapportaient 15% de patients positifs pour l’un des aPI et cette proportion atteignait même 32,4% dans l’étude de Cuffaro et al.<sup>88</sup>. Pour les aCl, ce taux particulièrement bas, était en partie lié au cut-off utilisé dans notre étude, à 40 MPL ou GPL, là où les seuils du 95<sup>ème</sup> et

99<sup>ème</sup> percentile étaient retenus dans les études italiennes (valeurs non spécifiées dans l'une, 10 GPL et 8 MPL dans l'autre). Mais, ces différences sont surtout liées à notre recrutement : nos données proviennent de toutes les demandes de recherche d'aPI adressées aux laboratoires du CHU d'Amiens, sur 10 ans, sans aucune analyse des indications de dosage. Dans les études italiennes, les échantillons étaient adressés à un centre de référence, suggérant une meilleure connaissance du sujet par les prescripteurs et le respect d'indications plus restreintes. Pour appuyer cet argument, on note que, dans notre cohorte, plus de 7000 patients n'ont pas bénéficié de la recherche concomitante des 3 aPI « classiques », suggérant là-encore une méconnaissance des recommandations concernant la recherche d'aPI chez un certain nombre de prescripteurs.

Par ailleurs, dans notre travail, une proportion importante de patients positifs pour au moins un aPI n'a pas pu être incluse. En effet, un peu plus de la moitié seulement de ces patients avait bénéficié d'un second prélèvement : 54,7% des LA, 44,3% des aB2 IgM, 53,9% des aB21 IgG, 53,1% des aCl IgM et 53,7% des aCl IgG. Le manque de donnée est inhérent à tout travail rétrospectif et nous n'avons retenu que les patients contrôlés au CHU d'Amiens, mais là encore, ces taux faibles de contrôle à distance évoquent une méconnaissance des critères biologiques pour le diagnostic de SAPL, où le caractère persistant des aPI est absolument nécessaire. Toutefois, il faut noter que, même dans un centre de référence et dans le cadre d'études prospectives, tous les patients n'étaient pas disponibles pour le second dosage (71,2%<sup>89</sup> et 91,9%<sup>88</sup>).

Le manque de contrôle à distance relève donc en partie des lacunes des prescripteurs, mais aussi du manque de compliance des patients à la prise en charge ou de difficultés d'ordre plus pratique (contrôle effectué dans un laboratoire proche du domicile du patient), pouvant faire craindre une ignorance diagnostique pour certains véritables SAPL. Les phénomènes thrombotiques, même inexplicables, font actuellement l'objet d'une prise en charge très hétérogène en termes de professionnels impliqués, de qualité du bilan étiologique et de prise en charge initiale et à long-terme. Ces constats soulignent l'intérêt de réaliser ces analyses dans le cadre d'une consultation spécialisée. Celle-ci est en effet réalisée par un praticien disposant des connaissances lui permettant de reconnaître une situation clinique évocatrice de SAPL et au fait des dernières recommandations. Elle permet en outre l'« éducation » du patient concernant les contraintes de ce type de pathologie, en expliquant en premier lieu la nécessité du contrôle de ces anticorps en cas de positivité initiale.

Dans notre étude, le taux global de persistance après 12 semaines était de 64,2% (127 patients sur 198) et était du même ordre que celui observé dans l'étude de Cuffaro et al.<sup>88</sup> (59,3%) et un peu moindre par rapport à celui de Pengo et al. (73,9%). Une autre étude, réalisée chez des enfants positifs pour au moins un aPI, symptomatiques ou non, rapportait un taux de seulement 25%<sup>90</sup>.

Outre la non-inclusion d'environ la moitié des patients (qui n'avait pas eu de contrôle), nous avons également dû exclure 50,5% des patients positifs initialement et contrôlés, car les prélèvements biologiques étaient incomplets, ne permettant pas l'analyse ou bien le délai du contrôle était jugé trop long. De ce fait, seule une petite proportion des patients testés positifs était donc étudiée, biais de sélection majeur inhérent à ce type d'étude.

Ces résultats sont également influencés par de nombreuses autres données, au premier rang desquelles, les procédés utilisés pour les analyses biologiques.

Tout d'abord, comme les autres équipes, nous avons tenté de nous affranchir de la variabilité inter-laboratoires en n'incluant que les patients contrôlés au CHU d'Amiens. En effet, les experts recommandent que le contrôle soit effectué au sein du même laboratoire, afin d'améliorer la reproductibilité des analyses. Dans notre série, par exemple, l'une des patientes très faiblement positive au premier prélèvement au CHU d'Amiens avait bénéficié de dosages extérieurs très positifs à deux reprises, dont l'une concomitante du deuxième prélèvement négatif au CHU, soulignant la grande disparité des résultats selon les laboratoires, pouvant être à l'origine de biais importants dans les analyses.

Comme la plupart des laboratoires, celui du CHU d'Amiens n'a pas les moyens d'élaborer ses propres pools de plasma témoins ou de définir son propre seuil de positivité, au 99<sup>ème</sup> percentile de sa population loco-régionale. Il est donc contraint de travailler avec des outils industriels et d'utiliser les valeurs seuils suggérées par le fabricant. Toutefois, ces conditions d'analyse relèvent plus de la vie réelle que celles des études italiennes, même si celles-ci sont plus proches des recommandations. Le problème de ces seuils arbitraires est que les cliniciens n'ont pas les données nécessaires à l'interprétation correcte des résultats et se fient, pour la plupart à l'interprétation fournie par le laboratoire.

Enfin, dans notre étude, ne disposant pas de données sur le 99<sup>ème</sup> percentile, nous avons choisi de retenir l'autre seuil proposé pour la positivité des aCI (taux supérieur à 40 MPL ou GPL), ce qui modifie probablement le profil des patients inclus, par rapport aux autres études. Dans leur travail concernant l'influence du cut-off d'aCI IgG sur la classification du SAPL, Ruffatti et al. rapportaient qu'un taux d'anticorps situé entre le 99<sup>ème</sup> percentile et 40 GPL était significativement plus fréquent chez les femmes ayant présenté une

morbidité obstétricale isolée (73,7%) que chez celle ayant présenté un évènement vasculaire (16,9%), concluant que le 99<sup>ème</sup> percentile semblait être un critère plus sensible pour la classification des patientes présentant une morbidité obstétricale en SAPL<sup>78</sup>. Dans notre étude, parmi les 53 patientes 'SAPL', 20 (37,7%) avaient déjà déploré une complication obstétricale répondant aux critères de Sapporo, au moment du premier prélèvement, alors que 52,3% des grossesses s'étaient terminées par un décès in utero et que 9,5% des patientes avaient souffert de pré-éclampsie dans l'euro-APS<sup>6</sup>. Ces données suggèrent en effet une mauvaise sensibilité de ce cut-off pour la classification en SAPL des patientes présentant les critères obstétricaux. Cependant, seul le suivi de ces patientes pourrait définir le risque de récurrence, et donc attester du caractère relevant de ce faible taux d'anticorps.

Contrairement à l'étude de Pengo et al., où la persistance était définie par un profil aPI identique au second prélèvement, dans notre étude, étaient considérés persistants les patients qui conservaient au moins un des aPI positif (critère suffisant pour affirmer le diagnostic de SAPL, en présence d'un critère clinique), comme pour Cuffaro et al. Il semble donc étonnant que le taux de persistance soit plus élevé dans l'étude de Pengo et al.<sup>89</sup>, où la définition était beaucoup plus restrictive, écart d'autant plus étonnant avec l'étude de Cuffaro<sup>88</sup>, réalisée dans le même centre.

Concernant l'objectif-même de l'étude, plusieurs facteurs étaient associés à la persistance des aPI.

L'âge était plus élevé dans le groupe 'persistants' et le taux de persistance était positivement associé à un âge supérieur à 50 ans. Et, si la persistance des anticorps n'est pas synonyme de diagnostic de SAPL, cette donnée était également retrouvée dans le groupe 'SAPL'. Le SAPL est pourtant une pathologie qui touche plutôt l'adulte jeune, avec un âge moyen au diagnostic de 42 ans. Un biais de notre étude concernait l'âge au premier prélèvement qui n'était pas nécessairement celui au diagnostic du SAPL, puisqu'un certain nombre de 'persistants' (et de fait, de 'SAPL') étaient des patients suivis au long cours pour un SAPL (12 patients). De plus, là-encore, le cut-off des aCI à 40 unités a pu empêcher l'inclusion de jeunes patientes souffrant d'un SAPL obstétrical pur, où les taux d'aCI sont souvent plus faibles.

Même si la prévalence des aPI est relativement fréquente chez les sujets âgés sains, suggérant qu'une positivité dans ce sous-groupe est peu spécifique du SAPL, le profil aPI était, dans notre étude, plus souvent confirmé et le diagnostic de SAPL plus souvent retenu

chez les patients âgés de plus de 50 ans au moment du premier prélèvement. Ceci était peut-être lié à la faible proportion de SAPL associé au lupus (11,6%). Ainsi, en dehors de toute pathologie auto-immune, les personnes âgées pourraient avoir un taux de confirmation identique voire supérieur aux sujets plus jeunes et représenter une proportion plus importante des patients atteints de SAPL primaire. L'étude de l'Euro-APS ne retrouvait pas cette donnée, puisqu'il n'y avait pas de différence en terme d'âge que le SAPL soit associé ou non à une pathologie auto-immune ; de même, une revue de la littérature retrouvait un âge moyen de la première thrombose entre 32 et 45,5 ans dans le SAPL primaire<sup>91</sup>. Cependant, dans ces travaux, il s'agissait de l'âge au début des symptômes et non pas l'âge au diagnostic. Il semble possible que l'association avec un LED permette un diagnostic plus précoce (suivi rapproché par des médecins formés en pathologie auto-immune et association connue au SAPL). L'absence de pathologie auto-immune pourrait donc conférer un risque de retard diagnostic. Ainsi, si les recommandations veulent que la recherche d'aPI soit réservée aux sujets jeunes, c'est plutôt l'âge au premier événement et non l'âge lors de la consultation qui doit guider le clinicien dans la nécessité de réaliser un bilan étiologique.

Le sexe féminin était également associé positivement à la persistance des aPI et au diagnostic de SAPL, ce qui est cohérent avec la sex-ratio rencontré dans cette pathologie. Peu de données concernent les phénotypes de SAPL selon le sexe, toutefois, il semble que le sexe masculin expose à un risque accru de thromboses<sup>49 45 89</sup>. Somme toute, ce caractère n'est pas, en pratique courante, très discriminant pour juger de la probabilité de persistance des aPI et du diagnostic de SAPL.

En terme de positivité initiale des aPI, la différence entre les groupes 'persistants'/'non persistants' n'était significative que pour le LA et les a $\beta$ 2GP1 ; ils étaient, tous deux, associés à une persistance en régression logistique univariée et, en régression logistique multivariée, les trois facteurs étaient associés à la persistance, mais, là-encore, de façon plus intense pour les a $\beta$ 2GP1 et surtout le LA. Il semble donc que la recherche de LA, et, à moindre degré, des a $\beta$ 2GP1, soient les analyses biologiques les plus discriminantes en terme de persistance. Le LA était également le seul test biologique significativement plus fréquent dans le groupe 'SAPL'.

Les aCI sont en effet reconnus comme étant les anticorps les moins spécifiques et, ce, d'autant plus que les techniques actuelles ne permettent pas de discriminer les aCI pathogènes de ceux qui ne le sont pas. Le fait de n'avoir retenu que les patients à taux élevés d'aCI, avec un cut-off supérieur à 40 MPL ou GPL, n'avait pas permis de mettre en évidence de différence entre les groupes 'persistants'/'non-persistant' selon que les aCI étaient

initialement positifs ou non. Cependant, le taux de persistance pour les patients positifs en aCl était de 70,8 %, donc plus élevé que dans la littérature (38,8% chez Pengo et 60,7% chez Cuffaro), suggérant un caractère plus discriminant des aCl à taux élevés, tout au moins vis-à-vis de la persistance. L'analyse de la littérature reflète également le caractère plus strict du cut-off à 40 unités pour le diagnostic de SAPL<sup>78</sup>. Toutefois, seuls 44% des patients positifs en aCl étaient diagnostiqués SAPL.

Ces données sont donc concordantes avec celles de la littérature conférant un risque plus important de manifestations répondant aux critères cliniques pour le LA et incertain pour les aCl. Ainsi, on peut retenir qu'à l'image de sa solide association avec les phénomènes thrombotiques, la présence d'un LA est l'analyse biologique la plus discriminante pour le caractère persistant ou non des aPl.

Les taux d'anticorps étaient significativement plus élevés pour l'ensemble des isotypes d'aCl et d'a $\beta$ 2GP1 dans le groupe 'persistants' et cette différence restait significative, à l'exception des aCl IgM, lorsque l'on ne considérait que les patients positifs initialement. Or, la persistance des aPl ne peut être analysée que chez des patients initialement positifs pour ces anticorps. De plus, tous les patients présentant des valeurs franchement positives (au-delà de 150 unités), que ce soit pour les aCl et les a $\beta$ 2GP1 voyaient leur profil aPl confirmé. Cuffaro et al. retrouvaient également un taux de persistance significativement plus élevé lorsque les taux d'anticorps étaient moyens/élevés versus faibles<sup>88</sup>. Ne serait-il pas envisageable de revoir les critères de classification en pondérant l'impact diagnostique des anticorps selon qu'ils sont retrouvés à taux moyens/élevés (critères actuels<sup>58</sup>) et très élevés (un cut-off pour cette dernière donnée devrait alors être défini) ? Cependant, l'association à la persistance ne présage pas du caractère discriminant vis à vis du SAPL ; en effet, cette différence n'était significative que pour les taux d'aCl IgG dans la comparaison 'SAPL'/'SAPL négatifs'. L'analyse dans le groupe de patients initialement positifs n'avait pas été réalisée.

Dans notre étude, 20 patients (10,1%) étaient triple-positifs, 26 (13,1%) double-positifs et 152 (76,8%) simple-positifs. Malgré une faible proportion de triple-positifs, Cuffaro et al.<sup>88</sup> ont observé une répartition des simple/double/triple-positifs assez proche de celle de notre étude : respectivement 67,3%, 28,3% et 4,4%. Par contre, dans l'étude de Pengo et al.<sup>89</sup>, les trois catégories étaient représentées quasiment à parts égales, les triple-positifs constituant donc 34,4% de l'ensemble des patients. A nouveau, en tant que centre de référence, on peut penser qu'il existe un biais de recrutement qui s'est affirmé avec le temps, avec des profils aPl particuliers.

Parmi les triple-positifs de notre étude, 100% confirmaient un profil aPI positif. Pengo et al. et Cuffaro et al., rapportaient également une grande proportion de triple-positifs confirmés au second prélèvement : respectivement 98 et 80% (ce chiffre atteindrait 100% dans les deux études si l'on considère notre définition de persistance). Pour Pengo et al., ce profil serait même suffisamment robuste pour qu'il ne soit pas forcément nécessaire de le confirmer.

Cependant, si la confirmation à 12 semaines des triples positifs semble être la règle, et s'il est reconnu qu'il s'agit d'un profil biologique fortement associé à un phénotype thrombotique, le diagnostic de SAPL n'en est pas pour autant automatique. En effet, le diagnostic de SAPL n'a pas été retenu chez 4 de nos 20 patients (20 %) ; ce taux n'était pas spécifié chez Cuffaro et al. et de 10% dans l'étude de Pengo et al. Parmi nos 4 patients, trois n'avaient pas présenté de symptômes répondant aux critères cliniques. Un patient de 58 ans aurait dû être, *stricto-sensu*, classé porteur d'un SAPL : il a en effet présenté un épisode thromboembolique veineux et il était positif pour les aPI à deux reprises, à 12 semaines d'intervalle. Cependant, la thrombose était survenue dans un contexte d'hémopathie maligne compliquée d'un syndrome d'activation macrophagique et la recherche d'aPI, rendus franchement positifs au premier prélèvement, ne montre qu'un taux faible d'a $\beta$ 2GP1 au contrôle, puis reste négative lors des prélèvements ultérieurs. Le diagnostic n'a donc pas été retenu. Ainsi, au regard de ce dossier, le délai de 12 semaines pourrait être trop court pour voir se négativer des aPI transitoires fortement positifs, et il faut être prudent, dans ces situations à risque de thrombose et pouvant être à l'origine de la production d'aPI, avant de retenir le diagnostic de SAPL.

Concernant justement le délai de réalisation du second prélèvement, dans les deux études italiennes, il n'était pas spécifié et n'était concerné par aucune analyse statistique. Le caractère rétrospectif de notre étude le rend très variable d'un patient à l'autre et ceci nous a permis d'étudier son éventuel impact sur le résultat du second prélèvement : il était significativement plus long dans le groupe des 'non-persistants' et un délai supérieur à 6 mois était indépendamment associé à un contrôle négatif des aPI. Puisque la définition-même du SAPL implique une persistance des anticorps, se pose la question de la définition du caractère transitoire ou persistant des aPI. En effet, ce délai, initialement de 6 semaines, allongé à 12 semaines lors de la dernière conférence de consensus, ne repose que sur des avis d'experts. Cette donnée n'a fait l'objet d'aucune publication, d'aucune étude, alors qu'elle est au cœur de la problématique du diagnostic de SAPL. Il semble pourtant difficile de fixer

arbitrairement un délai au-delà duquel les aPI doivent être considérés comme persistants, s'ils restent positifs.

L'enjeu du SAPL est le grand risque de récurrence des évènements thrombotiques ou obstétricaux et l'on déplore souvent un retard diagnostique, parfois à l'origine de complications graves. *A contrario*, un diagnostic retenu à tort, notamment du fait d'un délai de contrôle trop court, implique un traitement anticoagulant prolongé injustifié. Il semble donc indispensable d'étudier concomitamment le profil évolutif clinique et biologique des patients porteurs de SAPL au long cours, ce qui pourrait permettre de définir un délai optimal pour considérer les aPI persistants et donc un groupe de patients à haut risque de récurrence, pour lesquels le diagnostic de SAPL pourrait être retenu. Etant donné le risque hémorragique inhérent à tout traitement anticoagulant, cela permettrait également de réduire le spectre des patients nécessitant une prophylaxie de la récurrence thromboembolique. En ce sens, deux équipes espagnoles ont étudié la possibilité d'interrompre le traitement anticoagulant chez des patients voyant leurs aPI se négativer ; aucun évènement n'était survenu après environ 20 mois de suivi<sup>92 93</sup>. Il est licite d'envisager qu'un certain nombre de ces patients n'aient eu que des aPI transitoires pendant plus de douze semaines et aient été classés, à tort, dans un groupe de patients à haut risque. En effet dans l'une de ces deux études, il était précisé que 2 à 3 prélèvements étaient négatifs et que pour la plupart, seuls les deux premiers l'étaient. Selon le délai de persistance retenu, ces patients peuvent être classés en SAPL secondairement séro-négatifs ou ne pas satisfaire les critères diagnostiques. Quoiqu'il en soit, s'il s'avère que ces patients sont à faible risque de récurrence, il ne semble pas pertinent de les étiqueter SAPL.

A l'inverse, il serait également souhaitable qu'une borne haute soit définie. Les critères révisés de Sydney ne proposent en effet qu'un délai minimal de contrôle et un délai maximal, conséquent, de 5 ans entre manifestations cliniques et mise en évidence d'aPI. Hors, certains de nos patients ont présenté plusieurs manifestations thromboemboliques, dans un contexte d'aPI durablement persistants, signant un véritable SAPL, avant de voir leurs anticorps se négativer spontanément ou sous traitement immunosuppresseur. Il semble licite de penser, qu'au-delà d'un certain délai, l'on puisse méconnaître un véritable SAPL, d'autant plus que sont utilisées des thérapies susceptible de réduire la production d'anticorps.

Sur le plan clinique, les manifestations répondant aux critères du SAPL n'étaient pas plus fréquente en cas de persistance des aPI. Parmi les patients ayant présenté une thrombose veineuse, une thrombose artérielle ou une complication obstétricale, la sérologie aPI était confirmée dans, respectivement, 68,8, 61,8 et 73,5% des cas. Ainsi, il semble que la

production transitoire d'aPI ne soit pas rare dans un contexte de thromboses ou complications obstétricales non liées au SAPL, d'où l'importance d'une confirmation.

Si, traditionnellement, la recherche d'aPI est réalisée devant des épisodes thrombotiques au caractère idiopathique, dans notre étude, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes 'persistants'/'non persistants' et 'SAPL'/'SAPL négatifs' selon que les thromboses vasculaires survenaient ou non en présence de facteurs de risque. La présence d'aPI expose certes à un risque de thrombose plus élevé que dans la population générale, mais celui-ci est encore majoré en présence d'un ou plusieurs facteurs de risque surajoutés. D'ailleurs, la présence d'autres facteurs de risque de thrombose, permanents ou transitoires, modifiables ou non, n'exclue pas le diagnostic de SAPL<sup>58</sup>, même si elle doit le faire discuter.

Il existait une discordance entre les diagnostics de SAPL retenus par les cliniciens et ceux effectivement avérés, après relecture des dossiers. En effet, le diagnostic de SAPL n'avait pas été retenu chez 16,8% des patients 'SAPL', et 10,5% des patients ne remplissant pas les critères étaient étiquetés SAPL. Pour les diagnostics retenus à tort, les praticiens n'avaient pas respecté la nécessaire confirmation des aPI au-delà de 12 semaines ou le délai maximal entre manifestations cliniques et biologiques, ou, tout simplement, les critères cliniques n'étaient pas remplis. A l'inverse, le diagnostic pouvait être omis, notamment en cas de perte de vue, de bilans biologiques systématiques non analysés, de bilans biologiques antérieurs négatifs.

Enfin, s'il y avait significativement plus de SAPL parmi les 'persistants', seulement 57,1% d'entre eux avaient un SAPL, et les populations de patients 'persistants' et 'SAPL' n'étaient pas superposables. Pour les données démographiques, les tendances étaient identiques pour les deux groupes, en termes d'âge et de sexe, mais la différence n'était significative que pour les 'persistants'. Du point de vue biologique, la présence initiale de LA était certes significativement plus fréquente chez les 'persistants' et les 'SAPL', mais les a $\beta$ 2GP1, retrouvés en proportions similaires chez les 'SAPL' et 'SAPL négatifs', étaient associés à la persistance. De même, là où l'isotype IgM des a $\beta$ 2GP1 était plus fréquent chez les 'persistants', ce sont les isotypes IgG des aCI et a $\beta$ 2GP1 qui étaient retrouvés en plus grande proportion parmi les patients 'SAPL'. Enfin, si la double- et la triple-positivité étaient fortement associées à la persistance, on les retrouvait en proportion non négligeable dans la population 'SAPL négatifs'. Du point de vue clinique, seules les thromboses veineuses et la

morbidity obstétricale était significativement plus fréquentes parmi les ‘SAPL’. Ainsi, la confirmation au-delà de 12 semaines, nécessaire au diagnostic, n’en est pas pour autant suffisante et la persistance des aPI était, dans notre étude, très sensible (98,6%), mais peu spécifique (55,7%) pour le diagnostic de SAPL.

## V. Conclusion

Les facteurs indépendants associés à la persistance des aPI étaient un âge supérieur à 50 ans, le sexe féminin et la positivité de chacun des aPI. Un profil ‘aPI multiples’ et des taux élevés d’anticorps semblaient également être associés à une confirmation de la sérologie aPI. Le LA apparaît comme le critère biologique le plus discriminant avec un OR à 62,7 pour la persistance, ce qui concorde avec les données de la littérature faisant du LA le marqueur le plus spécifique de SAPL. Il semble exister un chevauchement entre les facteurs associés à la persistance et ceux associés aux thromboses ; certains de ces critères sont donc déjà utilisés, en pratique quotidienne, pour stratifier le risque thrombotique.

A contrario, un délai de prélèvement supérieur à 6 mois était corrélé négativement à une confirmation des aPI avec un OR ajusté à 0,5. Le délai de contrôle de 12 semaines, arbitrairement fixé, n’a fait l’objet d’aucune étude et il est licite de poser la question de sa pertinence, ce d’autant qu’il était aussi significativement plus long dans le groupe ‘SAPL négatifs’ comparé aux ‘SAPL’. Une étude avec suivi clinico-biologique concomitant d’une large population de patients suspects de SAPL pourrait permettre de définir un délai au-delà duquel une persistance des aPI serait associée à un risque accru de récurrence, permettant de retenir le diagnostic de SAPL.

## Bibliographie

- [1] **Mehrani T, Petri M.** Chapter 2 Epidemiology of the Antiphospholipid Syndrome [Internet]. In: Handbook of Systemic Autoimmune Diseases. Elsevier; 2009 [cited 2015 Sep 11]. p. 13–34. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1571507808004029>
- [2] **Petri M.** Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145–51.
- [3] **Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MP, Pange PJ, Goudevenos J, Moutsopoulos HM.** High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. *Clin Exp Immunol* 1987;69:557–65.
- [4] **Quéméneur T, Lambert M, Hachulla E, Dubucquoi S, Caron C, Fauchais A-L, et al.** Significance of persistent antiphospholipid antibodies in the elderly. *J Rheumatol* 2006;33:1559–62.
- [5] **Biggioggero M, Meroni PL.** The geoepidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Autoimmun Rev* 2010;9:A299–A304.
- [6] **Cervera R, Piette J-C, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al.** Antiphospholipid syndrome: Clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:1019–27.
- [7] **Gómez-Puerta JA, Martín H, Amigo M-C, Aguirre MA, Camps MT, Cuadrado MJ, et al.** Long-term follow-up in 128 patients with primary antiphospholipid syndrome: do they develop lupus? *Medicine (Baltimore)* 2005;84:225–30.
- [8] **Cervera R, Serrano R, Pons-Estel GJ, Cervera R, Shoenfeld Y, de Ramón E, et al.** Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1011–8.
- [9] **Vaarala O.** Atherosclerosis in SLE and Hughes syndrome. *Lupus* 1997;6:489–90.
- [10] **Ambrosino P, Lupoli R, Di Minno A, Iervolino S, Peluso R, Di Minno MND.** Markers of cardiovascular risk in patients with antiphospholipid syndrome: a meta-analysis of literature studies. *Ann Med* 2014;46:693–702.
- [11] **Vaarala O, Manttari M, Manninen V, Tenkanen L, Puurunen M, Aho K, et al.** Anti-Cardiolipin Antibodies and Risk of Myocardial Infarction in a Prospective Cohort of Middle-Aged Men. *Circulation* 1995;91:23–7.
- [12] **Bili A, Moss AJ, Francis CW, Zareba W, Watelet LFM, Sanz I, et al.** Anticardiolipin Antibodies and Recurrent Coronary Events: A Prospective Study of 1150 Patients. *Circulation* 2000;102:1258–63.
- [13] **Cervera R, Espinosa G.** Update on the catastrophic antiphospholipid syndrome and the “CAPS Registry.” *Semin Thromb Hemost* 2012;38:333–8.
- [14] **Cervera R, Rodríguez-Pintó I, Colafrancesco S, Conti F, Valesini G, Rosário C, et al.** 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on Catastrophic Antiphospholipid Syndrome. *Autoimmun Rev* 2014;13:699–707.

- [15] **Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa MC, Piette JC, et al.** Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines. *Lupus* 2003;12:530–4.
- [16] **Bucciarelli S, Espinosa G, Cervera R, Erkan D, Gómez-Puerta JA, Ramos-Casals M, et al.** Mortality in the catastrophic antiphospholipid syndrome: causes of death and prognostic factors in a series of 250 patients. *Arthritis Rheum* 2006;54:2568–76.
- [17] **Erkan D, Merrill JT, Yazici Y, Sammaritano L, Buyon JP, Lockshin MD.** High thrombosis rate after fetal loss in antiphospholipid syndrome: effective prophylaxis with aspirin. *Arthritis Rheum* 2001;44:1466–7.
- [18] **Martinez-Zamora MA, Peralta S, Creus M, Tassies D, Reverter JC, Espinosa G, et al.** Risk of thromboembolic events after recurrent spontaneous abortion in antiphospholipid syndrome: a case-control study. *Ann Rheum Dis* 2012;71:61–6.
- [19] **Alijotas-Reig J, Ferrer-Oliveras R, Ruffatti A, Tincani A, Lefkou E, Bertero MT, et al.** The European Registry on Obstetric Antiphospholipid Syndrome (EUROAPS): A survey of 247 consecutive cases. *Autoimmun Rev* 2015;14:387–95.
- [20] **Le Thi Huong D, Wechsler B, Vauthier-Brouzes D, Duhaut P, Costedoat N, Andreu MR, et al.** The second trimester Doppler ultrasound examination is the best predictor of late pregnancy outcome in systemic lupus erythematosus and/or the antiphospholipid syndrome. *Rheumatol Oxf Engl* 2006;45:332–8.
- [21] **Herraiz I, Escribano D, Gómez-Arriaga PI, Hernández-García JM, Herraiz MA, Galindo A.** Predictive value of sequential models of uterine artery Doppler in pregnancies at high risk for pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;40:68–74.
- [22] **Cervera R, Khamashta MA, Font J, Reyes PA, Vianna JL, López-Soto A, et al.** High prevalence of significant heart valve lesions in patients with the 'primary' antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1991;1:43–7.
- [23] **Brey RL, Escalante A.** Review: Neurological manifestations of antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus* 1998;7:S67–S74.
- [24] **Godeau B, Piette JC, Fromont P, Intrator L, Schaeffer A, Bierling P.** Specific antiplatelet glycoprotein autoantibodies are associated with the thrombocytopenia of primary antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 1997;98:873–9.
- [25] **Conley CL, Hartman, Robert C.** A Hemorrhagic Disorder Caused by Circulating Anticoagulant in Patients with Disseminated Lupus Erythematosus. *J Lab Clin Invest* 1952;31:621–2.
- [26] **Feinstein DI, Rapaport SI.** Acquired inhibitors of blood coagulation. *Prog Hemost Thromb* 1972;1:75–95.
- [27] **Bowie EJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen CA.** Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Lab Clin Med* 1963;62:416–30.
- [28] **Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Derksen RH, Machin SJ, Barquinero J, et al.** The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine (Baltimore)* 1989;68:366–74.

- [29] **Mackworth-Young CG, Loizou S, Walport MJ.** Primary antiphospholipid syndrome: features of patients with raised anticardiolipin antibodies and no other disorder. *Ann Rheum Dis* 1989;48:362–7.
- [30] **Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S, et al.** Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet Lond Engl* 1983;2:1211–4.
- [31] **Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I.** Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995;74:1185–90.
- [32] **Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al.** Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost JTH* 2009;7:1737–40.
- [33] **Moore JE, Mohr CF.** Biologically false positive serologic tests for syphilis; type, incidence, and cause. *J Am Med Assoc* 1952;150:467–73.
- [34] **Kostant GH.** Biologically false positive reactions to serological tests for syphilis. *Bull World Health Organ* 1956;14:235.
- [35] **Loizou S, McCrea JD, Rudge AC, Reynolds R, Boyle CC, Harris EN.** Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. *Clin Exp Immunol* 1985;62:738–45.
- [36] **McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA.** Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4120–4.
- [37] **Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, et al.** Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990;335:1544–7.
- [38] **Galli M.** Anti- 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003;102:2717–23.
- [39] **Harris EN.** Special report. The Second International Anti-cardiolipin Standardization Workshop/the Kingston Anti-Phospholipid Antibody Study (KAPS) group. *Am J Clin Pathol* 1990;94:476–84.
- [40] **Ioannou Y, Romay-Penabad Z, Pericleous C, Giles I, Papalardo E, Vargas G, et al.** In vivo inhibition of antiphospholipid antibody-induced pathogenicity utilizing the antigenic target peptide domain I of beta2-glycoprotein I: proof of concept. *J Thromb Haemost JTH* 2009;7:833–42.
- [41] **Agostinis C, Durigutto P, Sblattero D, Borghi MO, Grossi C, Guida F, et al.** A non-complement-fixing antibody to  $\beta$ 2 glycoprotein I as a novel therapy for antiphospholipid syndrome. *Blood* 2014;123:3478–87.

- [42] **Pengo V, Ruffatti A, Tonello M, Cuffaro S, Banzato A, Bison E, et al.** Antiphospholipid syndrome: antibodies to Domain 1 of  $\beta$ 2-glycoprotein 1 correctly classify patients at risk. *J Thromb Haemost JTH* 2015;13:782–7.
- [43] **Wahl DG, Guillemin F, de Maistre E, Perret-Guillaume C, Lecompte T, Thibaut G.** Meta-analysis of the risk of venous thrombosis in individuals with antiphospholipid antibodies without underlying autoimmune disease or previous thrombosis. *Lupus* 1998;7:15–22.
- [44] **Mustonen P, Lehtonen KV, Javela K, Puurunen M.** Persistent antiphospholipid antibody (aPL) in asymptomatic carriers as a risk factor for future thrombotic events: a nationwide prospective study. *Lupus* 2014;23:1468–76.
- [45] **Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al.** Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood* 2011;118:4714–8.
- [46] **Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T.** Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003;101:1827–32.
- [47] **Danowski A, de Azevedo MNL, de Souza Papi JA, Petri M.** Determinants of risk for venous and arterial thrombosis in primary antiphospholipid syndrome and in antiphospholipid syndrome with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2009;36:1195–9.
- [48] **Reynaud Q, Lega J-C, Mismetti P, Chapelle C, Wahl D, Cathébras P, et al.** Risk of venous and arterial thrombosis according to type of antiphospholipid antibodies in adults without systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2014;13:595–608.
- [49] **Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S.** Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 2005;93:1147–52.
- [50] **Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gesele P, Barcellona D, Erba N, et al.** Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2010;8:237–42.
- [51] **Duckitt K.** Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005;330:565–0.
- [52] **Opatrny L, David M, Kahn SR, Shrier I, Rey E.** Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2006;33:2214–21.
- [53] **Nodler J, Moolamalla SR, Ledger EM, Nuwayhid BS, Mulla ZD.** Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009;9:11.
- [54] **Ruffatti A, Tonello M, Cavazzana A, Bagatella P, Pengo V.** Laboratory classification categories and pregnancy outcome in patients with primary antiphospholipid syndrome prescribed antithrombotic therapy. *Thromb Res* 2009;123:482–7.
- [55] **Ruffatti A, Tonello M, Visentin MS, Bontadi A, Hoxha A, De Carolis S, et al.** Risk factors for pregnancy failure in patients with anti-phospholipid syndrome treated with conventional therapies: a multicentre, case-control study. *Rheumatol Oxf Engl* 2011;50:1684–9.

- [56] **Harris EN, Baguley E, Asherson R, Hughes GRV.** Clinical and serological features of the antiphospholipid syndrome (APS). *Br J Rheumatol* 1987;26:19.
- [57] **Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al.** International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309–11.
- [58] **Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al.** International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost JTH* 2006;4:295–306.
- [59] **Arnaud L, Mathian A, Ruffatti A, Erkan D, Tektonidou M, Cervera R, et al.** Efficacy of aspirin for the primary prevention of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies: An international and collaborative meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2014;13:281–91.
- [60] **Arnaud L, Mathian A, Devilliers H, Ruffatti A, Tektonidou M, Forastiero R, et al.** Patient-level analysis of five international cohorts further confirms the efficacy of aspirin for the primary prevention of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies. *Autoimmun Rev* 2015;14:192–200.
- [61] **Ruiz-Irastorza G, Cuadrado MJ, Ruiz-Arruza I, Brey R, Crowther M, Derksen R, et al.** Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: report of a task force at the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2011;20:206–18.
- [62] **Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hughes GR.** The management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995;332:993–7.
- [63] **Rosove MH, Brewer PM.** Antiphospholipid thrombosis: clinical course after the first thrombotic event in 70 patients. *Ann Intern Med* 1992;117:303–8.
- [64] **Derksen RH, de Groot PG, Kater L, Nieuwenhuis HK.** Patients with antiphospholipid antibodies and venous thrombosis should receive long term anticoagulant treatment. *Ann Rheum Dis* 1993;52:689–92.
- [65] **Finazzi G, Marchioli R, Brancaccio V, Schinco P, Wisloff F, Musial J, et al.** A randomized clinical trial of high-intensity warfarin vs. conventional antithrombotic therapy for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome (WAPS)1. *J Thromb Haemost* 2005;3:848–53.
- [66] **Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J, Denburg J, Hirsh J, Douketis J, et al.** A Comparison of Two Intensities of Warfarin for the Prevention of Recurrent Thrombosis in Patients with the Antiphospholipid Antibody Syndrome. *N Engl J Med* 2003;349:1133–8.
- [67] **Girón-González JA, García del Río E, Rodríguez C, Rodríguez-Martorell J, Serrano A.** Antiphospholipid syndrome and asymptomatic carriers of antiphospholipid antibody: prospective analysis of 404 individuals. *J Rheumatol* 2004;31:1560–7.
- [68] **Mak A, Cheung MW-L, Cheak AA -c., Ho RC -m.** Combination of heparin and aspirin is superior to aspirin alone in enhancing live births in patients with recurrent pregnancy loss and positive anti-phospholipid antibodies: a meta-analysis of randomized controlled trials and meta-regression. *Rheumatology* 2010;49:281–8.

- [69] **Cohn DM, Goddijn M, Middeldorp S, Korevaar JC, Dawood F, Farquharson RG.** Recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies: prognosis of subsequent pregnancy: Recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost* 2010;8:2208–13.
- [70] **Empson M, Lassere M, Craig J, Scott J.** Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;:CD002859.
- [71] **Noble LS, Kutteh WH, Lashey N, Franklin RD, Herrada J.** Antiphospholipid antibodies associated with recurrent pregnancy loss: prospective, multicenter, controlled pilot study comparing treatment with low-molecular-weight heparin versus unfractionated heparin. *Fertil Steril* 2005;83:684–90.
- [72] **Fouda UM, Sayed AM, Abdou A-MA, Ramadan DI, Fouda IM, Zaki MM.** Enoxaparin versus unfractionated heparin in the management of recurrent abortion secondary to antiphospholipid syndrome. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet* 2011;112:211–5.
- [73] **Costedoat-Chalumeau N, Guettrot-Imbert G, Leguern V, Leroux G, Le Thi Huong D, Wechsler B, et al.** Grossesse et syndrome des antiphospholipides. *Rev Médecine Interne* 2012;33:209–16.
- [74] **Zhu M, Olee T, Le DT, Roubey RA, Hahn BH, Woods VL, et al.** Characterization of IgG monoclonal anti-cardiolipin/anti-beta2GP1 antibodies from two patients with antiphospholipid syndrome reveals three species of antibodies. *Br J Haematol* 1999;105:102–9.
- [75] **Lieby P, Soley A, Levallois H, Hugel B, Freyssinet JM, Cerutti M, et al.** The clonal analysis of anticardiolipin antibodies in a single patient with primary antiphospholipid syndrome reveals an extreme antibody heterogeneity. *Blood* 2001;97:3820–8.
- [76] **Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al.** International consensus guidelines on anticardiolipin and anti- $\beta$ 2-glycoprotein I testing: Report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum* 2012;64:1–10.
- [77] **Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RCW, et al.** Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti- $\beta$ 2glycoprotein I assays: A report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Clin Chim Acta* 2012;413:358–60.
- [78] **Ruffatti A, Olivieri S, Tonello M, Bortolati M, Bison E, Salvan E, et al.** Influence of different IgG anticardiolipin antibody cut-off values on antiphospholipid syndrome classification. *J Thromb Haemost JTH* 2008;6:1693–6.
- [79] **Jennings I, Kitchen S, Kitchen DP, Woods T a. L, Walker ID.** ISTH/SSC lupus anticoagulant testing guidelines: how far have these been adopted by laboratories? *J Thromb Haemost JTH* 2011;9:2117–9.
- [80] **Pradella P, Azzarini G, Santarossa L, Caberlotto L, Bardin C, Poz A, et al.** Cooperation experience in a multicentre study to define the upper limits in a normal population for the diagnostic assessment of the functional lupus anticoagulant assays. *Clin Chem Lab Med* [Internet] 2013 [cited 2015 Sep 20];51. Available from: <http://www.degruyter.com/view/j/cclm.2013.51.issue-2/cclm-2012-0382/cclm-2012-0382.xml>

- [81] 10th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Part Two: Poster Presentations. *Lupus* 2002;11:582–633.
- [82] **Forastiero R, Papalardo E, Watkins M, Nguyen H, Quirbach C, Jaskal K, et al.** Evaluation of different immunoassays for the detection of antiphospholipid antibodies: Report of a wet workshop during the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Clin Chim Acta* 2014;428:99–105.
- [83] **Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Soto M-J, Cuadrado M-J, Khamashta MA.** Autoimmune diseases induced by TNF-targeted therapies. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008;22:847–61.
- [84] **Sène D, Piette J-C, Cacoub P.** Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and infections. *Autoimmun Rev* 2008;7:272–7.
- [85] **Tincani A, Taraborelli M, Cattaneo R.** Antiphospholipid antibodies and malignancies. *Autoimmun Rev* 2010;9:200–2.
- [86] **Okuma H, Kitagawa Y, Yasuda T, Tokuoka K, Takagi S.** Comparison between single antiplatelet therapy and combination of antiplatelet and anticoagulation therapy for secondary prevention in ischemic stroke patients with antiphospholipid syndrome. *Int J Med Sci* 2009;7:15–8.
- [87] **Levine SR, Brey RL, Tilley BC, Thompson JLP, Sacco RL, Sciacca RR, et al.** Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with ischemic stroke. *JAMA* 2004;291:576–84.
- [88] **Cuffaro S, Del Ross T, Tonello M, Bontadi A, Olivieri S, Salvan E, et al.** [Confirmation of antiphospholipid antibody positivity: a year's results in a cohort of 113 patients]. *Reumatismo* 2010;62:51–9.
- [89] **Pengo V, Ruffatti A, Del Ross T, Tonello M, Cuffaro S, Hoxha A, et al.** Confirmation of initial antiphospholipid antibody positivity depends on the antiphospholipid antibody profile. *J Thromb Haemost* 2013;11:1527–31.
- [90] **Giordano P, Tesse R, Lassandro G, Fracchiolla D, Ranieri P, Lotito A, et al.** Clinical and laboratory characteristics of children positive for antiphospholipid antibodies. *Blood Transfus Trasfus Sangue* 2012;10:296–301.
- [91] **Piette J-C, Cacoub P.** Antiphospholipid Syndrome in the Elderly: Caution. *Circulation* 1998;97:2195–6.
- [92] **Criado-García J, Fernández-Puebla RA, Jiménez LL, Velasco F, Santamaría M, Blanco-Molina A.** [Anticoagulation treatment withdrawal in primary antiphospholipid syndrome when anticardiolipin antibodies become negative]. *Rev Clínica Esp* 2008;208:135–7.
- [93] **Coloma Bazán E, Donate López C, Moreno Lozano P, Cervera R, Espinosa G.** Discontinuation of anticoagulation or antiaggregation treatment may be safe in patients with primary antiphospholipid syndrome when antiphospholipid antibodies became persistently negative. *Immunol Res* 2013;56:358–61.



# Profils cliniques et biologiques associés à la persistance des anticorps antiphospholipides au-delà de douze semaines

## Résumé :

Les critères révisés de classification du syndrome des antiphospholipides (SAPL) impliquent la persistance des anticorps antiphospholipides (aPI) au-delà de 12 semaines. De fait, ces conditions diffèrent un éventuel diagnostic et peuvent générer, dans certaines situations, un retard thérapeutique.

Afin de définir les caractéristiques cliniques et biologiques initiales associées à une persistance des aPI, nous avons recensé 198 patients ayant eu un dosage positif pour un des aPI, contrôlé au-delà de 12 semaines, au CHU d'Amiens, de 2004 à 2014.

Le taux de persistance était de 64,1%. Un âge supérieur à 50 ans (OR à 5,5 [2,4 ; 12,3]), le sexe féminin (OR à 4 [1,8 ; 9,1]) et la positivité des aPI étaient indépendamment associés à une persistance des aPI. Le lupus anticoagulant était le critère biologique le plus discriminant (OR à 62,6 [9,9 ; 397,9]), suivi des anticorps anti- $\beta$ 2-glycoprotéine 1 (OR à 45 [7,7 ; 262,4]) et, enfin, anticardiolipine (OR à 16,3 [3,2 ; 85,6]). Des taux élevés d'anticorps, la double- et la triple-positivité semblaient également liés à la persistance. A contrario, un délai de contrôle supérieur à 6 mois était plutôt associé à une négativation (OR à 0,5 [0,2 ; 0,99]) ; de même, le délai de contrôle était significativement plus long chez les patients qui n'avaient pas de SAPL.

Facteurs associés à la persistance et facteurs de risque de thrombose sont relativement similaires et, de fait, déjà utilisés pour la stratification du risque de récurrence. Quant au délai de contrôle, il semble qu'il puisse influencer la persistance des aPI et, donc, la démarche diagnostique. Il serait souhaitable que ce délai, condition majeure du diagnostic de SAPL, fasse l'objet de travaux scientifiques, permettant d'établir un seuil au-delà duquel une persistance des anticorps serait associée à un risque thrombotique accru et le diagnostic de SAPL justifié.

**Mots-clés :** anticorps antiphospholipides, syndrome des antiphospholipides, anticoagulant lupique, anticorps anticardiolipine,  $\beta$ 2-glycoprotéine I

## Abstract :

The revised classification criteria for the antiphospholipid syndrome (APS) involve persistence of antiphospholipid antibodies (aPI) beyond 12 weeks. Indeed, such conditions could delay potential diagnostic of APS and, in some situations, its therapeutic management.

To define initial clinical and biological characteristics associated with persistence of aPI, we identified 198 patients who had a positive assay for any aPI, controlled beyond 12 weeks, at the Amiens University Hospital, during the 2004-2014 period.

The persistence rate was 64,1%. Age over 50 years (OR 5,5 [2,4 ; 12,3]), female gender (OR 4 [1,8 ; 9,1]), double positivity and triple-positivity for aPI were independently associated with aPI persistence. Lupus anticoagulant was the most discriminant laboratory test (OR 62,6 [9,9 ; 397,9]), then anti- $\beta$ 2 glycoprotein 1 (OR à 45 [7,7 ; 262,4]) and aCI (OR 16,3 [3,2 ; 85,6]). High titers of antibodies, double- and triple-positivity also seemed to be associated with persistence. In contrast, an interval between the two samples over 6 month was associated with negativation (OR 0,5 [0,2 ; 0,99]) ; similarly, the delay in control of aPI was significantly longer in patients who had not APS.

Factors associated with persistence and risk factors for thrombosis are relatively similar and, indeed, already used for risk stratification of recurrence. It seems that the delay in control can influence the persistence of aPI and, therefore, the diagnostic process. Further studies could determine the optimal delay in controlling aPI, to establish thre APS diagnosis.

**Keywords:** antiphospholipid antibodies, antiphospholip syndrome, lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies,  $\beta$ 2-glycoprotein I