



**HAL**  
open science

# Évaluation du Silica Clotting Time dans le diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides

Béatrice Lelièvre

► **To cite this version:**

Béatrice Lelièvre. Évaluation du Silica Clotting Time dans le diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides . Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01626012

**HAL Id: dumas-01626012**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01626012>**

Submitted on 30 Oct 2017

**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.

MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le mercredi 25 octobre 2017

Par Mlle LELIEVRE Béatrice  
Née le 24/07/1989 à Villeneuve-Saint-Georges

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76  
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE :**

EVALUATION DU SILICA CLOTTING TIME DANS LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE  
DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES

----oOo----

**JURY :**

Président : Pr Laurence CAMOIN  
Membres : Pr Pierre-Emmanuel MORANGE  
Pr Nathalie BARDIN  
Dr Véronique VEIT



MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le mercredi 25 octobre 2017

Par Mlle LELIEVRE Béatrice  
Née le 24/07/1989 à Villeneuve-Saint-Georges

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76  
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE :**

EVALUATION DU SILICA CLOTTING TIME DANS LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE  
DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES

----oOo----

**JURY :**

Président : Pr Laurence CAMOIN  
Membres : Pr Pierre-Emmanuel MORANGE  
Pr Nathalie BARDIN  
Dr Véronique VEIT

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. Philippe CHARPIOT, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	M. David BERGE-LEFRANC, M. François DEVRED, Mme Caroline DUCROS, Mme Pascale BARBIER
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Jean-Pierre REYNIER
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Jacques BARBE, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI,
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Sandrine NOURIAN
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Myriam TORRE

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT  
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI  
Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
M. François DEVRED  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

## A.H.U.

CULTURE ET THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Caroline MONTET

## DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

## PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET  
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Nathalie BARDIN Mme Dominique ARNOUX Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET M. Michel DE MEO Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

## A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Sylvie COINTE
----------------------------	-------------------

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Henri PORTUGAL Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

**PROFESSEURS ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (P.A.S.T.)**

GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE  
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE

M. Jean-Pierre CALISSI

**MAITRES DE CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL  
Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Elisabeth SCHREIBER-DETURMENY  
Mme Catherine DEFOORT  
M. Alain NICOLAY  
Mme Estelle WOLFF  
Mme Elise LOMBARD

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC  
M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Catherine DIANA  
Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT  
Mme Caroline DUCROS  
M. Marc MONTANA

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE  
HYDROLOGIE

M. Armand GELLIS  
M. Christophe CURTI  
Mme Julie BROGGI  
M. Nicolas PRIMAS  
M. Cédric SPITZ  
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

M. Riad ELIAS  
Mme Valérie MAHIOU-LEDDER  
Mme Sok Siya BUN  
Mme Béatrice BAGHDIKIAN

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Anne-Marie PENET-LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Thierry ATHUYT

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE  
ET GESTION DE LA PHARMAFAC

M. Philippe BESSON

**AHU**

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

Mme Manon ROCHE

**ATER**

CHIMIE ANALYTIQUE

Mme Camille DESGROUAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Athanassios ILIADIS
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE	Mme Suzanne MOUTERDE-MONJANEL
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Hot BUN M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD M. Stéphane HONORÉ Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

**A.H.U.**

PHARMACODYNAMIE	M. Philippe GARRIGUE
-----------------	----------------------

**ATER**

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlel BOUHLEL
-----------------	---

## **CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE**

Mme Nathalie AUSIAS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Gérard CARLES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Christine PENOT-RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire  
M. Alain RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

Mise à jour le 1<sup>er</sup> décembre 2015

*L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.*

# REMERCIEMENTS

---

*A Madame le Professeur Laurence CAMOIN,*

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant la présidence du jury de cette thèse, veuillez trouver ici l'assurance de ma gratitude et de mon profond respect.

Je vous suis particulièrement reconnaissante d'avoir également dirigé l'ensemble de ce travail, tant en ce qui concerne le choix du sujet que sa réalisation. Votre enseignement, durant mes années d'étude de Pharmacie, mon externat et mon internat sous votre responsabilité, a fait naître mon intérêt pour l'hématologie. Lors de cette dernière étape majeure de ma formation, j'ai trouvé auprès de vous conseils avisés, aides précieuses, orientation précise et rigoureuse.

Au-delà de votre engagement professionnel, je voudrais vous remercier pour votre soutien, vos qualités humaines et les sentiments d'empathie dont vous avez fait preuve.

*A Monsieur le Professeur Pierre-Emmanuel MORANGE,*

Pour me faire l'honneur de siéger dans ce jury, pour les trois semestres dans vos services à la découverte et l'approfondissement de l'hématologie, veuillez trouver le témoignage de mon estime et de mon profond respect.

*A Madame le Professeur Nathalie BARDIN,*

Pour me faire l'honneur de juger ce travail, pour m'avoir guidée durant un semestre très enrichissant en immunologie après une première approche à la Faculté de Pharmacie, soyez assurée de ma gratitude et de mes sentiments respectueux.

*A Madame le Docteur Véronique VEIT,*

Pour me faire l'honneur de participer à ce jury et de lire ce travail avec votre regard de clinicienne, soyez remerciée et acceptez l'expression de mon respect.

A mes parents,

**Papa**, tu es l'étoile de mon ciel, tu m'accompagnes à chacun de mes pas. Merci d'avoir été un père parfait, merci pour tout ton amour. Je ne regretterai rien, tout comme toi. Tu me manques, aujourd'hui tout autant que les autres jours.

**Maman**, ma mamouchkette, merci pour tout, absolument tout. Merci de m'avoir tant appris, merci pour ton éducation, merci pour ta gentillesse et ta douceur, merci pour ta présence et ta disponibilité, merci pour ton aide et tes relectures, merci pour ton amour et ton soutien, merci d'être toujours là et merci pour tant d'autres choses. Il me faudrait plus d'une vie pour te remercier de tout ce que tu fais pour moi. Et même si aujourd'hui je deviens grande, je dirai toujours comme une enfant que tu es la meilleure maman du monde.

A ma famille,

**Mathieu**, mon frerot, merci d'être un grand frère au top, même si parfois tu m'as fait quelques prises de lutte (vidéo à l'appui !). J'ai grandi dans tes traces, je suis telle que je suis aujourd'hui aussi grâce à toi. Je suis fière d'avoir un frère comme toi.

**Tati**, merci d'être une Tati en or. Merci pour ta bienveillance, ton amour et pour tous les bons festins que tu nous prépares. Merci pour tout ce que tu fais pour moi et pour tout ce que tu m'apportes.

**Claude, Josée**, merci d'être présents, aimants, et pleins de bonté.

**Thierry, Françoise**, ma jolie famille d'en haut, merci de m'accueillir toujours avec autant de générosité et de simplicité. Merci pour toutes ces vacances passées ensemble, d'avoir ensoleillé mon enfance et encore aujourd'hui.

**Virginie, Nicolas**, merci pour votre présence. Je suis heureuse d'être aussi proche de vous. C'est ça la famille, et « c'est ça qu'est bon ! ». Merci à mes amours, **Tifanie et Antony**, d'être des enfants si merveilleux, ne grandissez pas trop vite.

**Grégory**, merci pour ta gentillesse cousin, ta présence et ta sincérité.

**Rémi**, zincou, mon zucchinou, Dolce, my PS... ! Autant de surnoms pour autant de formidables moments à tes côtés, « Zy-vas, t'es trop un cousin de ouf ». On a la vie devant nous pour d'autres voyages, d'autres toboggans, d'autres BK, d'autres Bang-Bang. Je te promets qu'on ira voir les koalas ensemble. Merci pour tout zinc-zinc.

**Marion, Laurent** et mes adorables **Antonio, Nina, Chiara, Lorenzo**, merci pour les moments passés ensemble et pour l'image de votre si belle famille.

**Marie/Ashley/Persa**, ma jumelle ! Tant de bons moments à tes côtés, de Copenhague à Milan, de Paris à Marseille, et bientôt à Christchurch. On a grandi ensemble, et on a tant partagé. Merci d'être ma cousine de cœur.

**Patricia, Jean-Marc, Gilbert, Mumu, Vincent, Adrien, Léo, Marie-Lou**, merci pour votre présence et votre gentillesse. C'est toujours un bonheur de tous vous voir.

**Claudine, Raphaël, Pascale** (bientôt on s'envole !), **Régine**, vous êtes comme la famille, merci de votre présence et de tous ces moments au concert, au stade, au cinéma... ou juste à papoter.

A mes amis,

**Natacha**, tout simplement merci. Merci d'avoir été là dans toutes les étapes de ma vie, les moments les plus durs (je ne te remercierai jamais assez) comme les meilleurs. Des souvenirs à la pelle à tes côtés, merci d'organiser toujours le meilleur des week-ends quand je débarque ! Merci d'être là, de ta bonne humeur et de ton amitié. Et merci à **Thierry**, vous serez les plus beaux bientôt.

**Sophie**, merci pour tous ces moments à tes côtés Chucky. Merci pour ta gentillesse, ton sens de l'organisation infailible, ton humour piquant et ta sincérité. Encore de nombreux bons moments à venir, et qui sait un jour tu me battras peut-être au LaserGame !

**Lucile**, t'étais pas plus haute que trois pommes quand on s'est connues, c'était le bon vieux temps ! Les années ont passé depuis, mais on reste là et c'est ça l'essentiel. Merci pour notre enfance, toutes ces soirées pyjamas chez l'une et chez l'autre et tout le reste.

**Fanny**, c'est grâce à toi si je suis là aujourd'hui, alors merci ! Mis à part tes talents professoraux, tu es surtout une super amie. Merci pour ce fameux week-end venteux, pour cette journée à Disney, pour l'escapade en altitude pour un bon bol d'air frais, pour s'être creusées les méninges afin d'échapper à de nombreuses pièces et pour tous les autres instants.

**Manon**, ma binomette ! Merci d'avoir été la binôme parfaite, entre pipettes et béchers, mais bien plus que ça, une amie. Merci d'être revenue dans nos contrées !

**Elsa**, merci pour ta joie, ton sourire à toute épreuve et ta spontanéité. Et même si tu m'as détestée l'espace d'une seconde dans cet ascenseur infernal, tu sais que pour moi c'est tout l'inverse !

**Sophie**, merci pour ta gentillesse et ta délicatesse. Merci pour ce week-end mémorable à Nice et notre esprit d'équipe à toute épreuve, pour t'être délectée de ces savoureux asticots et d'être une Super Pitchoune au top.

**Floriane**, ma graugnasse, ma Super Cagole, merci pour tous ces souvenirs à tes côtés, de Barcelona à Aiacciu. Merci aussi pour ta géographie et ton illustre façon de marcher !

**Elo**, merci pour ta bonne humeur et ton accent chantant, on attend ton retour avec grande impatience.

**Pauline**, merci pour les moments partagés Super Boucan, en particulier ton splendide mariage.

Merci pour toutes ces années, et toutes celles à venir, les filles. Merci à vos moitiés, **Adrien**, **Kévin**, **Alex**, **Loïc**, **Guillaume**, **Thomas**, et à nos nouvelles venues **Mia** et **Lisa** de vous rendre heureuses.

**Caroline**, on a commencé ensemble, on s'est suivies, puis t'es partie ! Mais on ne se lâche pas, et heureusement. Merci pour tout, de me suivre dans mes plans les plus farfelus (dans la boue, dans la neige, dans le grand bleu, au sommet des arbres), d'être toujours présente et toujours souriante. Merci d'être une super amie. Merci à **Romain** et à ta magnifique **Julia** de te combler d'amour.

**Charlotte**, tu es l'une des plus belles rencontres de mon internat, et même si t'es partie sans moi en dispo, tu sais tout le bien que je pense de toi. Merci pour tous les beaux moments, tous ces rires, toutes ces discussions et toute cette joie. Merci pour toutes mes victoires au squash !

*Alice*, merci pour tous ces moments à tes côtés, d'un week-end à Barcelone à des instants plus calmes, en passant par une sacrée panne d'ascenseur et tant d'autres. Merci à toi aussi, *Evariste*, pour ton calme et ta force tranquille.

*Cat, Sophie, Florence*, mes coups de cœur Corse. Merci d'avoir illuminé ces six mois en terre inconnue d'une « pinzutu » comme moi, et pour vos danses et chants mémorables.

*Julie, Emilie, Maud*, ça remonte à loin nous trois ! Merci pour tous ces souvenirs. Même si c'est plutôt rare, c'est toujours un plaisir de vous voir.

*Audrey, Noémie, Emilie*, un plaisir de finir cet internat à vos côtés, merci pour votre bonne humeur, votre enthousiasme et votre fraîcheur. Maintenant, place à la jeunesse !

La team coag : *Manal*, dans le même bateau ces derniers mois, merci pour ta gentillesse et de m'avoir appris à dompter la bête (=ACL Top), *Tarek*, merci d'avoir été un dernier co-interne au top.

A tous les internes ayant croisé mon chemin et tout particulièrement : *Anne-Sophie, Anne-K, Pauline, Tracy, Lisa, Noémie, Estelle, Antho, Julien, Thomas*. Merci d'avoir égayé toutes ces années par votre présence, vos sourires et votre éclat.

*Audrey*, une belle rencontre entre shopping, burgers et rires.

*Tony*, merci pour ces moments sur la côte Ouest et pour tous les concerts.

Merci à tous les chefs et assistants rencontrés au fur et à mesure de mon internat, de m'avoir appris, de m'avoir formée et entraînée au monde de la biologie. Et pour ce dernier stage, merci *Pierre*, d'avoir répondu à mes innombrables questions !

Merci à toutes les techniciennes, à tous les techniciens et autres personnels des laboratoires rencontrés durant ces quatre années.

# TABLE DES MATIÈRES

---

TABLE DES ILLUSTRATIONS .....	3
ABREVIATIONS .....	4
INTRODUCTION.....	6
PREMIERE PARTIE : SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES.....	7
I.    HISTORIQUE.....	8
II.   DÉFINITION .....	10
III.  PHYSIOPATHOLOGIE .....	13
1)  Les phospholipides .....	13
2)  Les antiphospholipides .....	15
3)  Pathogénicité des antiphospholipides.....	19
IV.  EPIDÉMIOLOGIE.....	22
V.   CLINIQUE .....	22
1)  Les thromboses .....	24
2)  Les complications obstétricales .....	25
3)  Autres manifestations cliniques.....	25
4)  Syndrome catastrophique des antiphospholipides .....	27
VI.  DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE.....	30
1)  Sélection des patients.....	30
2)  Diagnostic immunologique.....	31
a.  Les anticardiolipines .....	33
b.  Les anti-B2GPI .....	34
c.  Les anticorps non conventionnels .....	34
3)  Lupus anticoagulant.....	35
a.  Conditions pré-analytiques .....	36
b.  Tests de dépistage .....	37
c.  Mise en évidence d'une activité inhibitrice .....	38
d.  Test de confirmation .....	39
e.  Exclusion d'une coagulopathie associée.....	40
f.  Interprétation des résultats et limites des différents tests .....	40
g.  Performances des différents tests .....	43
4)  Vers de nouveaux marqueurs biologiques .....	46

VII.	TRAITEMENT .....	47
1)	Traitements disponibles .....	47
2)	Prévention primaire.....	49
3)	Prévention secondaire.....	50
DEUXIEME PARTIE : EVALUATION DU SILICA CLOTTING TIME DANS LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES .....		52
I.	OBJECTIF DE L'ÉTUDE.....	53
II.	SILICA CLOTTING TIME .....	53
III.	MATÉRIELS ET MÉTHODES .....	55
IV.	RÉSULTATS .....	59
1)	Approche biologique.....	59
2)	Approche clinique .....	64
V.	DISCUSSION .....	71
BIBLIOGRAPHIE .....		77

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

---

Figure 1 Dates clés dans l'histoire du SAPL .....	10
Figure 2 Critères de classification révisés du syndrome des antiphospholipides (critères de Sydney).....	11
Figure 3 Sous-classification proposée.....	12
Figure 4 Structure de la membrane plasmique.....	13
Figure 5 Conformation de la B2GPI .....	14
Figure 6 Le score antiphospholipide (aPL-S) .....	18
Figure 7 Le global anti-phospholipide syndrome score (GAPPS).....	19
Figure 8 Mécanismes d'action potentiels des aPL, et symptômes associés .....	20
Figure 9 Physiopathologie des thromboses veineuses et artérielles dans le SAPL.....	21
Figure 10 Physiopathologie dans les complications obstétricales du SAPL.....	21
Figure 11 Manifestations cliniques du SAPL .....	23
Figure 12 Caractéristiques cliniques d'une cohorte de 1000 patients.....	24
Figure 13 Caractéristiques épidémiologiques et facteurs déclenchants du CAPS .....	28
Figure 14 Caractéristiques biologiques du CAPS .....	29
Figure 15 Principe de l'ELISA indirect .....	31
Figure 16 Représentation schématique de l'ELISA aCL.....	34
Figure 17 Démarche du diagnostic des ACC de type lupique au laboratoire .....	40
Figure 18 Résumé des recommandations des ISTH, BCSH et CLSI dans le diagnostic du lupus anticoagulant.....	43
Figure 19 Incidence des dRVVT prolongés en fonction du kit commercial.....	45
Figure 20 Algorithme du traitement du SAPL .....	51
Figure 21 Pourcentage de correction du SCT à faible et forte concentration .....	54
Figure 22 Répartition des demandes par service.....	55
Figure 23 STA-R Max <sup>®</sup> (Diagnostica Stago) et ACL TOP 500 <sup>®</sup> (Werfen).....	58
Figure 24 Nombre de plasmas positifs selon les méthodes utilisées au laboratoire et le SCT .....	59
Figure 25 Répartition des plasmas dans chaque groupe .....	61
Figure 26 Pourcentage de plasmas positifs et négatifs en SCT en fonction des différents groupes biologiques.....	62
Figure 27 Droite de régression linéaire PTT-LA et SCT .....	63
Figure 28 Droite de régression linéaire dRVVT et SCT .....	63
Figure 29 Pourcentage de plasmas positifs et négatifs en SCT en fonction des différents groupes cliniques.....	68
Figure 30 Pourcentage de SCT positifs en fonction de l'immunologie et des groupes.....	70
Figure 31 Pourcentage de SCT positifs et négatifs en fonction du profil immunologique.....	70

## ABREVIATIONS

---

ACC :	Anticoagulant Circulant
aCL :	Anti-cardiolipines
AIT :	Accident Ischémique Transitoire
aPE :	Anticorps anti-phosphatidyléthanolamine
aPL :	Anticorps antiphospholipides
aPL-S :	Score des Antiphospholipides
aPT :	Anti-prothrombine
APSN :	Néphropathie liée au Syndrome des Antiphospholipides
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
B2GPI :	$\beta_2$ glycoprotéine-I
CAPS :	Syndrome Catastrophique des Antiphospholipides
CEHT :	Centre d'Exploration des pathologies Hémorragiques et Thrombotiques
CIVD :	Coagulation Intravasculaire Disséminée
dRVVT :	Temps de Venin de Vipère Russell Dilué
GAPSS :	Global Anti-phospholipide Syndrome Score
HBPM :	Héparine de Bas Poids Moléculaire
HNF :	Héparine Non Fractionnée
IR :	Indice de Rosner
KCT :	Kaolin Clotting Time
LA :	Lupus Anticoagulant
LES :	Lupus Erythémateux Systémique
MAT :	Microangiopathie Thrombotique
PL :	Phospholipides
PTI :	Purpura Thrombopénique Idiopathique
SAPL :	Syndrome des Antiphospholipides
SCT :	Silica Clotting Time
Se :	Sensibilité
SN-APS :	Syndrome des Antiphospholipides Séronégatif
Sp :	Spécificité
TCA :	Temps de Céphaline Activé
TPHA :	Treponema Pallidum Hemagglutinations Assay

TTD : Temps de Thromboplastine Diluée  
VDRL: Venereal Disease Research Laboratory  
VPN : Valeur Prédictive Négative  
VPP : Valeur Prédictive Positive

# INTRODUCTION

---

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune systémique, prédominant chez la femme jeune et se présentant sous forme primaire ou secondaire. C'est une entité clinico-biologique, caractérisée à la fois par des critères cliniques et des critères biologiques.

Les critères cliniques sont représentés par des événements thromboemboliques veineux ou artériels et/ou des manifestations obstétricales, mais d'autres manifestations, non incluses dans la classification, sont observées. Les critères biologiques reposent sur la persistance d'anticorps antiphospholipides. Cette famille d'anticorps est très hétérogène. Il en existe de nombreux types, dont seulement trois font partie de la classification : les anticardiolipines, les anticorps anti-béta2-glycoprotéine-I et le lupus anticoagulant, aussi appelé anticoagulant circulant de type lupique.

Le diagnostic biologique reste, à ce jour, une démarche complexe. Pourtant, il est au cœur du diagnostic du syndrome des antiphospholipides et sa bonne interprétation est capitale, afin d'assurer la meilleure prise en charge du patient.

Dans ce travail, nous nous intéresserons dans un premier temps au syndrome des antiphospholipides, de sa physiopathologie au traitement, en précisant plus particulièrement son diagnostic.

Notre étude portera par la suite sur l'évaluation du réactif Silica Clotting Time dans le diagnostic du syndrome des antiphospholipides, à travers une comparaison avec les méthodes actuelles de diagnostic du lupus anticoagulant disponibles au laboratoire, tout en confrontant les résultats aux événements cliniques et au diagnostic immunologie.

PREMIERE PARTIE :

SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES

# I. HISTORIQUE

Dans les années 1940, l'école de médecine de l'université de Californie rapporte le cas d'un jeune homme présentant une affection mortelle associant thrombopénie modérée et temps de coagulation prolongés avec hémorragies et thromboses périphériques et intracrâniennes. Bien que l'allongement des temps de coagulation fût attribué à la thrombopénie et que les tests disponibles à l'époque ne démontrèrent pas un inhibiteur de la coagulation, cette description est considérée comme le premier cas de lupus anticoagulant décrit.<sup>1</sup>

Dans les années 1950, un allongement des temps de coagulation fut à nouveau décrit chez un jeune homme atteint de saignements anormaux, d'arthralgies et de thrombose veineuse de la jambe. L'autopsie montra des saignements des tissus, des infarctus cérébraux et des signes rénaux évoquant un lupus érythémateux systémique (LES).<sup>2</sup> Moore et al. décrivent chez des patients souffrant de LES, une sérologie faussement positive à la syphilis, un test basé sur la détection d'anticorps contre des phospholipides (PL) extraits de cœur de bœuf appelés cardioline<sup>3</sup>. Dans le même temps, plusieurs équipes mettent en évidence la présence d'une activité plasmatique anticoagulante, qu'ils dénomment « anticoagulant circulant » chez des patients lupiques avec des sérologies faussement positives à la syphilis : le concept de pathologie immune est alors évoqué.<sup>4,5</sup>

Dans les années 1960, Bowie et al<sup>6</sup> démontrent que ce phénomène d'anticoagulation *in-vitro* dans le LES est plus associé à des événements thrombotiques qu'à des événements hémorragiques : la présence de cet anticoagulant circulant fut rapportée chez huit patients sur onze atteints de LES, dont trois souffraient de thromboses veineuses profondes et un d'ulcères ischémiques des jambes et de livedo reticularis.

Le terme de lupus anticoagulant (LA) fut introduit par Feinstein<sup>7</sup> en 1972 pour décrire un inhibiteur de la coagulation retrouvé chez les patients avec un LES. D'autres recherches mirent en évidence que cet inhibiteur était dirigé contre les PL.<sup>8</sup>

En 1975, Nilson et al<sup>9</sup> publient un case-report d'une jeune femme présentant des fausses-couches à répétition chez laquelle un anticoagulant circulant fut retrouvé. D'autres complications obstétricales associées à un LA furent à nouveau décrites chez d'autres femmes, quelques années plus tard.<sup>10,11</sup>

Au même moment, Manoharan et al<sup>12</sup> présentent des cas d'association de LA et de thromboses veineuses récurrentes en l'absence de LES ou autres connectivites.

Bien que la relation entre thromboses et présence de ce phénomène d'anticoagulation *in-vitro* soit déjà décrite dans les années 60, il faut attendre 1980 pour que cette association entre LA et thromboses soit largement reconnue<sup>13</sup>.

En 1983, Hughes et al<sup>14</sup> proposent l'appellation « syndrome des anticardiolipines » pour l'association de thromboses inexpliquées, pertes fœtales répétées, affection cérébrale et anticoagulant lupique positif, quel que soit le contexte pathologique, qui sera par la suite renommé en « syndrome des antiphospholipides »<sup>15</sup>.

Au même moment, des cas d'épisodes vaso-occlusifs multi-organes aigus et graves associés à des tests positifs sont recensés, ce sont les premières descriptions du « syndrome catastrophique des antiphospholipides ».

La présence de faux-positifs des tests de syphilis conduit à l'établissement d'une association entre anticorps anticardiolipines et thromboses et au développement d'un test immunologique à la recherche d'anticorps anti-cardiolipines<sup>16</sup>.

En 1986 est décrit pour la première fois le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT), qui s'avère être un test simple, reproductible, sensible et relativement spécifique dans la détection des LA.<sup>17</sup>

Dans les années 1990, trois rapports améliorent considérablement la compréhension de la nature des anticorps antiphospholipides, en confirmant que la  $\beta$ 2-glycoprotéine, membre de la famille du contrôle du complément, est une cible des anticorps plutôt que les PL<sup>18,19,20</sup>.

Ce n'est qu'en 1999 qu'une réunion de consensus international a formulé des critères de classification<sup>21</sup>, réévalués en 2006<sup>22</sup>.

La nature complexe des aPL et leur importance ont été mises en évidence au cours des découvertes de ces dernières années et nos connaissances des mécanismes physiopathologiques ont connu une avancée considérable. Cependant, le syndrome des antiphospholipides reste encore aujourd'hui énigmatique. Les futurs challenges reposent sur une meilleure compréhension de la physiopathologie et une meilleure approche diagnostic, avec la mise au point de tests biologiques plus prédictifs du risque thrombotique, et thérapeutique.

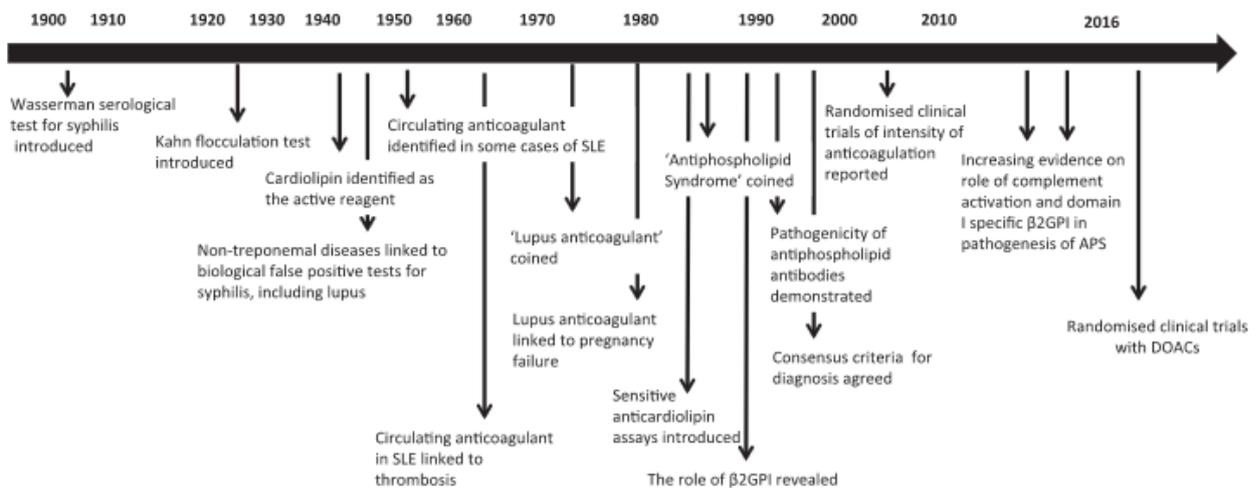


FIGURE 1 DATES CLES DANS L'HISTOIRE DU SAPL<sup>23</sup>

## II. DÉFINITION

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune de définition clinico-biologique.

Les critères préliminaires de la classification internationale, dits critères de Sapporo, ont été proposés par Wilson et al. en 1999<sup>21</sup>. Ils ont ensuite été révisés par Miyakis et al. suite au congrès de Sydney en 2006<sup>22</sup>.

La classification est divisée en critères cliniques et critères biologiques : le SAPL est défini par l'association d'au moins un critère clinique et un critère biologique mis en évidence à deux reprises, à au moins 12 semaines d'intervalle.

Les critères cliniques sont des thromboses (artérielles, veineuses ou microcirculatoires dans n'importe quel tissu ou organe et objectivées par un examen d'imagerie de référence ou d'examen pathologique) ou des manifestations obstétricales : une ou plusieurs morts fœtales inexplicables à partir de la 10<sup>e</sup> semaine de gestation d'un fœtus avec développement morphologique normal documenté par échographie ou examen direct, une ou plusieurs naissances prématurées d'un fœtus morphologiquement normal avant la 34<sup>e</sup> semaine de gestation pour cause d'éclampsie, de pré-éclampsie sévère ou d'insuffisance placentaire, ou au moins trois avortements spontanés consécutifs avant la 10<sup>e</sup> semaine de gestation avec exclusions d'autres causes anatomiques ou hormonales maternelles ou chromosomiques maternelles ou paternelles.

Les critères biologiques sont la mise en évidence d'anticorps antiphospholipides (aPL) persistants : présence d'un lupus anticoagulant ou des anticorps anticardiolipines (aCL) d'isotype IgG et/ou IgM ou des anticorps anti- $\beta_2$  glycoprotéine-I (B2GPI) d'isotype IgG et/ou IgM.

---

Antiphospholipid antibody syndrome (APS) is present if at least one of the clinical criteria and one of the laboratory criteria that follow are met\*

Clinical criteria

1. Vascular thrombosis<sup>†</sup>  
One or more clinical episodes<sup>‡</sup> of arterial, venous, or small vessel thrombosis<sup>‡</sup>, in any tissue or organ. Thrombosis must be confirmed by objective validated criteria (i.e. unequivocal findings of appropriate imaging studies or histopathology). For histopathologic confirmation, thrombosis should be present without significant evidence of inflammation in the vessel wall.
2. Pregnancy morbidity
  - (a) One or more unexplained deaths of a morphologically normal fetus at or beyond the 10th week of gestation, with normal fetal morphology documented by ultrasound or by direct examination of the fetus, or
  - (b) One or more premature births of a morphologically normal neonate before the 34th week of gestation because of: (i) eclampsia or severe pre-eclampsia defined according to standard definitions [11], or (ii) recognized features of placental insufficiency<sup>¶</sup>, or
  - (c) Three or more unexplained consecutive spontaneous abortions before the 10th week of gestation, with maternal anatomic or hormonal abnormalities and paternal and maternal chromosomal causes excluded.

In studies of populations of patients who have more than one type of pregnancy morbidity, investigators are strongly encouraged to stratify groups of subjects according to a, b, or c above.

Laboratory criteria\*\*

1. Lupus anticoagulant (LA) present in plasma, on two or more occasions at least 12 weeks apart, detected according to the guidelines of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Scientific Subcommittee on LAs/phospholipid-dependent antibodies) [82,83].
2. Anticardiolipin (aCL) antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma, present in medium or high titer (i.e. > 40 GPL or MPL, or > the 99th percentile), on two or more occasions, at least 12 weeks apart, measured by a standardized ELISA [100,129,130].
3. Anti- $\beta_2$  glycoprotein-I antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma (in titer > the 99th percentile), present on two or more occasions, at least 12 weeks apart, measured by a standardized ELISA, according to recommended procedures [112].

---

\*Classification of APS should be avoided if less than 12 weeks or more than 5 years separate the positive aPL test and the clinical manifestation.  
<sup>†</sup>Coexisting inherited or acquired factors for thrombosis are not reasons for excluding patients from APS trials. However, two subgroups of APS patients should be recognized, according to: (a) the presence, and (b) the absence of additional risk factors for thrombosis. Indicative (but not exhaustive) such cases include: age (> 55 in men, and > 65 in women), and the presence of any of the established risk factors for cardiovascular disease (hypertension, diabetes mellitus, elevated LDL or low HDL cholesterol, cigarette smoking, family history of premature cardiovascular disease, body mass index  $\geq 30$  kg m<sup>-2</sup>, microalbuminuria, estimated GFR < 60 mL min<sup>-1</sup>), inherited thrombophilias, oral contraceptives, nephrotic syndrome, malignancy, immobilization, and surgery. Thus, patients who fulfil criteria should be stratified according to contributing causes of thrombosis. <sup>‡</sup>A thrombotic episode in the past could be considered as a clinical criterion, provided that thrombosis is proved by appropriate diagnostic means and that no alternative diagnosis or cause of thrombosis is found. <sup>§</sup>Superficial venous thrombosis is not included in the clinical criteria. <sup>¶</sup>Generally accepted features of placental insufficiency include: (i) abnormal or non-reassuring fetal surveillance test(s), e.g. a non-reactive non-stress test, suggestive of fetal hypoxemia, (ii) abnormal Doppler flow velocimetry waveform analysis suggestive of fetal hypoxemia, e.g. absent end-diastolic flow in the umbilical artery, (iii) oligohydramnios, e.g. an amniotic fluid index of 5 cm or less, or (iv) a postnatal birth weight less than the 10th percentile for the gestational age. \*\*Investigators are strongly advised to classify APS patients in studies into one of the following categories: I, more than one laboratory criteria present (any combination); IIa, LA present alone; IIb, aCL antibody present alone; IIc, anti- $\beta_2$  glycoprotein-I antibody present alone.

FIGURE 2 CRITERES DE CLASSIFICATION REVISES DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES (CRITERES DE SYDNEY)<sup>16</sup>

Cette classification n'est pas à prendre en compte si moins de 12 semaines ou plus de 5 ans séparent la présence d'aPL et les manifestations cliniques.

La présence de facteurs de risque de thromboses, comme entre autres l'hypertension, le diabète, les dyslipidémies, le tabac, l'obésité (listés dans la figure 2) doit être prise en compte et les patients sont stratifiés en deux groupes : (a) présence ou (b) absence de risques additionnels (héréditaires ou acquis) de thromboses. La coexistence d'autres facteurs de

risque n'est pas un critère d'exclusion du diagnostic, au contraire elle représente une probable augmentation du risque de thromboses<sup>24</sup>.

Une sous-classification en 4 sous-types est proposée en fonction du nombre et du type de marqueurs biologiques présents, confirmés au moins deux fois à 12 semaines ou plus d'intervalle. Celle-ci a pour but de promouvoir des études cliniques sur des cohortes de patients présentant un profil homogène.

---

*Type I : présence d'au moins deux critères biologiques*  
*Type II : présence d'un seul critère biologique*  
*Type IIa : présence d'un LA isolé*  
*Type IIb : présence d'un aCL isolé*  
*Type IIc : présence d'un d'anti-β2GPI isolé*

---

FIGURE 3 SOUS-CLASSIFICATION PROPOSEE

Le SAPL est dit primaire s'il est isolé, c'est-à-dire sans aucune autre maladie sous-jacente ou anomalies cliniques ou biologiques particulières, et secondaire s'il est associé à un lupus systémique ou une autre maladie systémique auto-immune. Cette notion de SAPL primaire et secondaire est cependant remise en cause. En effet, aucune conséquence clinique différente n'a été observée dans ces deux catégories<sup>25</sup>.

La difficulté de cette classification est d'exclure les nombreux symptômes cliniques associés au syndrome, au fil des années, sans preuves cliniques ou expérimentales suffisantes, comme la thrombopénie, l'anémie hémolytique, le livedo reticularis, les atteintes cardiaques, les chorées ou encore les migraines. Ils ne font, à ce jour, pas partie des critères de classification.

Le terme de « syndrome des antiphospholipides séronégatifs » (SN-APS) a été proposé par Hughes<sup>26</sup>. Il est défini par la présence d'un ou plusieurs critères cliniques en l'absence de critère biologique, vérifié à plusieurs reprises.

### III. PHYSIOPATHOLOGIE

#### 1) Les phospholipides

Les lipides, molécules essentielles à la vie, existent en très grand nombre, ce qui a mené à les séparer en deux grandes classes : les lipides simples et les lipides complexes. Les PL appartiennent à la classe des lipides complexes, ils possèdent un groupement phosphate. Deux types de PL sont décrits : les glycérophospholipides et les phosphosphingolipides.

Les glycérophospholipides sont formés d'un glycérol, de deux acides gras, d'un phosphate et d'un alcool tels que la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylsérine, ou encore la phosphatidylcholine. Dans les phosphosphingolipides, le glycérol est remplacé par la sphingosine.

Les PL sont les principaux constituants des membranes cellulaires, ce sont des hétérolipides amphiphiles, ce qui signifie qu'ils présentent une tête hydrophile (groupement phosphate) et une queue hydrophobe (acides gras non polaires). Cette propriété leur permet de s'organiser en bicouche lipidique où viennent s'insérer protéines, glucides et cholestérol.

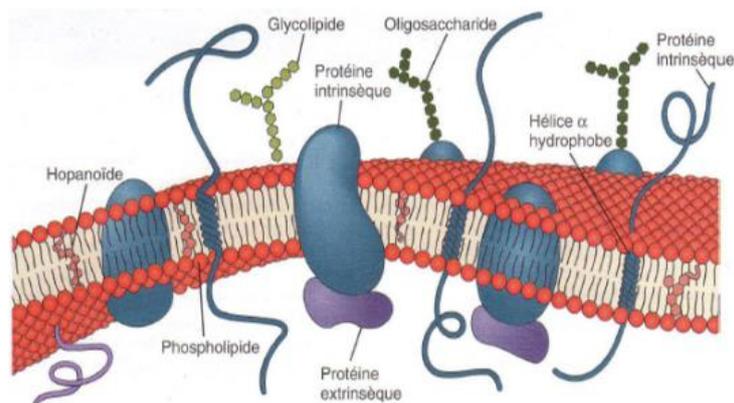


FIGURE 4 STRUCTURE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

Le cardiolipide (ou diphosphatidylglycérol) ou cardiolipine (terme anglais) est un glycérophospholipide anionique présent à la surface de la membrane interne des mitochondries, mais absent des membranes des plaquettes et des cellules endothéliales, et à l'état de traces au niveau plasmatique. Son nom provient de sa première description dans les mitochondries des cellules cardiaques. Il a de nombreux rôles tels que l'imperméabilité de la

membrane interne, le métabolisme oxydatif, l'importation du cholestérol pour la synthèse des stéroïdes dans la mitochondrie, le transport d'électrons, le passage de protéines...

La B2GPI (anciennement appelé apolipoprotéine H) est une protéine sérique, synthétisée par le foie, constituée de 326 acides-aminés et séparée en cinq domaines de I à V du N au C-terminal, circulant en grande concentration dans le plasma (150-300 µg/mL), sous forme libre (environ deux tiers) ou sous forme associée aux lipoprotéines (environ un tiers). Elle présente une forte affinité pour les molécules chargées négativement comme l'ADN, l'héparine et les PL anioniques. Elle appartient à la superfamille des protéines régulatrices du complément, mais ses effets physiologiques restent encore méconnus. En effet, bien que la B2GPI possède des propriétés procoagulantes (inhibition de la génération de thrombine, de l'activation des facteurs X, XI, XII, de l'activation plaquettaire...) et anticoagulantes (inhibition de l'activation des protéines C et S...) *in vitro*, son déficit n'entraîne pas de phénotype particulier<sup>27</sup>. D'autres fonctions ont été décrites, comme ses actions anti-angiogéniques<sup>28</sup> et anti-apoptotiques<sup>29</sup>. Elle présente deux conformations différentes : une forme circulaire circulante native et une forme ouverte liée aux PL anioniques via le domaine V<sup>30</sup>. Sous sa forme ouverte, la B2GPI expose ses épitopes du domaine I (comprenant Gly40 et Arg43)<sup>31</sup>, très antigéniques, permettant aux anti-B2GPI de se lier.

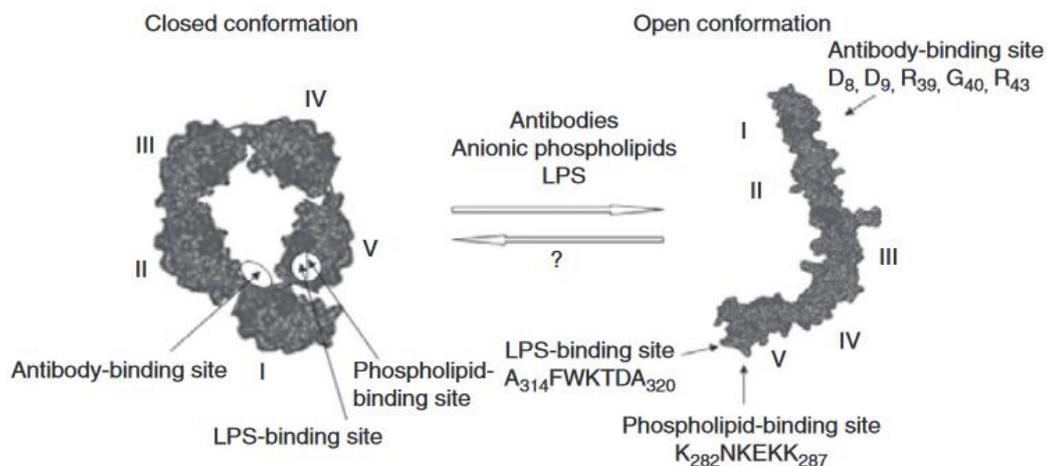


FIGURE 5 CONFORMATION DE LA B2GPI<sup>32</sup>

La phosphatidyléthanolamine est un PL neutre constitutif des membranes biologiques, principalement localisée sur le versant intracellulaire des membranes intactes.

Les PL jouent aussi un rôle majeur dans la cascade de la coagulation. Lors de l'activation plaquettaire, les PL plaquettaires sont à l'origine de la synthèse de thromboxane A<sub>2</sub>, puissant inducteur de l'agrégation plaquettaire, par libération du contenu des granules. Une fois activée, la plaquette expose ces PL membranaires, dont le facteur 3 plaquettaire, auxquels les facteurs de la coagulation peuvent se fixer. Ainsi, les PL constituent une surface catalytique pour l'activation des facteurs de la coagulation.

## 2) Les antiphospholipides

Malgré une association démontrée entre aPL, thromboses et complications obstétricales, la physiopathologie du SAPL reste encore aujourd'hui peu connue.

Les aPL regroupent une famille très hétérogène d'anticorps circulants qui reconnaissent comme antigène soit directement les PL, soit les protéines se liant sur les PL, aussi appelées cofacteurs. Parmi elles, il faut citer la B2GPI, la prothrombine, les protéines C et S, l'annexine V et le facteur XII.

Ces anticorps ne sont pas spécifiques du SAPL mais peuvent être rencontrés dans de nombreuses autres situations pathologiques telles que des infections diverses (par exemple, la syphilis, la lèpre, les hépatites virales, l'infection par le VIH ou l'EBV), certains traitements médicamenteux (principalement chlorpromazine, bétabloquants, quinidiques ou interférons), des néoplasies (hémopathies malignes et tumeurs solides), des maladies inflammatoires du tube digestif. Dans ces situations, ces aPL sont généralement transitoires et ne prédisposent pas à un risque thrombotique.

En plus d'être caractérisés par leur grande hétérogénéité, les aPL présentent une autre particularité, qui se traduit par un allongement des temps de coagulation *in-vitro*. Plusieurs dénominations existent, les termes de lupus anticoagulant (terme retenu par les experts internationaux en anglais) ou bien d'anticoagulant circulant (ACC) de type lupique sont couramment proposés. Ce sont des auto-anticorps hétérogènes, incluant l'anti-B2GPI, l'antiprothrombine (aPT) ou d'autres aPL, caractérisés par leur action anticoagulante *in-vitro*, c'est-à-dire leur capacité à allonger les temps de coagulation phospholipides-dépendants<sup>33</sup>. Mais, bien qu'ayant une activité anticoagulante *in-vitro*, ils sont paradoxalement responsables de phénomènes thrombotiques *in-vivo*. Le terme de « lupus anticoagulant » n'est donc pas

totalemment exact, mais il dérive, historiquement, de la présence fréquente des LA dans le LES, bien que cette association soit reconnue aujourd'hui comme inconstante et non spécifique.

Ces aPL entrent en compétition avec les facteurs Xa et Va pour leur fixation aux PL nécessaires à la formation du complexe prothrombinase, entraînant une baisse de la génération de thrombine et donc un allongement des temps de coagulation *in-vitro*.

A contrario, les aPT peuvent être responsables d'un risque hémorragique, notamment chez l'enfant après une infection, en provoquant une hypoprothrombinémie en augmentant la clairance du facteur II ou prothrombine.

Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence répétée d'au moins un critère biologique : le LA, les aCL ou les anti-B2GPI. Mais le risque thrombotique diffère en fonction des différents profils d'aPL. Cela indique des processus pathogéniques différents, avec, très probablement, des conséquences cliniques différentes. De plus, le risque de récurrence thrombotique des patients est largement dépendant de leur profil d'aPL. En conséquence, la découverte des meilleurs marqueurs prédictifs du risque thrombotique est l'un des principaux enjeux des recherches concernant le SAPL.

Les aPL isolés sont considérés comme étant associés à un faible risque de thromboses.

Bien qu'une revue de littérature de Galli et al. eût montré que la présence d'un LA était à risque plus fort de thromboses que la présence d'aCL<sup>34</sup>, l'analyse n'avait pas pris en compte la présence isolée d'un LA. Par la suite, des études ultérieures ont révélé que le LA isolé n'était pas associé à des thromboses<sup>35</sup> ou à des manifestations cliniques du SAPL<sup>36</sup>. Ces conclusions ont été confirmées lors d'une étude cas-témoin, où la présence d'un LA en l'absence d'anti-B2GPI ou d'aPT n'était pas associée à un risque plus fort de thromboses veineuses profondes<sup>37</sup> et lors d'une étude prospective où les individus avec un LA sans anti-B2GPI présentaient un risque faible de thromboses<sup>38</sup>. Ces LA indépendants des anti-B2GPI montrent l'existence de différents processus et très probablement de conséquences cliniques différentes.

Concernant les aCL isolés, il n'a pas été trouvé d'association entre les événements thromboemboliques et la présence d'aCL à titre moyen ou élevé<sup>35</sup>, et de même, la présence isolée d'anti-B2GPI n'est pas non plus associée aux thromboses.

Pour les aPT, bien que leurs effets thrombotiques aient été observés *in-vitro* et dans des modèles animaux, une association claire entre aPT et thromboses n'a pas été mise en évidence<sup>39</sup>.

Les anticorps dirigés contre le complexe phosphatidylsérine/prothrombine sont associés à la présence d'un LA, ainsi qu'à la survenue d'événements thromboemboliques<sup>40</sup>, avec une meilleure corrélation avec le risque thrombotique que les aPT<sup>41</sup>.

D'autres anticorps sont étudiés comme les anticorps anti-phosphatidyléthanolamines (aPE) ou encore anti-annexines A2 et A5.

En revanche, les profils dit « triples positifs », définis par l'association d'un LA et de titres élevés en aCL et en anti-B2GPI, sont les profils les plus associés aux événements cliniques thrombotiques et obstétricaux et les plus exposés aux risques de récurrence<sup>42</sup>. En effet, une étude rétrospective sur plus de 600 patients montre que la triple positivité est associée à un risque thrombotique majeur (OR = 33.3) comparée à la positivité du LA (OR = 4.4), des anti-B2GPI IgG et/ou IgM (OR = 2.9) ou aCL IgG et/ou IgM (OR = 1.2 NS)<sup>35</sup>. Ils sont, par exemple, plus à risque que les profils avec deux tests immunologiques positifs, dits « doubles positifs ».<sup>43</sup> Les triples positifs dériveraient d'un unique anticorps anti-B2GPI, qui serait capable d'induire une positivité des trois tests lorsqu'il est mélangé à un plasma normal. Cet anti-B2GPI avec une activité LA est dirigé contre le domaine I de la B2GPI et serait donc responsable des complications thromboemboliques du SAPL, et associé à un risque plus important de thromboses<sup>44</sup>. Il a aussi été mis en évidence que les patients triples positifs sans manifestations cliniques de SAPL jusque-là sont plus à risque de développer un événement thrombotique au cours de leur évolution (risque moyen annuel d'événements thromboemboliques de 5.3% chez les sujets triples positifs contre 1.36% chez les sujets avec une simple positivité)<sup>45</sup>.

La répétition des examens à 12 semaines est nécessaire car la positivité initiale n'est pas toujours confirmée. Ceci peut être dû à la présence d'anticorps transitoires ou bien d'un diagnostic incorrect au laboratoire lors du premier examen. Récemment, il a été montré que pour un profil triple positif ou bien un profil avec la présence de deux anticorps de même isotype, le résultat était confirmé à 12 semaines dans la majorité des cas (98% des triples positifs, et 84% des doubles positifs). Au contraire, lorsqu'un seul test est positif initialement, le résultat est confirmé dans seulement 40% des cas<sup>46</sup>.

Outre le profil des aPL, des scores cliniques ont été développés, afin de mieux identifier individuellement les patients à risques thrombotiques et/ou obstétricaux, comme le score antiphospholipides (aPL-S)<sup>47</sup> ou le global anti-phospholipide syndrome score (GAPSS)<sup>48</sup>.

L'élaboration du score aPL-S fut le premier travail à quantifier les risques de thromboses en fonction des profils d'aPL. Celui-ci prend seulement en compte des critères biologiques (TCA, KCT, dRVVT, aCL IgG/IgM, anti-B2GPI IgG/IgM, anti-PS/PT IgG/IgM). Il a été établi à partir d'une population de patients avec des pathologies auto-immunes systémiques. Le score est calculé par la somme des points de chaque test positif, et permet de prédire le risque de survenue d'événements thrombotiques, avec une augmentation du risque corrélée à l'augmentation du score. Un score supérieur à 30 semble être un facteur de risque indépendant de thrombose (Hazard Ratio 3.144 [95% CI 1.383-7.150], P = 0.006).

Test	Cutoff	Sensitivity, %	Specificity, %	OR (95% CI)	aPL score
APTT mixing	>49 sec.	39.1	89.3	5.36 (2.53–11.4)	5
Confirmation test, ratio	>1.3	19.6	95.2	4.81 (1.79–12.9)	2
	>1.1	30.4	90.9	4.38 (1.96–9.76)	1
KCT mixing	>29 sec.	45.6	88.8	6.64 (3.17–13.9)	8
dRVVT mixing	>45 sec.	28.2	90.9	3.93 (1.74–8.88)	4
Confirmation test, ratio	>1.3	17.4	94.7	3.72 (1.38–10.1)	2
	>1.1	28.3	90.4	3.7 (1.65–8.27)	1
IgG aCL, GPL					
High titers	>30	15.2	98.4	11 (2.72–44.5)	20
Medium/low titers	>18.5	19.5	94.6	4.31 (1.63–11.3)	4
IgM aCL, MPL	>7	6.52	96.3	1.79 (0.45–7.22)	2
IgG anti-β <sub>2</sub> GPI, units					
High titers	>15	23.9	98.4	19.3 (5.11–72.7)	20
Medium/low titers	>2.2	30.4	92.5	5.4 (2.35–12.4)	6
IgM anti-β <sub>2</sub> GPI, units	>6	8.7	91.4	1.02 (0.32–3.20)	1
IgG anti-PS/PT, units					
High titers	>10	19.6	97.8	11.1 (3.25–38.1)	20
Medium/low titers	>2	28.3	95.7	8.81 (3.39–22.9)	13
IgM anti-PS/PT, units	>9.2	6.52	98.9	6.45 (1.05–39.8)	8

FIGURE 6 LE SCORE ANTIPHOSPHOLIPIDE (APL-S)<sup>47</sup>

Le GAPSS, quant à lui, inclut à la fois des données cliniques (hyperlipidémies et hypertension artérielle) et biologiques (aCL IgG/IgM, anti-B2GPI IgG/IgM, anti-PS/PT IgG/IgM et LA). Il a été initialement développé pour prédire à la fois les risques thrombotiques et obstétricaux dans une cohorte de patients lupiques et il a ensuite été validé dans le SAPL primaire<sup>49</sup>. Le score varie de 0 à 22 points, et un score supérieur à 16 semble être un bon marqueur prédictif d'événements thrombotiques. En revanche, il doit encore être validé chez les patients asymptomatiques avec des aPL.

	$\beta$ -coefficient	GAPSS <sup>a</sup>
Hyperlipidaemia	1.73	3
Arterial hypertension	0.54	1
aCL IgG/IgM	2.63	5
Anti- $\beta$ 2GPI IgG/IgM	2.02	4
aPS/PT IgG/IgM	1.78	3
LA	2.35	4

FIGURE 7 LE GLOBAL ANTI-PHOSPHOLIPIDE SYNDROME SCORE (GAPPS)<sup>48</sup>

Ces deux scores ont montré une certaine précision dans l'évaluation des patients à risque, en particulier chez les patients à haut risque, cependant leur usage n'est pas évident. L'obstacle majeur est l'utilisation de tests qui ne font pas parties des critères de classification et qui ne sont donc pas effectués en routine, en particulier les anti-PS/PT.

### 3) Pathogénicité des antiphospholipides

La pathogénie du SAPL reste encore aujourd'hui mal connue.

Il est reconnu que la B2GPI est l'antigène majeur du SAPL. En effet, il est celui qui possède la plus grande signification clinique, et il est décrit comme le plus prédictif. La pathogénicité des anti-B2GPI a été mise en évidence directement dans des expérimentations animales, après injection chez la souris, montrant ainsi la formation de thrombus<sup>50</sup>.

La B2GPI ne présentant pas de fonctions physiologiques, il est donc difficile de comprendre que des anticorps contre cette protéine puissent induire des manifestations cliniques à type de thromboses. Les anti-B2GPI dirigés contre le domaine I de la protéine sont plus fortement associés à un risque thrombotique et obstétrical que ceux dirigés contre les autres domaines. Ceci peut être expliqué par le fait qu'ils provoquent une dimérisation de la B2GPI à l'origine d'une plus forte affinité (environ 100 fois) de ce complexe antigène-anticorps pour les surfaces anioniques. Cette dimérisation induite par ces aPL *in-vivo* serait responsable des manifestations cliniques du SAPL, en perturbant l'activité des inhibiteurs physiologiques de la coagulation, dont le système protéine C-protéine S, l'annexine A5 et le TFPI (tissue factor pathway inhibitor type I), en inhibant le système fibrinolytique et en activant des cibles cellulaires comme les plaquettes, les cellules endothéliales et les monocytes<sup>51</sup>. Le rôle des

aPL sur l'hémostase est donc majeur et leur effet procoagulant peut expliquer cet état thrombophilique acquis dans le SAPL.

Un autre élément au cœur de la pathogénie du SAPL semble être le système du complément. En effet, plusieurs études montrent une consommation des protéines du complément lors des processus thrombotiques et de la grossesse<sup>52</sup>.

Mécanismes	Symptômes
Inhibition du système protéine C/protéine S	Thromboses veineuses
Inhibition de l'activité anticoagulante de l'annexine A5	Thromboses, pertes fœtales
Inhibition du TFPI	Thromboses
Inhibition du système fibrinolytique	Thromboses, thromboses veineuses cérébrales
Activation du système du complément	Pertes fœtales
Activation cellulaire (plaquettes, cellules endothéliales et monocytes)	Thromboses artérielles Syndrome catastrophique des antiphospholipides

FIGURE 8 MECANISMES D'ACTION POTENTIELS DES APL, ET SYMPTOMES ASSOCIES<sup>51</sup>

Les épisodes thrombotiques des patients souffrant d'un SAPL ne sont pas systématiques et ont lieu occasionnellement, malgré la persistance des aPL. Ceci suggère ainsi que la présence des aPL est nécessaire mais pas suffisante dans le développement du SAPL, et que d'autres facteurs jouent potentiellement un rôle. Ceci peut être expliqué par l'absence de complexe anticorps-B2GPI dans la circulation, ceux-ci ne se formant que sur des surfaces anioniques qui ne sont généralement pas exposées à la circulation. Cette théorie du « second hit »<sup>53</sup> propose que l'amorçage de la surface vasculaire par des cytokines, des lésions vasculaires ou l'induction de l'apoptose locale pourrait être l'étape initiale pour induire une activation cellulaire par les aPL. De ce fait, certaines situations, telles que les infections, l'inflammation, la présence d'autres facteurs procoagulants, la chirurgie, l'immobilisation prolongée ou encore la prise de contraceptifs, sont nécessaires pour expliquer les phénomènes thrombotiques. Les gènes des médiateurs de l'inflammation pourraient aussi être une variable dans le développement de la clinique du SAPL.

Les pertes fœtales, précoces ou tardives, ainsi que les accouchements prématurés peuvent être expliqués par plusieurs mécanismes impliquant les aPL, dont l'existence de thromboses placentaires, une modification au niveau fœtal des fonctions cellulaires des trophoblastes provoquant une diminution de la croissance fœtale et un défaut d'implantation, ou encore

l'induction d'un état pro-inflammatoire du placenta conduisant aussi à un défaut d'implantation du fœtus.

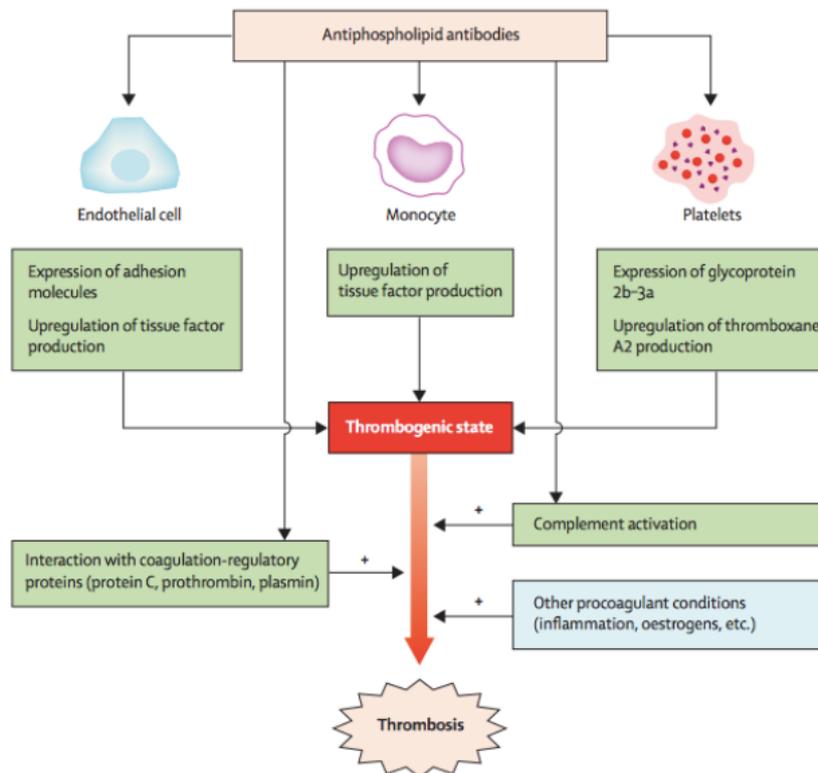


FIGURE 9 PHYSIOPATHOLOGIE DES THROMBOSES VEINEUSES ET ARTERIELLES DANS LE SAPL<sup>54</sup>

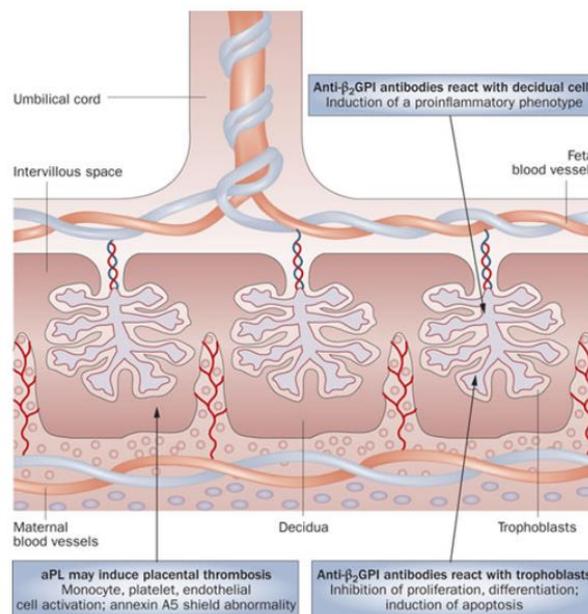


FIGURE 10 PHYSIOPATHOLOGIE DANS LES COMPLICATIONS OBSTETRIQUES DU SAPL<sup>53</sup>

## IV. EPIDÉMIOLOGIE

La prévalence du SAPL est difficile à évaluer, mais elle est estimée faible dans la population générale (environ 0.5%). Seul un faible pourcentage de patients présentant une thrombose veineuse ou artérielle a des aPL à un titre significatif et persistant. Le SAPL est tout de même l'une des principales causes de thrombophilie acquise.

Le SAPL touche principalement le sujet jeune, il est rare chez l'enfant, et est retrouvé seulement chez 12% des sujets âgés de plus de 50 ans. Dans une large cohorte internationale, l'âge moyen au diagnostic a été établi à 34 ans. Les patients de plus de 50 ans sont le plus souvent des hommes et présentent principalement des AVC et des atteintes cardiaques. Le SAPL prédomine chez la femme, le sexe ratio homme/femme est de 1:3.5 dans le SAPL primaire et de 1:7 dans le SAPL secondaire). Environ 40% des patients atteints de LES ont des aPL, mais moins de 40% d'entre eux présenteront des événements thrombotiques<sup>55</sup>.

Les aPL sont retrouvés chez 2 à 5% des sujets sains, à des taux généralement faibles, la fréquence augmentant avec l'âge<sup>56</sup>.

Lors d'une étude regroupant 4494 patients ayant présenté une thrombose veineuse, 26% avaient des aPL, ce qui représente une fréquence proche du facteur V Leiden<sup>57</sup>. Dans une autre étude, les aPL étaient présents chez 20% des patients ayant fait un AVC avant 50 ans<sup>58</sup>. Les récurrences se produisent généralement dans le même réseau microcirculatoire.

Les fausses-couches récurrentes touchent environ 1% de la population générale, dont environ 10 à 15% présenteraient un SAPL<sup>54</sup>.

## V. CLINIQUE

Le tableau clinique du SAPL est caractérisé, selon sa définition, par la présence d'événements thromboemboliques artériels, veineux et/ou des petits vaisseaux, et par des complications obstétricales. Mais d'autres manifestations cliniques peuvent cependant être retrouvées.

Dans de rares cas, le SAPL entraîne une défaillance multiviscérale pouvant mettre en jeu le pronostic vital, ce phénomène est appelé « syndrome catastrophique des antiphospholipides » (CAPS).

Une grande étude, menée par Cervera et al.<sup>56</sup>, a analysé les données cliniques et immunologiques du SAPL dans une cohorte de 1000 patients et a permis de définir les modèles d'expression de la maladie. Les manifestations les plus fréquemment retrouvées, outre les manifestations thrombotiques et obstétricales, touchent le système hématopoïétique avec des thrombopénies et des anémies hémolytiques, le système cutané avec entre autres des livedo reticularis et des ulcères cutanés. D'autres manifestations peuvent être observées comme par exemple au niveau cardiaque ou neurologique.

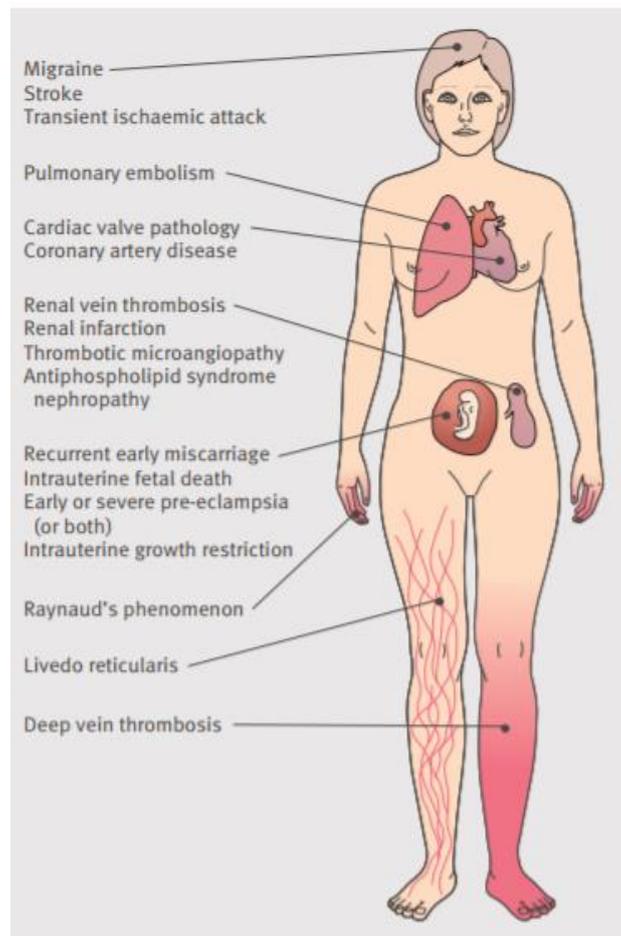


FIGURE 11 MANIFESTATIONS CLINIQUES DU SAPL<sup>59</sup>

Manifestation	No. (%) of patients
Deep vein thrombosis	317 (31.7)
Thrombocytopenia (<100,000 platelets/ $\mu$ l)	219 (21.9)
Livedo reticularis	204 (20.4)
Stroke	131 (13.1)
Superficial thrombophlebitis	91 (9.1)
Pulmonary embolism	90 (9.0)
Fetal loss	83 (8.3)
Transient ischemic attack	70 (7.0)
Hemolytic anemia	66 (6.6)
Skin ulcers	39 (3.9)
Epilepsy	34 (3.4)
Pseudovasculitic skin lesions	26 (2.6)
Myocardial infarction	28 (2.8)
Amaurosis fugax	28 (2.8)
Digital gangrene	19 (1.9)

\* Some patients had several associated presenting manifestations.

FIGURE 12 CARACTERISTIQUES CLINIQUES D'UNE COHORTE DE 1000 PATIENTS<sup>56</sup>

## 1) Les thromboses

Il s'agit d'un ou plusieurs événements symptomatiques de thrombose artérielle, veineuse ou d'un petit vaisseau situé dans n'importe quel tissu ou organe, devant être confirmés par imagerie ou histopathologie (sans image d'inflammation de la paroi vasculaire).

Les thromboses veineuses et les thromboses artérielles sont plus fréquemment recensées. Les localisations les plus retrouvées au niveau veineux sont les membres inférieurs, avec ou sans embolie pulmonaire, mais elles peuvent survenir dans d'autres sites (thromboses veineuses cérébrales, pelviennes, mésentériques, rénales, pulmonaires, hépatiques, oculaires...). Des thromboses superficielles peuvent aussi se produire mais elles ne font pas partie des critères de classification si elles sont isolées. Au niveau artériel, la vascularisation cérébrale est le territoire le plus touché, avec des accidents vasculaires cérébraux (AVC) ou des accidents ischémiques transitoires (AIT), mais d'autres sites sont possibles comme les artères coronaires, rénales, mésentériques ou de la rétine. Les facteurs déterminant la localisation veineuse ou artérielle des thromboses ne sont à ce jour pas connus.

Des études indiquent que lorsque les thromboses initiales sont situées au niveau artériel, les suivantes le sont également. Le même phénomène dans le cadre des thromboses veineuses est observé<sup>60</sup>.

## 2) Les complications obstétricales

Les manifestations obstétricales comprennent :

- Une ou plusieurs mort(s) inexplicée(s), d'un fœtus morphologiquement normal, à la 10<sup>e</sup> semaine de gestation ou au-delà (morphologie normale établie par échographie ou examen direct), ou
- Une ou plusieurs naissance(s) prématurée(s) d'un nouveau-né morphologiquement normal avant la 34<sup>e</sup> semaine de gestation à cause d'une éclampsie ou d'une prééclampsie grave ou de signes reconnus d'insuffisance placentaire, ou
- Au moins 3 avortements spontanés consécutifs avant la 10<sup>e</sup> semaine de gestation sans cause anatomique ou hormonale maternelle et sans cause chromosomique maternelle ou paternelle

## 3) Autres manifestations cliniques

D'autres manifestations cliniques peuvent être retrouvées, bien qu'elles soient assez fréquentes, leur inclusion dans les critères de classification diminuerait la spécificité du diagnostic. Parmi elles, il faut noter par exemple des atteintes neurologiques, dermatologiques, cardiaques et rénales.

Des atteintes neurologiques, autres que les accidents vasculaires ischémiques, ont été rapportées, mais leur lien avec les aPL n'est pas encore démontré de façon formelle. Des études ont mis en évidence une relation entre des taux élevés et persistants d'aPL et des dysfonctions cognitives chez les patients avec un LES<sup>61</sup>, ou encore entre les aPL et des handicaps physiques chez les patients âgés<sup>62</sup>. La présence à long terme du LA pourrait être un facteur de risque de démence<sup>63</sup>. Il existe une association entre myélopathie transverse et aPL chez les patients lupiques<sup>64</sup>. Une association entre les aPL et les crises d'épilepsie a été mise en évidence chez des patients lupiques<sup>65,66</sup> mais aussi chez des patients non lupiques<sup>67,68</sup>. L'épilepsie est fréquente dans le SAPL, et le risque de survenue semble être lié aux maladies vasculaires du système nerveux central, aux valvulopathies, au livedo reticularis et la présence de LES<sup>69</sup>. Les données restent tout de même contradictoires et l'association entre aPL et épilepsie reste encore incertaine.

Le SAPL est associé à une grande variété de manifestations dermatologiques, comme des ulcérations cutanées, des lésions pseudo-vasculitiques, des gangrènes digitales, des phlébites superficielles, des nécroses extensives superficielles, une anétodermie ou encore de multiples hémorragies flammèches sous-unguéales<sup>70</sup>. La plus fréquente des manifestations cutanées est le livedo reticularis, qui est présent chez 20 à 25% des patients<sup>56</sup>. C'est un érythème indolore, persistant et irréversible, organisé en réseau, suspendu ou diffus et se situant principalement sur le tronc, les bras ou les jambes. La peau présente un aspect marbré, constitué de mailles violacées fines, régulières et circulaires (livedo reticularis) ou ramifiées (livedo racemosa). Le livedo apparaît comme le marqueur cutané du phénotype artériel du SAPL<sup>71</sup>.

Les atteintes cardiaques, retrouvées chez plus de 40% des patients, sont à type de végétations, épaississements ou dysfonctions valvulaires<sup>72</sup> et pourraient être associées à un risque plus élevé d'AVC<sup>73</sup>. L'atteinte des valves est augmentée chez les patients avec un LA ou des aCL de type IgG.

La néphropathie liée au syndrome des antiphospholipides (APSN), pouvant toucher toutes les structures vasculaires rénales, existe sous deux types : une forme artérielle (proximale et/ou distale, aigüe, et/ou chronique) et une forme veineuse<sup>74</sup>. Les atteintes cliniques sont à type de sténose et/ou thrombose des artères ou des veines rénales, des microangiopathies thrombotiques artériolaires et/ou glomérulaires non inflammatoires en aigu et des artérioscléroses, des occlusions artériolaires fibreuses, des hyperplasies intimaux fibreuses en chronique.

Les lésions rénales sont identiques dans le SAPL primaire et le SAPL secondaire et sont associées aux thromboses vasculaires extra-rénales et aux complications obstétricales chez les patients avec un LES<sup>75,76,77</sup>.

Par ailleurs, une thrombopénie est retrouvée au cours de l'évolution de la maladie, résultant de deux mécanismes différents. La thrombopénie par destruction plaquettaire, via des auto-anticorps dirigés contre les glycoprotéines majeures et spécifiques des plaquettes<sup>78,79</sup>, sera plus à risque d'hémorragie. Au contraire, une thrombopénie par activation de la coagulation (via la thrombine) et par processus de consommation sera associée à un risque de thrombose.

Les aPL sont fréquemment retrouvés chez les patients initialement diagnostiqués pour purpura thrombopénique immunologique (PTI) associé à des thromboses, et leur persistance est un facteur de risque pour le développement futur d'un SAPL<sup>80</sup>.

D'autres anomalies hématologiques peuvent être citées, comme des anémies hémolytiques auto-immunes, des nécroses médullaires ou des microangiopathies thrombotiques (MAT).

#### 4) Syndrome catastrophique des antiphospholipides

Le syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS) est une forme rare, très grave et accélérée de SAPL, pouvant conduire à une défaillance multiviscérale engageant le pronostic vital, ce qui en fait une urgence diagnostique et thérapeutique prise en charge dans des unités de soins intensifs. Il touche approximativement 1% des patients avec un SAPL<sup>56</sup> et est caractérisé par la présence simultanée de thromboses de localisations multiples de la microcirculation, plus rarement des vaisseaux de moyens et gros calibres, sur une courte période.

Il existe quatre critères afin de définir un CAPS :

1. Mise en évidence de l'atteinte d'au moins 3 organes, systèmes et/ou tissus (avec mise en évidence d'occlusion vasculaire confirmée par des techniques d'imagerie appropriée)
2. Survenue simultanée des différentes atteintes en moins d'une semaine
3. Confirmation histologique de l'occlusion des petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissu
4. Confirmation biologique de la présence d'aPL (LA et/ou aCL et/ou anti-B2GPI) à deux reprises à 12 semaines d'intervalle

Le syndrome est certain si les quatre critères sont présents, et il est probable si :

- Les quatre critères sont présents mais seulement 2 organes, systèmes et/ou tissus sont concernés,
- Les quatre critères sont présents, sauf la confirmation biologique à 12 semaines des aPL (pour cause de décès du patient sans exploration préalable au syndrome)
- Présence des critères 1, 2 et 4
- Présence des critères 1, 3 et 4 avec survenue d'un 3<sup>e</sup> événement plus d'une semaine, mais moins d'un mois après les premières manifestations, malgré un traitement anticoagulant

Dans les années 2000 fut créé un registre international, le « CAPS Registry »<sup>81</sup>, permettant d'analyser les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques, et d'établir des critères préliminaires de classification et de prise en charge. Des algorithmes ont aussi été proposés pour faciliter le diagnostic du CAPS, prenant en compte l'historique personnel du SAPL et/ou des aPL du patient, la présence de plus de trois ou plus nouvelles thromboses en moins d'une semaine, la confirmation des thrombus par biopsie et l'exclusion des autres causes de thromboses multiples.<sup>82</sup>

Des facteurs déclenchants ont pu être mis en évidence dans 65% des épisodes, ils diffèrent selon le groupe d'âge de patients. Les plus rapportés sont les infections (49% des épisodes) principalement des voies respiratoires (33%), suivies des infections urinaires (19%) et de la peau (13%). Parmi les autres facteurs déclenchants il faut citer les chirurgies, les néoplasies ou encore les contraceptifs.

Mean age at diagnosis (years)	38 (17) <sup>a</sup>
Sex (female)	343 (69%) <sup>a</sup>
CAPS as first manifestation of APS	50 <sup>a</sup>
<i>Diagnosis</i>	
Primary APS	60 <sup>a</sup>
Associated SLE	30 <sup>a</sup>
SLE-like	4 <sup>a</sup>
Others	6 <sup>a</sup>
<i>Precipitating factors (N = 481)<sup>b</sup></i>	
Infections	49
Surgery	17
Malignancy	16
Contraceptives	10
Pregnancy related	8
Drugs	5
SLE flare	3
Trauma	2
Others	13

Abbreviations: CAPS: Catastrophic antiphospholipid syndrome SLE: Systemic lupus erythematosus.

Results presented as percentages from the total number of episodes except when otherwise stated.

<sup>a</sup> Frequency calculated excluding recurrent episodes.

<sup>b</sup> In 13% of episodes more than one precipitating factor was identified.

FIGURE 13 CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES ET FACTEURS DECLENCHANTS DU CAPS

Au niveau clinique, les organes les plus touchés sont les reins (73%) à des degrés variables d'insuffisance rénale, les poumons (60%) avec des syndromes de détresse respiratoire ainsi que des embolies pulmonaires, le cerveau (56%) avec des AVC ou encéphalopathies, le cœur (50%), la peau (47%), le foie (39%) et les vaisseaux périphériques (37%).

Du point de vue biologique, le lupus anticoagulant est présent chez 83% des patients, ainsi que les IgG anti-B2GPI (81%) et les IgG aCL (78%). De plus, une anémie hémolytique parfois associée à des schizocytes peut être observée, mais plus rarement des MAT et des coagulations intravasculaires disséminées (CIVD).

<i>Laboratory features</i>	
Thrombocytopenia	67
Schistocytes	22
Thrombotic microangiopathy <sup>b</sup>	14
Disseminated intravascular coagulation <sup>c</sup>	11
Lupus anticoagulant	83
aCL IgG	81
aCL IgM	49
aβ2GPI IgG	78
aβ2GPI IgM	40
Antinuclear antibodies	57
Anti-DNA antibodies	32
Anti-ENA	10

---

<sup>a</sup> Results presented as percentages from the total number of episodes.  
<sup>b</sup> Thrombotic microangiopathy defined as those patients with low platelet count, hemolysis features and schistocytes.  
<sup>c</sup> Disseminated intravascular coagulation defined as those patients with low platelet count, d-dimer increase and low prothrombin time.

FIGURE 14 CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DU CAPS

Du point de vue thérapeutique, le traitement de première ligne est l'héparine avec un relais par AVK lorsque le patient est hémodynamiquement stable. A cela peuvent être ajoutés glucocorticoïdes, immunosuppresseurs, immunoglobulines intraveineuses et échanges plasmatiques.<sup>83</sup> Le pronostic vital sans traitement est faible, et malgré un traitement adapté le CAPS reste tout de même fréquemment fatal avec une mortalité reportée de plus de 30%.<sup>84</sup>

## VI. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

D'après les critères de Sapporo, le diagnostic biologique du SAPL repose sur la mise en évidence des aPL par deux techniques différentes. Une première consiste à utiliser des tests immunologiques afin de détecter les anticorps anti-cardiolipines liés à la B2GPI et une deuxième permet de détecter un inhibiteur de la coagulation dépendant des PL. Plus tard, les critères de Sydney ajoutent à cela la recherche directe des anticorps anti-B2GPI.

Afin de minimiser le risque d'une détection d'aPL transitoires, la recherche doit être réalisée à deux reprises, à au moins 12 semaines d'intervalle.

Malgré des efforts de standardisation, les variations inter- et intra-laboratoires restent importantes, plus particulièrement dans les cas d'anticorps de faible positivité<sup>85</sup>, et le manque de gold-standard complique le diagnostic.

### 1) Sélection des patients

La recherche du LA doit se limiter à des patients présentant des signes cliniques du SAPL ou lors d'une découverte fortuite d'un allongement des temps de coagulation, afin d'éviter le risque de faux-positifs dû à une faible spécificité des tests.

En pratique courante, les principales indications sont une thrombose artérielle ou veineuse (proximale ou distale) ou une embolie pulmonaire idiopathique chez un patient de moins de 60 ans, une thrombose dans un site inhabituel, une MAT avec atteintes multiviscérales dans un délai court, des complications obstétricales, un livedo reticularis, un diagnostic de LES, une endocardite non bactérienne, un allongement inexplicé du TCA ou encore une dissociation VDRL+/TPHA-.

Cette recherche peut être stratifiée en plusieurs niveaux, selon le degré d'appropriation :

- Faible : thrombose veineuse ou artérielle chez des patients âgés
- Modérée : découverte d'un allongement d'un test de coagulation (TCA ou TCK) chez un patient asymptomatique, pertes fœtales précoces multiples, thrombose veineuse provoquée chez un patient jeune
- Haut : thrombose non provoquée et thrombose artérielle non expliquée chez un patient jeune (< 50 ans), thrombose de sites inhabituels, perte fœtale retardée, thrombose ou complication obstétricale chez un patient avec une maladie auto-immune (lupus

systemique, polyarthrite rhumatoïde, thrombopénie auto-immune, anémie hémolytique auto-immune)

## 2) Diagnostic immunologique

Le diagnostic immunologique repose sur la mise en évidence dans le sérum ou le plasma des aCL (d'isotype IgG et/ou IgM) et/ou des anti-B2GPI (d'isotype IgG et/ou IgM), à des titres moyens ou élevés, présents à deux reprises à au moins 12 semaines d'intervalle.

La technique recommandée est l'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), et plus précisément le principe de l'ELISA indirect. C'est une technique immuno-enzymatique en quatre étapes permettant de visualiser une réaction antigène-anticorps. La première étape consiste à incuber la solution de l'antigène spécifique de l'anticorps recherché sur une plaque de microtitration, l'antigène va alors se fixer électrostatiquement au fond des puits, c'est le « coating » de l'antigène. Dans un deuxième temps, l'échantillon du patient (plasma ou sérum) est incubé sur la plaque et si des anticorps sont présents, ils se fixeront sur les antigènes formant ainsi un complexe antigène-anticorps. Lors de la troisième étape, l'anticorps de détection, une immunoglobuline anti-IgG ou anti-IgM, couplée à une enzyme est incubée. Des lavages sont nécessaires entre chaque étape afin d'éliminer l'excès d'antigènes ou d'anticorps non fixés. La dernière étape est l'étape de révélation, après ajout d'une solution révélatrice contenant le substrat de l'enzyme. Une coloration se produit si la réaction est positive et la variation de la densité optique est mesurée. Celle-ci est proportionnelle à la quantité de complexes antigène-anticorps présents dans le puits, et donc à la concentration d'anticorps du patient.



FIGURE 15 PRINCIPE DE L'ELISA INDIRECT

L'interprétation des tests immunologiques doit toujours se faire en fonction des isotypes, la concordance étant essentielle. Les anticorps prédominants sont d'isotype IgG, et semblent être associés de façon plus importante aux événements thrombotiques que les IgM<sup>86</sup>. Mais, il a été observé, chez certaines patientes présentant un SAPL purement obstétrical, une positivité isolée en IgM.

Le large spectre des différents anticorps et la variabilité des épitopes rendent difficiles la production de matériel de référence. Il existe une large variété de tests disponibles et plusieurs études ont montré que les résultats étaient très sensibles aux facteurs externes, induisant ainsi des variabilités de résultats inter- et intra-laboratoires selon les techniques, les fournisseurs ou les lots.

Dans un besoin de standardisation de la méthode, de nouvelles recommandations en dix points ont été récemment publiées<sup>87</sup> :

- Sélection des patients à tester pour éviter les faux-positifs
- Sérum ou plasma citraté
- aCL B2GPI-dépendant, B2GPI humaine (et non recombinante)
- Idéalement : CV < 20% (voir 10%)
- Interférences : facteur rhumatoïde pour IgM, hypergammaglobulinémie
- En duplicate pour les méthodes manuelles
- Standards et calibration
- Expression des résultats
- Valeurs seuils : 99<sup>e</sup> percentile calculé à partir de 120 plasmas témoins
- Résultats et conclusion : interprétation en tenant compte des résultats des 3 tests (aCL, anti-B2GPI et LA), avec un contrôle à 12 semaines

Afin d'améliorer la comparabilité inter-laboratoire, il est recommandé l'utilisation de percentiles pour la détermination des seuils de positivité, ainsi que d'anticorps monoclonaux calibrés (HCAL et EY2C9) aussi appelés « standards de Sapporo ». De plus, il est préférable que le suivi biologique soit réalisé dans le même laboratoire et si possible avec le même réactif<sup>35</sup>.

Une étude indique qu'un nombre important de patients avec un LA ne présente pas d'anticorps par les techniques actuelles ELISA<sup>88</sup>. Ceci montre une sensibilité plus faible des tests ELISA par rapport aux méthodes chronométriques et suggère la nécessité du développement de nouvelles techniques immunologiques.

L'évolution du titre des anticorps est difficilement prévisible et une variation spontanée du titre des anticorps est observée chez plus d'un quart des patients<sup>22</sup>. En revanche, pour près de trois quarts des patients d'une population définie avec des aPL lors d'une étude, la recherche des aPL est restée positive et stable<sup>89</sup>.

#### a. Les anticardiolipines

Il est important de distinguer deux types d'anticorps : les aCL B2GPI-indépendants ou dits « aCL vrais », reconnaissant la cardiolipine en l'absence de cofacteur protéique, des aCL B2GPI-dépendants. Ces derniers sont mis en évidence, en apportant la B2GPI au moment du coating avec la cardiolipine sur phase solide ou dans les solutions de saturation et/ou de dilution des échantillons. La B2GPI apportée peut être d'origine animale (sérum de veau fœtal, de bœuf, de chèvre) ou humaine (purifiée à partir de plasma humain), la sensibilité et la spécificité sont alors modifiées selon sa provenance et sa quantité.

Un des inconvénients de cette technique est sa faible spécificité, car elle détecte à la fois les deux types d'anticorps. Il est donc aujourd'hui recommandé d'utiliser des trousse permettant la détection d'aCL B2GPI-dépendants, compte tenu de leur plus grande implication clinique.

Les tests ELISA aCL ne détectent pas les anticorps dirigés contre la prothrombine, qui le sont par un ELISA spécifique.

Les aCL sont le plus souvent d'isotype IgG, les IgM sont plus rares et presque toujours associées aux IgG.

Les anticorps sont exprimés en unités GPL pour les IgG et MPL pour les IgM, déterminées à partir de courbes de calibration utilisant les standards de Harris. Une unité GPL ou MPL correspond à une concentration d'aCL de 1 µg/ml. Ils sont considérés comme positifs si le titre est moyen ou élevé, c'est à dire pour des taux supérieurs à 40 GPL ou MPL ou supérieurs au 99<sup>e</sup> percentile.

La recherche des aCL est de plus en plus remise en cause, et certains proposent même de ne plus les inclure dans les critères de classification. En effet, il s'agit de tests sensibles, mais non spécifiques. Cependant, la présence d'aCL isolés semble être un marqueur des complications obstétricales<sup>90</sup>.

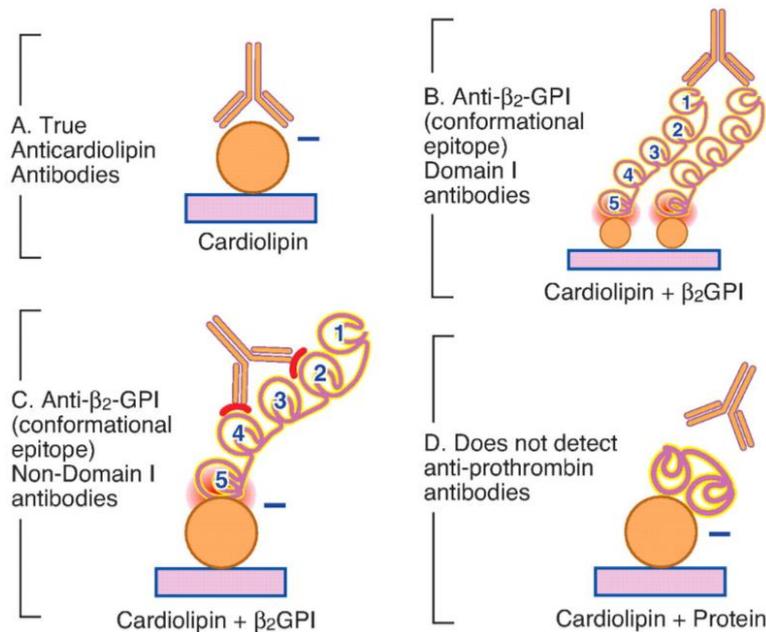


FIGURE 16 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ELISA ACL<sup>91</sup>

### b. Les anti-B2GPI

La mise en évidence des anti-B2GPI nécessite un support chargé négativement, ce qui est le cas des microplaques irradiées. Ceci peut s'expliquer par la forte liaison de la B2GPI aux charges négatives, ainsi la densité au fond des puits sera plus élevée permettant une fixation des anti-B2GPI plus importante. Une autre explication est la modification conformationnelle de la B2GPI après sa fixation sur un support négatif, permettant l'expression d'épitopes cryptiques reconnus par les anticorps.

La plupart des trousse commercialisées utilisent de la B2GPI humaine purifiée. Un test est dit positif si le titre est moyen ou élevé (supérieur au 99<sup>e</sup> percentile).

L'inconvénient de cette méthode est la détection de tous les types d'anticorps anti-B2GPI, et pas seulement les anticorps contre le domaine I, et les anticorps à faible affinité, ce qui diminue sa spécificité.

### c. Les anticorps non conventionnels

D'autres tests ELISA sont commercialisés afin de détecter les anticorps dits non conventionnels, tels que les aPE, les antiphosphatidylinositol, les aPT, les anti-annexines V ou encore les isotypes IgA des aCL et des anti-B2GPI. Ces anticorps ne sont pas recherchés en routine, du fait de leur manque de standardisation et de leur signification clinique inconnue<sup>92</sup>, mais ils peuvent être demandés en seconde intention.

Les conclusions des différentes études sur les aCL de type IgA sont divergentes concernant leurs implications cliniques. Ceux-ci ont, par ailleurs, été décrits comme associés à des thrombopénies, des ulcères cutanés et des lésions de vascularites, définissant ainsi un sous-groupe à risque pour ces manifestations cliniques<sup>93</sup>. Les anti-B2GPI d'isotype IgA sembleraient être associés de façon plus forte que les aCL d'isotype IgA, ainsi que les anti-B2GPI d'isotype IgM, aux manifestations cliniques du SAPL<sup>94</sup>.

La présence isolée d'aPE, sans anticorps conventionnels, a été décrite chez des patients présentant des thromboses récurrentes<sup>95</sup> et chez des femmes avec des complications obstétricales précoces ou tardives<sup>96</sup>.

Les tests immunologiques recherchant les anticorps dirigés contre le complexe phosphatidylsérine/prothrombine détectent un groupe hétérogène d'anticorps, dont les anticorps dirigés contre la prothrombine seule ou contre le complexe. La liaison entre la phosphatidylsérine et la prothrombine entraîne un changement de conformation de la prothrombine, permettant de dévoiler des épitopes et la détection des aPT correspondants.

La recherche des aPL non conventionnels peut être une alternative dans les cas des SN-APS, après élimination d'autres causes acquises ou génétiques de thrombophilie et des faux-négatifs dus à un syndrome néphrotique, des corticostéroïdes ou immunosuppresseurs ou à la consommation des anticorps lors d'un événement thrombotique<sup>97</sup>.

### 3) Lupus anticoagulant

Le diagnostic du LA s'avère être une tâche complexe, du fait de l'hétérogénéité des anticorps, des variabilités des analyseurs et réactifs (concentrations et type de PL, d'activateur...), des conditions pré-analytiques, des difficultés d'interprétation (expression des résultats, cut-off) et de l'absence de gold-standard. Le nombre de faux-positifs et faux-négatifs reste relativement élevé<sup>98</sup>. Pourtant, l'interprétation des résultats est cruciale puisque la persistance d'un LA chez des patients ayant une histoire de thromboses et/ou de complications obstétricales entraîne une anticoagulation au long-cour.

La détection repose sur une démarche en quatre étapes :

- La première étape consiste en des tests de dépistage à la recherche d'un allongement du temps de coagulation dépendant des PL.

- La deuxième étape, appelée aussi étape de démonstration d'un effet inhibiteur, met en évidence une activité inhibitrice par l'absence de correction de l'allongement du temps de coagulation après l'ajout d'un plasma normal.
- La troisième étape est la confirmation de la dépendance en PL en corrigeant le temps de la coagulation en présence d'un excès de PL saturant l'aPL présent.
- Une dernière étape est nécessaire afin d'exclure une autre anomalie de la coagulation (absence d'un déficit ou d'un inhibiteur spécifique d'un facteur de la coagulation masqué initialement).

Il est recommandé de réaliser les tests en dehors de tout traitement anticoagulant (avant l'initiation du traitement ou après une période d'arrêt suffisante), car ceux-ci peuvent interférer avec les analyses. De même, il n'est pas recommandé de réaliser les tests pendant la phase aigüe de l'événement thromboembolique.

A l'heure actuelle, il n'existe aucun moyen de quantifier, le résultat est donc qualitatif (présence ou absence). Il n'existe pas non plus de standardisation permettant notamment de comparer un échantillon par rapport à un autre.

De nombreuses recommandations internationales ont été publiées par différents groupes de travail, dont l'International Society on Haemostasis and Thrombosis (ISTH) en 2009<sup>99</sup>, le British Committee for Standards in Haematology (BCSH) en 2012<sup>100</sup> et plus récemment le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>101</sup>.

#### a. Conditions pré-analytiques

Le sang est collecté sur un tube citrate trisodique 0.109 M pour un rapport de 1 volume de solution de citrate pour 9 volumes de sang.

Une double centrifugation est nécessaire afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquette (< 10G/L). Du point de vue technique, elle consiste à transférer le plasma après la première centrifugation (2000g à température ambiante pendant 15 minutes) dans un tube plastique à l'aide d'une pipette plastique pour une seconde centrifugation de 10 minutes à une plus grande vitesse (> 2500 g), puis à récupérer le plasma pauvre en plaquette, tout en faisant attention de ne pas aspirer des plaquettes résiduelles.

La congélation doit être effectuée rapidement à -70°C ou moins. Avant l'analyse, le plasma doit être décongelé par immersion totale du tube dans un bain-marie à 37°C pendant 5 minutes, puis vortexé.

## b. Tests de dépistage

Il est indispensable de réaliser en parallèle deux tests de dépistage basés sur des principes différents, car aucun test n'est assez sensible pour détecter la totalité des LA, et aucun test n'est spécifique à 100%. Le dépistage sera positif si au moins un des deux tests est allongé. En revanche, l'utilisation de plus de deux tests est déconseillée car cela augmente le nombre de faux-positifs à des niveaux non acceptables.

Plusieurs tests sont disponibles, chacun avec des sensibilités différentes. A l'heure actuelle, les deux tests recommandés sont le temps de céphaline activée (TCA) sensibilisée (avec une concentration faible en PL et la silice comme activateur) et le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT).

Le TCA est le temps de coagulation d'un plasma citraté déplaqueté en présence de céphaline (substitut du facteur 3 plaquettaire), d'un activateur du système contact de la coagulation (silice, kaolin, acide ellagique...) et, après incubation à 37°C, de calcium. Il explore la voie endogène de la coagulation incluant les facteurs de la phase contact (prékallicréine, kininogène de haut poids moléculaire, facteurs VIII, IX, XI, XII) ainsi que la voie commune avec la fibrinofomation (V, X, II, fibrinogène).

Le résultat est exprimé en secondes et sous forme de ratio rapporté à un temps témoin. Le TCA est normal pour un rapport temps patient/temps témoin inférieur à 1,2.

Le TCA est prescrit dans le bilan d'exploration biologique d'épisodes hémorragiques ou thrombotiques et lors de bilan pré-opératoire, le plus souvent associé au temps de Quick (ou temps de prothrombine) et au fibrinogène

Il existe plusieurs causes d'allongement isolé du TCA, dont la plus courante est iatrogène suite à la prise d'héparine non fractionnée. Cet allongement dépend du type d'héparine utilisée, de la concentration circulante et de l'horaire de prélèvement. En dehors d'un traitement anticoagulant, un allongement isolé du TCA peut traduire un déficit en facteur de la coagulation ou la présence d'un LA.

Au laboratoire, l'utilisation d'un réactif sensibilisé à faible concentration de PL (PTT-LA) permet d'accentuer l'allongement dû aux aPL. C'est un réactif lyophilisé contenant de la céphaline extraite de tissu cérébral de lapin et un activateur particulière (silice) en milieu tamponné (glycine).

Le dRVVT fait intervenir un activateur du facteur X (le venin de vipère Russell) agissant en présence de PL et de calcium, qui déclenche la coagulation à ce niveau et élimine l'interaction des facteurs situés en amont de la cascade de la coagulation. Ainsi, il n'est pas influencé par les déficits en facteurs VII, VIII, IX, XI, XII ou les facteurs contacts ou par les inhibiteurs spécifiquement dirigés contre ces facteurs.

Lors de l'étape de dépistage, le réactif utilisé est le dRVVT screen, celui-ci contient une faible concentration en PL.

Le résultat est exprimé en secondes et sous forme de ratio rapporté à un temps témoin.

$$\text{Ratio Screen} = \frac{\text{Temps de coagulation Screen du patient (en secondes)}}{\text{Temps de coagulation Screen du témoin (en secondes)}}$$

### c. Mise en évidence d'une activité inhibitrice

Devant un ou plusieurs tests de dépistage anormaux, la présence d'une activité inhibitrice doit être recherchée par une épreuve de correction, en étudiant le mélange du plasma à tester avec un pool de plasma normal, à volume égal (1 :1).

La qualité du pool de plasma normal utilisé est capitale. L'idéal est une préparation « maison », en s'assurant des mêmes conditions de préparation que les plasmas des patients. Une double centrifugation devra donc être réalisée, sur un pool de plasma provenant de 30 volontaires sains, puis un stockage à -70°C. Il faut de plus s'assurer de la présence des facteurs de la coagulation à un niveau d'environ 100%. Des plasmas lyophilisés sont disponibles dans le commerce, leur utilisation nécessite une validation et une certification pour la recherche du LA.

Une absence de correction des temps de coagulation des tests de dépistage ou une correction partielle signent la présence d'un inhibiteur de la coagulation ou anticoagulant circulant, qui peut être un aPL ou un inhibiteur dirigé contre un facteur de la coagulation. Au contraire, la normalisation du temps de coagulation du mélange est en faveur d'un déficit touchant au moins l'un des facteurs explorés par le test.

Concernant le PTT-LA, la correction du temps de coagulation peut être interprétée par l'indice de Rosner (IR), selon la formule :

$$\text{Indice de Rosner} = \frac{TCA_{\text{mélange}} - TCA_{\text{témoin}}}{TCA_{\text{patient}}} \times 100$$

Concernant le dRVVT, il s'agit habituellement d'un test intégré où le plasma est testé en parallèle sur deux réactifs, l'un avec une faible concentration de PL (test de dépistage) et l'autre avec une concentration élevée en PL (test de confirmation). De ce fait, l'étape du mélange n'est plus indispensable et est donc peu réalisée en pratique.

#### d. Test de confirmation

Cette étape est indispensable pour démontrer la dépendance de l'activité anticoagulante aux PL, et ainsi différencier les ACC de type lupique des anticorps anti-facteurs de la coagulation. Elle consiste à réaliser à nouveau le ou les tests de dépistage anormaux en augmentant la concentration en PL des réactifs. Les PL apportés en plus grande quantité vont neutraliser, au moins partiellement, l'inhibiteur de la coagulation, entraînant ainsi une correction du temps de coagulation. Les PL apportés doivent être en bicouches ou en phase hexagonale, et l'utilisation d'extraits plaquettaires comme source de PL n'est pas recommandée car peu reproductible.

Au laboratoire, cette étape est réalisée avec le réactif dRVVT Confirm. Le résultat est exprimé en secondes et sous forme de ratio rapporté à un temps témoin.

$$\text{Ratio Confirm} = \frac{\text{Temps de coagulation Confirm du patient (en secondes)}}{\text{Temps de coagulation Confirm du témoin (en secondes)}}$$

Le résultat final est exprimé en ratio normalisé.

$$\text{Ratio normalisé} = \frac{\text{ratio Screen}}{\text{ratio Confirm}}$$

Il est aussi possible de calculer le pourcentage de correction selon la formule :

*% de correction*

$$= \frac{\text{Temps de coagulation Screen du patient} - \text{Temps de coagulation Confirm du patient}}{\text{Temps de coagulation Screen du patient}} \times 100$$

### e. Exclusion d'une coagulopathie associée

Même en présence d'un ACC de type lupique, il faut éliminer toute autre cause d'allongement des temps de coagulation sur les tests de dépistage, celle-ci pouvant être masquée par un LA, comme les déficits en facteur de la voie endogène (facteurs VIII, IX, XI, XII, facteurs contact) ou en facteur du complexe prothrombinique (facteurs II, V, VII, X).

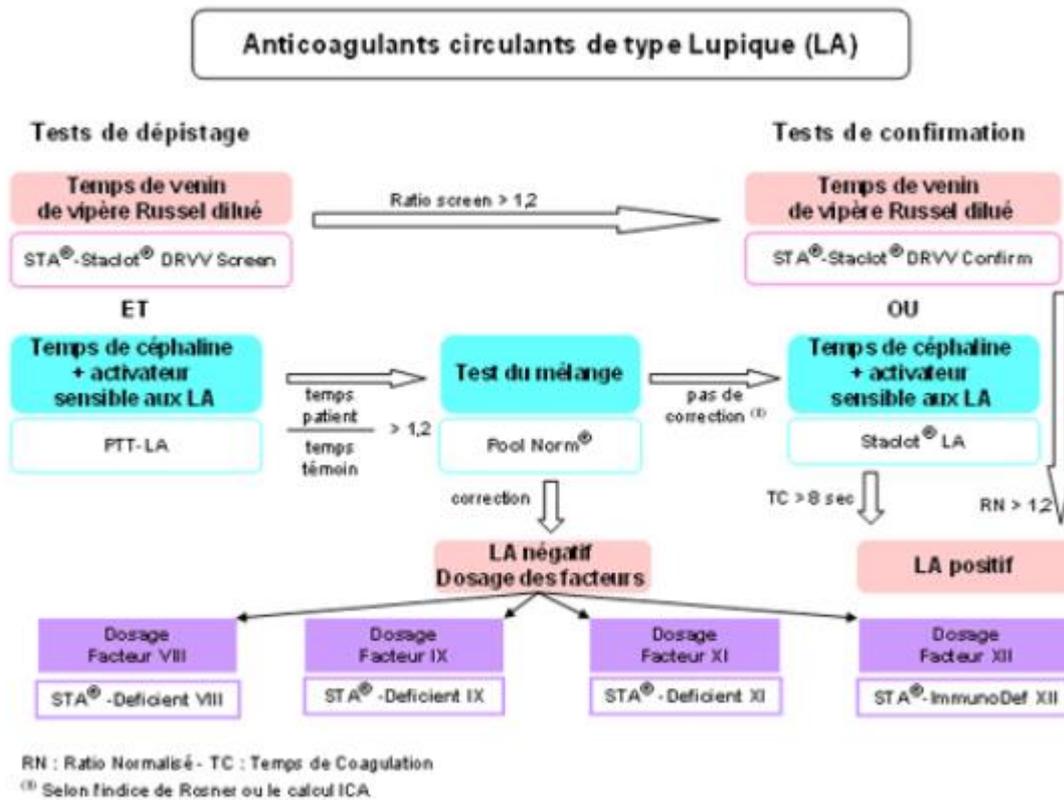


FIGURE 17 DEMARCHE DU DIAGNOSTIC DES ACC DE TYPE LUPIQUE AU LABORATOIRE (STAGO®)

### f. Interprétation des résultats et limites des différents tests

Les grandes variabilités des réactifs nécessitent l'utilisation de seuils de positivité (ou cut-off) calculés localement dans chaque laboratoire pour un couple réactif-automate, afin d'améliorer l'interprétation des résultats. Il est recommandé de les calculer à partir d'une population d'au moins 40 volontaires sains de moins de 50 ans et d'utiliser le 99<sup>e</sup> percentile.

L'utilisation des ratios permet de compenser les variations intra- et inter-laboratoires, ils ont une meilleure spécificité, mais la sensibilité en est réduite<sup>102</sup>.

Au laboratoire, les résultats sont potentiellement suggestifs d'un LA lors des tests de dépistage lorsque :

- Ratio temps patient/temps témoin du PTT-LA  $\geq 1.2$
- Ratio dRVVT Screen  $\geq 1.2$

Lors de l'étape de mélange, les résultats sont interprétés selon l'indice de Rosner :

- Indice de Rosner  $< 12$  : résultat négatif
- Indice de Rosner compris entre 12 et 15 : résultat douteux, à contrôler sur un nouveau prélèvement
- Indice de Rosner  $\geq 15$  : présence d'un LA

Pour l'étape de confirmation, la présence de LA est affirmée si :

- Ratio normalisé  $\geq 1.2$

La préparation des échantillons est essentielle. La présence de plaquettes résiduelles pourrait entraîner un raccourcissement des temps de coagulation, dû à la présence des PL anioniques de la membrane plaquettaire, et ainsi masquer la présence d'un LA<sup>103</sup>.

Des cycles de congélation-décongélation successifs sont à éviter, car ils pourraient mener à la perte d'un LA faible.<sup>104</sup>

L'inconvénient majeur de l'utilisation des tests chronométriques est leur sensibilité aux traitements anticoagulants. L'interprétation des résultats est complexe, car ces traitements entraînent un allongement des temps de coagulation et peuvent conduire à des faux-positifs.

Il est donc conseillé, avant toute recherche, de réaliser un temps de thrombine (TT) ou un dosage d'héparinémie (activité anti-Xa) afin d'exclure la présence d'héparine. Le dRVVT contient un agent neutralisant de l'héparine jusqu'à 0.8 UI/ml (polybrène ou héparinase), le test peut donc être réalisé jusqu'à cette concentration, mais pas au-delà. Quant au PTT-LA il ne peut être réalisé devant une héparinémie supérieure à 0.15 UI/mL.

Pour les patients sous AVK, il est recommandé de réaliser les tests après une période d'interruption d'une à deux semaines (avec un relais par HBPM si nécessaire, avec la dernière injection 12 heures avant la prise de sang) ou lorsque l'INR est inférieur à 1.5. Alternativement, dans les cas où l'INR est compris entre 1.5 et 3 (ou si le TP du patient est inférieur à 50%), le test peut être réalisé sur un mélange à parties égales du plasma du patient et d'un plasma témoin. Cependant, la dilution du plasma peut entraîner une réduction de la sensibilité et peut compromettre la détection des titres faibles d'aPL. En revanche, la recherche est ininterprétable si l'INR est supérieur à 3.

Il n'est pas non plus recommandé d'effectuer une recherche de LA chez les patients sous anticoagulants oraux directs (AOD), comme le Rivaroxaban, Dabigatran et Apixaban. Celle-ci est annulée pour des activités anti-Xa ou IIa spécifiques supérieures à 30 ng/mL.

L'interprétation de l'étape de mélange est délicate, plus particulièrement lorsque les temps sont légèrement allongés, avec un risque de faux-négatifs. Des recommandations internationales dans l'interprétation des tests de mélange manquent, alors qu'une uniformité des résultats conduirait à une meilleure reproductibilité. L'utilisation de l'indice de Rosner ou le calcul d'un pourcentage de correction sont une solution, mais nécessite le calcul de seuils de positivité dans chaque laboratoire.

Le dRVVT est sensible aux déficits en fibrinogène et en facteurs II, V et X, qu'on peut observer lors d'avitaminose K (liée à un traitement par anti-vitamine K (AVK) ou à une carence en vitamine K), des insuffisances hépatiques ou des déficits isolés.

L'hydroxychloroquine, utilisé pour réduire l'inflammation dans le traitement du LES, peut interférer faiblement sur les tests en affectant la formation des complexes IgG B2GPI/PL<sup>105</sup>.

L'interprétation pendant la phase aiguë des événements thromboemboliques est aussi délicate, car les patients peuvent être traités avec des doses élevées d'anticoagulant, mais de plus une augmentation des facteurs, comme le facteur VIII, peut être observée, pouvant ainsi fausser les temps de coagulation.

Area of recommendation	ISTH 2009	BCSH 2012	CLSI 2014
Sample preparation	Double centrifugation	Double centrifugation	Double centrifugation
Assays to use	dRVVT and aPTT	dRVVT plus aPTT or others	dRVVT and aPTT and/or others
Testing order	Screen-mix-confirm	Screen-mix-confirm	Screen-confirm-mix
Ratio derivation	NPP denominator	NPP denominator	RI mean denominator
RI/cutoffs	99th percentile	97.5th percentile (if Gaussian)	97.5th percentile (if Gaussian)
Calculations for phospholipid-dependence	% correction of screen by confirm, or LA ratio (screen/confirm)	% correction of screen by confirm, or LA ratio (screen/confirm)	% correction of screen by confirm, or LA ratio (screen/confirm)
Mixing test	Perform on 1:1 mixture with NPP; Interpret with ICA or mixing test-specific cutoff	Perform on 1:1 mixture with NPP	Perform on 1:1 mixture with NPP; Interpret with ICA or mixing test-specific cutoff
Testing patients on VKAs	Undiluted plasma if INR < 1.5; Mix with NPP if INR > 1.5 < 3.0	Screen and confirm on 1:1 mixture with NPP; TSVT + ET or PNP	Screen and confirm on 1:1 mixture with NPP; TSVT + ET or PNP
Testing patients on UFH	Interpret with caution	Not recommended	Can detect LA in some cases where heparin neutralizer is effective
Interpretive reporting	Recommended	Recommended	Recommended

Abbreviations: aPTT, activated partial thromboplastin time; BCSH, British Committee for Standards in Haematology; CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute; dRVVT, dilute Russell viper venom time; ET, Ecarin time; ICA, index of circulating anticoagulant; INR, international normalized ratio; ISTH, International Society on Thrombosis and Haemostasis; LA, lupus anticoagulant; NPP, normal pooled plasma; PNP, platelet neutralization procedure; RI, reference interval; TSVT, Taipan snake venom time; UFH, unfractionated heparin; VKA, vitamin K antagonist.

FIGURE 18 RESUME DES RECOMMANDATIONS DES ISTH, BCSH ET CLSI DANS LE DIAGNOSTIC DU LUPUS ANTICOAGULANT<sup>106</sup>

### g. Performances des différents tests

Il existe de nombreuses sources de variation pour la détection du LA, allant de la phase pré-analytique jusqu'à la phase post-analytique, comme le choix des tests, l'interprétation des résultats, la préparation des échantillons, le type de PL ou encore l'expression des résultats et le calcul des cut-offs. Les taux de faux-positifs et faux-négatifs restent encore relativement élevés.

En théorie, tous les tests dépendants des PL sont adaptés à l'étape de dépistage. Les recommandations internationales préconisent l'utilisation du temps de céphaline activée (TCA) sensibilisé et le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT), mais il existe d'autres tests de dépistage disponibles sur le marché. Leur utilisation a principalement été découragée en raison de leur expérience limitée plutôt que de leur faible performance.

Le temps de thromboplastine diluée (TTD) est un temps de Quick sensibilisé avec une thromboplastine recombinante très diluée. La présence d'un LA peut être détectée par un allongement du TTD. Néanmoins cette technique est peu spécifique, le TTD pouvant être allongé en cas de déficits en facteurs explorés par le temps de Quick (VII, X, V, II),

d'hyperfibrinogénémie, d'anticorps anti-VIII de titre élevé, ou encore en présence d'héparine. De plus, il existe une grande variabilité des réactifs de thromboplastine, ce qui n'en fait pas un test de premier choix. Cependant, des études ont montré que l'allongement du TTD est associé aux thromboses<sup>107</sup> avec une sensibilité et une spécificité élevées pour la détection des LA causé par les anti-B2GPI et les aPT.

Le KCT (Kaolin Clotting Time), bien que reconnu comme l'un des plus sensibles du fait de sa faible concentration en PL, n'est pas recommandé en raison de difficultés techniques, induisant ainsi une mauvaise reproductibilité comparée aux autres tests disponibles. En effet, la turbidité du kaolin et le besoin d'une technique manuelle rendent le KCT inapproprié pour des tests de dépistage à grande échelle.

L'utilisation d'acide ellagique ou de kaolin comme activateurs n'est pas non plus conseillée car ils sont peu sensibles au LA.

Les tests basés sur l'utilisation des venins de serpent comme l'écarine ou la textarine ne sont pas non plus préconisés car il n'existe pas de tests commerciaux bien standardisés basés sur ces principes.

Il est recommandé aujourd'hui d'utiliser des tests combinés, incluant à la fois l'étape de dépistage et l'étape de confirmation.

Plusieurs études comparatives ont été réalisées afin d'évaluer les différents tests disponibles. Par exemple, une analyse de trois enquêtes du UK National External Quality Assessment Scheme (NEQAS)<sup>108</sup> compare les résultats du PTT-LA, du dRVVT et du KCT. Un diagnostic correct avait été fait par 94% des centres utilisant le dRVVT et 85% utilisant le KCT. En revanche, un LA faible n'avait pas été détecté par la moitié des centres. Ces résultats montrent le besoin d'une plus grande conformité dans la sélection et la performance des tests. Une autre étude a consisté à tester 336 sujets souffrant de pathologies auto-immunes diverses en utilisant différents réactifs : un TCA sensibilisé, un dRVVT et un TTD<sup>109</sup>. Elle conclut à une corrélation de tous les tests avec des antécédents de thromboses, à une association plus forte avec les thromboses qu'avec les événements obstétricaux, à une association forte entre thromboses et LA dépendants de B2GPI mais une très faible sensibilité, et une association forte entre thromboses et LA dits « double positifs », détectés par tous les tests.

La sensibilité du PTT-LA est très variable en fonction des nombreux réactifs commercialisés, ces différences seraient liées à la concentration en PL<sup>110</sup>, mais aussi aux types de PL<sup>98</sup> et aux types d'activateurs utilisés.

Le dRVVT est l'un des tests les plus utilisés dans la détection du LA. Il est considéré comme le test de choix et le plus corrélé au risque de thromboses<sup>111</sup>. Il est supposé entraîner le moins de faux-positifs et se révèle être le plus spécifique et le plus robuste. Pourtant, de nombreuses variations de sensibilité et de spécificité ont déjà été rapportées par de nombreuses études. Elles seraient liées à de nombreux facteurs méthodologiques et réactifs-dépendants.

Une des premières causes possibles de ces variations peut être le venin de la vipère Russell<sup>112</sup>. Il peut exister, en effet, une hétérogénéité dans la composition du venin, entre autres en fonction de la localisation géographique, la saison, le sexe de la vipère, le cycle reproductif... Bien que ces variables biologiques soient contrôlées dans la plupart des élevages (température, exposition à la lumière, régime alimentaire), elles peuvent affecter les récoltes de venin.

Une autre variable est la source des PL et la concentration utilisée. Ces derniers peuvent provenir de plaquettes congelés/décongelés, d'un mélange de PL relativement purs (comme la phosphatidylsérine ou la phosphatidyléthanolamine) ou plus fréquemment extraits du cerveau de lapin ou de PL synthétiques. Une étude a montré l'intérêt de l'utilisation d'un mélange dilué de lipides de lapin plutôt que de lipides purs individuels ou de plaquettes congelés/décongelés dans la préparation des liposomes<sup>113</sup>.

Triplett a étudié la performance de différents kits commerciaux du dRVVT<sup>114</sup>, de même que McGlasson et son équipe plus récemment<sup>115</sup>. Ces derniers montrent l'importance de l'utilisation des ratios dans l'interprétation finale du résultat, qui entraîneraient des variations plus légères entre chaque kit.

Il est de plus nécessaire d'utiliser des réactifs propres à chaque type d'analyseurs<sup>116</sup>.

Test specimen	ADI <sup>a</sup>	Bioclot LA	LA screen (IL) <sup>a</sup>	Viperquik	LA screen Gradipore <sup>a</sup>	Manchester	Unicorn (UDL)
LA-positive n=23	96%	96%	100%	96%	100%	100%	87%
Heparin <i>ex vivo</i> n=20	25%	100%	10%	100%	15%	100%	95%
Stable oral anti-coagulated n=20	45%	30%	75%	25%	80%	75%	85%
Factor VIII inhibitors n=14	43%	7%	50%	29%	50%	7%	64%
Hemophilia A n=11	9%	0%	8%	0%	27%	0%	0%
Hemophilia B n=8	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Sensitivity	96%	96%	100%	96%	100%	96%	96%
Specificity	73%	62%	64%	60%	60%	51%	48%

This table summarizes the frequency (%) of prolonged dRVVT results utilizing various manufacturers' dRVVT test systems. These results were originally reported in conjunction with the Sixth International Symposium on antiphospholipid antibodies held in Leuven, Belgium (1984). The dRVVT reagents currently marketed may have significantly different characteristics when compared to those reported in the above table. Laboratories should be well informed concerning characteristics of diagnostic reagents utilized in the detection/identification of lupus anticoagulants.

<sup>a</sup>Heparin neutralizing agents present in reagents.

FIGURE 19 INCIDENCE DES DRVVT PROLONGES EN FONCTION DU KIT COMMERCIAL<sup>114</sup>

Une autre cause de variation est la grande hétérogénéité des différents LA. Les LA résultent de la présence d'anticorps IgG ou IgM, plus rarement IgA, visant principalement les anti-B2GPI et les aPT. Les différents tests ne permettent pas l'identification de l'antigène cible mais mesurent seulement l'effet anticoagulant induit. Une revue de la littérature suggère que certains LA réagissent mieux à certains tests plutôt qu'à d'autres. Par exemple, le dRVVT serait plus sensible à un LA dépendant de la B2GPI, alors que le KCT ou le PTT-LA seraient plus sensibles au LA avec des anticorps aPT<sup>117</sup>. Dans la même étude, Pengo et son équipe ont montré que les LA puissants sont positifs dans plus d'un test. Cette notion a été démontrée à plusieurs reprises dans différentes études postérieures.

#### 4) Vers de nouveaux marqueurs biologiques

La recherche de LA dépendant de la B2GPI est une piste pour la mise en place de nouveaux marqueurs biologiques prédictifs. Plusieurs études ont décrit les anti-B2GPI comme les aPL les plus pathogènes. Une équipe a mis au point une technique permettant de discriminer les LA suivant que l'allongement des temps de coagulation était dû un aPL de type anti-B2GPI ou d'un autre type<sup>118</sup>. Lors de l'étape de confirmation de la dépendance aux PL, l'ajout de cardiolipine corrigeait l'allongement du TCA uniquement avec les LA de type anti-B2GPI. Par la suite, il a été montré qu'un LA dépendant de la présence d'anti-B2GPI était associé à un risque thrombotique majeur, alors qu'un LA non dépendant de la B2GPI n'induisait pas de risque thrombotique<sup>119</sup>. Une récente étude internationale multicentrique a confirmé que ce test était plus fortement corrélé au risque de thrombose qu'une simple recherche de LA<sup>120</sup>.

Dans une autre méthode, l'utilisation de chlorure de calcium à faible concentration (5mM) montre un allongement plus important des temps de coagulation du PTT-LA chez les patients avec un LA dépendant de la B2GPI que chez les autres patients non B2GPI-dépendants<sup>121</sup>.

La recherche spécifique du domaine I de la B2GPI par Elisa, par des mutants tronqués de la B2GPI, a été mise au point, afin de détecter spécifiquement les IgG reconnaissant la séquence peptidique Gly40-Arg43 du domaine I, considérés comme étant les principaux responsables des manifestations cliniques, avec une présence corrélée au risque thrombotique<sup>31</sup>. Une autre étude internationale multicentrique confirme ces résultats et montre l'intérêt de ce test qui est plus performant pour prédire le risque thrombotique et obstétrical<sup>47</sup>.

D'autres marqueurs prédictifs sont à l'étude comme le test de génération de thrombine qui mesure la quantité de thrombine générée, et permet de mettre en évidence la résistance à la protéine C activée, ou encore la recherche de la résistance à l'annexine V.

## VII. TRAITEMENT

Des recommandations ont été proposées pour la prévention et le traitement à long terme des thromboses dans le SAPL lors du 13<sup>e</sup> congrès international des aPL de 2011<sup>24</sup>.

### 1) Traitements disponibles

Les anticoagulants sont le traitement de référence du SAPL. Les traitements sont identiques que le syndrome soit primaire ou secondaire. Le traitement des événements thromboemboliques est généralement réalisé en ambulatoire, certains patients peuvent nécessiter une hospitalisation s'ils présentent une thrombose veineuse profonde massive, une embolie pulmonaire symptomatique, un risque hémorragique important sous traitement anticoagulant ou la présence de comorbidités.

Les molécules disponibles sont les héparines, à type d'héparine non fractionnée (HNF) ou d'héparine de bas poids moléculaire (HBPM), par voie injectable, suivies par un relais par voie orale par les antivitamines K (AVK) au long court<sup>122</sup>.

Lors des événements thrombotiques aigus, les héparines sont le traitement de première intention. Les HBPM sont généralement préférées aux HNF, sauf dans certaines circonstances comme le risque hémorragique, où les HNF peuvent être rapidement neutralisées par la protamine, ou chez l'insuffisant rénal. Plusieurs types d'héparine sont disponibles sur le marché et la posologie varie en fonction du produit et du patient.

Les AVK sont généralement introduits simultanément aux héparines, et les traitements se chevauchent environ quatre à cinq jours jusqu'à atteindre l'International Normalized Ratio (INR) cible (2-3) deux jours consécutifs. Le traitement par AVK nécessite un suivi étroit par l'INR, du fait de leur forte variabilité inter- et intra-individuelle (nombreuses interactions médicamenteuses, alimentaires, pathologies intercurrentes...), pouvant impacter la qualité de

vie des patients. Les surdosages sont fréquents, exposant à des risques hémorragiques, ainsi que les sous-dosages, exposant à des risques thrombotiques.

Le traitement est adapté pendant la grossesse, les AVK étant contre-indiqués, ils sont substitués par les HBPM à dose prophylactique ou intermédiaire, associées à des faibles doses d'aspirine (75-100 mg).

L'utilisation d'anticoagulants oraux directs (AOD) n'est, à ce jour, pas recommandée, car il n'existe pas assez de données et elles sont contradictoires en fonction des profils des patients. Les molécules disponibles sont le rivaroxaban (inhibiteur direct du facteur Xa), le dabigatran (inhibiteur direct du facteur IIa) et l'apixaban (inhibiteur direct du facteur Xa). Ils pourraient être une bonne alternative aux AVK, car ils présentent moins de variabilités et d'effets indésirables à type d'hémorragies, leur posologie est fixe, et ils ne nécessitent pas de suivi (en dehors de situations pathologiques).

Une étude prospective récente, l'étude RAPS, compare le rivaroxaban et la warfarine (AVK) chez des patients avec un SAPL thrombotique avec ou sans LES. Son but était de démontrer que l'effet du rivaroxaban n'est pas inférieur à celui de la warfarine et d'étudier sa tolérance. Les conclusions montrent que le rivaroxaban, en se basant sur le potentiel de thrombine endogène, est inférieur à la warfarine, mais comme il n'y a pas eu d'augmentation du risque thrombotique sous rivaroxaban, cette molécule pourrait être une alternative efficace et sûre<sup>123</sup>. Actuellement, l'utilisation des AOD pourrait être une option chez les patients avec une intolérance ou une allergie aux AVK ou avec un contrôle insuffisant<sup>124</sup>.

De nombreux patients atteints d'un LES sont aussi traités par hydroxychloroquine, pour son action anti-inflammatoire, immunomodulatrice et métabolique, mais elle pourrait aussi avoir un effet bénéfique chez les patients lupiques avec un SAPL, avec une diminution du risque thrombotique artériel et veineux<sup>125</sup>, mais ceci reste à ce jour encore incertain. Il est tout de même recommandé d'utiliser l'hydroxychloroquine chez tous les patients lupiques avec des aPL, mais son utilisation dans le SAPL primaire reste encore à l'étude.

D'autres molécules sont citées dans les recommandations du 14<sup>e</sup> congrès international sur les anticorps aPL<sup>123</sup>.

Les statines, aux propriétés hypocholestérolémiantes ayant aussi une action anti-inflammatoire, anti-thrombotique et immunomodulatrice, ne sont proposées que chez les patients avec un SAPL présentant une dyslipidémie.

Le rituximab, anticorps monoclonal chimérique anti-CD20, pourrait avoir un rôle à jouer dans les SAPL aux manifestations hématologiques, microthrombotiques/microangiopathiques, ou encore dans le CAPS. Le belilumab, anticorps monoclonal humain, utilisé, en association avec le traitement habituel, chez les patients atteints de LES actif malgré un traitement standard, n'a pas encore été étudié dans la prévention des thromboses.

Les inhibiteurs du complément, comme l'éculizumab, anticorps monoclonal dirigé contre la fraction C5 du complément, pourrait jouer un rôle adjuvant ou principal dans les SAPL réfractaires, mais plus de données cliniques sont encore nécessaires.

Les peptides, dirigés contre les domaines I ou V de la B2GPI, aujourd'hui seulement testés sur des études in-vitro ou dans des modèles murins, pourraient être un élément important dans le futur de la thérapeutique du SAPL.

La vitamine D, ayant de nombreux effets immunomodulateurs, est recommandée chez tous les patients présentant un déficit, sur les mêmes recommandations que la population générale.

## 2) Prévention primaire

Une prévention primaire est proposée chez les patients porteurs d'aPL asymptomatique. Celle-ci consiste en un contrôle strict des facteurs de risques cardiovasculaires : des traitements adéquats contre l'hypertension, contre les dyslipidémies, la mise en place de mesure afin de lutter contre l'obésité, le tabagisme... Chez ces mêmes patients, une prophylaxie par HBPM à dose préventive est préconisée dans les situations à haut risque telles que la chirurgie, l'immobilisation prolongée et le post-partum.

En revanche, chez les patients avec un profil à haut-risque d'aPL, une prophylaxie par faible dose d'aspirine est recommandée<sup>126</sup>, plus particulièrement en présence d'autres facteurs de risque de thromboses.

Chez les patients lupiques, il est préconisé de rechercher régulièrement des aPL même chez un patient n'ayant jamais présenté de symptomatologie clinique à type de thromboses ou de complications obstétricales. Une découverte fortuite de LA ou d'aCL à taux moyen ou élevé doit entraîner une prévention primaire par aspirine à faible dose et d'hydroxychloroquine. En effet, il a été démontré dans de nombreuses études que la présence d'aPL dans le cadre d'un LES augmente le risque de thrombose et que la prise d'aspirine réduirait ce risque<sup>127,128</sup>.

### 3) Prévention secondaire

Le risque de récurrences, suite à un premier événement thromboembolique, est élevé en particulier chez les patients à haut risque (triples positifs), et celles-ci sont plus fréquentes en l'absence de prophylaxie secondaire<sup>42</sup>.

La prévention secondaire des manifestations thromboemboliques du SAPL primaire ou secondaire est donc nécessaire afin d'éviter tout risque de récurrences. A ce jour, les AVK au long cours sont utilisés. L'INR cible recommandé est situé entre 2 et 3, suite à des études ne montrant pas une diminution du risque de récurrence avec des posologies plus élevées<sup>129,130</sup>.

Chez les patients présentant des atteintes artérielles, la prise en charge est discutée. L'objectif d'INR recommandé est supérieur à 3. Une étude a en effet montré qu'il existait des risques de récurrence chez ces patients lorsque l'INR cible était compris entre 2 et 3, et que ces risques étaient inférieurs lorsque l'INR était supérieur à 3<sup>131</sup>. Mais d'autres alternatives sont proposées, comme l'association d'aspirine à faible dose et d'AVK avec un INR cible compris entre 2 et 3. Une estimation du risque hémorragique devrait être faite avant de prescrire des AVK avec un objectif d'INR supérieur à 3 ou une combinaison d'aspirine et d'AVK.

Les patients non lupiques ayant présenté en premier événement un AVC (sans embolie d'origine cardiaque) avec un facteur déclenchant transitoire et un profil biologique à faible risque peuvent recevoir uniquement de l'aspirine à dose antiagrégante.

Les experts recommandent que les patients ayant un SAPL défini avec thrombose reçoivent un traitement d'une durée indéfinie par anticoagulant. Cette anticoagulation au long cours est nécessaire, une revue de la littérature a en effet montré que la récurrence après l'arrêt du traitement était 40% plus élevée dans une population avec un SAPL que dans une population avec des thromboses non reliées à un SAPL<sup>132</sup>. Cette durée peut être réduite à 3 à 6 mois chez les patients présentant un premier événement veineux, avec un profil biologique à faible risque et un facteur déclenchant transitoire.

L'estimation du risque de saignement est essentielle avant l'instauration d'un traitement au long cours, plus particulièrement lors de posologies élevées ou d'association médicamenteuses.

Pour les cas difficiles ou résistants, chez des patients présentant des thromboses récidivantes, des fluctuations de l'INR, des saignements majeurs ou des risques hémorragiques graves, les

alternatives thérapeutiques pourraient comporter les traitements par HBPM au long cours, l'hydroxychloroquine ou les statines.

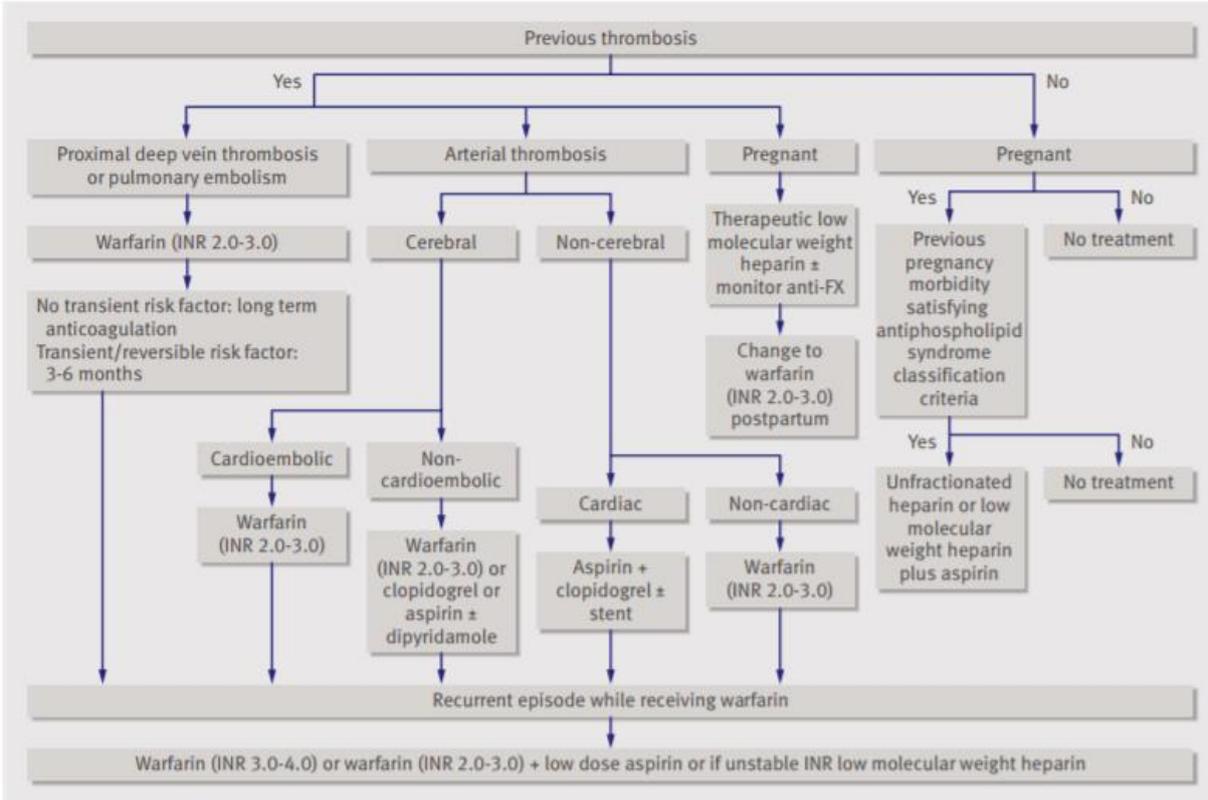


FIGURE 20 ALGORITHME DU TRAITEMENT DU SAPL<sup>59</sup>

## DEUXIEME PARTIE :

### EVALUATION DU SILICA CLOTTING TIME DANS LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES

---

## I. OBJECTIF DE L'ÉTUDE

L'objectif de notre étude est d'évaluer le réactif Silica Clotting Time (SCT) proposé par le laboratoire Werfen® (HemosIL® Silica Clottig Time) dans le diagnostic biologique du SAPL, en le comparant avec les deux techniques utilisées au laboratoire d'hématologie du CHU Timone, le PTT-LA et le dRVVT.

## II. SILICA CLOTTING TIME

Le SCT fut décrit pour la première fois par Chantarangkul et son équipe<sup>133</sup>. Leur but était de développer un test de dépistage simple, utilisant la silice comme activateur et compatible avec les automates photo-optiques, combiné à un test de confirmation, afin de faciliter le diagnostic du LA et de remplacer le KCT. En effet, le kaolin, en raison de problème de turbidimétrie et de sédimentation, n'est pas compatible avec les appareils photo-optiques.

A partir de plasmas de différents groupes de population, ces chercheurs ont déterminé la concentration optimale en silice (17.5 mg/dL), l'influence et la concentration optimale en PL (16.1 µg/mL et 1.61 mg/dL). Ils ont montré que l'utilisation d'une faible concentration en PL permettait une meilleure discrimination entre patients et sujets sains, à l'inverse d'une concentration nulle en PL.

Ils ont ensuite étudié la performance du SCT en calculant le pourcentage de correction pour chaque patient.

$$\% \text{ de correction} = \frac{SCT (\text{low phospholipids}) - SCT (\text{high phospholipids})}{SCT (\text{low phospholipids})} \times 100$$

La valeur de positivité a été établie à un pourcentage de correction supérieur à 4.6% (95<sup>e</sup> percentile de la distribution d'une population de sujets sains).

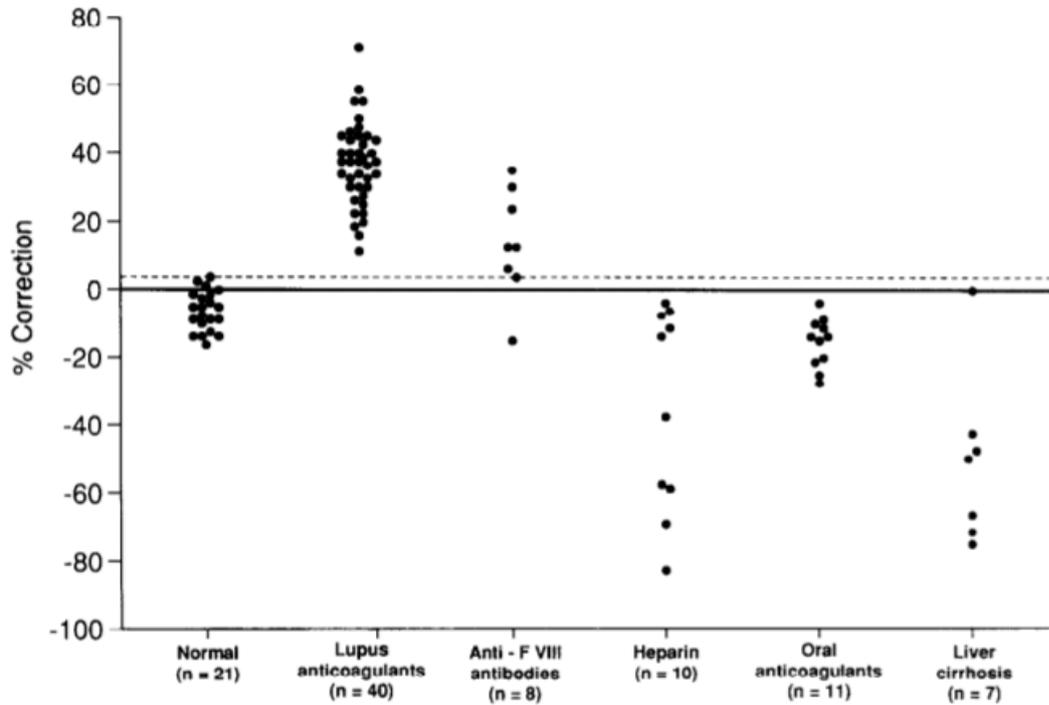


FIGURE 21 POURCENTAGE DE CORRECTION DU SCT A FAIBLE ET FORTE CONCENTRATION

Le pourcentage de correction des patients a été supérieur à la valeur seuil déterminée pour les patients préalablement diagnostiqués avec un LA par une autre technique, et inférieur pour tous les autres groupes, à l'exception de sept des huit patients hémophiles présentant des anti-facteurs VIII. L'équipe conclut donc à une grande sensibilité (100%) du SCT, permettant de différencier les LA des autres causes d'allongement des temps de coagulation comme les traitements anticoagulants oraux, l'héparine ou les cirrhoses du foie. En revanche, la spécificité est moins bonne, en particulier pour les patients présentant un anticorps anti-facteur VIII.

### III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

#### 1) Sélection des patients

Les plasmas de 230 patients, ayant bénéficié, sur la période de mars 2017 à septembre 2017, d'une demande de recherche de LA dans le laboratoire d'hématologie de l'hôpital de la Timone (Marseille, AP-HM, France), ont été sélectionnés. Parmi eux, 16 patients ont été exclus de l'étude en raison d'une héparinémie circulante supérieure à 0.15 UI/mL au moment du prélèvement.

L'effectif total de l'étude fut donc de 214 patients, comprenant 132 femmes et 82 hommes, âgés de 2 à 95 ans (avec une moyenne d'âge de 47 ans). La majorité des demandes (plus de 70%) provenaient du service de Médecine Interne du CHU Timone et du Centre d'Exploration des pathologies Hémorragiques et Thrombotiques (CEHT).

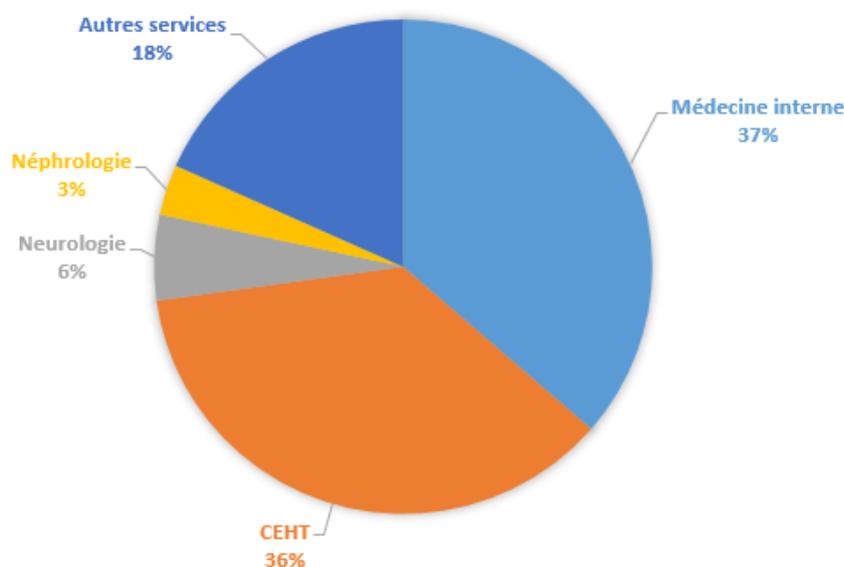


FIGURE 22 REPARTITION DES DEMANDES PAR SERVICE

Durant cette étude, deux approches ont été choisies afin d'étudier au mieux les performances SCT.

**La première approche** a consisté à évaluer le test SCT selon des critères purement biologiques. Dans ce cadre, la totalité de l'effectif, soit 214 patients, a été séparée en quatre groupes en fonction des résultats des tests utilisés en pratique au laboratoire, à savoir la

positivité ou non du test PTT-LA et du test DRVVT. Nous n'avons pas pris en compte, dans cette répartition, les résultats des explorations réalisées en Immunologie à savoir la présence ou pas d'aCL et/ou anti-B2GPI. Nous avons ainsi constitué 4 groupes. :

- Groupe A, composé des patients PTT-LA+/dRVVT-
- Groupe B, composé des patients PTT-LA-/dRVVT+
- Groupe C, composé des patients PTT-LA+/dRVVT+
- Groupe D, composé des patients PTT-LA-/dRVVT-

**La deuxième approche** a été réalisée en prenant en compte des données cliniques. L'effectif a été réduit à 126 patients, après exclusion des 88 patients non contrôlés à 12 semaines.

Quatre groupes ont été constitués en fonction de la clinique et de la biologie, selon les critères internationaux de classification du SAPL :

- Groupe 1, composé des patients LA+ à deux reprises à 12 semaines d'intervalle avec au moins un critère clinique du SAPL (thrombose et/ou complications obstétricales)
- Groupe 2, composé des patients LA+ à deux reprises à 12 semaines d'intervalle sans critères cliniques du SAPL
- Groupe 3, composé des patients LA- avec un contexte auto-immun
- Groupe 4, composé des patients LA- sans contexte auto-immun, avec ou sans critères cliniques du SAPL (thrombose et/ou complications obstétricales)

Dans cette analyse, une comparaison avec le profil immunologique (présence ou absence des aCL et des B2GPI) a été, de plus, réalisée.

## 2) Méthodes

Les plasmas ont été collectés, selon les recommandations du GFTH, sur des tubes citrate trisodique 0.109M et double-centrifugés afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Ils ont été conservés à au moins -30°C et décongelés 5 minutes au bain-marie avant utilisation.

Le PTT-LA (PTT-LA<sup>®</sup> Diagnostica Stago) et le dRVVT Screen et Confirm (STA<sup>®</sup>-Sta clot<sup>®</sup> DRVV Screen and STA<sup>®</sup>-Sta clot<sup>®</sup> DRVV Confirm, Diagnostica Stago) ont été réalisés sur l'analyseur STA-R Max<sup>®</sup> (groupe Stago).

Des contrôles de qualité ont été réalisés avant chaque manipulation, avec un plasma humain citraté négatif ou positif en LA, lyophilisés (STA<sup>®</sup> Control LA 1+2 Diagnostica Stago).

Les tests de mélange ont été effectués à volume égal avec un plasma humain citraté, lyophilisé (COAG-NORM<sup>®</sup> Diagnostica Stago).

Les analyses ont été exécutées selon les procédures en vigueur au laboratoire et les résultats ont été exprimés en IR pour le PTT-LA et en ratio normalisé pour le dRVVT. La présence d'un LA fut conclue pour tous les patients avec au moins un des deux tests positifs (IR > 15 et/ou ratio normalisé dRVVT > 1.2).

Le SCT (HemosIL<sup>®</sup> Silica Clottig Time) a été testé sur l'analyseur ACL TOP 500<sup>®</sup> (groupe Werfen), avec les réactifs :

- SCT Screen contenant une suspension colloïdale de silice, du tampon et un conservateur,
- SCT Confirm contenant une suspension colloïdale de silice, des PL synthétiques, du tampon et un conservateur,
- SCT CaCl<sub>2</sub> contenant du polybrène et un conservateur.

Des contrôles de qualité ont été réalisés avant chaque manipulation. Le contrôle positif (HemosIL<sup>®</sup> LA Positive Control) est un lyophilisat préparé à partir de plasmas humains issus de donneurs chez qui la présence d'aPL est avérée, afin d'obtenir un pool de plasma, additionné de tampon. Le contrôle négatif (HemosIL<sup>®</sup> LA Negative Control) est un lyophilisat préparé à partir de plasmas humains citratés pauvres en plaquettes afin d'obtenir un pool de plasma normal additionné de tampon.

Quarante témoins sains de moins de 50 ans, sans histoire clinique de thromboses et/ou de complications obstétricales et sans traitement anticoagulant, ont permis d'établir les temps témoins (moyenne des valeurs normales en seconde) Screen (37 secondes) et Confirm (33 secondes), utilisés dans les calculs de ratio.

Le même groupe de témoins a, de plus, permis d'établir la valeur seuil de positivité du ratio SCT normalisé. Elle correspond au 99<sup>e</sup> percentile, comme préconisé par les recommandations internationales, et a été établie à 1,24.

Les résultats ont été exprimés en ratio, et le résultat final en ratio normalisé.

$$\text{Ratio Screen} = \frac{\text{Résultats Screen patient (secondes)}}{\text{Moyenne des valeurs normales en Screen (secondes)}}$$

$$\text{Ratio Confirm} = \frac{\text{Résultats Confirm du patient (secondes)}}{\text{oyenne des valeurs normales en Confirm (secondes)}}$$

$$\text{Ratio SCT normalisé} = \frac{\text{Ratio Screen}}{\text{Ratio Confirm}}$$



FIGURE 23 STA-R MAX® (DIAGNOSTICA STAGO) ET ACL TOP 500® (WERFEN)

La recherche des aCL et des anti-B2GPI a été effectuée au laboratoire d'Immunologie de l'hôpital de la Conception sous la direction du Pr Bardin (Marseille, AP-HM, France).

Les IgG et IgM anti-B2GPI ont été mesurés par deux kits ELISA spécifiques ORGENTEC diagnostika® selon les recommandations du fabricant, utilisant une B2GPI purifiée directement liée aux micropuits, avec un seuil de positivité fixé à 8 UI/mL.

Les aCL ont été déterminés avec deux ELISA "maison", avec des seuils de positivité établis à 22 UI/mL pour les IgG et 10 UI/mL pour les IgM.

## IV. RÉSULTATS

### 1) Approche biologique

Après analyse des étapes de dépistage, mélange et confirmation du PTT-LA et du dRVVT des 214 plasmas sélectionnés au laboratoire, 135 plasmas ont été considérés comme positifs pour un ou les deux tests utilisés au laboratoire, soit 63% de la cohorte.

L'analyse de l'ensemble de la cohorte (=214) par le SCT retrouve seulement 81 patients positifs (37.9%), en se basant sur l'interprétation du ratio normalisé (un ratio supérieur à 1.24 donnant un résultat positif).

Cette analyse globale met en évidence 62% de résultats négatifs avec le SCT, donc une grande majorité des prélèvements.

L'analyse de ces prélèvements selon les méthodes de référence du laboratoire d'hématologie révélait 63% de prélèvements positifs.

L'analyse par le test statistique du Chi-2 d'indépendance montre une différence significative entre les résultats ( $\chi^2=27.3$ ,  $p=1.78.10^{-7}$ ).

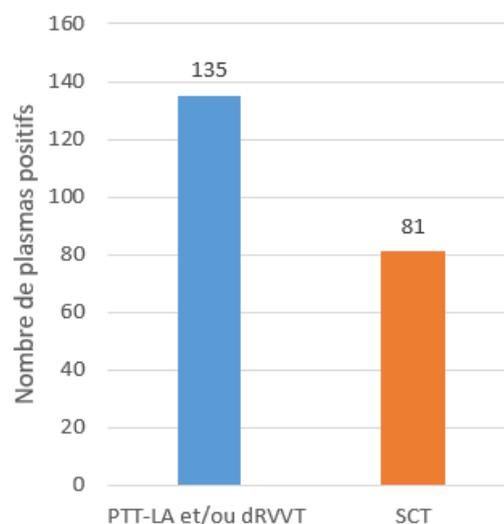


FIGURE 24 NOMBRE DE PLASMAS POSITIFS SELON LES METHODES UTILISEES AU LABORATOIRE ET LE SCT

Ces premiers résultats ont permis de déterminer la sensibilité (Se) et la spécificité (Sp) de la méthode SCT, comparées aux techniques utilisées dans notre laboratoire, ainsi que la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN).

	PTT-LA et/ou dRVVT positifs	PTT-LA et dRVVT négatifs
SCT positif	Vrais positifs = 78	Faux positifs = 3
SCT négatif	Faux négatifs = 57	Vrais négatifs = 76

$Se = \frac{78}{78 + 57} = 57.8\%$	$Sp = \frac{76}{76 + 3} = 96.2\%$
$VPP = \frac{78}{78 + 3} = 96.3\%$	$VPN = \frac{76}{76 + 57} = 57.1\%$

La sensibilité, représentant la capacité du test à donner un résultat positif chez un patient malade, est de 57.8%.

La spécificité, représentant la capacité du test à donner un résultat négatif chez un patient non malade, est de 96.2%. Ce pourcentage est probablement sous-estimé. En effet, deux des trois plasmas négatifs en PTT-LA et dRVVT mais positifs en SCT proviennent de patients ayant déjà eu des résultats antérieurs positifs, pouvant ainsi faire évoquer des probables faux négatifs en PTT-LA et dRVVT.

La VPP, représentant la probabilité que la maladie soit présente lorsque le test est positif, est de 96.3%. Elle est, de même que la spécificité, probablement sous-estimée.

La VPN, représentant la probabilité que la maladie ne soit pas présente lorsque le test est négatif, est de 57.1%.

**Ces résultats montrent donc une très bonne spécificité, ainsi qu'une très haute VPP du SCT. En revanche, la sensibilité et la VPN sont faibles, ce qui expose à un fort risque de faux négatifs.**

En fonction du profil biologique obtenu selon les méthodes utilisées au laboratoire, quatre groupes ont été constitués afin d'évaluer le comportement du SCT dans chacun d'entre eux :

- 22 plasmas (10.3%) ont été inclus dans le groupe A (PTT-LA+/dRVVT-),
- 67 plasmas (31.3%) dans le groupe B (PTT-LA-/dRVVT+),
- 46 plasmas (21.5%) dans le groupe C (PTT-LA+/dRVVT+),
- 79 plasmas (36.9%) dans le groupe D (PTT-LA-/dRVVT-).

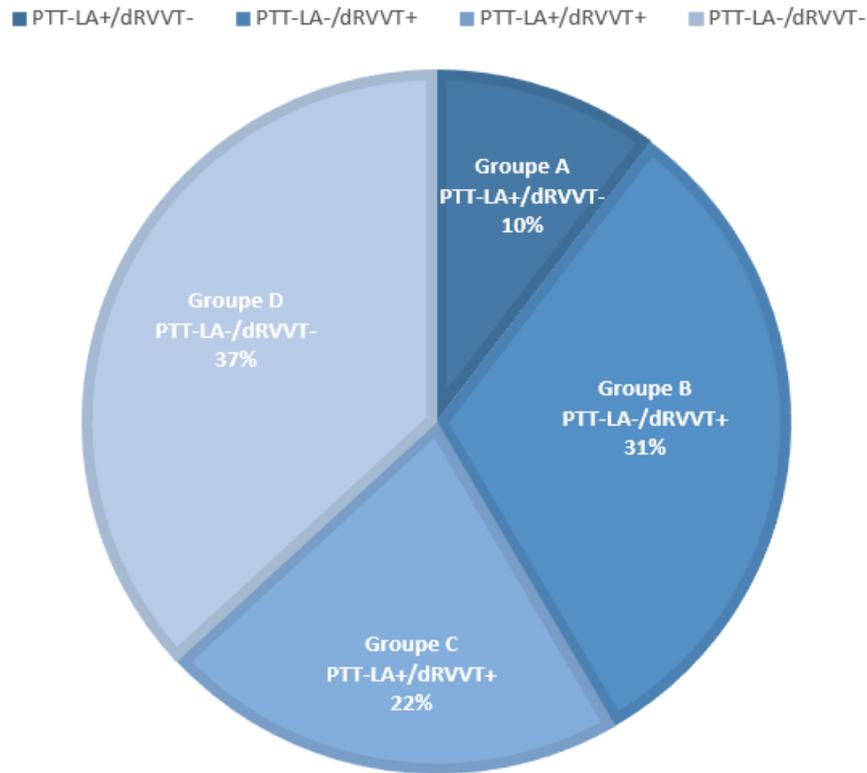


FIGURE 25 REPARTITION DES PLASMAS DANS CHAQUE GROUPE

Les pourcentages de plasmas positifs et négatifs, obtenus avec le réactif SCT, diffèrent entre chaque groupe :

- 22.7% positifs et 77.3% négatifs dans le groupe A,
- 44.8% positifs et 55.2% négatifs dans le groupe B,
- 93.5% positifs et 6.5% dans le groupe C,
- 3.8% positifs et 96.2% négatifs dans le groupe D.

TABEAU 1 : RESULTATS DU SCT EN FONCTION DES DIFFERENTS GROUPES BIOLOGIQUES

	Groupe A PTT-LA+ /dRVVT-	Groupe B PTT-LA- /dRVVT+	Groupe C PTT-LA+ /dRVVT+	Groupe D PTT-LA- /dRVVT-
N	22	67	46	79
SCT+				
N	5	30	43	3
%	22.7%	44.8%	93.5%	3.8%
SCT-				
N	17	37	3	76
%	77.3%	55.2%	6.5%	96.2%

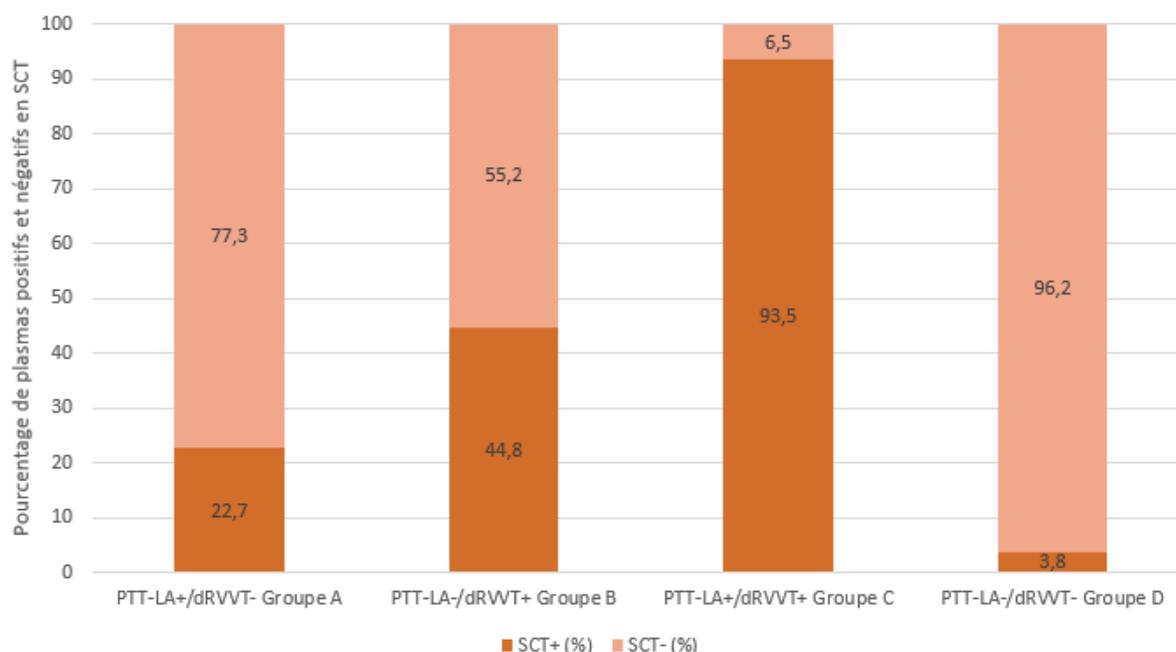


FIGURE 26 POURCENTAGE DE PLASMAS POSITIFS ET NEGATIFS EN SCT EN FONCTION DES DIFFERENTS GROUPES BIOLOGIQUES

Ces différents pourcentages montrent une grande disparité entre chaque groupe.

**Dans le groupe A, lorsque le PTT-LA est le seul test positif, seulement 22.7% des plasmas sont positifs en SCT. Ce pourcentage augmente à 44.8% dans le groupe B, lorsque le dRVVT est le seul test positif. En revanche, lorsque les deux tests de référence sont positifs, le pourcentage de positifs en SCT est de 93.5%.**

En comparant, plus précisément, le PTT-LA et le SCT, la sensibilité obtenue est de 70.6%, la spécificité de 77.4%, la VPP de 59.2% et la VPN de 85%. Lorsque la comparaison n'est faite que sur ces deux tests, la sensibilité augmente au détriment de la spécificité.

De même, en comparant le dRVVT et le SCT, la sensibilité obtenue est de 64.6%, la spécificité de 92.1%, la VPP de 90.1% et la VPN de 69.9%. Ces pourcentages sont comparables à ceux obtenus en combinant les deux tests.

TABEAU 2 : SENSIBILITE, SPECIFICITE, VPP ET VPN DU SCT EN FONCTION DE CHAQUE TECHNIQUE

	<b>Sensibilité</b>	<b>Spécificité</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>
SCT vs. PTT-LA	70.6%	77.4%	59.2%	85%
SCT vs. dRVVT	64.4%	92.1%	90.1%	69.9%

Le calcul du coefficient de corrélation permet d'étudier l'intensité de la liaison qui peut exister entre deux ou plusieurs variables. Sa valeur se situe entre [-1, 1] et plus elle est proche de 1 ou -1, plus le lien linéaire entre les deux variables est fort.

Pour l'étude du coefficient de corrélation, deux populations ont été étudiées : les plasmas PTT-LA+ avec une comparaison de l'IR et du ratio normalisé du SCT, et les plasmas dRVVT+ avec une comparaison des ratios normalisés dRVVT et SCT.

Le coefficient de corrélation entre l'IR et le ratio normalisé du SCT est de 0.56 (figure 27), ce qui indique une faible corrélation positive. En revanche, le coefficient de corrélation entre les ratios normalisés du dRVVT et du SCT est de 0.83 (figure 28), ce qui montre une forte relation positive.

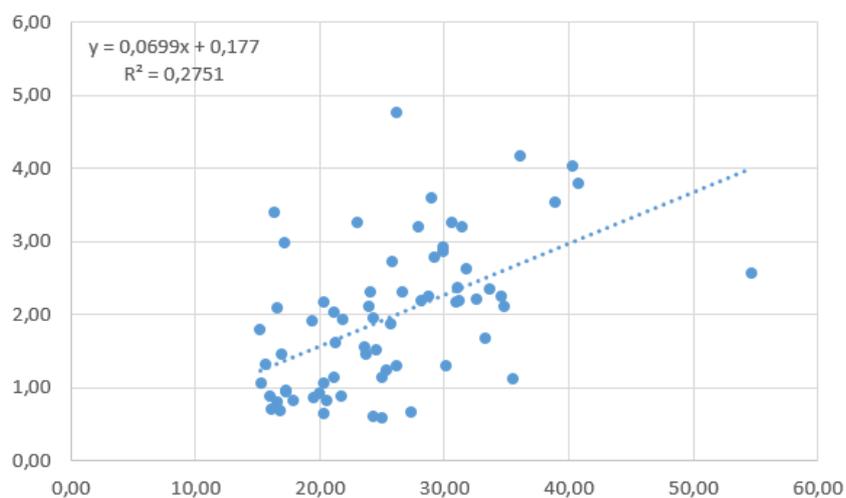


FIGURE 27 DROITE DE REGRESSION LINEAIRE PTT-LA ET SCT

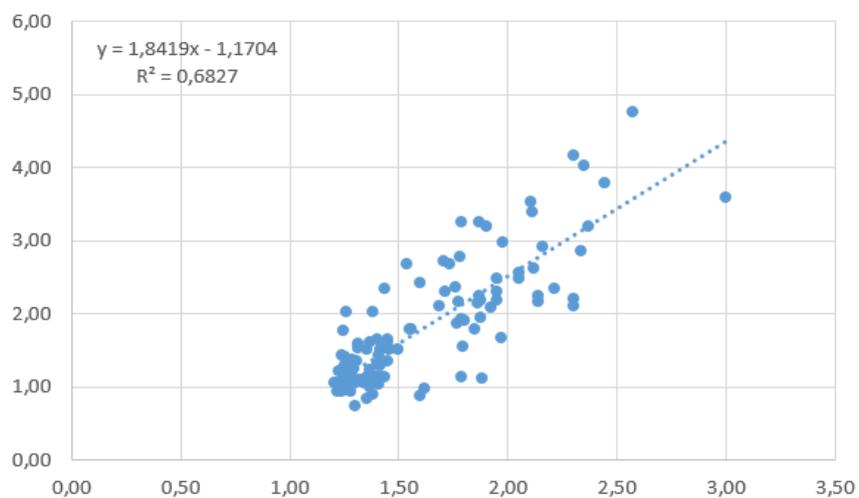


FIGURE 28 DROITE DE REGRESSION LINEAIRE DRVVT ET SCT

**Tous ces résultats tendent à établir une corrélation plus forte entre le SCT et le dRVVT qu'entre le SCT et le PTT-LA.**

En associant dans l'analyse les résultats des aCL et des anti-B2GPI, la sensibilité du SCT varie considérablement.

En s'intéressant à la population LA+ avec au moins un marqueur immunologique positif (aCL ou anti-B2GPI positif), la sensibilité du SCT passe à 81.2%, augmentant ainsi de 35.3%. De même dans la population triple positive (PTT-LA et/ou dRVVT, aCL et anti-B2GPI positifs), la sensibilité du SCT passe à 93.1%.

**En conclusion de l'approche biologique, le SCT présente une bonne spécificité, mais une sensibilité assez faible, comparé aux tests utilisés actuellement au laboratoire. Il est, de plus, mieux corrélé au dRVVT qu'au PTT-LA.**

## 2) Approche clinique

L'interprétation la plus pertinente doit être réalisée en prenant en compte les critères cliniques, le SAPL étant, selon sa définition, basé sur l'association de critères biologiques et cliniques.

En ne se basant, tout d'abord, uniquement sur des critères cliniques (présence ou absence de thromboses et/ou complications obstétricales), 113 patients des 214 inclus dans notre étude ont présenté des événements cliniques. Parmi eux, 43 (38.1%) ont un SCT positif et 70 (61.9%) un SCT négatif. Les 101 patients restants n'ont jamais eu d'événements cliniques, 38 (37.6%) présentent un SCT positif et 63 (62.4%) un SCT négatif. Une sensibilité de 38.1% et une spécificité de 62.3% du SCT sont obtenus en fonction du seul critère clinique.

En prenant en compte à la fois des critères cliniques et biologiques, quatre groupes ont été formés (tableau 3) :

- Groupe 1 (n= 27) composé des patients LA+ à deux reprises à 12 semaines d'intervalle avec au moins un critère clinique du SAPL (thrombose et/ou complications obstétricales) et/ou des aCl et/ou anti-B2GP1
- Groupe 2 (n= 22) composé des patients LA+ à deux reprises à 12 semaines d'intervalle sans critères cliniques du SAPL

- Groupe 3 (n= 19) composé des patients LA- avec un contexte auto-immun
- Groupe 4 (n= 58) composé des patients LA- sans contexte auto-immun, avec ou sans critères cliniques du SAPL (thrombose et/ou complications obstétricales)

Le groupe 1 est composé à 78% de femmes, la moyenne d'âge se situe à 46 ans et 37% des patients ont des maladies auto-immunes associées. Les critères cliniques sont à 55% des thromboses veineuses, 22% des thromboses artérielles et 22% des complications obstétricales. Le groupe 2 est composé à 73% de femmes, la moyenne d'âge se situe à 50 ans et 59% des patients ont des maladies auto-immunes associées.

Le groupe 3 est composé à 95% de femmes, la moyenne d'âge se situe à 37 ans et 100% des patients présentent donc une maladie auto-immune. Aucun n'a eu de thromboses ou de complications obstétricales dans son histoire médicale.

Le groupe 4 est composé à 66% de femmes, la moyenne d'âge se situe à 48 ans. Au niveau clinique, 43% ont présenté des thromboses veineuses, 9% des thromboses artérielles, 12% des complications obstétricales, et 35% n'ont jamais eu de thromboses et/ou de complications obstétricales.

TABEAU 3 : DONNEES DEMOGRAPHIQUES, CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DES DIFFERENTS GROUPES

	<b> GROUPE 1</b>	<b> GROUPE 2</b>	<b> GROUPE 3</b>	<b> GROUPE 4</b>
<b> N</b>	27	22	19	58
% femmes	78%	73%	95%	66%
Moyenne d'âge (SD)	46 ans (+/-13)	50 ans (+/-19)	37 ans (+/-15)	48 ans (+/-17)
Thromboses vein. (n, %)	15, 55%	-	-	25, 43%
Thromboses art. (n, %)	6, 22%	-	-	5, 9%
Complications obst. (n, %)	6, 22%	-	-	7, 12%
MAI associées (n, %)	10, 37%	13, 59%	19, 100%	-
PTT-LA+/dRVVT- (n, %)	-	2, 9%	-	-
PTT-LA+/dRVVT+ (n, %)	10, 37%	6, 27%	-	-
PTT-LA-/dRVVT+ (n, %)	15, 56%	14, 64%	-	-
PTT-LA-/dRVVT- (n, %)	2, 7%	-	19, 100%	58, 100%
aCL+/anti-B2GPI - (n, %)	-	2, 9%	-	1, 2%
aCL-/anti-B2GPI+ (n, %)	1, 4%	2, 9%	1, 5%	2, 3%
aCL+/anti-B2GPI+ (n, %)	14, 52%	6, 27%	-	1, 2%
aCL-/anti-B2GPI- (n, %)	12, 44%	11, 50%	15, 79%	49, 84%
Non réalisés (n, %)	-	1, 5%	3, 16%	5, 8%

TABEAU 4 : RESULTATS DU SCT EN FONCTION DES DIFFERENTS GROUPES CLINIQUES

	<b>GROUPE 1</b>	<b>GROUPE 2</b>	<b>GROUPE 3</b>	<b>GROUPE 4</b>
<b>N</b>	27	22	19	58
<b>SCT+</b>				
<b>N</b>	23	19	0	0
<b>%</b>	85.2%	86.4%	0%	0%
<b>SCT-</b>				
<b>N</b>	4	3	19	58
<b>%</b>	14.8%	13.6%	100%	100%

TABEAU 5: RESULTATS DU SCT EN FONCTION DES DIFFERENTS GROUPES CLINIQUES ET DU PROFIL BIOLOGIQUE

	<b>GROUPE 1</b>	<b>GROUPE 2</b>	<b>GROUPE 3</b>	<b>GROUPE 4</b>
<b>N</b>	27	22	19	58
<b>PTT-LA+/dRVVT-</b>				
<b>N</b>	0	2	0	0
<b>SCT+ (n, %)</b>	-	1, 50%	-	-
<b>SCT- (n, %)</b>	-	1, 50%	-	-
<b>PTT-LA-/dRVVT+</b>				
<b>N</b>	10	6	0	0
<b>SCT+ (n, %)</b>	6, 60%	5, 83.3%	-	-
<b>SCT- (n, %)</b>	4, 40%	1, 16.7%	-	-
<b>PTT-LA+/dRVVT+</b>				
<b>N</b>	15	14	0	0
<b>SCT+ (n, %)</b>	15, 100%	13, 92.9%	-	-
<b>SCT- (n, %)</b>	-	1, 7.1%	-	-
<b>PTT-LA-/dRVVT-</b>				
<b>N</b>	2	0	19	58
<b>SCT+ (n, %)</b>	2, 100%	-	-	-
<b>SCT- (n, %)</b>	-	-	19, 100%	58, 100%

**Dans le groupe 1**, 85.2% des plasmas sont positifs en SCT et 14.8% sont négatifs.

Le SCT est négatif chez 4 patients. Ces patients présentent pourtant un critère biologique, avec un dRVVT positif isolément persistant à 12 semaines, sans marqueur immunologique associé et un critère clinique du SAPL (un antécédent d'AVC, une EP, des thromboses veineuses profondes récidivantes et des complications obstétricales).

**En revanche, lorsque les deux tests de référence sont positifs, 100% des patients sont positifs en SCT.**

Deux patients connus pour un SAPL (avec au moins un critère clinique et un LA déterminé à deux reprises à plus de 12 semaines sur des prélèvements précédents, et un avec un anti-B2GPI associé) présentent un PTT-LA et un dRVVT négatifs pour les plasmas testés. Il est important de souligner que pour ces mêmes patients, le SCT est positif.

**Dans le groupe 2**, 86.4% des plasmas sont positifs en SCT et 13.6% sont négatifs.

Le SCT est négatif chez 3 patients. Le premier présente cliniquement une thrombose veineuse superficielle, et biologiquement un dRVVT positif isolément persistant, sans marqueurs immunologiques. Le second est suivi pour une maladie de Willebrand et présente un PTT-LA positif isolément persistant, sans marqueurs immunologiques. Le troisième est suivi pour une thalassémie avec hémochromatose post-transfusionnelle et est positif à la fois en PTT-LA et en dRVVT (les marqueurs immunologiques n'ont pas été réalisés pour ce dernier).

**Dans les groupes 3 et 4**, les résultats obtenus avec le SCT sont identiques à ceux obtenus par les méthodes utilisées au laboratoire. En effet, 100% des patients de ces deux groupes sont négatifs en SCT, de même qu'en PTT-LA et dRVVT.

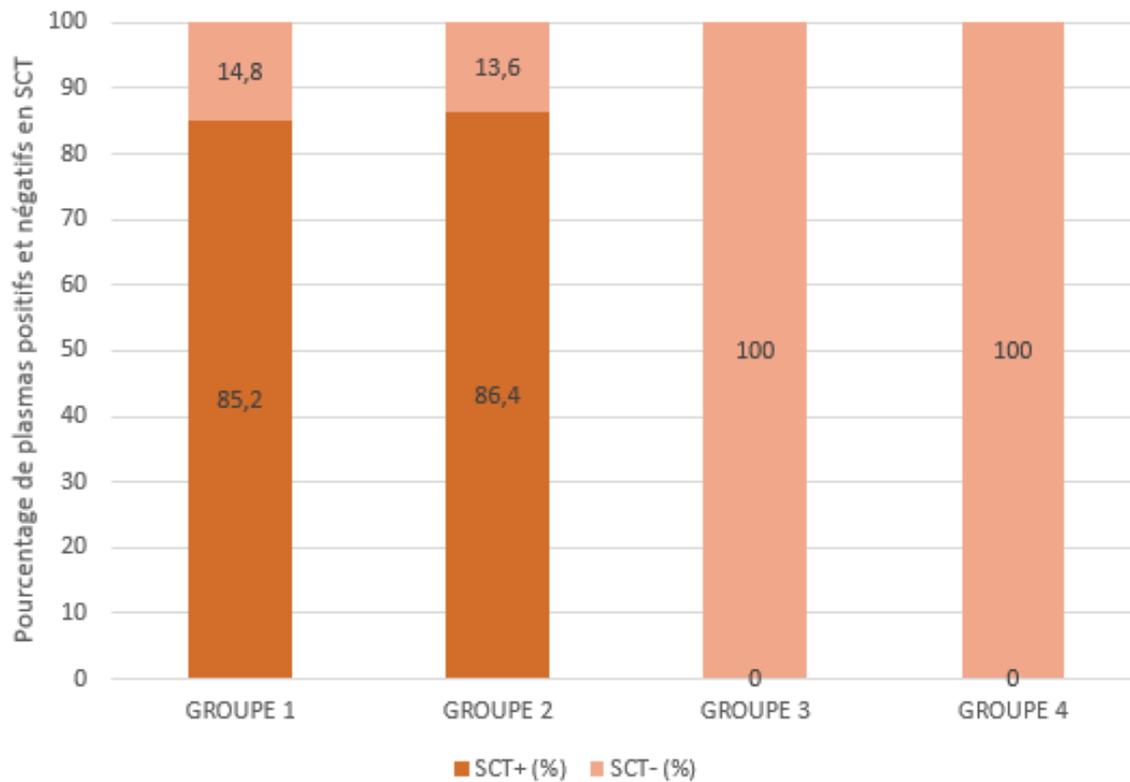


FIGURE 29 POURCENTAGE DE PLASMAS POSITIFS ET NEGATIFS EN SCT EN FONCTION DES DIFFERENTS GROUPES CLINIQUES

	Groupe 1 et 2	Groupe 3 et 4
SCT positif	Vrais positifs = 42	Faux positifs = 0
SCT négatif	Faux négatifs = 7	Vrais négatifs = 77

$Se = \frac{42}{42 + 7} = 85.7\%$	$Sp = \frac{77}{77 + 0} = 100\%$
$VPP = \frac{42}{42 + 0} = 100\%$	$VPN = \frac{77}{77 + 7} = 91.7\%$

En formant des groupes en fonction de la clinique et la biologie, la sensibilité, spécificité, VPP et VPN augmentent considérablement à 85.7%, 100%, 100% et 91.7% respectivement.

**Du point de vue immunologique, 100% des patients des groupes 1 et 2 chez qui la recherche des aCL et/ou des anti-B2GPI est positive, présentent un SCT positif.** Les trois types de profils immunologiques sont présents, avec une grande majorité (80%) de patients doubles positifs (aCL+ et anti-B2GPI +). Les 20% restants sont aCL+ (12%) ou anti-B2GPI+ (8%).

Lorsque le profil immunologique est négatif, la répartition est, par contre, plus aléatoire. Le SCT est positif à 67% et donc négatif à 33% dans le groupe 1. Dans le groupe 2, il est positif dans 82% et négatif dans 18% des cas.

TABLEAU 6 RESULTATS DES DIFFERENTS TESTS EN FONCTION DU PROFIL IMMUNOLOGIQUE

\* dont 1 sans profil immunologique réalisé

	<b>IMMUNOLOGIE + aCL et/ou anti-B2GPI +</b>	<b>IMMUNOLOGIE - aCL et anti-B2GPI -</b>
<b>Groupe 1 (N=27)</b>		
N	15	12
PTT-LA+/dRVVT- (n, %)	-	-
PTT-LA-/dRVVT+ (n, %)	4, 27%	6, 50%
PTT-LA+/dRVVT+ (n, %)	10, 67%	5, 42%
PTT-LA-/dRVVT- (n, %)	1, 6%	1, 8%
SCT+ (n, %)	15, <b>100%</b>	8, 67%
SCT- (n, %)	-	4, 33%
<b>Groupe 2 (N=22*)</b>		
N	10	11
PTT-LA+/dRVVT- (n, %)	-	2, 18%
PTT-LA-/dRVVT+ (n, %)	3, 30%	3, 27%
PTT-LA+/dRVVT+ (n, %)	7, 70%	6, 55%
SCT+ (n, %)	10, <b>100%</b>	9, 82%
SCT- (n, %)	-	2, 18%

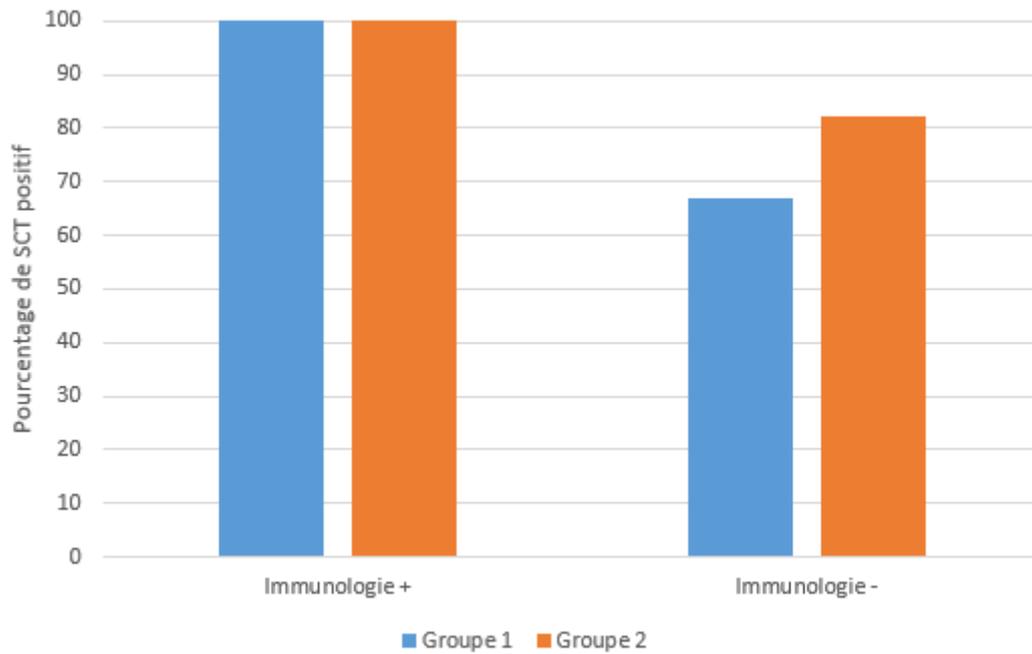


FIGURE 30 POURCENTAGE DE SCT POSITIFS EN FONCTION DE L'IMMUNOLOGIE ET DES GROUPES

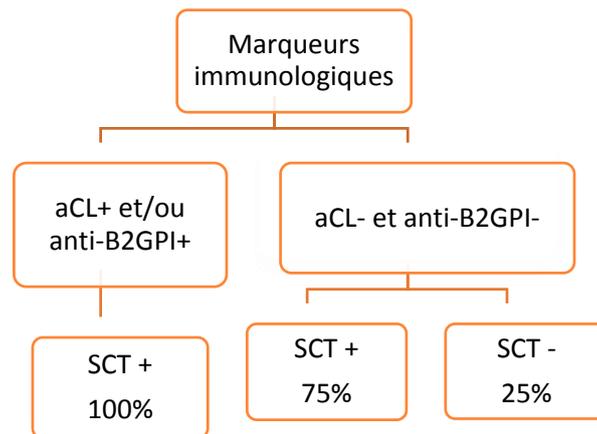


FIGURE 31 POURCENTAGE DE SCT POSITIFS ET NEGATIFS EN FONCTION DU PROFIL IMMUNOLOGIQUE

**En conclusion de l'approche clinique, en formant des groupes en fonction de la clinique et de la biologie, la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN du SCT augmentent fortement. De plus, le SCT montre une très bonne corrélation avec les profils immunologiques positifs.**

## V. DISCUSSION

Notre étude nous a donc permis d'évaluer le réactif SCT, en le comparant aux techniques utilisées au laboratoire d'Hématologie du CHU Timone, le PTT-LA et le dRVVT.

Nos résultats de l'approche biologique indiquent une sensibilité de 57.8% et une spécificité de 96.2%. Une forte corrélation avec le dRVVT a été mise en évidence. L'analyse basée sur les données clinico-biologiques permet d'augmenter considérablement la sensibilité (85.7%) et la spécificité (100%). Une forte corrélation avec les marqueurs immunologiques a été observée, en particulier entre les patients connus comme « triples positifs ».

Malgré un effort de standardisation par les différents groupes internationaux d'Hématologie et plusieurs tests disponibles sur le marché, le diagnostic du LA reste aujourd'hui une démarche biologique complexe. L'une des grandes difficultés est l'absence de gold-standard, c'est-à-dire qu'il n'existe aucun test de référence permettant d'affirmer ou non la présence d'un LA. De plus, parmi les tests disponibles, aucun n'est ni assez sensible ni assez spécifique, ce qui nécessite l'utilisation de deux techniques basées sur des méthodologies différentes pour démontrer la dépendance aux PL. Cependant, le diagnostic final du SAPL dans une population présentant les critères cliniques est entièrement basé sur les résultats biologiques, la sensibilité et spécificité des tests diagnostic est donc d'une grande importance. Une des questions qui se pose est de savoir si nous devons privilégier la sensibilité ou la spécificité dans la démarche diagnostic. Des données récentes de plusieurs essais cliniques indiquent que le problème majeur est le manque de spécificité et non de sensibilité des tests proposés<sup>134</sup>. Une des limites de notre étude est donc l'absence de gold-standard dans le diagnostic du LA. La combinaison des tests utilisés dans notre laboratoire, PTT-LA et dRVVT, a donc été utilisée comme référence.

L'étude de la sensibilité et de la spécificité est une étape indispensable afin d'évaluer l'efficacité et l'intérêt d'une nouvelle technique de diagnostic. Les résultats de ces deux paramètres varient selon l'approche choisie et les critères utilisés (biologique, clinique et/ou immunologique), comme nos résultats le montrent.

Suite à la première description du SCT par Chantarangkul et son équipe, plusieurs études ont été réalisées afin d'évaluer cette nouvelle méthode de diagnostic. Les premières ont consisté à

affirmer les premiers résultats publiés, en comparant le SCT et le KCT. Tout d'abord, Norbis et son équipe<sup>135</sup> ont montré une corrélation très significative à 0.936 entre ces deux tests. Plus tard, Dragoni et son équipe<sup>136</sup> ont utilisé la méthode de Bland et Altman, plus adaptée à la comparaison de résultats obtenus par deux techniques différentes. Leur démarche leur a permis d'aboutir à une bonne concordance, une bonne sensibilité (98.6%) et spécificité (100%) du SCT comparé au KCT.

Une étude de 2006, par Grypiotis et son équipe<sup>137</sup>, s'intéresse à l'utilisation du SCT chez des patients présentant les critères cliniques du SAPL. Leur démarche est différente puisqu'ils sélectionnent les patients en fonction de la clinique et non de la biologie. Ils déterminent ensuite chez ces patients, ainsi que dans un groupe contrôle, la présence ou non d'un LA par trois techniques différentes : le PTT-LA, le dRVVT et le SCT. De la sorte, ils obtiennent respectivement des sensibilités de 31.1%, 31.1% et 53.3% et des spécificités de 100%, 98.9% et 96.6%. Notre étude a, quant à elle, montré une sensibilité de 38.1% et une spécificité de 62.3% en ne se basant que sur les critères cliniques. Grypiotis et son équipe ont ainsi souligné une meilleure sensibilité du SCT comparé au PTT-LA et au dRVVT, ainsi qu'une très bonne spécificité, identique aux autres tests. La combinaison dRVVT/SCT fait apparaître une meilleure sensibilité que la combinaison dRVVT/PTT-LA. Cependant, aucune différence significative n'avait été observée entre la sensibilité et la spécificité d'un ou de plusieurs tests combinés. Du point de vue clinique, ils ont montré une association significative de la combinaison dRVVT/SCT. En revanche, aucune corrélation n'a été retrouvée entre les événements thrombotiques et le SCT seul. Cette étude a de plus relevé une association significative entre SCT, dRVVT, dRVVT/SCT et dRVVT/PTT-LA avec les IgG anti-B2GPI et les IgG aCL, alors que le PTT-LA, lui, était associé seulement avec les IgG/IgM aCL. Cette recherche conclut ainsi que le SCT est un test sensible et spécifique pour le diagnostic du LA chez des patients présentant des critères cliniques du SAPL.

La même année, Devreese et son équipe<sup>138</sup> évaluent à leur tour le SCT, en le comparant plus particulièrement au PTT-LA. Pour la phase de dépistage, ils trouvent des sensibilités de 61.1% du SCT Screen et de 63.8% du PTT-LA, qui montent jusqu'à 72.2% et 90% respectivement, par l'utilisation des ratios plutôt que les temps en secondes. Pour la phase de confirmation, la sensibilité du SCT Confirm est évaluée à 30.6% avec une spécificité de 86.7%, bien moins bonnes que celles du Staclot-LA qui sont de 63.9% et 100% respectivement. Dans notre étude, en comparant le SCT au PTT-LA, nous obtenons une

sensibilité de 70.6% et une spécificité de 77.4%. Cette équipe a aussi établi que la sensibilité du SCT chez les patients présentant des critères cliniques du SAPL était inférieure au PTT-LA et au dRVVT, de même que la combinaison SCT/dRVVT avait une sensibilité inférieure à la combinaison PTT-LA/dRVVT. Ils ont donc conclu que le SCT Screen avait une sensibilité acceptable, mais qu'en revanche l'étape de confirmation avec le SCT Confirm avait une sensibilité bien inférieure à celle du Staclot-LA. La combinaison SCT/dRVVT montre une meilleure sensibilité que le SCT seul, mais elle reste inférieure à la combinaison PTT-LA/dRVVT.

Une étude récente<sup>139</sup> de 2016 s'interroge sur la précision du diagnostic du SCT dans une population présentant des symptômes cliniques variés du SAPL. Elle confirme la nécessité d'utiliser des seuils de positivité propres à l'appareil, mais préconise l'utilisation d'une méthode paramétrique, comme recommandée par le CLSI en 2016, plutôt que d'utiliser le 99<sup>e</sup> percentile d'une population saine, ceci permettant une sensibilité et une spécificité plus haute. Leurs résultats retrouvent, de même que les études précédentes, une sensibilité faible du SCT dans le groupe clinique (53%). En revanche, la sensibilité varie considérablement dans certains sous-groupes tels que les triples-positifs où elle monte à 85%. Dans notre étude, la sensibilité des triples-positifs est évaluée à 93.1%.

Dans notre étude, nous n'avons pas pris en compte les patients sous traitement anticoagulants oraux dans le diagnostic du LA. Cette question est toujours sans issue du fait des difficultés d'interprétation des résultats obtenus avec les tests chromométriques phospholipides-dépendants. Le SCT, tout comme les autres, peut conduire à de mauvaises interprétations. Une étude menée par Tripodi et son équipe, portant sur ce sujet, a montré une bonne sensibilité et une bonne spécificité du SCT chez des patients sous anticoagulants oraux<sup>140</sup>.

Cette revue de la littérature montre, en conclusion, des résultats assez similaires à ceux de notre étude. Plusieurs questions se posent alors. Est-il nécessaire de calculer ses propres valeurs seuils de positivité ? Comment expliquer la faible sensibilité du SCT ? La prise en compte du contexte clinique a-t-elle une influence sur les résultats ? Et qu'en est-t-il du profil immunologique ?

L'ISTH recommande l'utilisation de seuil de positivité au 99<sup>e</sup> percentile de cinquante témoins sains. Notre étude s'est donc basée sur ces recommandations, avec un seuil calculé à 1.24. Nous avons, tout de même, évalué la sensibilité et la spécificité, en prenant la valeur seuil

fournie par le fournisseur, qui était de 1.16. En utilisant un seuil à 1.16, la sensibilité augmente à 63% au détriment de la spécificité qui diminue à 91.1%. Nous avons donc préféré choisir le seuil à 1.24 afin d'obtenir la meilleure des spécificités. D'autres recommandations sont cependant aussi conseillées par d'autres groupes, comme l'utilisation du 97.5<sup>e</sup> percentile, non testée dans notre étude.

Les résultats de notre étude montrent une sensibilité du SCT de 57.8%, ce qui représente une faible sensibilité, mais assez comparable aux autres données disponibles dans la littérature scientifique. Aucun test, quelle que soit sa sensibilité, n'est capable à lui seul de détecter la totalité des LA. La sensibilité est donc augmentée par la combinaison de deux tests. La sensibilité, qui doit être privilégiée lors de l'étape de dépistage, est influencée par divers paramètres : la présence de plaquettes résiduelles dans le plasma, le type et la concentration de PL ou encore les caractéristiques des activateurs. Les tests utilisés au laboratoire sont reconnus pour avoir une très bonne sensibilité. Par exemple, le dRVVT, le plus corrélé aux événements thrombotiques, présente une sensibilité comprise entre 96 et 100%, en revanche sa spécificité varie de 60 à 73%. La spécificité plus faible des examens réalisés au laboratoire induisent-ils des faux-positifs, qui sont par contre bien négatifs en SCT ?

La spécificité obtenue dans notre étude est en revanche très élevée. Le risque de faux-positifs est donc faible. Les différences les plus importantes se situent en particulier dans les groupes où le LA a été conclu seulement sur un seul test positif, le PTT-LA ou le dRVVT. En remplaçant l'une ou l'autre des méthodes par le SCT, de nombreux diagnostics ne seraient pas posés. En revanche, lorsque le PTT-LA et le dRVVT sont tous les deux positifs, le SCT est lui aussi positif dans 93.5% des cas. Ces derniers sont très probablement des LA puissants, car positifs à plus d'un test, et sont donc plus thrombogènes, comme l'ont démontré Pengo et son équipe<sup>117</sup>.

Notre étude a mis en évidence une corrélation forte entre SCT et dRVVT, supérieure à celle entre le SCT et le PTT-LA. Ce résultat permet d'évaluer en première intention une bonne corrélation entre ces deux tests, cependant, l'analyse statistique choisie n'est pas la plus adaptée. En effet, la méthode de Bland et Altman aurait été plus juste dans la comparaison de deux techniques différentes.

La grande hétérogénéité des aPL peut aussi expliquer cette discordance dans les résultats obtenus. Tous les tests disponibles afin de rechercher un LA reposent sur un même principe, l'allongement des temps de coagulation PL-dépendants. Cependant, la spécificité des

anticorps d'un LA déterminé selon telle ou telle technique est, à ce jour, difficile, voire impossible, à déterminer.

Une faible proportion démontre une activité procoagulante, comme déjà cité, ceux détectés par le dRVVT avec les anti-B2GPI ou encore ceux détectés par le PTT-LA et les aPT. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que le SCT détecte un autre profil d'aPL, ce qui peut expliquer ces différences de résultats entre le SCT et les tests utilisés au laboratoire.

Notre seconde approche nous permet de préciser nos résultats en fonction des données cliniques. En ne sélectionnant les patients que sur la clinique, la sensibilité et la spécificité diminuent très largement à 38.1% et 62.3% respectivement. Ces résultats sont à nuancer. Nos connaissances sur la thrombophilie nous montrent, en effet, qu'il existe de nombreuses causes possibles de thromboses, et dans cette étude certains patients présentent d'autres facteurs de risque (mutation du facteur II de la prothrombine, mutation du facteur V Leiden, déficit en protéine C/protéine S...). De plus, nous savons qu'il existe des patients triples-positifs n'ayant encore jamais eu d'événements thrombotiques. En associant clinique et biologie, nos résultats sont plus pertinents. Dans nos groupes 1 et 2, le SCT est positif dans plus de 85% des cas, et dans le groupe 3 et 4 il est négatif dans 100% des cas comme les tests pris comme référence. Cette approche nous permet d'améliorer considérablement notre sensibilité (85.7%) et notre spécificité (100%), ainsi que nos VPP (100%) et VPN (91.7%). Dans un article, Galli et al.<sup>111</sup> ont montré que les patients avec un LA peuvent être séparés en deux groupes avec des risques différents de développer des complications thrombotiques, en fonction de leur profil de coagulation : les patients positifs en KCT appartiennent à un groupe à faible risque, alors que ceux positifs en dRVVT appartiennent à un groupe à haut risque d'événements thrombotiques. Cette notion est confirmée plus tard dans une autre étude, qui en revanche ne retrouve pas de corrélation entre SCT et thromboses<sup>141</sup>.

Une des observations mises en évidence dans ce travail est la corrélation avec l'immunologie. Dans nos groupes 1 et 2, 100% des patients avec des aPL dépistés en immunologie (aCL et/ou anti-B2GPI) ont un SCT positif. De même, la sensibilité du SCT est très élevée chez les patients triples positifs (PTT-LA et/ou dRVVT, aCL et anti-B2GPI positifs).

Les études sur le SCT restent encore assez rares dans la littérature scientifique. La plupart se limitent à une évaluation de la sensibilité, la spécificité, la concordance... L'absence de gold-standard dans le diagnostic biologique complique l'élaboration de ce type d'étude. Les

résultats de notre comparaison vont dans le même sens que les précédentes, en montrant une faible sensibilité, qui augmente en fonction des groupes de patients, en particulier en associant les marqueurs immunologiques, mais la spécificité, quant à elle, est bonne. La combinaison des critères cliniques et biologiques donne, en revanche, de très bons résultats.

Notre étude semble montrer que le SCT détecte un autre type d'aPL que le PTT-LA et le dRVVT et qu'il permettrait alors une approche complémentaire à ces deux tests.

L'intérêt serait d'évaluer plus précisément le risque thrombotique associé au SCT en comparaison aux autres tests disponibles sur le marché, afin d'avoir les meilleures performances diagnostic disponible au laboratoire.

Ainsi, les recherches futures devraient se concentrer sur la physiopathologie du SAPL, afin de déterminer les aPL spécifiques de chaque LA détecté par chacune des techniques et d'étudier le risque thrombotique propre à chacun.

Le SAPL reste à ce jour toujours une « énigme »<sup>142</sup>, qui nécessite une meilleure compréhension de la pathogénicité des aPL chez l'homme, afin d'identifier des paramètres cliniques et biologiques définissant les patients à plus haut risque thrombotique ou obstétrical, et d'établir un traitement ciblé. La découverte des meilleurs marqueurs prédictifs du risque thrombotique est l'un des principaux enjeux des recherches concernant le SAPL.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- <sup>1</sup> P. M. Aggeler, Stuart Lindsay, et S. P. Lucia. «Studies on the Coagulation Defect in a Case of Thrombocytopenic Purpura Complicated by Thrombosis». *The American Journal of Pathology* 22, n° 6 (novembre 1946): 1181-1203.
- <sup>2</sup> Ley AB, Reader GG, Sorenson CW, Overman RS. «Idiopathic hypoprothrombinemia associated with hemorrhagic diathesis, and the effect of vitamin K». *Blood* 1951;6(8):740–755.
- <sup>3</sup> J. E. Moore et C. F. Mohr. «Biologically False Positive Serologic Tests for Syphilis; Type, Incidence, and Cause». *Journal of the American Medical Association* 150, n° 5 (4 octobre 1952): 467-73.
- <sup>4</sup> Conley CL. «Disorders of the blood in disseminated lupus erythematosus». *Am J Med* 1952;13(1):1–2.
- <sup>5</sup> Frick PG. «Acquired circulating anticoagulants in systemic collagen disease; autoimmune thromboplastin deficiency». *Blood* 1955; 10(7):691–706.
- <sup>6</sup> Bowie EJ, Thompson JH Jr, Pascuzzi CA, Owen CA Jr. «Thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus Despite Circulating Anticoagulants». *J Lab Clin Med* 1963;62:416–430.
- <sup>7</sup> D. I. Feinstein, S. I. Rapaport, «Acquired Inhibitors of Blood Coagulation». *Progress in Hemostasis and Thrombosis* 1 (1972): 75-95.
- <sup>8</sup> T. Exner, K. A. Rickard, H. Kronenberg. «Studies on Phospholipids in the Action of a Lupus Coagulation Inhibitor». *Pathology* 7, n° 4 (octobre 1975): 319-28.
- <sup>9</sup> I. M. Nilsson et al. «Intrauterine Death and Circulating Anticoagulant (“antithromboplastin”)». *Acta Medica Scandinavica* 197, n° 3 (mars 1975): 153-59.
- <sup>10</sup> Firkin BG, Howard MA, Radford N. «Possible relationship between lupus inhibitor and recurrent abortion in young women». *Lancet* 1980;2(8190):366.
- <sup>11</sup> M. L. Boey et al. «Thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus: Striking Association with the Presence of Circulating Lupus Anticoagulant». *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)* 287, n° 6398 (8 octobre 1983): 1021-23.
- <sup>12</sup> Manoharan A, Gibson L, Rush B, Feery BJ. «Recurrent venous thrombosis with a “lupus” coagulation inhibitor in the absence of systemic lupus». *Aust N Z J Med* 1977;7(4):422–426.
- <sup>13</sup> J. R. Mueh, K. D. Herbst, et S. I. Rapaport. «Thrombosis in Patients with the Lupus Anticoagulant». *Annals of Internal Medicine* 92, n° 2 Pt 1 (février 1980): 156-59.
- <sup>14</sup> Hughes GRV. «Thrombosis, abortion, cerebral disease and the lupus anticoagulant». *Br Med J* 1983; 287:1088-9.

- 
- <sup>15</sup> P. J. Bingley et B. I. Hoffbrand. «Antiphospholipid Antibody Syndrome: A Review». *Journal of the Royal Society of Medicine* 80, n° 7 (juillet 1987): 445-48.
- <sup>16</sup> E. N. Harris et al. «Anticardiolipin Antibodies: Detection by Radioimmunoassay and Association with Thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus». *Lancet* (London, England) 2, n° 8361 (26 novembre 1983): 1211-14.
- <sup>17</sup> P. Thiagarajan, V. Pengo, et S. S. Shapiro. «The Use of the Dilute Russell Viper Venom Time for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants». *Blood* 68, n° 4 (octobre 1986): 869-74.
- <sup>18</sup> M. Galli et al. «Anticardiolipin Antibodies (ACA) Directed Not to Cardiolipin but to a Plasma Protein Cofactor», *Lancet* (London, England) 335, n° 8705 (30 juin 1990): 1544-47.
- <sup>19</sup> E. Matsuura et al. «Anticardiolipin Cofactor(s) and Differential Diagnosis of Autoimmune Disease», *Lancet* (London, England) 336, n° 8708 (21 juillet 1990): 177-78.
- <sup>20</sup> H. P. McNeil et al. «Anti-Phospholipid Antibodies Are Directed against a Complex Antigen That Includes a Lipid-Binding Inhibitor of Coagulation: Beta 2-Glycoprotein I (Apolipoprotein H)». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, n° 11 (juin 1990): 4120-24.
- <sup>21</sup> Wendell A. Wilson et al. «International Consensus Statement on Preliminary Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome: Report of an International Workshop», *Arthritis & Rheumatism* 42, n° 7 (1 juillet 1999): 1309-11.
- <sup>22</sup> S. Miyakis et al. «International Consensus Statement on an Update of the Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome (APS)», *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4, n° 2 (1 février 2006): 295-306.
- <sup>23</sup> Deepa R.J. Arachchillage, Mike Laffan. «Pathogenesis and Management of Antiphospholipid Syndrome». *British Journal of Haematology* 178, n° 2 (1 juillet 2017): 181-95.
- <sup>24</sup> G. Ruiz-Irastorza 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* 20, n° 2 (février 2011): 206-18.
- <sup>25</sup> J. L. Vianna et al. «Comparison of the Primary and Secondary Antiphospholipid Syndrome: A European Multicenter Study of 114 Patients». *The American Journal of Medicine* 96, n° 1 (janvier 1994): 3-9.
- <sup>26</sup> G. R.V. Hughes, M. A. Khamashta. «Seronegative Antiphospholipid Syndrome», *Annals of the Rheumatic Diseases* 62, n° 12 (décembre 2003): 1127.
- <sup>27</sup> L. F. Bancsi, I. K. van der Linden, R. M. Bertina. «Beta 2-Glycoprotein I Deficiency and the Risk of Thrombosis». *Thrombosis and Haemostasis* 67, n° 6 (1 juin 1992): 649-53.

- 
- 28 P. Yu et al. «Beta2-Glycoprotein I Inhibits Vascular Endothelial Growth Factor and Basic Fibroblast Growth Factor Induced Angiogenesis through Its Amino Terminal Domain», *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 6, n° 7 (juillet 2008): 1215-23.
- 29 Sourindra N. Maiti et al. «Beta-2-Glycoprotein 1-Dependent Macrophage Uptake of Apoptotic Cells. Binding to Lipoprotein Receptor-Related Protein Receptor Family Members». *The Journal of Biological Chemistry* 283, n° 7 (15 février 2008): 3761-66.
- 30 Bill Giannakopoulos, Steven A. Krilis. «The Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome». *The New England Journal of Medicine* 368, n° 11 (14 mars 2013): 1033-44.
- 31 Bas de Laat et al. «IgG Antibodies That Recognize Epitope Gly40-Arg43 in Domain I of Beta 2-Glycoprotein I Cause LAC, and Their Presence Correlates Strongly with Thrombosis». *Blood* 105, n° 4 (15 février 2005): 1540-45.
- 32 P. G. de Groot, J. C. M. Meijers. « $\beta(2)$  -Glycoprotein I: Evolution, Structure and Function». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 9, n° 7 (juillet 2011): 1275-84.
- 33 M. A. Schleider et al. «A Clinical Study of the Lupus Anticoagulant». *Blood* 48, n° 4 (octobre 1976): 499-509.
- 34 Monica Galli et al. «Lupus Anticoagulants Are Stronger Risk Factors for Thrombosis than Anticardiolipin Antibodies in the Antiphospholipid Syndrome: A Systematic Review of the Literature». *Blood* 101, n° 5 (1 mars 2003): 1827-32.
- 35 Vittorio Pengo et al. «Antibody Profiles for the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome», *Thrombosis and Haemostasis* 93, n° 6 (juin 2005): 1147-52.
- 36 Vittorio Pengo et al. «A Comparison of Lupus Anticoagulant-Positive Patients with Clinical Picture of Antiphospholipid Syndrome and Those Without». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 27, n° 12 (décembre 2007): e309-310.
- 37 P. G. de Groot et al. «Lupus Anticoagulants and the Risk of a First Episode of Deep Venous Thrombosis». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 3, n° 9 (septembre 2005): 1993-97.
- 38 Vittorio Pengo et al. «Incidence of a First Thromboembolic Event in Carriers of Isolated Lupus Anticoagulant». *Thrombosis Research* 135, n° 1 (janvier 2015): 46-49.
- 39 Monica Galli et al. «Anti-Beta 2-Glycoprotein I, Antiprothrombin Antibodies, and the Risk of Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome». *Blood* 102, n° 8 (15 octobre 2003): 2717-23.
- 40 Maria Laura Bertolaccini et al. «Prevalence of Antibodies to Prothrombin in Solid Phase (APT) and to Phosphatidylserine-Prothrombin Complex (APS/PT) in Patients with and without Lupus Anticoagulant». *Thrombosis and Haemostasis* 109, n° 2 (février 2013): 207-13.

- 
- 41 Savino Sciascia et al. «Anti-Prothrombin (APT) and Anti-Phosphatidylserine /Prothrombin (APS/PT) Antibodies and the Risk of Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome. A Systematic Review». *Thrombosis and Haemostasis* 111, n° 2 (février 2014): 354-64.
- 42 V. Pengo et al., «Clinical Course of High-Risk Patients Diagnosed with Antiphospholipid Syndrome», *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 8, n° 2 (février 2010): 237-42.
- 43 Amelia Ruffatti et al. «Antibody Profile and Clinical Course in Primary Antiphospholipid Syndrome with Pregnancy Morbidity». *Thrombosis and Haemostasis* 96, n° 3 (septembre 2006): 337-41.
- 44 B. de Laat et al. «The Association between Circulating Antibodies against Domain I of Beta2-Glycoprotein I and Thrombosis: An International Multicenter Study». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 7, n° 11 (novembre 2009): 1767-73.
- 45 Vittorio Pengo et al. «Incidence of a First Thromboembolic Event in Asymptomatic Carriers of High-Risk Antiphospholipid Antibody Profile: A Multicenter Prospective Study». *Blood* 118, n° 17 (27 octobre 2011): 4714-18.
- 46 V. Pengo et al. «Confirmation of Initial Antiphospholipid Antibody Positivity Depends on the Antiphospholipid Antibody Profile». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 11, n° 8 (août 2013): 1527-31.
- 47 Kotaro Otomo et al. «Efficacy of the Antiphospholipid Score for the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome and Its Predictive Value for Thrombotic Events». *Arthritis and Rheumatism* 64, n° 2 (février 2012): 504-12.
- 48 Savino Sciascia et al. «GAPSS: The Global Anti-Phospholipid Syndrome Score», *Rheumatology (Oxford, England)* 52, n° 8 (août 2013): 1397-1403.
- 49 Savino Sciascia et al. «The Global Anti-Phospholipid Syndrome Score in Primary APS». *Rheumatology (Oxford, England)* 54, n° 1 (janvier 2015): 134-38.
- 50 Ariela Arad et al. «B<sub>2</sub>-Glycoprotein-1 Autoantibodies from Patients with Antiphospholipid Syndrome Are Sufficient to Potentiate Arterial Thrombus Formation in a Mouse Model». *Blood* 117, n° 12 (24 mars 2011): 3453-59.
- 51 J. Masliah-Planchon et L. Darnige. «Antiphospholipid antibodies and haemostasis», *La Revue De Medecine Interne* 33, n° 4 (avril 2012): 181-88.
- 52 Silvia S. Pierangeli et al. «Complement Activation: A Novel Pathogenic Mechanism in the Antiphospholipid Syndrome». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1051 (juin 2005): 413-20.
- 53 Pier Luigi Meroni et al. «Pathogenesis of Antiphospholipid Syndrome: Understanding the Antibodies». *Nature Reviews. Rheumatology* 7, n° 6 (juin 2011): 330-39.

- 
- <sup>54</sup> Guillermo Ruiz-Irastorza et al. «Antiphospholipid Syndrome», *Lancet* (London, England) 376, n° 9751 (30 octobre 2010): 1498-1509.
- <sup>55</sup> Chi Chiu Mok et al. «Incidence and Risk Factors of Thromboembolism in Systemic Lupus Erythematosus: A Comparison of Three Ethnic Groups». *Arthritis and Rheumatism* 52, n° 9 (septembre 2005): 2774-82.
- <sup>56</sup> Ricard Cervera et al. «Antiphospholipid Syndrome: Clinical and Immunologic Manifestations and Patterns of Disease Expression in a Cohort of 1,000 Patients», *Arthritis & Rheumatism* 46, n° 4 (1 avril 2002): 1019-27.
- <sup>57</sup> Vanessa Roldan et al. «Thrombophilia Testing in Patients with Venous Thromboembolism. Findings from the RIETE Registry». *Thrombosis Research* 124, n° 2 (juin 2009): 174-77.
- <sup>58</sup> C. D. Bushnell, L. B. Goldstein, «Diagnostic Testing for Coagulopathies in Patients with Ischemic Stroke». *Stroke* 31, n° 12 (décembre 2000): 3067-78.
- <sup>59</sup> Danielle Cohen et al. «Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome». *BMJ* (Clinical Research Ed.) 340 (14 mai 2010): c2541.
- <sup>60</sup> M. H. Rosove et P. M. Brewer. «Antiphospholipid Thrombosis: Clinical Course after the First Thrombotic Event in 70 Patients». *Annals of Internal Medicine* 117, n° 4 (15 août 1992): 303-8.
- <sup>61</sup> S. Menon et al. «A Longitudinal Study of Anticardiolipin Antibody Levels and Cognitive Functioning in Systemic Lupus Erythematosus». *Arthritis & Rheumatism* 42, n° 4 (1 avril 1999): 735-41.
- <sup>62</sup> J. Y. Cesbron, P. Amouyel, E. Masy. «Anticardiolipin Antibodies and Physical Disability in the Elderly». *Annals of Internal Medicine* 126, n° 12 (15 juin 1997): 1003.
- <sup>63</sup> Joab Chapman et al. «Prevalence and Clinical Features of Dementia Associated with the Antiphospholipid Syndrome and Circulating Anticoagulants». *Journal of the Neurological Sciences* 203-204 (15 novembre 2002): 81-84.
- <sup>64</sup> B. Kovacs et al. «Transverse Myelopathy in Systemic Lupus Erythematosus: An Analysis of 14 Cases and Review of the Literature». *Annals of the Rheumatic Diseases* 59, n° 2 (février 2000): 120-24.
- <sup>65</sup> H. H. Liou et al. «Elevated Levels of Anticardiolipin Antibodies and Epilepsy in Lupus Patients». *Lupus* 5, n° 4 (août 1996): 307-12.
- <sup>66</sup> Giovanni Sanna et al. «Neuropsychiatric Manifestations in Systemic Lupus Erythematosus: Prevalence and Association with Antiphospholipid Antibodies». *The Journal of Rheumatology* 30, n° 5 (mai 2003): 985-92.

- 
- <sup>67</sup> D. Verrot et al. «Prevalence and Signification of Antinuclear and Anticardiolipin Antibodies in Patients with Epilepsy». *The American Journal of Medicine* 103, n° 1 (juillet 1997): 33-37.
- <sup>68</sup> R. Cimaz et al. «Prevalence of Anti-Cardiolipin, Anti-Beta2 Glycoprotein I, and Anti-Prothrombin Antibodies in Young Patients with Epilepsy». *Epilepsia* 43, n° 1 (janvier 2002): 52-59.
- <sup>69</sup> Yehuda Shoenfeld et al. «Features Associated with Epilepsy in the Antiphospholipid Syndrome». *The Journal of Rheumatology* 31, n° 7 (juillet 2004): 1344-48.
- <sup>70</sup> Gillian E. Gibson, W. P. Daniel Su, Mark R. Pittelkow. «Antiphospholipid syndrome and the skin». *Journal of the American Academy of Dermatology* 36, n° 6 (1 juin 1997): 970-82.
- <sup>71</sup> Camille Francès et al. «Dermatologic Manifestations of the Antiphospholipid Syndrome: Two Hundred Consecutive Cases». *Arthritis and Rheumatism* 52, n° 6 (juin 2005): 1785-93.
- <sup>72</sup> Ricard Cervera. «Coronary and valvular syndromes and antiphospholipid antibodies». *Thrombosis Research, Special issue - State-of-the-Art 11th International Congress on Antiphospholipid Antibodies*, 114, n° 5 (1 janvier 2004): 501-7.
- <sup>73</sup> Carlos A. Roldan et al. «Valvular Heart Disease as a Cause of Cerebrovascular Disease in Patients with Systemic Lupus Erythematosus». *The American Journal of Cardiology* 95, n° 12 (15 juin 2005): 1441-47.
- <sup>74</sup> Manon Dekeyser et al. «Le syndrome des antiphospholipides en néphrologie. Atteinte rénale et aspects pratiques de la prise en charge». *Néphrologie & Thérapeutique* 10, n° 1 (1 février 2014): 1-9.
- <sup>75</sup> Eric Daugas et al. «Antiphospholipid Syndrome Nephropathy in Systemic Lupus Erythematosus». *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 13, n° 1 (janvier 2002): 42-52.
- <sup>76</sup> Maria G. Tektonidou et al. «Antiphospholipid Syndrome Nephropathy in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Antiphospholipid Antibodies: Prevalence, Clinical Associations, and Long-Term Outcome». *Arthritis and Rheumatism* 50, n° 8 (août 2004): 2569-79.
- <sup>77</sup> P. Kincaid-Smith, K. F. Fairley, M. Kloss. «Lupus Anticoagulant Associated with Renal Thrombotic Microangiopathy and Pregnancy-Related Renal Failure». *The Quarterly Journal of Medicine* 68, n° 258 (octobre 1988): 795-815.
- <sup>78</sup> M. Galli, M. Daldossi, T. Barbui. «Anti-Glycoprotein Ib/IX and Iib/IIIa Antibodies in Patients with Antiphospholipid Antibodies». *Thrombosis and Haemostasis* 71, n° 5 (mai 1994): 571-75.

- 
- <sup>79</sup> L. Macchi et al. «Anti-Platelet Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and the Primary Antiphospholipid Antibody Syndrome: Their Relationship with the Observed Thrombocytopenia». *British Journal of Haematology* 98, n° 2 (août 1997): 336-41.
- <sup>80</sup> R. Diz-Küçükaya et al. «Antiphospholipid Antibodies and Antiphospholipid Syndrome in Patients Presenting with Immune Thrombocytopenic Purpura: A Prospective Cohort Study». *Blood* 98, n° 6 (15 septembre 2001): 1760-64.
- <sup>81</sup> Ignasi Rodríguez-Pintó et al. «Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): Descriptive analysis of 500 patients from the International CAPS Registry». *Autoimmunity Reviews* 15, n° 12 (1 décembre 2016): 1120-24.
- <sup>82</sup> Doruk Erkan, Gerard Espinosa, Ricard Cervera. «Catastrophic antiphospholipid syndrome: Updated diagnostic algorithms». *Autoimmunity Reviews* 10, n° 2 (1 décembre 2010): 74-79.
- <sup>83</sup> Ricard Cervera et al. «14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on Catastrophic Antiphospholipid Syndrome». *Autoimmunity Reviews* 13, n° 7 (1 juillet 2014): 699-707.
- <sup>84</sup> Espinosa G. et al. «Adrenal involvement in the antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic characteristics of 86 patients». *Medicine (Baltimore)*, 2003 Mar ;82(2) :106-18.
- <sup>85</sup> William H. Kutteh, Rodney D. Franklin. «Assessing the Variation in Antiphospholipid Antibody (APA) Assays: Comparison of Results from 10 Centers». *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 191, n° 2 (août 2004): 440-48.
- <sup>86</sup> H. Kelchtermans et al. «IgG/IgM Antiphospholipid Antibodies Present in the Classification Criteria for the Antiphospholipid Syndrome: A Critical Review of Their Association with Thrombosis». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 14, n° 8 (août 2016): 1530-48.
- <sup>87</sup> K. M. J. Devreese et al. «Testing for Antiphospholipid Antibodies with Solid Phase Assays: Guidance from the SSC of the ISTH». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 12, n° 5 (mai 2014): 792-95.
- <sup>88</sup> A. Le Querrec et al. «Quantification of Lupus Anticoagulants in Clinical Samples Using Anti-Beta2GPI and Anti-Prothrombin Monoclonal Antibodies». *Thrombosis and Haemostasis* 86, n° 2 (août 2001): 584-89.
- <sup>89</sup> D. Erkan et al. «Real World Experience with Antiphospholipid Antibody Tests: How Stable Are Results over Time?». *Annals of the Rheumatic Diseases* 64, n° 9 (septembre 2005): 1321-25.
- <sup>90</sup> Marie-Claire Boffa et al. «Laboratory Criteria of the Obstetrical Antiphospholipid Syndrome. Data from a Multicentric Prospective European Women Cohort». *Thrombosis and Haemostasis* 102, n° 1 (juillet 2009): 25-28.

- 
- <sup>91</sup> Bill Giannakopoulos et al. «How We Diagnose the Antiphospholipid Syndrome». *Blood* 113, n° 5 (29 janvier 2009): 985-94.
- <sup>92</sup> Maria Laura Bertolaccini et al. «14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force. Report on Antiphospholipid Syndrome Laboratory Diagnostics and Trends». *Autoimmunity Reviews* 13, n° 9 (septembre 2014): 917-30.
- <sup>93</sup> C. Tajima et al. «Clinical Significance of Immunoglobulin A Antiphospholipid Antibodies: Possible Association with Skin Manifestations and Small Vessel Vasculitis». *The Journal of Rheumatology* 25, n° 9 (septembre 1998): 1730-36.
- <sup>94</sup> Taraneh Mehrani, Michelle Petri. «Association of IgA Anti-Beta2 Glycoprotein I with Clinical and Laboratory Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus». *The Journal of Rheumatology* 38, n° 1 (janvier 2011): 64-68.
- <sup>95</sup> Marielle Sanmarco et al. «Antiphosphatidylethanolamine Antibodies Are Associated with an Increased Odds Ratio for Thrombosis. A Multicenter Study with the Participation of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies» *Thrombosis and Haemostasis* 97, n° 6 (juin 2007): 949-54.
- <sup>96</sup> Toshitaka Sugi et al. «Antiphosphatidylethanolamine Antibodies in Recurrent Early Pregnancy Loss and Mid-to-Late Pregnancy Loss». *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 30, n° 4 (août 2004): 326-32.
- <sup>97</sup> Ricard Cervera et al. «Does Seronegative Antiphospholipid Syndrome Really Exist?». *Autoimmunity Reviews* 11, n° 8 (juin 2012): 581-84.
- <sup>98</sup> Armando Tripodi. «Laboratory Testing for Lupus Anticoagulants: A Review of Issues Affecting Results». *Clinical Chemistry* 53, n° 9 (septembre 2007): 1629-35.
- <sup>99</sup> V. Pengo et al. «Update of the Guidelines for Lupus Anticoagulant Detection». *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 7, n° 10 (1 octobre 2009): 1737-40.
- <sup>100</sup> David Keeling et al. «Guidelines on the Investigation and Management of Antiphospholipid Syndrome». *British Journal of Haematology* 157, n° 1 (1 avril 2012): 47-58.
- <sup>101</sup> CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant ; Approved Guidelines*. CLSI document H60-A. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- <sup>102</sup> C. Gardiner et al. «The Importance of Locally Derived Reference Ranges and Standardized Calculation of Dilute Russell's Viper Venom Time Results in Screening for Lupus Anticoagulant». *British Journal of Haematology* 111, n° 4 (décembre 2000): 1230-35.
- <sup>103</sup> Katrien Devreese, Marc F. Hoylaerts. «Laboratory Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome: A Plethora of Obstacles to Overcome». *European Journal of Haematology* 83, n° 1 (juillet 2009): 1-16.

- 
- <sup>104</sup> Veena Chantarangkul et al. «Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants--Effect of Residual Platelets in Plasma, Assessed by Staclot LA and Silica Clotting Time». *Thrombosis and Haemostasis* 87, n° 5 (mai 2002): 854-58.
- <sup>105</sup> Jacob H. Rand et al. «Hydroxychloroquine Directly Reduces the Binding of Antiphospholipid Antibody-Beta2-Glycoprotein I Complexes to Phospholipid Bilayers». *Blood* 112, n° 5 (1 septembre 2008): 1687-95.
- <sup>106</sup> Moore GW. «Recent guidelines and recommendations for laboratory detection of lupus anticoagulants». *Semin Thromb Hemost*, 2014 Mar;40(2):163-71.
- <sup>107</sup> Monica Galli et al. «Clinical Significance of Different Antiphospholipid Antibodies in the WAPS (Warfarin in the Antiphospholipid Syndrome) Study». *Blood* 110, n° 4 (15 août 2007): 1178-83.
- <sup>108</sup> I. Jennings et al. «Potentially Clinically Important Inaccuracies in Testing for the Lupus Anticoagulant: An Analysis of Results from Three Surveys of the UK National External Quality Assessment Scheme (NEQAS) for Blood Coagulation». *Thrombosis and Haemostasis* 77, n° 5 (mai 1997): 934-37.
- <sup>109</sup> J. Swadzba et al. «Lupus Anticoagulant: Performance of the Tests as Recommended by the Latest ISTH Guidelines». *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 9, n° 9 (1 septembre 2011): 1776-83.
- <sup>110</sup> Germán Alejandro Detarsio et al. «Anticoagulante Lúpico: Sensibilidad de 19 reactivos comerciales de tiempo de tromboplastina parcial activado». *Acta bioquímica clínica latinoamericana* 41, n° 4 (décembre 2007): 533-39.
- <sup>111</sup> M. Galli et al. «The Risk of Thrombosis in Patients with Lupus Anticoagulants Is Predicted by Their Specific Coagulation Profile». *Thrombosis and Haemostasis* 81, n° 5 (mai 1999): 695-700.
- <sup>112</sup> Gary W. Moore, Geoffrey F. Savidge. «Heterogeneity of Russell's Viper Venom Affects the Sensitivity of the Dilute Russell's Viper Venom Time to Lupus Anticoagulants». *Blood Coagulation & Fibrinolysis: An International Journal in Haemostasis and Thrombosis* 15, n° 3 (avril 2004): 279-82.
- <sup>113</sup> K. J. Stevenson, J. M. Seddon. «The Role of Lipids in the Detection of Lupus Anticoagulant by the Dilute Russell Viper Venom Test: Are Platelets or Reagents Containing Hexagonal HII Phases Necessary?». *British Journal of Haematology* 86, n° 3 (mars 1994): 583-89.
- <sup>114</sup> D. A. Triplett, «Use of the Dilute Russell Viper Venom Time (DRVVT): Its Importance and Pitfalls». *Journal of Autoimmunity* 15, n° 2 (septembre 2000): 173-78.
- <sup>115</sup> David L. McGlasson, George A. Fritsma. «Comparison of Six Dilute Russell Viper Venom Time Lupus Anticoagulant Screen/Confirm Assay Kits». *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 39, n° 3 (avril 2013): 315-19.

- 
- <sup>116</sup> A. S. Lawrie et al. «The Sensitivity and Specificity of Commercial Reagents for the Detection of Lupus Anticoagulant Show Marked Differences in Performance between Photo-Optical and Mechanical Coagulometers». *Thrombosis and Haemostasis* 81, n° 5 (mai 1999): 758-62.
- <sup>117</sup> V. Pengo et al. «Survey of Lupus Anticoagulant Diagnosis by Central Evaluation of Positive Plasma Samples». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 5, n° 5 (mai 2007): 925-30.
- <sup>118</sup> M. J. A. Simmelink et al. «A Simple Method to Discriminate between Beta2-Glycoprotein I- and Prothrombin-Dependent Lupus Anticoagulants». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 1, n° 4 (avril 2003): 740-47.
- <sup>119</sup> H. Bas de Laat et al. «Beta2-Glycoprotein I-Dependent Lupus Anticoagulant Highly Correlates with Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome». *Blood* 104, n° 12 (1 décembre 2004): 3598-3602.
- <sup>120</sup> B. De Laat et al. «An International Multicentre-Laboratory Evaluation of a New Assay to Detect Specifically Lupus Anticoagulants Dependent on the Presence of Anti-Beta2-Glycoprotein Autoantibodies». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 9, n° 1 (janvier 2011): 149-53.
- <sup>121</sup> Katrien M. J. Devreese. «A Functional Coagulation Test to Identify Anti-Beta2-Glycoprotein I Dependent Lupus Anticoagulants». *Thrombosis Research* 119, n° 6 (2007): 753-59.
- <sup>122</sup> Doruk Erkan et al. «14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies: Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Treatment Trends». *Autoimmunity Reviews* 13, n° 6 (juin 2014): 685-96.
- <sup>123</sup> Hannah Cohen et al. «Rivaroxaban versus Warfarin to Treat Patients with Thrombotic Antiphospholipid Syndrome, with or without Systemic Lupus Erythematosus (RAPS): A Randomised, Controlled, Open-Label, Phase 2/3, Non-Inferiority Trial». *The Lancet. Haematology* 3, n° 9 (septembre 2016): e426-436.
- <sup>124</sup> C. B. Chighizola, M. Moia, P. L. Meroni. «New Oral Anticoagulants in Thrombotic Antiphospholipid Syndrome». *Lupus* 23, n° 12 (octobre 2014): 1279-82.
- <sup>125</sup> A. Schmidt-Tanguy et al. «Antithrombotic Effects of Hydroxychloroquine in Primary Antiphospholipid Syndrome Patients». *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 11, n° 10 (octobre 2013): 1927-29.
- <sup>126</sup> Medha Barbhuiya, Doruk Erkan. «Primary Thrombosis Prophylaxis in Antiphospholipid Antibody-Positive Patients: Where Do We Stand?». *Current Rheumatology Reports* 13, n° 1 (février 2011): 59-69.
- <sup>127</sup> Maria G. Tektonidou et al. «Risk Factors for Thrombosis and Primary Thrombosis Prevention in Patients with Systemic Lupus Erythematosus with or without Antiphospholipid Antibodies». *Arthritis and Rheumatism* 61, n° 1 (15 janvier 2009): 29-36.

- 
- <sup>128</sup> Tunde Tarr et al. «Clinical Thrombotic Manifestations in SLE Patients with and without Antiphospholipid Antibodies: A 5-Year Follow-Up». *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 32, n° 2 (avril 2007): 131-37.
- <sup>129</sup> Mark A. Crowther et al. «A Comparison of Two Intensities of Warfarin for the Prevention of Recurrent Thrombosis in Patients with the Antiphospholipid Antibody Syndrome». *The New England Journal of Medicine* 349, n° 12 (18 septembre 2003): 1133-38.
- <sup>130</sup> Finazzi G 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 syndrom (WAPS)». *J Thromb Haemost*, 2005 May;3(5):848-53.
- <sup>131</sup> Guillermo Ruiz-Irastorza, Beverley J. Hunt, Munther A. Khamashta. «A Systematic Review of Secondary Thromboprophylaxis in Patients with Antiphospholipid Antibodies». *Arthritis and Rheumatism* 57, n° 8 (15 décembre 2007): 1487-95.
- <sup>132</sup> David Garcia et al. «Antiphospholipid Antibodies and the Risk of Recurrence after a First Episode of Venous Thromboembolism: A Systematic Review», *Blood* 122, n° 5 (1 août 2013): 817-24.
- <sup>133</sup> V. Chantarangkul et al. «Silica Clotting Time (SCT) as a Screening and Confirmatory Test for Detection of the Lupus Anticoagulants». *Thrombosis Research* 67, n° 4 (15 août 1992): 355-65.
- <sup>134</sup> Karl J. Lackner, Dirk Peetz, Philipp von Landenberg. «Revision of the Sapporo Criteria for the Antiphospholipid Syndrome-- Coming to Grips with Evidence and Thomas Bayes?», *Thrombosis and Haemostasis* 95, n° 6 (juin 2006): 917-19.
- <sup>135</sup> F. Norbis, T. Barbui, M. Galli. «Diluted Russell's Viper Venom Time and Colloidal Silica Clotting Time for the Identification of the Phospholipid-Dependent Inhibitors of Coagulation». *Thrombosis Research* 85, n° 5 (1 mars 1997): 427-31.
- <sup>136</sup> F. Dragoni et al. «As Compared to Kaolin Clotting Time, Silica Clotting Time Is a Specific and Sensitive Automated Method for Detecting Lupus Anticoagulant». *Thrombosis Research* 101, n° 2 (15 janvier 2001): 45-51.
- <sup>137</sup> Panagiotis Grypiotis et al. «Use of a New Silica Clotting Time for Diagnosing Lupus Anticoagulant in Patients Who Meet the Clinical Criteria for Antiphospholipid Syndrome». *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 20, n° 1 (2006): 15-18.
- <sup>138</sup> Katrien M. J. Devreese. «Evaluation of a New Silica Clotting Time in the Diagnosis of Lupus Anticoagulants». *Thrombosis Research* 120, n° 3 (2007): 427-38.
- <sup>139</sup> M. Averina, S. Johannesen, J. Brox. «Diagnostic Accuracy of Silica Clotting Time Method for Lupus Anticoagulant in a Clinical Population with Various Symptoms of Antiphospholipid Syndrome», *Lupus* 25, n° 4 (avril 2016): 418-22.
- <sup>140</sup> Armando Tripodi et al. «Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants for Patients on Oral Anticoagulant Treatment. Performance of Dilute Russell Viper Venom Test and Silica Clotting Time in Comparison with Staclot LA». *Thrombosis and Haemostasis* 88, n° 4 (octobre 2002): 583- 86.

- 
- <sup>141</sup> M. Galli et al. «Lupus Anticoagulants and Thrombosis: Clinical Association of Different Coagulation and Immunologic Tests». *Thrombosis and Haemostasis* 84, n° 6 (décembre 2000): 1012-16.
- <sup>142</sup> Shruti Chaturvedi, Keith R. McCrae. «The Antiphospholipid Syndrome: Still an Enigma». *Hematology. American Society of Hematology. Education Program 2015* (2015): 53-60.

## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ *D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ *De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ *En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*



# RESUME

Le syndrome des antiphospholipides est une entité clinico-biologique, associant la persistance d'anticorps antiphospholipides à des thromboses veineuses ou artérielles ou à des manifestations obstétricales.

Le diagnostic biologique est une étape indispensable, entraînant des répercussions thérapeutiques pour le patient. Il repose sur la mise en évidence de trois types d'anticorps antiphospholipides : les anti-cardiolipines, les anti-béta2-glycoprotéine-I et le lupus anticoagulant. Ce dernier présente la capacité d'allonger les temps de coagulation phospholipides-dépendants *in-vitro*. Sa recherche s'effectue au laboratoire par une démarche en quatre étapes (dépistage, mélange, confirmation, élimination d'une coagulopathie associée). De nombreux tests ont été proposés pour sa détection, mais des variabilités de sensibilité et le manque de standardisation ont conduit à des recommandations dans le choix des réactifs à utiliser. A ce jour, deux tests de dépistage, basés sur deux techniques différentes, doivent être utilisés : un TCA sensibilisé utilisant la silice comme activateur (PTT-LA) et le temps de venin vipère Russell dilué (dRVVT).

L'objectif de ce mémoire est d'évaluer un autre réactif, le Silica Clotting Time (SCT), dans le diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides, en comparaison avec les techniques utilisées au laboratoire.

Deux approches ont été réalisées. Une première approche purement biologique a consisté à tester 214 plasmas, en parallèle, par les réactifs PTT-LA, dRVVT et SCT. Une seconde approche, associant les critères cliniques (présence ou absence d'événements thrombotiques ou obstétricaux) et biologiques (présence et persistance ou absence de lupus anticoagulant), a permis d'évaluer le SCT en fonction d'une population définie de patients. Une comparaison avec les profils immunologiques a, de plus, été réalisée.

Nos résultats de l'approche biologique indiquent une sensibilité de 57.8% et une spécificité de 96.2%. Une forte corrélation avec le dRVVT a été mise en évidence. L'analyse basée sur des données clinico-biologiques permet d'augmenter considérablement la sensibilité (85.7%) et la spécificité (100%). Une forte corrélation avec les marqueurs immunologiques a été observée, en particulier chez les patients connus comme « triples positifs ». Nos résultats démontrent l'excellente spécificité du SCT dans un contexte clinique de SAPL.

Le SCT se présente donc comme une méthode pertinente, pouvant avoir une position intéressante au sein du diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides.

Mots-clés : Lupus Anticoagulant (LA), Silica Clotting Time (SCT), Syndrome des antiphospholipides (SAPL), PTT-LA, dRVVT