

ANNEE 2021

N°

**Etude de la corrélation entre
les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine
et la présence du lupus anticoagulant
chez les patients suspects ou atteints de syndrome des antiphospholipides.**

THESE

présentée

à l'UFR des Sciences de Santé de Dijon

Circonscription Médecine

et soutenue publiquement le 9 Avril 2021

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par Mme CROGNIER Marie
née le 27 Mars 1992
à Rodez (12)

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à la disposition de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur.

Ceci implique une obligation de citation et de référencement dans la rédaction de vos travaux.

D'autre part, toutes contrefaçons, plagats, reproductions illicites encourent une poursuite pénale.

De juridiction constante, en s'appropriant tout ou partie d'une œuvre pour l'intégrer dans son propre document, l'étudiant se rend coupable d'un délit de contrefaçon (au sens de l'article L.335.1 et suivants du code de la propriété intellectuelle). Ce délit est dès lors constitutif d'une fraude pouvant donner lieu à des poursuites pénales conformément à la loi du 23 décembre 1901 dite de répression des fraudes dans les examens et concours publics.

ANNEE 2021

N°

**Etude de la corrélation entre
les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine
et la présence du lupus anticoagulant
chez les patients suspects ou atteints de syndrome des antiphospholipides.**

THESE

présentée

à l'UFR des Sciences de Santé de Dijon
Circonscription Médecine
et soutenue publiquement le 9 Avril 2021

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par Mme CROGNIER Marie
née le 27 Mars 1992
à Rodez (12)

Année Universitaire 2020-2021
au 1^{er} **Septembre 2020**

Doyen :
Assesseurs :

M. Marc MAYNADIÉ
M. Pablo ORTEGA-DEBALLON
Mme Laurence DUVILLARD

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

			Discipline
M.	Jean-Louis	ALBERINI	Biophysiques et médecine nucléaire
M.	Sylvain	AUDIA	Médecine interne
M.	Marc	BARDOU	Pharmacologie clinique
M.	Jean-Noël	BASTIE	Hématologie - transfusion
M.	Emmanuel	BAULOT	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M.	Christophe	BEDANE	Dermato-vénéréologie
M.	Yannick	BEJOT	Neurologie
Mme	Christine	BINQUET	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M.	Philippe	BONNIAUD	Pneumologie
M.	Alain	BONNIN	Parasitologie et mycologie
M.	Bernard	BONNOTTE	Immunologie
M.	Olivier	BOUCHOT	Chirurgie cardiovasculaire et thoracique
M.	Belaid	BOUHEMAD	Anesthésiologie - réanimation chirurgicale
M.	Alexis	BOZORG-GRAYELI	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	Alain	BRON	Ophtalmologie
M.	Laurent	BRONDEL	Physiologie
Mme	Mary	CALLANAN (WILSON)	Hématologie type biologique
M.	Patrick	CALLIER	Génétique
Mme	Catherine	CHAMARD-NEUWIRTH	Bactériologie - virologie; hygiène hospitalière
M.	Pierre-Emmanuel	CHARLES	Réanimation
M.	Jean-Christophe	CHAUVET-GELINIER	Psychiatrie d'adultes, Addictologie
M.	Nicolas	CHEYNEL	Anatomie
M.	Alexandre	COCHET	Biophysique et médecine nucléaire
M.	Luc	CORMIER	Urologie
M.	Yves	COTTIN	Cardiologie
M.	Charles	COUTANT	Gynécologie-obstétrique
M.	Gilles	CREHANGE	Oncologie-radiothérapie
Mme	Catherine	CREUZOT-GARCHER	Ophtalmologie
M.	Frédéric	DALLE	Parasitologie et mycologie
M.	Alexis	DE ROUGEMONT	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
M.	Hervé	DEVILLIERS	Médecine interne
M.	Serge	DOUVIER	Gynécologie-obstétrique
Mme	Laurence	DUVILLARD	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Olivier	FACY	Chirurgie générale
Mme	Laurence	FAIVRE-OLIVIER	Génétique médicale
Mme	Patricia	FAUQUE	Biologie et Médecine du Développement
Mme	Irène	FRANCOIS-PURSELL	Médecine légale et droit de la santé
Mme	Marjolaine	GEORGES	Pneumologie
M.	François	GHIRINGHELLI	Cancérologie
M.	Pierre Grégoire	GUINOT	Anesthésiologie – réanimation chirurgicale
M.	Frédéric	HUET	Pédiatrie
M.	Pierre	JOUANNY	Gériatrie
M.	Sylvain	LADOIRE	Histologie
M.	Gabriel	LAURENT	Cardiologie
M.	Côme	LEPAGE	Hépatogastroentérologie
M.	Romarc	LOFFROY	Radiologie et imagerie médicale
M.	Luc	LORGIS	Cardiologie

M.	Jean-Francis	MAILLEFERT	Rhumatologie
M.	Cyriaque Patrick	MANCKOUNDIA	Gériatrie
M.	Sylvain	MANFREDI	Hépatogastroentérologie
M.	Laurent	MARTIN	Anatomie et cytologie pathologiques
M.	David	MASSON	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Marc	MAYNADIÉ	Hématologie – transfusion
M.	Marco	MIDULLA	Radiologie et imagerie médicale
M.	Thibault	MOREAU	Neurologie
Mme	Christiane	MOUSSON	Néphrologie
M.	Paul	ORNETTI	Rhumatologie
M.	Pablo	ORTEGA-DEBALLON	Chirurgie Générale
M.	Pierre Benoit	PAGES	Chirurgie thoracique et vasculaire
M.	Jean-Michel	PETIT	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
M.	Christophe	PHILIPPE	Génétique
M.	Lionel	PIROTH	Maladies infectieuses
Mme	Catherine	QUANTIN	Biostatistiques, informatique médicale
M.	Jean-Pierre	QUENOT	Réanimation
M.	Patrick	RAY	Médecine d'urgence
M.	Patrick	RAT	Chirurgie générale
M.	Jean-Michel	REBIBOU	Néphrologie
M.	Frédéric	RICOLFI	Radiologie et imagerie médicale
M.	Paul	SAGOT	Gynécologie-obstétrique
M	Maxime	SAMSON	Médecine interne
M.	Emmanuel	SAPIN	Chirurgie Infantile
M.	Emmanuel	SIMON	Gynécologie-obstétrique
M.	Éric	STEINMETZ	Chirurgie vasculaire
Mme	Christel	THAUVIN	Génétique
M.	Benoit	TROJAK	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
M.	Pierre	VABRES	Dermato-vénéréologie
M.	Bruno	VERGÈS	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
M.	Narcisse	ZWETYENGA	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

PROFESSEURS EN SURNOMBRE

M.	Alain	BERNARD (surnombre jusqu'au 31/08/2021)	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M.	Pascal	CHAVANET (Surnombre jusqu'au 31/08/2021)	Maladies infectieuses

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES
PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES MEDICALES**

			Discipline Universitaire
Mme	Lucie	AMOUREUX BOYER	Bactériologie
Mme	Louise	BASMACIYAN	Parasitologie-mycologie
Mme	Shaliha	BECHOUA	Biologie et médecine du développement
M.	Mathieu	BLOT	Maladies infectieuses
M.	Benjamin	BOUILLET	Endocrinologie
Mme	Marie-Claude	BRINDISI	Nutrition
Mme	Marie-Lorraine	CHRETIEN	Hématologie
Mme	Vanessa	COTTET	Nutrition
M.	Damien	DENIMAL	Biochimie et biologie moléculaire
Mme	Ségolène	GAMBERT	Biochimie et biologie moléculaire
Mme	Françoise	GOIRAND	Pharmacologie fondamentale
M.	Charles	GUENANCIA	Physiologie
Mme	Agnès	JACQUIN	Physiologie
M.	Alain	LALANDE	Biophysique et médecine nucléaire
M.	Louis	LEGRAND	Biostatistiques, informatique médicale
Mme	Stéphanie	LEMAIRE-EWING	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Pierre	MARTZ	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M.	Alain	PUTOT	Gériatrie
M.	Paul-Mickaël	WALKER	Biophysique et médecine nucléaire

PROFESSEURS EMERITES

M.	Laurent	BEDENNE	(01/09/2017 au 31/08/2020)
M.	Jean-François	BESANCENOT	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Bernard	BONIN	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	François	BRUNOTTE	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Jean-Marie	CASILLAS-GIL	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Philippe	CAMUS	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	Jean	CUISENIER	(01/09/2018 au 31/08/2021)
M.	Jean-Pierre	DIDIER	(01/11/2018 au 31/10/2021)
Mme	Monique	DUMAS	(01/09/2018 au 31/08/2021)
M.	Claude	GIRARD	(01/01/2019 au 31/08/2022)
M.	Maurice	GIROUD	(01/09/2019 au 31/12/2021)
M.	Patrick	HILLON	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	François	MARTIN	(01/09/2018 au 31/08/2021)
M.	Henri-Jacques	SMOLIK	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	Pierre	TROUILLOUD	(01/09/2020 au 31/08/2023)

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

Mme	Katia	MAZALOVIC	Médecine Générale
Mme	Claire	ZABAWA	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

M.	Didier	CANNET	Médecine Générale
M.	Arnaud	GOUGET	Médecine Générale
M.	François	MORLON	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

M.	Jérôme	BEAUGRAND	Médecine Générale
M.	Clément	CHARRA	Médecine Générale
Mme	Anne	COMBERNOUX -WALDNER	Médecine Générale
M.	Benoit	DAUTRICHE	Médecine Générale
M.	Alexandre	DELESVAUX	Médecine Générale
M.	Rémi	DURAND	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme	Lucie	BERNARD	Anglais
M.	Didier	CARNET	Anglais
Mme	Catherine	LEJEUNE	Pôle Epidémiologie
M.	Gaëtan	JEGO	Biologie Cellulaire

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mme	Marianne	ZELLER	Physiologie
-----	----------	---------------	-------------

PROFESSEURS AGREGES de L'ENSEIGNEMENT SECONDAIRE

Mme	Marceline	EVRARD	Anglais
Mme	Lucie	MAILLARD	Anglais

PROFESSEURS CERTIFIES

Mme	Anaïs	CARNET	Anglais
M.	Philippe	DE LA GRANGE	Anglais

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

M.	Mathieu	BOULIN	Pharmacie clinique
M.	François	GIRODON	Sciences biologiques, fondamentales et cliniques
Mme	Evelyne	KOHLI	Immunologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

M.	Philippe	FAGNONI	Pharmacie clinique
M.	Marc	SAUTOUR	Botanique et cryptogamie
M.	Antonin	SCHMITT	Pharmacologie

L'UFR des Sciences de Santé de Dijon, Circonscription Médecine, déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

COMPOSITION DU JURY

Président :

Professeur Marc MAYNADIE

Membres :

Professeur Sylvain AUDIA

Docteur Daniela LAKOMY, directrice de thèse

Docteur Emmanuel DE MAISTRE

Docteur Luc DARNIGE

SERMENT D'HIPPOCRATE

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité.

Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera.

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque."

REMERCIEMENTS

Au président du jury,

Monsieur le Professeur Marc MAYNADIE,

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Aux membres du jury,

Monsieur le Professeur Sylvain AUDIA,

Merci de faire l'honneur d'être membre de jury. Veuillez trouver ici l'expression de tout mon respect.

Madame le Docteur Daniela LAKOMY, ma directrice de thèse

Merci de m'avoir accordé ta confiance et de m'avoir si bien accompagné dans l'élaboration de ce travail. Merci pour ta bienveillance, ta patience et ton aide si précieuse. Je t'adresse ma profonde et respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Docteur Emmanuel DE MAISTRE,

Merci de me faire l'honneur d'être présent au sein de ce jury. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez apporté à mon travail, pour votre aide, les relectures et tous vos conseils. Merci de votre gentillesse et de votre disponibilité à chaque instant.

Monsieur le Docteur Luc DARNIGE,

Merci de me faire l'honneur et le plaisir de juger ce travail de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de toute ma gratitude.

Au laboratoire d'Immunologie du CHU de Dijon,
Merci d'avoir permis la réalisation de ce projet. Un grand merci à Mathilde pour ta collaboration dans la mise en place de la technique de dosage des aPS/PT.

Au Docteur Anamaria CALLEGARIN,
Merci de ta bienveillance et le temps que tu as accordé à la relecture de ce travail.

Au Professeur Vittorio PENGO,
Merci de m'avoir fait partager votre expertise sur le sujet.

Aux différents professionnels de santé rencontrés lors des stages d'Internat au CHU de Dijon,
Merci des connaissances que vous m'avez apportées dans le domaine de la Biologie.

A mes co-internes,
Merci d'avoir partagé avec moi ces différents semestres (et leurs gardes).

A Maela et Marion, mes amies de longue date.

A tous les membres de groupe du samedi matin,
Merci pour ces parties de rigolades, ces échanges de balles et ces délicieux kouign-amann.
Vivement la reprise !

A ma belle-famille,

A ma famille si chère, mes grands-parents, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines.
Merci pour ces délicieux moments passés à Rodez avec vous.

A mes frères Rémi et Robin,

Merci de vos encouragements, votre patience et tous les bons moments passés ensemble. A notre complicité.

A mes parents Lionel et Valérie,

Vais-je trouver des mots aussi forts que mes sentiments à votre égard ? Merci pour le soutien sans faille que vous m'avez apporté durant toutes ces années. Je vous dédie cette thèse qui j'espère sera à la hauteur de vos espérances. Même si cela ne se dit pas entre nous, je vous aime tant. Merci pour tout.

A Alexis, mon Lil,

Merci de ton soutien si précieux depuis ces dix dernières années. Merci pour toute l'attention que tu portes à mon égard. Merci pour ce petit nid que nous construisons ensemble. Je t'aime.

A ma Lili, ma fille.

TABLE DES MATIERES

Table des illustrations.....	14
Abréviations	16
I. Introduction	17
II. Syndrome des antiphospholipides (SAPL) et anticorps antiphospholipides (aPL)	18
A. Syndrome des antiphospholipides	18
1. Définition	18
2. Epidémiologie et génétique	18
3. Physiopathologie	19
4. Manifestations cliniques et biologiques	22
5. Critères diagnostiques	24
6. Prise en charge thérapeutique	26
B. Anticorps antiphospholipides (aPL).....	28
1. Définition	28
2. Historique	29
3. Cibles antigéniques.....	29
4. Indications à la recherche d'aPL	31
5. Méthode de détection	32
6. Signification clinique	42
C. Anticorps anti-phosphatidylserine/prothrombine (aPS/PT).	45
1. Définition	45
2. Historique	45
3. Cible antigénique.....	46
4. Physiopathologie	47
5. Signification clinique	48
III. Objectif de l'étude	53
IV. Matériels et Méthodes	54
V. Résultats	61
1. Groupe SAPL	61
2. Groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical.....	64
3. Groupe premier résultat de LA positif et thrombose ou évènement obstétrical	67
4. Groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical	71
5. Synthèse des résultats.....	73
6. Contrôle des résultats de LA à 3 mois du premier dosage	74
7. Répartition des valeurs selon le seuil de positivité.....	76

VI. Discussion	80
1. Raisons de l'étude	80
2. Mise en place de l'étude	81
3. Principaux résultats	81
4. Limites de l'étude	84
5. Perspectives	84
VII. Conclusions.....	86
Bibliographie.....	87
Annexe	94

Table des illustrations

Table des figures

Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques des aPL.....	20
Figure 2 : Cibles antigéniques des aPL	28
Figure 3 : Mécanisme d'activation cellulaire par les a β 2GPI	31
Figure 4 : Test de dépistage dRVVT	35
Figure 5 : Test de dépistage TCA sensible au LA.....	35
Figure 6 : Test de confirmation dRVVT	37
Figure 7 : Anticorps détectés par la technique Elisa aCL.....	40
Figure 8 : Anticorps détectés par la technique Elisa a β 2GPI	41

Table des graphiques

Graphique 1 : Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe SAPL.....	63
Graphique 2 : Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe SAPL.....	63
Graphique 3 : Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical.....	66
Graphique 4 : Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical.....	66
Graphique 5: Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical.	69
Graphique 6: Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical.	70
Graphique 7 : Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical.....	72
Graphique 8 : Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical.....	72
Graphique 9 : Répartition des valeurs IgG aPS/PT selon seuil de positivité.....	76
Graphique 10 : Répartition des valeurs IgM aPS/PT selon seuil de positivité.....	77
Graphique 11 : Répartition des valeurs LA dRVVT selon seuil de positivité.....	77
Graphique 12 : Répartition des valeurs IgG aCL selon seuil de positivité.....	78
Graphique 13 : Répartition des valeurs IgM aCL selon seuil de positivité.....	78
Graphique 14 : Répartition des valeurs IgG a β 2GPI selon seuil de positivité.....	79
Graphique 15 : Répartition des valeurs IgM a β 2GPI selon seuil de positivité.....	79

Table des tableaux

Tableau 1 : Revue de littérature des aPS/PT.	51
Tableau 2 : Score GAPSS	52
Tableau 3 : Définition des groupes.....	55
Tableau 4 : Caractéristiques clinico-biologiques des différents groupes	57
Tableau 5 : Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT dans le groupe SAPL.	63
Tableau 6: Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT du groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical.	65
Tableau 7 : Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT du groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical... ..	69
Tableau 8: Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT du groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical. ...	71
Tableau 9 : Résumé des corrélations entre les aPL et le LA.	73
Tableau 10 : Contrôle du LA à distance du premier dosage.	75

Table des schémas

Schéma 1 : Représentation schématique de la prothrombine	46
Schéma 2 : Schéma de la technique ELISA pour la détection des aPS/PT d'isotype IgG ou IgM.	94
Schéma 3 : Plan de plaque de microtitration contenant deux barrettes avec dépôts des calibrateurs et des contrôles en double.	95
Schéma 4 : Plan de plaque après la fin des réactions et lecture par le spectromètre.	95

Abréviations

a β 2GPI : anticorps anti-béata2-glycoprotéine I
aCL : anticorps anti-cardiolipine
aPE : anticorps anti-phosphatidyléthanolamine
aPL : anticorps antiphospholipides
aPS/PT : anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine
aPT : anticorps anti-prothrombine
AOD : anticoagulants oraux directs
AVK : antivitamine K
 β 2GPI : béta-2 glycoprotéine I
CAPS : *Catastrophic AntiphosPhospholipid Syndrom*
CL : *cardiolipine*
dRVVT : *diluted Russel Viper Venom Time*
ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
FDR : facteur de risque
GFHT : groupe français d'étude sur l'hémostase et la thrombose
GPIb : glycoprotéine Ib
GPIIb IIIa : glycoprotéine IIb IIIa
HAS : Haute Autorité de Santé
HBPM : héparine de bas poids moléculaire
HNF : héparine non fractionnée
IC : intervalle de confiance
INR : *International Normalized Ratio*
IR : indice de Rosner
ISTH : *International Society on Thrombosis and Haemostasis*
LA : lupus anticoagulant
LES : lupus érythémateux systémique
MAI : maladie auto-immune
NI : non interprétable
NR : non renseigné
OR : *odds ratio*
PL : phospholipides
PT : prothrombine
PTI : purpura thrombotique idiopathique
SAPL : syndrome des antiphospholipides
TCA : temps de céphaline activée
TNF alpha : *tumor necrosis factor alpha*
tPA : *tissue plasminogen activator*
U : unité
Unité GPL : *IgG PhosphoLipid units*
Unité MPL : *IgM PhosphoLipid units*
VEGF : *vascular endothelial growth factor*

I. Introduction

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) ou syndrome de Hughes est une pathologie auto-immune chronique. Il se définit par les critères diagnostiques de Sapporo (1998) révisés lors de la conférence de Sydney (2004) comme associant des manifestations thromboemboliques artério-veineuses et/ou obstétricales à la présence persistante à 12 semaines d'un ou plusieurs anticorps antiphospholipides (aPL). Actuellement, trois aPL conventionnels font partie des critères diagnostiques : le lupus anticoagulant (LA) mis en évidence par des tests de coagulation, les anticorps anti-cardiolipine (aCL) et les anticorps anti-béata2-glycoprotéine I (a β 2GPI) mis en évidence par des tests immunologiques (1). Les complications du SAPL peuvent être graves et mettre en jeu le pronostic vital. Un traitement anticoagulant à long terme est nécessaire.

Le diagnostic clinico-biologique reste à ce jour une démarche complexe. A l'instar des symptômes et des signes cliniques, les anticorps antiphospholipides sont hétérogènes. Les tests de détection et principalement celui du LA sont complexes. La recherche de LA est délicate dans certaines situations dont la grossesse, le syndrome inflammatoire et en cas de prise de traitement anticoagulant.

D'autres aPL nommés aPL non conventionnels existent. Ils ne font pas partie des critères diagnostiques mais leur présence pourrait aider au diagnostic de SAPL. Parmi eux, les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine (aPS/PT) mis en évidence par des tests immunologiques se sont révélés être un marqueur prometteur du SAPL. Par ailleurs, il existerait une corrélation significative entre la positivité du LA et des aPS/PT chez les patients avec un SAPL (2). Ils pourraient ainsi apporter une aide diagnostique lorsque le dosage du LA n'est pas réalisable ou d'interprétation difficile.

L'objectif de ce travail de thèse est d'étudier la corrélation entre les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine et la présence du lupus anticoagulant chez les patients suspects ou atteints de SAPL.

Cette étude s'intègre dans le travail du biologiste d'évaluation de nouveaux paramètres et de leur signification clinico-biologique.

II. Syndrome des antiphospholipides (SAPL) et anticorps antiphospholipides (aPL)

A. Syndrome des antiphospholipides

1. Définition

Le syndrome des antiphospholipides fait partie des maladies auto-immunes (MAI) systémiques non spécifiques d'organes. C'est une cause de thrombophilie acquise.

Il se définit par les critères diagnostiques de Sapporo élaborés en 1998 (3), révisés à Sydney en 2004 (4) et toujours d'actualité. Ces critères associent la survenue de manifestations thrombotiques veineuses ou artérielles et/ou d'évènements obstétricaux à la persistance à plus de 12 semaines des anticorps antiphospholipides conventionnels que sont le lupus anticoagulant (aussi appelé anticoagulant lupique ou anticoagulant circulant de type lupique), les anticorps anti-cardiolipines et les anticorps anti-béta2-glycoprotéine I.

Le SAPL peut être isolé (SAPL primaire) si aucune autre maladie ou anomalie clinico-biologique sous-jacente n'est associée, ou associé à d'autres maladies auto-immunes systémiques (SAPL secondaire). Le SAPL secondaire est observé chez 40% des patients atteints de lupus érythémateux systémique (LES) et chez 20% des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (5).

2. Epidémiologie et génétique

Le SAPL est une maladie rare. L'incidence est évaluée à 5 nouveaux cas pour 100 000 personnes par an. La prévalence s'élève à 40-50 cas / 100 000 personnes (6).

Il touche principalement les femmes selon un sex ratio de 1 homme / 5 femmes. L'âge moyen est inférieur à 45 ans (6).

Les deux formes de SAPL (primaire et secondaire) sont observées de manière équilibrée (5).

L'existence d'une prédisposition génétique n'est pas clairement établie. Le SAPL est considéré comme une affection familiale dans 10% des cas. Certains allèles HLA de classe II participeraient au développement de la maladie (7). D'autres gènes de prédisposition existent comme le gène du complément (c4.c5), les gènes de la protéine C, de la protéine S, des facteurs II et XIII, du tPA (tissue plasminogen activator), GPIb (glycoprotéine Ib), GPIIb/IIIa (glycoprotéine IIb/IIIa) et du TNFalpha (*tumor necrosis factor*). Le génotype vv (valine/valine) en position 247 du gène de la protéine béta-2-glycoprotéine I (β 2GPI) serait un facteur de risque (FDR) de la production d'a β 2GPI.

3. Physiopathologie

Les manifestations cliniques thrombotiques et inflammatoires du SAPL résultent de mécanismes physiopathologiques nombreux et complexes. Malgré d'importants progrès dans ce domaine, la connaissance de la physiopathologie du SAPL reste incomplète.

Le principal mécanisme suspecté est un défaut d'apoptose cellulaire exposant de manière prolongée les phospholipides (PL) membranaires à la fixation de nombreuses protéines plasmatiques (8). D'autres processus d'activation cellulaire comme le tabac, les traumatismes, certains médicaments et infections induisent également une exposition des PL à la surface membranaire (9).

Des lors, la fixation des protéines plasmatiques sur les PL forme un complexe protéine/PL. La protéine change de conformation et dévoile un nouvel épitope qui devient la cible d'autoanticorps synthétisés par les lymphocytes B.

Les aPL synthétisés seraient ensuite responsables des phénomènes thrombotiques et inflammatoires par l'activation de différentes cibles cellulaires (plaquettes, cellules endothéliales, monocytes, trophoblastes et système du complément). Ils entravent l'activité physiologique des inhibiteurs de la coagulation et inhibent le système fibrinolytique (10).

a. Activation des cibles cellulaires par les aPL (11) (12) (13) (14) (15)

Une fois fixés sur le complexe protéine/PL, les aPL sont capables d'activer les cellules cibles au moyen de récepteurs présents à leur surface. Il existe différents types de récepteurs cellulaires dont l'annexine II, apolipoprotéine E récepteur 2 (ApoER2, récepteur plaquettaire de la famille des lipoprotéines de basse densité (LDL)), les *toll like récepteur 4* (TLR-4), l'héparane sulfate. Il s'ensuit l'activation de cascades de signalisations cellulaires intégrant différentes voies dont la voie MAP kinase p38 ou la voie PI3 kinase/ AKT. Tout ceci mène à un état pro-inflammatoire et procoagulant.

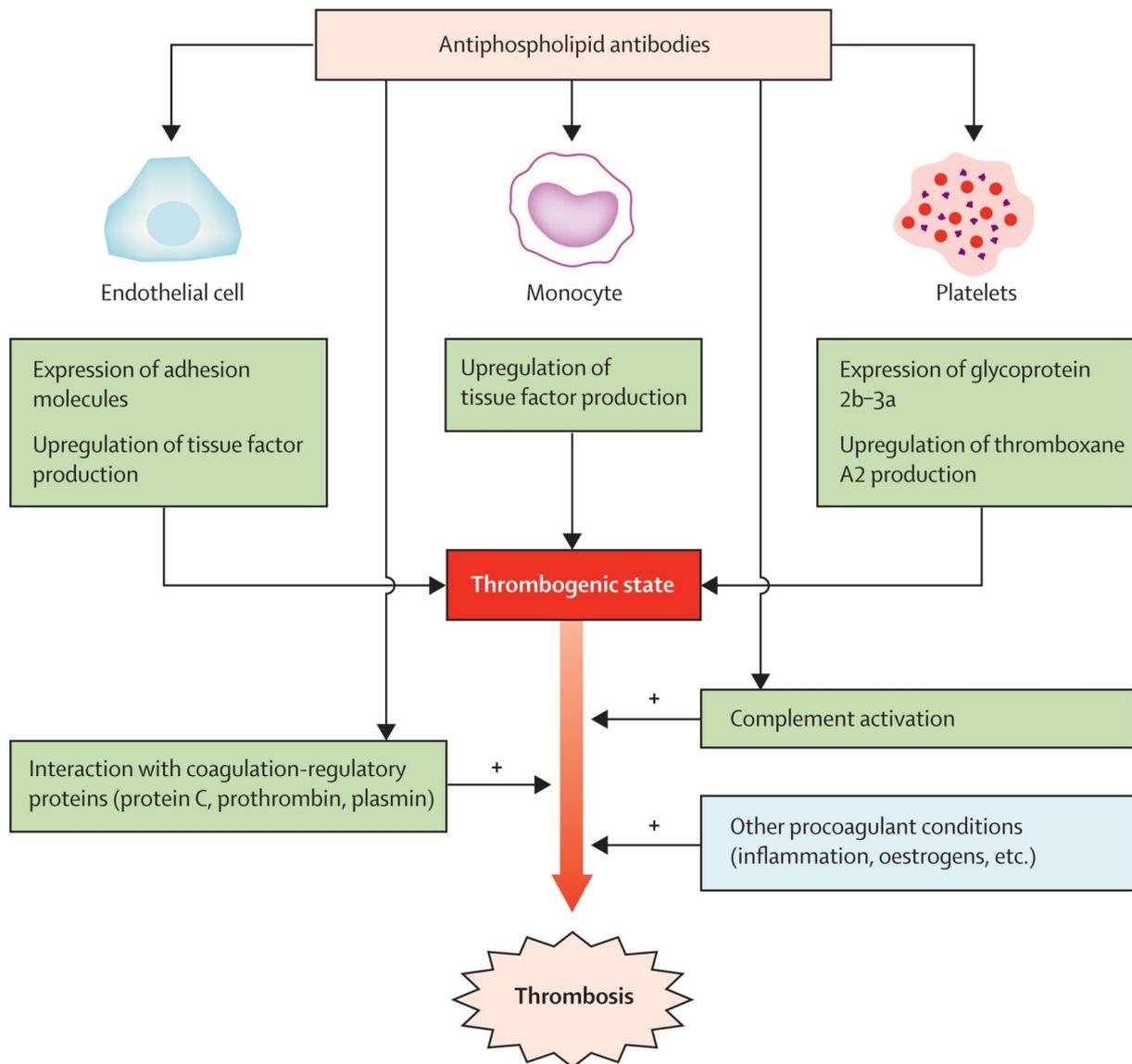
L'activation plaquettaire par les aPL induit la synthèse de thromboxane A2 et l'activation de la voie PI3 kinase/ AKT est responsable de l'adhésion et l'agrégation plaquettaire.

Concernant les cellules endothéliales, les aPL induisent l'expression, à la surface cellulaire, du facteur tissulaire (FT) et des molécules d'adhésion (*intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *vascular-cell adhesion molecule-1* (VCAM-1)) et la synthèse de chimiokines et des cytokines pro-inflammatoires (interleukine-1, interleukine-6, interleukine 8), du *vascular endothelial growth factor* (VEGF), de pré-pro-endothéline et endothéline 1 (puissant vasoconstricteur). Les aPL inhibent la synthèse de monoxyde d'azote à l'origine d'un dysfonctionnement endothélial majeur.

Quant à la fixation des aPL sur les monocytes, ils induisent la synthèse de facteur tissulaire et de cytokines pro-inflammatoires.

Les aPL (dont le complexe $\alpha\beta 2\text{GPI}/\beta 2\text{GPI}$) peuvent activer la voie classique du complément au niveau placentaire (trophoblastes) et dans la circulation sanguine (cellules endothéliales et monocytes). Les anaphylatoxines produites induisent le recrutement et l'activation des polynucléaires neutrophiles, des monocytes, des cellules endothéliales et des plaquettes. Le complexe d'attaque membranaire formé est capable d'induire la lyse et la mort cellulaire.

Ces phénomènes mènent à une réaction inflammatoire importante, à des lésions trophoblastiques et des pertes fœtales (figure 1).



Ruiz-Iratorza *et al.* 2010

Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques des aPL (16)

b. Perturbation des inhibiteurs physiologiques de l'hémostase par les aPL (10) (17) (18) (19)

Les aPL peuvent interférer avec les inhibiteurs physiologiques de l'hémostase dont l'activité est liée aux phospholipides.

La protéine C, protéine anticoagulante, circule sous forme d'un zymogène inactif et acquiert une activité sérine protéase après clivage par la thrombine. Une fois activée, la protéine C dégrade par protéolyse les facteurs Va et VIIIa de la coagulation et inhibe ainsi la synthèse de thrombine. Les aPL entrent en compétition avec les PL utilisés par le système inhibiteur de la protéine C activée et induisent le phénomène de résistance acquise à la protéine C activée, phénomène mis en évidence en 2003 (19).

Les aPL inhiberaient l'activité du *tissue factor pathway inhibitor type I* (TFPI), inhibiteur du complexe facteur tissulaire/VIIa.

La fixation du complexe a β 2GPI/ β 2GPI en augmentant son affinité pour les PL anioniques empêche la mise en place du bouclier protecteur d'annexine V inhibant ses propriétés anticoagulantes.

Ces mécanismes encore incomplètement élucidés concourent à l'effet pro coagulant des aPL.

c. Fibrinolyse et aPL (10) (13)

Les aPL peuvent aussi altérer la fibrinolyse, processus de dégradation du caillot de fibrine par la plasmine.

L'annexine II est un récepteur membranaire de l'activateur tissulaire du plasminogène, enzyme clé de la fibrinolyse. Une fois activé, il transforme le plasminogène en plasmine.

La fixation du complexe β 2GPI/a β 2GPI sur l'annexine II entraîne une faible dissolution du caillot par diminution de son rôle anticoagulant.

La plasmine peut cliver une fraction minoritaire de la β 2GPI au niveau du domaine V. Cette β 2GPI tronquée de son domaine V peut se lier au plasminogène et diminuer la génération de plasmine.

d. aPL et grossesse (20) (21) (22)

La pathogénicité inflammatoire et thrombotique du SAPL obstétrical est également incomplète. A ce jour, les données physiopathologiques décrivent principalement l'implication du système du complément, de l'annexine V et de la protéine β 2GPI.

Les aPL diminuent le taux et la disponibilité de l'annexine V entravant l'intégrité placentaire et entraînant un état hypercoagulabilité locale.

Le processus pathologique des a β 2GPI est le même que dans le SAPL purement thrombotique.

4. Manifestations cliniques et biologiques

Les manifestations cliniques rencontrées au cours du SAPL sont variées. Il n'est pas observé de différence clinique ou biologique majeure entre le SAPL primaire et secondaire (23).

a. Manifestations obstétricales

L'existence du SAPL durant la grossesse est une situation à risque pour la mère et le fœtus.

Les complications fœtales sont dominées par les fausses couches précoces. Les principales complications obstétricales sont la pré éclampsie, l'éclampsie et l'insuffisance placentaire. Ces anomalies peuvent mener à des retards de croissance, des prématurités voire à la mort fœtale in utero. Au total, 9,6% des morts fœtales sont liées à la présence des aPL (20).

b. Manifestations extra-obstétricales

Une grande étude menée par Cervera *et al* (5) a permis d'analyser les données cliniques du SAPL dans une cohorte de 1000 patients. Au moment du diagnostic, les événements cliniques les plus fréquemment retrouvés sont les thromboses vasculaires le plus souvent isolées. Elles apparaissent principalement chez le sujet jeune lors de circonstances favorisantes (grossesse, post-partum, tabac, chirurgie, hypercholestérolémie, hypertension artérielle (HTA)). Elles surviennent sur une paroi vasculaire saine et peuvent toucher tous les vaisseaux sanguins, quel que soit leur taille et leur topographie, expliquant le polymorphisme des manifestations cliniques décrit dans la littérature. Les thromboses vasculaires les plus fréquemment retrouvées sont les thromboses veineuses profondes (TVP) (38,9%) principalement du membre inférieur, les accidents vasculaires cérébraux (AVC) (19,8%) et les embolies pulmonaires (EP) (14,1%) (5). Les thromboses veineuses de sièges inhabituels ne sont pas exceptionnelles. Pelletier *et al* considèrent le SAPL comme la deuxième cause de syndrome de Budd Chiari non tumoral (après les syndromes myéloprolifératifs).

L'évolution spontanée est marquée par un risque élevé de récurrences affectant fréquemment mais pas toujours, les vaisseaux de même nature.

Des manifestations cliniques non thrombotiques peuvent être rencontrées au cours du SAPL (5). Elles ne font pas partie des critères diagnostiques du SAPL. La prévalence exacte de ces atteintes n'est pas connue (24).

Parmi les manifestations extra-obstétricales on retrouve :

- les atteintes neurologiques, variées, regroupant les accidents ischémiques constitués et des manifestations de mécanisme encore incertain dont les épilepsies, les migraines, les myélites transverses, les mouvements anormaux à type de chorée ou dystonie, les dysfonctionnements cognitifs et démences, les syndromes psychiatriques (dépression, psychose),
- les atteintes cardiaques dominées par les valvulopathies cardiaques, l'endocardite de Libman-Snacks (endocardite aseptique), l'infarctus du myocarde, la myocardiopathie et les thromboses intracavitaires,

- les atteintes respiratoires avec l'embolie pulmonaire et l'hypertension artérielle pulmonaire,
- les manifestations dermatologiques diverses avec le livédo reticularis (l'association avec la survenue d'un accident vasculaire cérébral constitue le syndrome de Sneddon) et les ulcérations cutanées. D'autres atteintes plus rares existent dont la nécrose cutanée superficielle voire la gangrène digitale, la phlébite superficielle, l'hémorragie en flammèches sous unguéales,
- les manifestations endocriniennes dont l'insuffisance surrénale,
- les manifestations hépatiques et digestives secondaires aux thromboses des veines sus-hépatiques, aux infarctus spléniques, ischémies intestinales et thromboses de la veine porte,
- les thromboses des artères et veines rénales, des néphropathies glomérulaires non thrombotiques sans microangiopathie thrombotique peuvent également faire partie du tableau clinique,
- et d'autres atteintes plus rares (occlusions rétiniennes, ovariennes).

L'existence d'une thrombopénie (présente chez 1/3 des patients de la cohorte de Cervera) le plus souvent modérée, durable mais fluctuante, dont les complications hémorragiques sont rares et l'anémie hémolytique auto-immune sont des manifestations biologiques pouvant être rencontrées au cours du SAPL (5).

Le taux de mortalité à 10 ans est de 9,3% (5). L'âge moyen de décès est de 59 ans. Au sein de la cohorte de 1000 patients étudiée par Cervera, les principales causes de décès sont les événements thrombotiques graves (dans 36,5% des cas) (les infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux, les embolies pulmonaires) ; puis les infections (dans 26,9% des cas) et les hémorragies (dans 10,7% des cas). Le risque de mortalité ne dépend pas de du type de SAPL (primaire ou secondaire) (5).

c. Syndrome catastrophique des anti-phospholipides

Ronald Asherson est le premier à décrire en 1992 le syndrome catastrophique des antiphospholipides, aussi connu sous le nom de *Catastrophic Antiphospholipid Syndrom* (CAPS) ou *Asherson's syndrom* (25).

C'est une complication rare, retrouvée chez moins de 1% des patients atteints de SAPL.

Une meilleure connaissance de ce syndrome a été possible grâce à l'instauration d'un registre international regroupant plus de 300 cas (26). Le CAPS touche surtout la femme (2/3 des cas) d'un âge moyen de 38 ans. Dans 60% des cas, il vient compliquer un SAPL primaire. Environ un CAPS sur deux est révélateur du SAPL.

Il existe des facteurs de risque de CAPS : infections, cancer, arrêt du traitement anticoagulant par antivitamines K (AVK), changement de traitement anticoagulant (remplacement des AVK par des anticoagulants oraux directs (AOD)), chirurgie, grossesse, poussée lupique, traitement par agoniste du récepteur de la thrombopoïétine (traitement du purpura thrombopénique immunologique (PTI)).

La pathogénie du CAPS est très mal connue. L'étude de Dunoyer Geindre *et al*, en 2009, décrit des atteintes microcirculatoires et systémiques à l'origine de thromboses disséminées et simultanées. Cliniquement, le tableau est celui d'une défaillance multiviscérale survenant en quelques jours ou semaines associée à une maladie thromboembolique veineuse (MTEV).

Le taux de mortalité s'élève entre 30 et 50% lors de l'épisode initial (26).

5. Critères diagnostiques

Au vue de l'hétérogénéité clinique et biologique du SAPL, des critères diagnostiques ont été élaborés durant le 8^{ème} Symposium international de Sapporo en 1998 (3). A Sydney en 2004, lors du congrès international de l'ISTH (*International Society on Thrombosis and Haemostasis*) les critères de Sapporo ont été révisés puis publiés en 2006 (4).

Le pouvoir discriminant des critères de Sapporo apporte une sensibilité de 71%, une spécificité de 98% une valeur prédictive positive (VPP) de 95% et une valeur prédictive négative (VPN) de 88% pour le diagnostic de SAPL (27). Les critères de Sydney ont permis l'amélioration de la sensibilité du diagnostic de SAPL grâce à l'ajout des a β 2GPI comme critère biologique et l'amélioration de la spécificité par la confirmation de la persistante des aPL de 6 à 12 semaines.

Les critères diagnostiques cliniques comprennent :

- des thromboses vasculaires : au moins un épisode de thrombose veineuse, artérielle ou des petits vaisseaux dans n'importe quel tissu ou organe prouvé par l'imagerie ou par l'histologie.
- des événements obstétricaux :
 - une ou plusieurs morts fœtales inexplicables à partir de la 10^{ème} semaine d'aménorrhée, le fœtus étant morphologiquement normal documenté par une échographie ou un examen direct,
 - ou une ou plusieurs naissances prématurées d'un nouveau-né morphologiquement normal avant la 34^{ème} semaine d'aménorrhée pour cause d'éclampsie, de prééclampsie sévère ou d'insuffisance placentaire documentée,
 - ou au moins trois avortements spontanés consécutifs avant la 10^{ème} semaine d'aménorrhée après exclusion de toutes les autres causes anatomiques ou hormonales maternelles et de toutes causes chromosomiques d'origine parentale.

Les critères diagnostiques biologiques comprennent la présence d'un ou plusieurs anticorps antiphospholipides parmi :

- le lupus anticoagulant, recherché selon les recommandations émises par l'ISTH (28) à au moins deux reprises espacées d'au moins 12 semaines,
- l'anticorps anti-cardiolipine d'isotype IgG ou IgM dans le sérum ou le plasma présent à des titres intermédiaires ou élevés (taux > 40GPL pour les IgG et > 40MPL pour les IgM ou > 99^{ème} percentile) à au moins deux occasions espacées d'au moins 12 semaines, utilisant une méthode ELISA standardisée (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*),

- l'anticorps anti- β 2GPI d'isotype IgG ou IgM dans le sérum ou le plasma (à un titre > 99^{ème} percentile) à au moins deux occasions espacées d'au moins 12 semaines utilisant une méthode ELISA standardisée.

L'association d'au moins un critère clinique et d'au moins un critère biologique persistant à 12 semaines permet de poser le diagnostic de SAPL s'il n'y a pas plus de 5 ans entre la survenue de l'événement clinique et la mise en évidence d'un aPL (4).

Il existe une classification du SAPL en 4 sous-types biologiques selon le nombre et le type de marqueurs biologiques présents : (4)

- 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 a β 2GPI isolé

Concernant le CAPS, les critères diagnostiques actualisés en 2003 par Asherson (29) sont :

1. atteinte de trois organes, systèmes et/ou tissus,
2. développement simultané ou en moins d'une semaine des manifestations,
3. confirmation histologique de l'occlusion des petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissu,
4. confirmation biologique de la présence d'un des trois aPL (LA, aCL, a β 2GPI) et leur persistance à 12 semaines.

Le CAPS est défini par la présence de ces quatre critères, tandis qu'il est probable en cas de :

- présence des critères 2, 3, et 4 avec uniquement deux atteintes organes,
- présence des critères 1, 3 et 4 et l'apparition d'un 3^{ème} événement à plus d'une semaine mais à moins d'un mois malgré l'instauration d'un traitement anticoagulant,
- présence des critères 1, 2 et 4,
- présence des critères 1, 2, 3 et une confirmation des aPL impossible en raison du décès du patient.

6. Prise en charge thérapeutique

La mise en place d'un traitement est indispensable pour limiter les récurrences et les complications thrombotiques. Une première étape consiste à identifier et éliminer les FDR thrombotiques qui s'ajoutent potentiellement aux aPL (tabac, HTA, hypercholestérolémie).

Des recommandations concernant la prise en charge du SAPL ont été établies par l'*European League Against Rheumatism* (EULAR) et mises à jour en 2019 (30) :

- en prévention primaire, l'aspirine à faible dose (75-100 mg/jour) est conseillée chez les patients (LES ou non, femme enceinte ou non) avec des aPL dits de haut risque. Sont considérés comme aPL de haut risque : les patients avec un LA et/ou une double ou triple positivité des aPL conventionnels et/ou une persistance d'aPL conventionnels à titres modérés à élevés.
- en prévention secondaire, le traitement d'un événement veineux fait appel à une héparinisation à dose efficace suivie d'un relais par AVK avec une cible thérapeutique *International normalized ratio* (INR) compris entre 2 et 3. En cas d'échec thérapeutique, il est conseillé d'augmenter la cible thérapeutique de l'INR (entre 3 et 4) ou d'ajouter de l'aspirine faible dose ou de switcher par de l'héparine de bas poids moléculaire (HBPM). En cas de contre-indication aux AVK ou de cible thérapeutique non atteinte, un traitement par anticoagulants oraux directs peut être initié. Néanmoins, le rivaroxaban ne peut pas être utilisé chez les patients triple positifs.
En prévention secondaire, le traitement d'un événement artériel fait appel à un traitement par AVK avec une cible de l'INR entre 2 et 3. En cas d'échec thérapeutique, il est conseillé d'augmenter la cible thérapeutique de l'INR (entre 3 et 4) ou de switcher avec une HBPM. Les AOD ne sont pas recommandés en cas d'évènement artériel.
Enfin, il est recommandé une double anticoagulation par héparine à dose prophylactique et aspirine faible dose pour toute femme enceinte avec des antécédents (ATCD) de SAPL obstétrical.

Il n'existe que très peu de données concernant la prise en charge des manifestations non thrombotiques du SAPL.

Il n'existe pas de consensus concernant la durée de traitement. Néanmoins les données de la littérature sont en faveur d'une utilisation des anticoagulants de façon indéfinie (31).

Une réévaluation régulière du rapport bénéfice risque est importante.

Des études cliniques sont en cours pour évaluer l'intérêt de traitements alternatifs : statines, hydroxychloroquine, traitements immunomodulateurs ou immunosuppresseurs.

La mise sur le marché des AOD s'est considérablement développée ces dernières années. Selon l'Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé, leur principale indication réside dans le traitement et la prévention secondaire des maladies thromboemboliques. Ces molécules, de posologie fixe, sont actives par voie orale. Elles inhibent de façon spécifique et directe les facteurs de la coagulation activés que sont le facteur II activé (dabigatran) ou le facteur X activé (rivaroxaban, apixaban). Elles sont considérées comme de puissants anticoagulants d'action rapide (2-3heures). Aucun suivi biologique n'est nécessaire. Le risque d'hémorragie intracérébrale est moindre sous AOD que sous AVK. Un antidote existe pour le dabigatran (idarucizumab).

La prise en charge du SAPL n'a pas fait exception à l'utilisation des AOD. Néanmoins, en 2018, une méta-analyse réalisée par Dufrost (32) révèle que sous AOD, le taux de récurrences thrombotiques est de 16% avec une durée moyenne de 12,5 mois (avec le traitement de référence par AVK, le taux de récurrence thrombotique est évaluée 2,5% par an). Le principal risque thrombotique est d'origine artérielle avec les AVC principalement (33).

Sous rivaroxaban, le risque de récurrence thrombotique est majorée (multiplié par 4) en cas de triple positivité des aPL (34). L'étude TRAPS de Pengo *et al.* en 2018 (35) comparant l'efficacité des AOD (rivaroxaban) par rapport aux AVK (warfarine) chez les sujets triple positifs en aPL conventionnels a dû être interrompue suite aux récurrences thrombotiques (et notamment artérielles) et à la présence de saignements dans le groupe AOD.

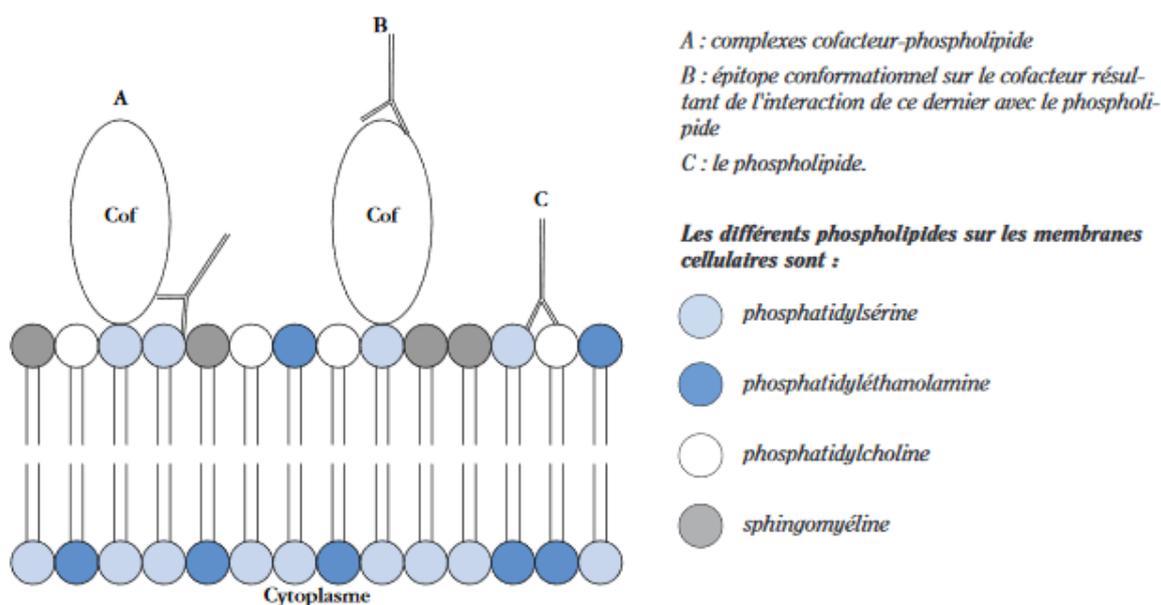
Concernant la prise en charge thérapeutique du CAPS, elle est spécifique et urgente, il s'agit de la « triple thérapie ». Elle correspond à la mise en place d'une anticoagulation par héparine intraveineuse associée à une corticothérapie (bolus puis relais per os) et des échanges plasmatiques ou des immunoglobulines intraveineuses. Il est important de traiter en parallèle un éventuel agent causal. D'autres traitements alternatifs existent. Il s'agit du rituximab, du cyclophosphamide, de l'eculizumab, dont l'indication reste la dégradation clinique du patient. Une surveillance active est nécessaire compte-tenu du risque de récurrence de CAPS ou d'autres manifestations cliniques du SAPL.

B. Anticorps antiphospholipides (aPL)

1. Définition

Les aPL sont une famille d'autoanticorps très hétérogènes par leurs cibles antigéniques et leurs isotypes. Malgré leur dénomination, les aPL ne sont pas dirigés uniquement vers des phospholipides. Les principales cibles antigéniques sont (figure 2) :

- des phospholipides dont la cardiolipine (CL),
- des protéines plasmatiques se fixant sur les PL (aussi appelés cofacteurs), formant un complexe protéine/phospholipide. Les deux principales protéines plasmatiques sont la bêta-2-glycoprotéine I et la prothrombine. L'annexine V, l'annexine II, la thrombomoduline la protéine C et S, prékalicréine, kininogène de haut poids moléculaire, la vimentine sont d'autres cofacteurs protéiques,
- des protéines plasmatiques seules comme la β 2GPI.



Exploration biologique des anticorps antiphospholipides,
Dr. Marielle SAN MARCO. Fédération Auto-immunité et Thrombose
Laboratoire d'Immunologie, Hôpital de La Conception, Marseille

Figure 2 : Cibles antigéniques des aPL

Il existe deux principaux isotypes des aPL, les immunoglobulines G (IgG) et les immunoglobulines M (IgM). Les immunoglobulines A (IgA) sont plus rares et ne sont pas recherchées en routine.

Les aPL sont classiquement répartis en 2 groupes :

- les aPL conventionnels faisant partie des critères diagnostiques du SAPL : LA, aCL d'isotypes IgG et IgM et a β 2GPI d'isotypes IgG et IgM,
- et les aPL non conventionnels : a β 2GPI et aCL d'isotype IgA, aPS/PT, anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (aPE), anti-annexines.

2. Historique

L'histoire des aPL remonte au début du XXème siècle.

Les aPL sont responsables de fausses positivités des sérologies syphilitiques (réaction de Bordet-Wassermann). A l'époque l'antigène utilisé est un extrait alcoolique de cœur de bœuf dont le composant principal est un phospholipide, la cardiolipine. (36)

Fréquemment retrouvés chez les patients lupiques, ces anticorps allongent les tests de coagulation dont le temps de céphaline activée (TCA) (au même titre que le traitement anticoagulant de référence, l'héparine). Conley et Hartmann nomment cette activité plasmatique anticoagulante « anticoagulant circulant ». Cliniquement, ces patients ont une tendance aux évènements thrombotiques.

Harris montre que le sérum de ces patients peut réagir avec d'autres types de phospholipides et introduit le nom de syndrome des antiphospholipides. En 1987, il définit ainsi le SAPL comme une association de manifestations thrombotiques veineuses, artérielles ou de pertes fœtales répétées avec au moins une anomalie biologique parmi l'anticoagulant circulant de type lupique ou les anticorps anti-cardiolipines, confirmée à 2 reprises à au moins 8 semaines d'intervalle.

Les compréhensions physiopathologiques majeures des aPL se font au début des années 1990. Différentes équipes de recherche mettent en évidence que la liaison de certains phospholipides aux anticorps nécessite l'apport de plasma humain ou bovin. A partir de cette date est née la notion de dépendance des anticorps antiphospholipides envers les protéines plasmatiques liant les phospholipides (cofacteurs). La β 2GPI est rapidement identifiée comme l'un des principaux cofacteurs par trois équipes indépendantes (Galli, Krilis, Koike) (37) (38) (39).

3. Cibles antigéniques

Les phospholipides sont des lipides complexes essentiels à la vie humaine. Ils présentent tous une tête hydrophile formée d'un phosphate et d'un groupement spécialisée (acides aminées ou alcool) et une queue hydrophobe formée de glycérol et acides gras. Organisés en bicouche lipidique, ils sont enchâssés entre les protéines, les glucides et le cholestérol et participent ainsi à la structure et la fonction de la membrane cellulaire. Ils ont également un rôle important dans l'hémostase physiologique puisque les interactions protéines-phospholipides participent aux différentes étapes permettant un état d'équilibre procoagulant et anticoagulant.

Ils peuvent être classés selon leur charge :

- les phospholipides anioniques dont la cardiolipine, la phosphatidylsérine, et le phosphatidylinositol
- les phospholipides neutres dont la phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylcholine

Quant aux protéines pouvant être reconnues par les aPL, elles sont nombreuses. Elles ont en commun la capacité de se lier aux phospholipides et d'être impliquées dans le processus de coagulation.

Les deux principales cibles antigéniques sont décrites ci-dessous.

a. La cardiolipine

La cardiolipine est un glycérophospholipide membranaire anionique présent à la surface interne des mitochondries, retrouvé à l'état de trace au niveau plasmatique et absent des membranes cellulaires (1). Les aCL associés au SAPL ne sont pas directement dirigés contre la cardiolipine seule mais contre le complexe PL/cofacteur. La β 2GPI se comporte comme le principal cofacteur pour la liaison aux aCL.

b. La β 2GPI

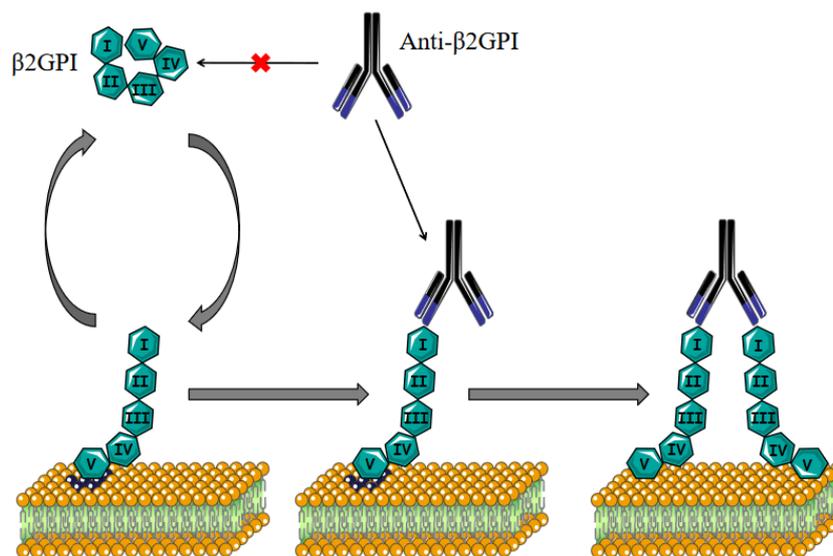
La β 2GPI, aussi nommée apolipoprotéine H, est le principal cofacteur retrouvé au cours du SAPL. Il s'agit d'une glycoprotéine cationique de 50 kDA synthétisée principalement par les hépatocytes et à moindre degré par les cellules endothéliales et les cellules trophoblastiques. Elle est présente physiologiquement dans le plasma à dose de 200 μ g/mL (40). La β 2GPI a une forte affinité pour les molécules chargés négativement dont l'ADN, l'héparine et les PL anioniques (10). Elle appartient à la superfamille des protéines régulatrices du complément (1).

Elle se présente comme une unique chaîne de protéine de 326 acides aminés constitués de cinq domaines (I à V). La β 2GPI existe sous deux conformations différentes : la forme circulaire, libre dans le plasma et la forme ouverte liée aux PL anioniques. Le domaine V est le site de fixation majeur aux PL anioniques membranaires (41).

Physiologiquement, elle participe à l'élimination des agents infectieux et des multimères de haut poids moléculaires du facteur de Willebrand (9). Elle a aussi un rôle anti-apoptotique et anti angiogénique. Elle exercerait un rôle anticoagulant par sa capacité à inhiber la synthèse de la thrombine et l'activation des facteurs X, XI et XII et du facteur tissulaire.

Le rôle pathogène de la β 2GPI dans le SAPL s'explique principalement par la modification fonctionnelle de la protéine induite par la fixation des anticorps (figure 3) (42).

Lorsque la protéine β 2GPI (domaine V) rencontre des PL anioniques présents à la surface de différents types cellulaires, elle change de conformation, se déplie (conformation ouverte) et laisse découvrir l'épitope cryptique présent sur le domaine I très antigénique (comprenant Gly40 et Arg43). Cet épitope sera reconnu par les anticorps. Lors de la fixation des a β 2GPI, la protéine β 2GPI se dimérise et le complexe β 2GPI/ a β 2GPI acquière une affinité plus importante envers les PL anioniques et les récepteurs membranaires de la β 2GPI.



Masliah-Planchon J et Darnige L, Rev Med Int 2012

Figure 3 : Mécanisme d'activation cellulaire par les a β 2GPI (10)

4. Indications à la recherche d'aPL

Le SAPL étant cliniquement et biologiquement polymorphe, toute manifestation suspecte doit être considérée. Parallèlement, toute thrombose avec des FDR thrombotiques connus (tabac, cholestérolémie, HTA, pilule oestroprogestative, grossesse, ATCD familiaux) ne doit pas faire exclure le diagnostic de SAPL.

En 2011, la Haute Autorité de Santé Public (HAS) dans un rapport d'évaluation technologique (43) mentionne qu'au vu de la gravité des symptômes et de la nécessité d'un traitement anticoagulant urgent et prolongé, le SAPL doit être connu et évoqué devant :

- les thromboses vasculaires : accident thromboembolique veineux ou artériel chez des patients âgés, accident thromboembolique veineux provoqué chez le sujet jeune, accident thromboembolique veineux non provoqué ou accident thromboembolique artériel non expliqué chez le sujet jeune de moins de 50 ans, thrombose dans des sites inhabituels, thrombose chez des patients atteints de maladie auto-immune (MAI), premier épisode de MTEV non provoquée survenu avant 60 ans, MTEV provoquée ou non chez les femmes en âge de procréer, toute récurrence de TVP proximale et/ou EP provoquée ou non dont le premier épisode est survenu avant 60 ans, toute récurrence de TVP distale non provoquée, épisode de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire sans cause apparente, récurrence de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire, accident vasculaire cérébral ou thrombose artérielle périphérique en l'absence de facteur de risque, thromboses artérielles récurrentes malgré un traitement anticoagulant préventif, lupus érythémateux systémique,
- les pathologies obstétricales : fausses couches spontanées précoces multiples, mort intra-utérine tardive chez des patientes atteintes de maladie auto-immune,

prééclampsie précoce ou sévère ou insuffisance placentaire sévère, mort intra-utérine inexpliquée, retard de croissance intra-utérin sévère inexpliqué chez des femmes ayant un antécédent de MTEV ainsi que chez les femmes enceintes asymptomatiques avec une histoire familiale de MTEV ou de thrombophilie héréditaire.

Concernant le dosage de LA, des recommandations de l'ISTH datant de 2009 (28) ont spécifiquement été émises. Il doit être limité aux patients qui ont une probabilité significative d'avoir un SAPL ou qui ont un TCA prolongé de manière inexpliquée. Les indications de recherche de LA peuvent être hiérarchisées selon les caractéristiques cliniques des patients :

- faible probabilité : accident thromboembolique veineux ou artériel chez les patients âgés,
- probabilité modérée : TCA allongé (découvert accidentellement) chez des sujets asymptomatiques, fausses couches spontanées précoces multiples, accident thromboembolique veineux provoqué chez le sujet jeune (<50 ans),
- forte probabilité : accident thromboembolique veineux non provoqué ou accident thromboembolique artériel non expliqué chez le sujet jeune, thromboses dans des sites inhabituels, mort intra-utérine, thrombose ou mort intra-utérine tardive chez des patients atteints de maladies auto-immunes.

Il doit aussi être recherché en cas de LES (les aPL conventionnels dont le LA font partie des critères diagnostiques du LES (44)).

Enfin, le LA peut être recherché devant un PTI (d'autant plus qu'il est associé à des arthralgies, ou arthrite, perte de cheveux, photosensibilité, rash cutané), un livedo reticularis (particulièrement si une autre MAI ou une thrombopénie modérée est associée), des patients jeunes < 50 ans atteints d'autres manifestations cliniques que celles constituant les critères cliniques de Sydney (dysfonction cognitive, atteintes valvulaires cardiaques par exemple) (45).

5. Méthode de détection

Le diagnostic biologique de SAPL doit obligatoirement comporter la recherche, à partir d'un même prélèvement, du LA, des aCL et des a β 2GPI. Il ne peut être posé que si la persistance d'un ou plusieurs anticorps est démontrée. Il convient alors de reconstrôler systématiquement les 3 aPL conventionnels (46).

A. Détection du lupus anticoagulant

Le terme lupus anticoagulant représente un groupe d'autoanticorps antiphospholipides hétérogènes. Il doit son nom au phénomène paradoxal engendré in vitro. Les aPL sont capables de se fixer aux PL du réactif avec une forte affinité les empêchant d'interagir avec les facteurs de coagulation. Ils allongent ainsi les tests de coagulation dépendant des phospholipides. In vivo, le LA a un effet procoagulant (expliqué entre autres par le phénomène de résistance à la protéine C activée).

L'activité anticoagulante lupique est principalement induite par les anticorps anti-prothrombine (aPT) et par les a β 2GPI (47).

Il n'existe pas un test unique permettant à lui seul de diagnostiquer la présence de LA. La recherche de LA implique de recourir à une combinaison de tests fonctionnels.

Selon les recommandations de l'ISTH en 1995 (48) et revues en 2009 (28), le dosage du LA comporte 4 étapes :

- test de dépistage : allongement d'un des tests de coagulation dépendant des PL
- l'épreuve de mélange : mise en évidence de l'activité inhibitrice par un test de mélange plasma témoin
- test de confirmation : mise en évidence de la dépendance de l'allongement du test de coagulation vis-à-vis des phospholipides
- exclusion des autres anomalies de la coagulation.

D'après le rapport d'évaluation technologique de la HAS (43), la sensibilité et la spécificité de la recherche du LA varient respectivement de 82% à 99% et de 88% à 99%.

En 2020, une réactualisation des recommandations du dosage de LA est effectuée par le Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT) (46). Durant cette même année, une mise à jour des recommandations du dosage de LA est émise par l'ISTH (45).

1. Etapes pré-analytiques

La détection de LA répond à des règles pré-analytiques précises.

Le prélèvement est réalisé sur tube citrate 0,109 M (1 volume de solution citrate pour 9 volumes de sang). Une double centrifugation est nécessaire afin d'obtenir un plasma contenant un taux de plaquettes < 10 G/L. La présence résiduelle de plaquettes peut conduire à des résultats faussement négatifs par neutralisation des aPL par les PL plaquettaires.

Lorsque le dosage n'est pas réalisable dans des délais acceptables, une congélation du plasma déplaquetté doit être effectuée le plus rapidement possible (≤ 4 heures (45)). La température de congélation recommandée est de -70°C . La décongélation devra être réalisée rapidement (en 5 minutes) dans un bain marie à 37°C , en immersion totale (46).

Concernant la détection de LA sous traitement anticoagulant, il est primordial au biologiste d'en connaître l'existence (28) puisque :

- chez les patients traités par AVK, les tests de coagulation sont réalisés selon l'INR. Si celui-ci est inférieur à 1,5 il peut être réalisé. Si l'INR est compris entre 1,5 et 3 la recherche de LA se réalise à partir d'un mélange de plasma du patient avec du plasma témoin à volume égal (permet d'apporter les facteurs vitamines K dépendants déficitaires sous traitement). Il existe néanmoins un risque de résultat faussement négatif par dilution de l'anticorps. Si l'INR est supérieur à 3, le LA ne peut pas être recherché.
- chez les patients sous HBPM, la recherche de LA doit être réalisée 12 à 24 heures après la dernière injection.

Il n'est pas recommandé de doser le LA :

- en cas de prise héparine non fractionnée (HNF) (risque de résultats faussement positifs). Néanmoins, du fait de la présence d'inhibiteur de l'héparine au sein de certains réactifs des tests de dépistage et de confirmation, il est possible de les réaliser si la valeur de l'héparinémie anti-Xa est comprise entre 0,30 - 0,70 UI/mL.

- sous AOD. Il est nécessaire d'attendre 72 heures après la dernière prise avant d'exécuter le dosage. Il existe un risque de résultat faussement positif des tests de confirmation compris entre 20,7 et 43,3% selon l'AOD utilisé (49). Ce risque de résultat faussement positif existe même à des concentrations faibles d'AOD (< 30 ng/mL).

Certains laboratoires d'analyses médicales se sont munis de tests permettant la neutralisation de la molécule d'AOD. La méthode par neutralisation en présence de charbon activé permet d'éliminer la présence d'un LA dans 9 cas sur 10 (50). Toute positivité de LA devra être confirmée par un nouveau dosage à distance de toute prise d'AOD.

Néanmoins, il est préférable de rechercher le LA à l'arrêt de tout traitement anticoagulant (28).

Il est également souhaitable de doser le LA à distance de l'évènement thrombotique, des épisodes infectieux (risque de résultat faussement positif par interférence des PL avec la CRP (*C réactive protein*) et de résultat faussement négatif par augmentation du facteur VIII de la coagulation), et au moins 6 semaines après la grossesse (et idéalement 3 mois après (45)) (risque de résultat faussement positif ou faussement négatif (45)).

Il est important de réaliser les dosages dans le même laboratoire.

2. Etape du dépistage : allongement d'un test de coagulation phospholipide dépendant

Du fait de l'hétérogénéité du LA, il est nécessaire de réaliser au moins deux tests de dépistage explorant deux axes différents de la cascade de coagulation et qui utilisent de faibles concentrations de réactifs phospholipidiques.

Il est recommandé de réaliser :

- le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT, *Dilute Russell Viper Venom Time*). Selon l'ISTH (28), c'est le premier test à être considéré car il est le plus spécifique pour la détection du LA chez les patients à haut risque thrombotique. Ce test est basé sur l'activation du facteur X (voie commune de la coagulation) au moyen d'un extrait de venin de vipère Russell (figure 4). Le facteur X activé (Xa) permet la conversion de la prothrombine en thrombine en présence de phospholipides, de calcium et de facteur V activé (appelé complexe prothrombinase).

S'ils sont présents, les aPL interfèrent avec les PL du complexe prothrombinase.

Le résultat s'exprime selon un ratio screen ou dRVVT screen :

$$\text{dRVVT screen} = \frac{\text{Temps de coagulation (seconde) du plasma à tester}}{\text{Temps de coagulation (seconde) du plasma témoin}}$$

Le test dRVVT n'est pas influencé par les déficits en facteur VII, VIII, IX, XI et les facteurs de la phase contact ni par les inhibiteurs dirigés contre ces facteurs.

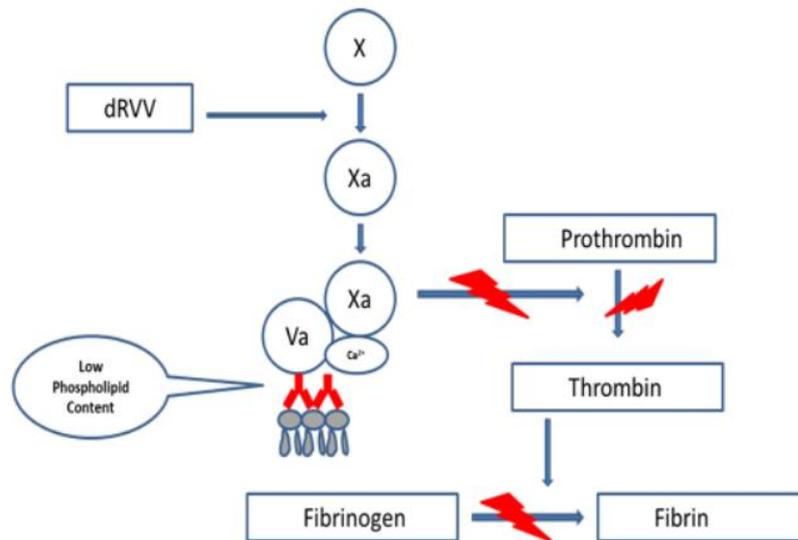


Figure 4 : Test de dépistage dRVVT (51)

- le temps de céphaline activé sensible au LA (TCA sensible). Au sein du réactif, la silice est utilisée comme activateur de la voie intrinsèque de la coagulation (facteur XII). Ce test, plus global, évalue les étapes de la coagulation en amont du facteur X (figure 5).

La sensibilité varie de 50 à 70% selon les réactifs utilisés (52).

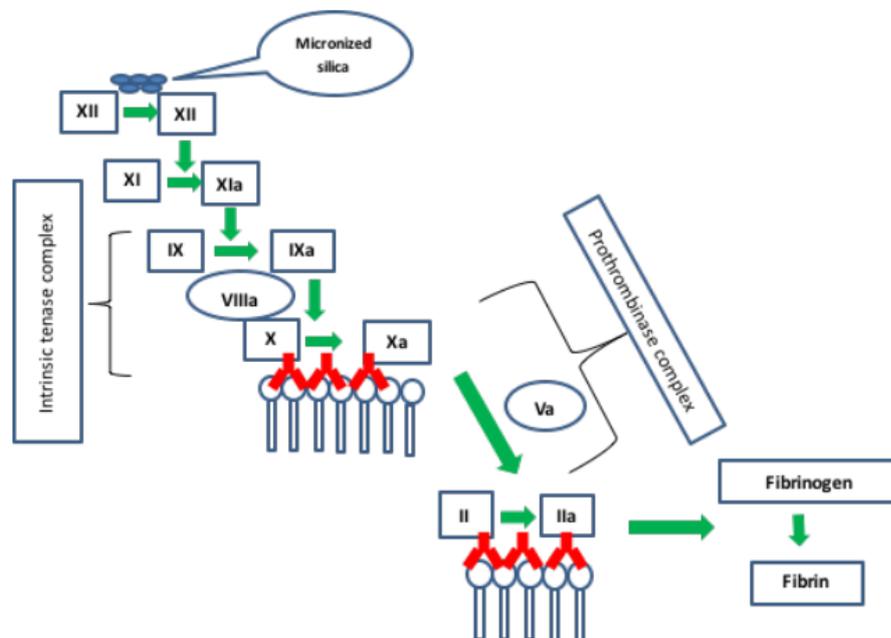


Figure 5 : Test de dépistage TCA sensible au LA (51)

Si l'un des deux tests de dépistage est positif, les dernières recommandations de l'ISTH (45) conseillent de réaliser simultanément l'épreuve de mélange et les tests de confirmation.

3. Epreuve de mélange : mise en évidence de l'activité inhibitrice par un test de mélange

L'épreuve du mélange doit être réalisé selon un rapport de 1:1 entre le plasma à tester et un pool de plasma témoin sans étape de préincubation.

La mise en évidence de l'effet inhibiteur de l'anticorps est objectivée par l'absence de correction lors de la répétition des tests de dépistage.

Il peut être évalué en utilisant l'indice de Rosner (IR) :

$$\text{IR} = \frac{\text{Temps de coagulation (plasma à tester + plasma témoin)} - \text{Temps de coagulation plasma témoin}}{\text{Temps de coagulation plasma à tester}} \times 100$$

L'intérêt de l'épreuve de mélange fait l'objet de débat par l'absence de détection des LA faiblement positifs (résultat de LA faussement négatif par dilution). Néanmoins, elle permet en cas de LA fortement positif de ne pas rendre un résultat de LA faussement négatif dont le temps de coagulation resterait allongé lors des tests de dRVVT confirm. Aussi, l'épreuve de mélange peut mettre en évidence une autre cause d'allongement des temps de coagulation dont la prise d'anticoagulant (AVK) ou la présence de déficit en facteur de coagulation) (45) lorsque les tests de dépistages et de confirmation sont positifs et le test de mélange est négatif.

4. Etape de confirmation : test de neutralisation du LA

Cette étape prouve que l'inhibiteur est phospholipide dépendant par l'ajout d'une forte concentration de phospholipides dans le plasma patient. Les PL peuvent être apportés sous différentes formes. Il existe un test dRVVT riche en PL.

Du fait de l'ajout en excès de PL, les aPL présents sont neutralisés par les PL en excès et les PL restants se lient au complexe prothrombinase (figure 6). Ainsi, il est observé une correction des temps de coagulation.

Le résultat s'exprime selon un ratio confirm ou dRVVT confirm :

$$\text{dRVVT confirm} = \frac{\text{Temps de coagulation (seconde) du plasma à tester}}{\text{Temps de coagulation (seconde) du plasma témoin}}$$

Il est recommandé d'intégrer les résultats du test de dépistage et du test de confirmation selon un rapport normalisé :

$$\text{Ratio normalisé} = \frac{\text{dRVVT screen}}{\text{dRVVT confirm}}$$

Un autre mode d'expression des résultats existe : pourcentage de correction ((dRVVT screen – dRVVT confirm) / dRVVT screen) x 100.

Il n'y existe pas d'élément déterminant en faveur de l'un ou l'autre de ces modes d'expression des résultats (46).

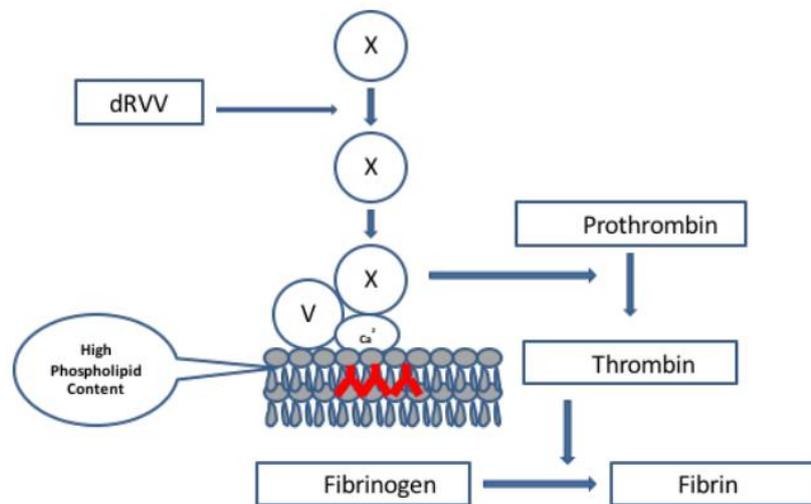


Figure 6 : Test de confirmation dRVVT (51)

Malgré les dernières recommandations émises par la GFHT (46), la détection du temps de coagulation du plasma témoin et des seuils de positivité des tests restent complexes.

Pour déterminer le temps de coagulation du plasma témoin (test de mélange et tests dRVVT), il convient de disposer d'un pool de plasma normal répondant à des exigences strictes. Il est issu d'au moins 20 donneurs sains (le nombre exact est difficile à définir, l'ISTH recommande d'utiliser au moins 40 donneurs sains (45)), déplaqueté et dont les taux de facteurs de coagulation sont supérieurs à 80%. Il peut être préparé localement au sein de chaque laboratoire ou être issu d'un plasma commercial. Il est déterminé à chaque série ce qui permet de diminuer la variabilité entre les opérateurs et les réactifs. Une alternative a été proposée (53) consistant à utiliser la moyenne du temps de coagulation déterminée pour chaque lot plutôt que d'utiliser un pool de plasma normal mesuré à chaque série.

Les seuils de positivité des tests de dépistage et de mélange sont les 99^{ème} percentiles des distributions observées chez les sujets sains. Les dernières propositions du GFHT (46) n'émettent pas de recommandation spécifique quant au seuil de positivité du ratio normalisé dRVVT screen / dRVVT confirm. Quant aux dernières recommandations émises par l'ISTH (45), elles suggèrent l'utilisation du seuil au 99^{ème} percentile. Etablis par les laboratoires, les seuils de positivité doivent être néanmoins vérifiés lors de chaque changement de lot de réactif. Il a été proposé de ne tester que 20 donneurs sains (par difficulté d'accès à une population de taille suffisante) et d'accepter les seuils indiqués par les fournisseurs pour le lot de réactifs donné s'il n'y a pas plus de 2 valeurs hors des limites indiquées (46).

Un seuil de positivité universel (selon le test et l'automate utilisés) est toujours en cours de recherche (45).

5. Exclusion d'une coagulopathie associée

Cette étape s'affranchit des autres causes d'allongement des temps de coagulation pouvant être associés au LA. Il est nécessaire d'éliminer un déficit en facteur de la voie endogène (VIII, IX, XI et XII), la présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre l'un de ces facteurs, un déficit en inhibiteur de la coagulation, la présence d'héparine.

Le LA peut entraîner des faux déficits d'un ou plusieurs facteurs de la voie endogène par interférence des aPL avec les PL des dosages chromométriques. La mesure de ces facteurs doit être réalisée à des dilutions croissantes du plasma à tester. Si le LA est présent de manière isolée, les taux de facteurs se normalisent lors des dilutions croissantes. A l'inverse, la persistance de la diminution de l'un de ces facteurs est en faveur d'un déficit en facteur (ou d'un inhibiteur spécifique) associé au LA. En cas de doute, un dosage chromogénique (insensible au LA) peut être réalisé (54).

Grâce aux recommandations de 2009 émises par l'ISTH (28), de nombreux progrès dans la mise en place des étapes de dosage et le choix des différents tests ont été réalisés.

Néanmoins, il reste encore des difficultés de standardisation entre les laboratoires d'analyses. En 2019, Cohen *et al.*(55) ont réalisé un questionnaire sur le dosage du LA à destination des cliniciens et biologistes. La majorité des répondants sont des biologistes (58%) et travaillent dans un centre hospitalier. D'après l'étude, les principales limites à l'harmonisation des résultats sont :

- le manque de connaissance quant au moment de réalisation du test de LA. Concernant les événements thrombotiques, 37,6% des répondants pensent que le test est réalisable à n'importe quel moment de la thrombose, et 13,8% ne se prononcent pas. Soixante pour cent des répondants pensent que le dosage est possible à n'importe quel moment de la grossesse et 16,7% ne se prononcent pas.
- la prise en charge des patients sous anticoagulants. Seulement 42% des personnes pensent que le test est réalisable sous AVK et les opinions divergent sur le moment opportun par rapport à l'INR. Trente pour cent des répondants pensent que le test est réalisable sous AOD et 50% ne se prononcent pas.
- le cut-off des résultats. Les avis divergent concernant le seuil de positivité à prendre en compte (99^{ème} percentile, 97,5^{ème} percentile).

Au total, l'interprétation des résultats de LA nécessite une maîtrise parfaite des étapes pré-analytiques et analytiques.

Pour toute recherche de LA positive, l'absence d'interférence avec un traitement anticoagulant doit être systématiquement recherchée. Si les informations recueillies sont insuffisantes pour exclure la prise d'un traitement anticoagulant, la mesure de l'activité anti-Xa permet d'exclure une souillure du prélèvement par de l'héparine. Pour vérifier l'absence d'AOD anti-Xa ou anti-IIa, il est également conseillé de réaliser une mesure de l'activité anti-Xa HNF ou HBPM et un temps de thrombine (46).

Le résultat doit être interprété en collaboration avec les cliniciens (46), selon le contexte clinique du patient, le résultat des autres aPL conventionnels (aCL et a β 2GPI) et la persistance des aPL à 12 semaines.

B. Détection des aCL et aβ2GPI

Les aCL et aβ2GPI sont dosés en routine dans de nombreux laboratoires. Le dosage s'effectue au moyen de tests immunologiques selon une réaction anticorps / antigène. De nombreux tests existent : le test ELISA conventionnel manuel, les tests ELISA automatisés (chimiluminescence ou billes multiplex), les techniques par ImmunoDOT. Pour chacune de ces techniques, une variété importante de kits commerciaux est proposée. Pour l'heure, il n'existe pas de gold standard et ces différentes méthodes de dosage ne sont pas superposables entre elles.

Les traitements anticoagulants n'induisent pas d'interférence avec les tests immunologiques. Leur dosage est réalisable à la phase aiguë de la thrombose. Des résultats faussement positifs ont tout de même été décrits avec le facteur rhumatoïde (pour les isotypes IgM des aPL), les anticorps hétérophiles et les immunoglobulines monoclonales à concentrations élevées (56). Il convient également d'éviter les échantillons ictériques, hémorragiques et lipidiques (57). Au cours du 3^{ème} trimestre de grossesse, il est possible d'observer une baisse des aPL.

Selon la conférence de Sydney, il est recommandé d'effectuer le dosage des IgG et/ou des IgM des aCL et des aβ2GPI. La détection des deux isotypes améliore la sensibilité et la spécificité pour le diagnostic du SAPL.

Des recommandations sont émises par les experts du sous-comité antiphospholipides de l'ISTH (57). Elles préconisent l'utilisation de contrôle qualité interne (CIQ) lors de chaque série de dosage et la participation aux évaluations externe de qualité (EEQ). Les valeurs seuils se calculent au 99^{ème} percentile à partir de 120 témoins si un seuil local est utilisé (pour valider le seuil du fabriquant 20 donneurs sains sont suffisants).

Les résultats s'expriment à partir d'une courbe de calibration multipoints (relation entre la quantité de l'anticorps et le signal produit pendant la technique de mesure).

Compte tenu de l'absence d'étalon international de référence (58), les résultats des aCL sont rendus en unité GPL (*IgG phospholipid units*) pour les IgG et en unité MPL (*IgM phospholipid units*) pour les IgM. Une unité GPL ou MPL est définie comme l'activité de liaison à la cardiolipine de 1µg/mL d'anticorps IgG ou IgM purifié (58). Les résultats des aβ2GPI s'expriment en unité arbitraire (unité/mL).

Pour être inclus dans les critères biologiques de positivité du SAPL, les aCL doivent être supérieurs à 40 GPL ou MPL, ou supérieurs au 99^{ème} percentile (le seuil du 99^{ème} percentile semble être plus spécifique) et les aβ2GPI doivent être supérieurs au 99^{ème} percentile.

L'interprétation des résultats doit tenir compte du contexte clinique, des résultats des 3 aPL conventionnels et de la nécessité d'un contrôle des aPL à 12 semaines.

1. Recherche des aCL

Lors de la recherche des aCL, les tests ELISA conventionnels et les tests immunologiques plus récents mettent en évidence sans les distinguer plusieurs types d'anticorps (figure 7) (1) :

- ceux qui reconnaissent le domaine I de la β_2 GPI, les plus pathogènes, majoritairement d'isotype IgG et pouvant être associés à l'isotype IgM,
- ceux qui reconnaissent les autres domaines de la β_2 GPI
- ceux reconnaissant uniquement la cardiolipine de façon indépendante à la β_2 GPI, ce sont les « vrais aCL ». Le plus souvent transitoires (rencontrés dans les situations infectieuses ou médicamenteuses) et de titres faibles, ils peuvent être d'isotype IgG ou IgM.

Différents kits issus de différents fournisseurs existent. En cas de technique ELISA en microplaque, celle-ci peut être irradiée ou non. L'antigène cardiolipine peut être plus ou moins oxydé en fonction des lots de préparation. C'est la forme oxydée de la cardiolipine qui serait majoritairement reconnue par les aCL. L'apport de la protéine β_2 GPI est issu de plasma ou de sérum animal. Le temps d'incubation doit être suffisant.

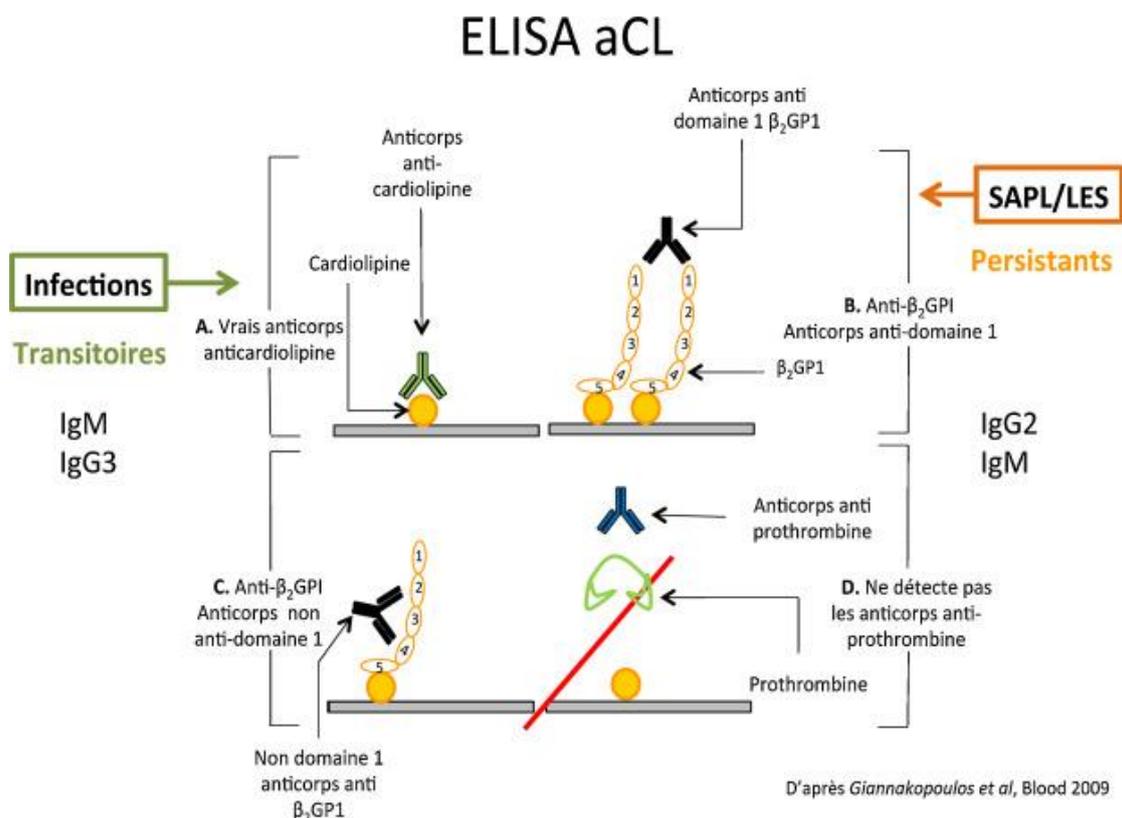


Figure 7 : Anticorps détectés par la technique Elisa aCL (1)

2. Recherche des aβ₂GPI

Les tests immunologiques par ELISA ont été mis au point pour détecter spécifiquement les aβ₂GPI et ce quel que soit le domaine (I-V) (figure 8).

Les anticorps reconnaissent les épitopes de la protéine β₂GPI lorsqu'elle est liée aux phospholipides anioniques ou fixée sur une plaque irradiée. L'irradiation crée des résidus carbonyle chargés négativement au fond du puit et mime ainsi le changement conformationnel de la β₂GPI lors de sa liaison aux PL. L'irradiation augmente aussi la densité antigénique au fond des puits permettant une meilleure fixation des anticorps qui ont une faible affinité (59). Il convient d'utiliser de la β₂GPI humaine purifiée (et non recombinante) (57).

La recherche d'aβ₂GPI est plus spécifique que celle des aCL pour le diagnostic du SAPL puisqu'elle ne détecte pas les vrais aCL. Cette meilleure spécificité des aβ₂GPI (98% versus 54% pour les aCL) s'accompagne d'une sensibilité plus faible (54% versus 87% pour les aCL) (60).

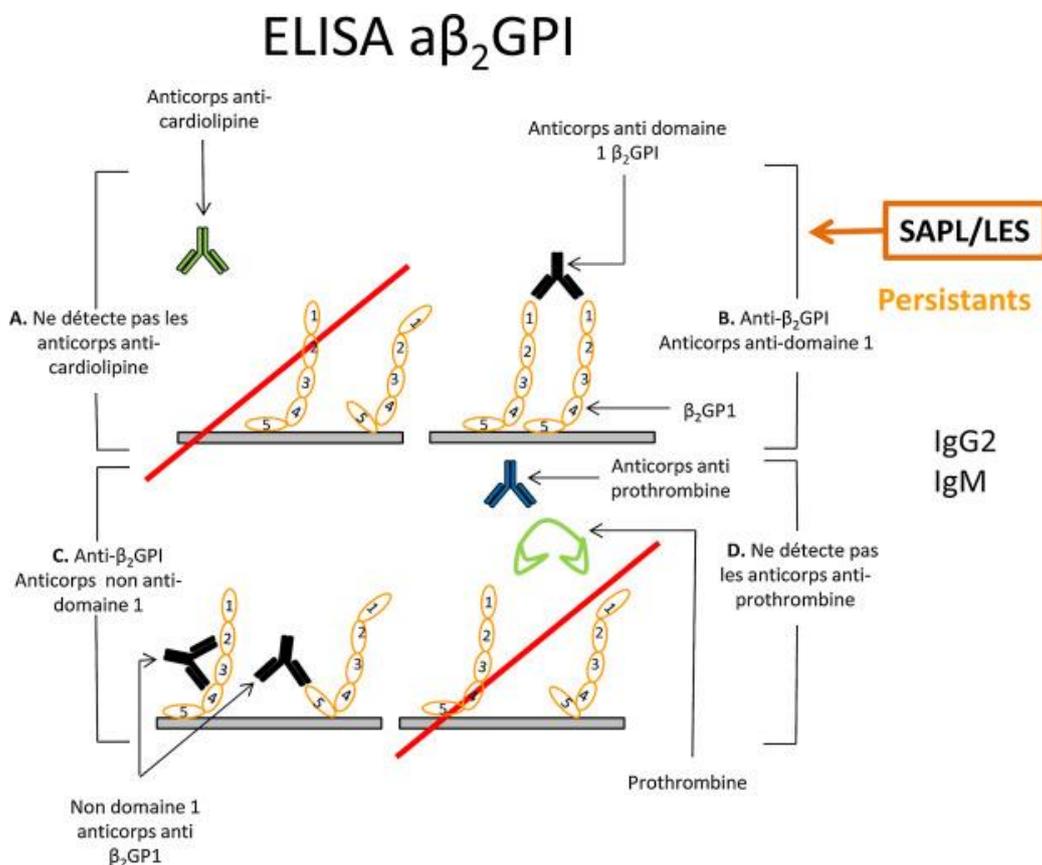


Figure 8 : Anticorps détectés par la technique Elisa aβ₂GPI (1)

6. Signification clinique

a. aPL conventionnels

Le LA, les aCL et les a β 2GPI sont les trois aPL conventionnels dont le dosage est recommandé par l'ISTH. Ils sont les plus pertinents cliniquement. Le profil de ces marqueurs biologiques est important dans la prédiction du risque thrombotique et des récurrences et de la probabilité de la persistance des aPL à 12 semaines.

Toutefois, les aPL ne sont pas spécifiques du SAPL.

Leur prévalence est évaluée à 1-5% dans la population générale (61). Une très faible minorité de ces patients développeront un SAPL (62).

La plupart des aPL sont transitoires et sans traduction clinique. Ils sont décrits dans de nombreuses situations (62):

- infections virales (VIH, hépatites A, B et C, mononucléose infectieuse, parvovirus, rubéole), bactériennes (infection à mycoplasme, maladie de Lyme, syphilis, rickettsioses, tuberculose), parasitaires (toxoplasmose),
- néoplasies solides et hémopathies,
- causes toxiques, médicamenteuses (bêta-bloquant, anti-TNF, interféron alpha à forte dose, quinine, quinidine, phénothiazines, hydantoïnes, hydralazine, procainamide, propylthiouracile, pilule oestro-progestative),
- drépanocytose, anémie pernicieuse, le purpura thrombopénique idiopathique
- thyroïdites auto-immunes, diabète insulino-dépendant, myasthénie, sclérose en plaque,
- vascularites primitives, maladies inflammatoires du tube digestif, sarcoïdose, maladie de Behçet, rhumatisme articulaire aigu,
- cirrhose, insuffisance rénale terminale, hémodialyse,
- chez des sujets sains, notamment la personne âgée.

C'est pourquoi, une confirmation de la présence des aPL à 12 semaines est primordiale pour le diagnostic de SAPL.

Lors du bilan étiologique d'un événement thromboembolique, les aPL sont retrouvés chez 13% des patients avec un AVC, 11% des patients avec un infarctus du myocarde, 9,5% des patients avec une TVP et 6% des patients avec des complications obstétricales (23).

Trente pour cent des patients avec des aPL ont un ATCD thrombotique (63).

Parmi les anticorps conventionnels, le LA est considéré comme le marqueur biologique le plus à risque d'événements thromboemboliques et obstétricaux (OR (*odds ratio*) 4,4, IC 95% (intervalle de confiance) 1,5-13,3). Il s'ensuit les a β 2GPI (OR 2,9 IC 95% 1,1-7,5) et les aCL (OR 1,2 IC 95% 0,5-2,7) (64) (65). Dans une cohorte de patients atteints de LES, le risque de thrombose veineuse est multiplié par cinq à six en présence de LA positif et par deux à trois en cas d'aCL positifs (66) (67).

Démonstré par Pengo *et al*, en 2011, les patients triple positifs (LA, aCL, a β 2GPI) sont à plus haut risque de thrombose que les patients avec un ou deux anticorps (64). Aussi, la triple positivité est associée à un risque de récurrence qui augmente avec le temps.

Le risque de récurrence est de 12,2% (IC 95% 9,6-14,8) à 1 an et de 44% (IC 95% 38,6-49,8) à 10 ans, et ce quel que soit l'évènement thromboembolique initial (artériel ou veineux) (68). Enfin, en cas de triple positivité lors du dosage initial des aPL, la confirmation à 12 semaines est probable dans 98% des cas alors que celle-ci est de 40% chez les patients avec un seul aPL positif (69).

La pertinence clinique et biologique de la présence isolée de LA est controversée (70). Un résultat de LA isolé peut être considéré comme un résultat faussement positif lorsque le taux est proche du seuil, chez les patients âgés ou s'ils sont diagnostiqués pour la première fois (28).

Dans une population de patients sans thrombose ou évènement obstétrical, la présence isolée de cet anticorps est associée à un faible risque de thromboses annuelles chiffré à 1,3% par an alors que celui-ci est évalué à 5,3% par an chez les patients triple positifs (71) (72). Celle-ci reste toutefois plus élevée que l'incidence des évènements thrombotiques dans la population générale (population caucasienne âgée 35-55 ans : 0,4% thromboses annuelle/an).

Yelnik *et al.* démontrent que la présence isolée de LA au premier trimestre de grossesse est un facteur de risque de complications obstétricales. Les patients avec une morbidité obstétricale peuvent développer de véritables SAPL avec un LA isolé (70)

Selon Pengo, les patients LA isolé sont plus âgés, ont un risque thrombotique et un taux de LA plus faibles que les patients avec un LA et des a β 2GPI. Ils présentent également un profil d'anticorps particulier par la présence des aPS/PT d'isotype IgM principalement (73).

Concernant l'isotype IgM des aPL, une étude multicentrique réalisée par W Chayoua incluant 1068 patients révèlent que les isotypes IgM ne sont pas associés aux thromboses ou aux morbidités obstétricales. A l'inverse, selon Del Ross en 2015 (74), il existe de véritables SAPL thrombotiques avec des aPL d'isotypes IgM isolés (123% sur 1000 patients) et de véritables SAPL obstétricaux (75).

Il n'existe pas de réelle corrélation entre l'importance quantitative des résultats des tests et la sévérité des complications thrombotiques et obstétricales. Lors du suivi, une variation du titre des Ac est observée chez plus un quart des patients SAPL (4).

Ainsi, il est classique de définir des profils biologiques de patients.

Sont définis comme profils biologiques à haut risque, les patients avec (1) (30) :

- une double ou triple positivité des marqueurs (LA, aCL, a β 2GPI) quel que soit la combinaison,
- un LA persistant,
- des aCL ou a β 2GPI à taux élevés.

Les profils biologiques à faible risque concernent les patients avec :

- des titres intermittents et isolés d'aCL ou des a β 2GPI à un taux faible ou moyen.

Les aPL détectés en l'absence d'évènement thrombotique identifient une population de patients nommée « aPL asymptomatiques ». Le risque d'évènements thromboembolique est évalué entre 0 à 3,8% par an (76), celui-ci varie selon le nombre aPL positifs.

b. aPL non conventionnels

Ces dernières années de nombreuses études se sont intéressées à l'impact clinique et biologique des marqueurs non conventionnels.

Les aPS/PT, les aPE et les anticorps anti-annexine II sont associés aux évènements thrombotiques veineux et obstétricaux du SAPL (77). Parmi eux, les aPS/PT (IgG et/ou IgM) seraient les plus sensibles pour le diagnostic de SAPL (78).

L'implication des anticorps anti-annexine V et des IgA a β 2GPI et aCL dans les manifestations cliniques de SAPL est controversée.

Certains patients présentent une forte suspicion clinique de SAPL mais avec des résultats répétés des aPL conventionnels négatifs. Cette notion, appelée SNAPS (*seronegative anti-phospholipid syndrom*) ou SAPL séronégatif, a été introduite par Hughes en 2003. Actuellement, le diagnostic de SNAPS est un diagnostic d'exclusion (élimination des autres causes de thrombophilies acquises et héréditaires).

Rodrigues-Garcia *et al.* montrent que les patients SNAPS ont une morbidité similaire aux patients SAPL. La prise en charge devrait donc être identique aux patients SAPL. Ainsi, l'identification d'autres marqueurs biologiques est primordiale afin d'en faire le diagnostic.

Une étude réalisée en 2017 par Zohoury *et al.* (78) révèle que parmi les patients séronégatifs un peu plus d'un tiers (36,8 %) sont positifs pour au moins un aPL non conventionnel (parmi 11 anticorps non conventionnels recherchés).

C. Anticorps anti-phosphatidylserine/prothrombine (aPS/PT).

1. Définition

Les anticorps anti-prothrombine sont hétérogènes (79). Certains reconnaissent isolément la prothrombine, ce sont les anticorps anti-prothrombine ; d'autres reconnaissent le complexe phosphatidylsérine et prothrombine (complexe phospholipide/protéine) : ce sont les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine. Ils peuvent être d'isotype IgG ou IgM. Ils sont responsables d'une activité anticoagulante lupique.

Ces anticorps ne font pas partie des critères diagnostiques reconnus pour le SAPL. Il n'existe pas de recommandation quant à la technique de dosage.

2. Historique

En 1959, Loeliger décrit un patient lupique avec un LA et une hypoprothrombinémie. L'activité anticoagulante lupique étant majorée en cas d'ajout de plasma normal, il suggère que la prothrombine est nécessaire à l'expression de l'activité anticoagulante lupique (63) (80).

En 1960, Rapaport *et al.* décrivent un patient lupique avec des complications hémorragiques dont le bilan biologique retrouve un LA et une hypoprothrombinémie profonde secondaire à un déficit en facteur II. Ce cas s'avèrera être une entité distincte du SAPL nommé « syndrome lupus anticoagulant hypoprothrombinémie ». C'est une maladie acquise rare qui touche principalement les enfants et les femmes, le plus souvent associée au LES, aux infections virales ou plus rarement aux hémopathies lymphoïdes. Récemment, l'étude menée en 2020 par Pengo démontre que ce syndrome serait causé par les anticorps monoclonaux IgM lambda dirigés contre la phosphatidylsérine/prothrombine (81).

Edson *et al.* retrouvent la présence de ces aPT chez des patients avec un LA sans hypoprothrombinémie profonde.

Fleck *et al.* (82) confirment la présence des aPT chez 74% des patients avec un LA. Ils affirment que les aPT sont responsables de l'activité anticoagulante lupique, au même titre que les autres aPL anioniques. Galli *et al.* en 1999 montrent la présence des aPT chez 50-90% des patients porteurs aPL.

Pour la détection des aPT, Arvieux et son équipe mettent en place en 1995 une technique ELISA standard au moyen d'une plaque irradiée contenant l'antigène prothrombine d'origine humaine (83). La prothrombine s'avèrera être reconnue plus efficacement lorsque la plaque d'ELISA est recouverte du complexe phosphatidylsérine-prothrombine (PS/PT) et d'ions calcium (63). La prévalence des aPT augmente alors de 55 à 90% (63).

En l'an 2000, Atsumi *et al.* démontrent la corrélation entre le SAPL (primaire et secondaire) et les aPS/PT (2). Il décrit également une étroite corrélation entre la présence du LA avec les aPS/PT (2).

3. Cible antigénique : le complexe phosphatidylsérine/prothrombine

a. La phosphatidylsérine

La phosphatidylsérine (PS) est un phospholipide chargée négativement présent sur le feuillet interne des membranes cellulaires. En plus de son rôle essentiel dans l'apoptose, la PS a un rôle physiologique majeur dans le processus de coagulation. Lors de l'activation cellulaire (et notamment plaquettaire), la PS est externalisée provoquant une surcharge transitoire des PL vers le feuillet externe des membranes cellulaires. Ce déséquilibre est responsable d'un bourgeonnement de la membrane et de la formation de microparticules porteuses de phosphatidylsérines. La PS exposée à la surface externe entraîne le recrutement et la liaison des facteurs de la coagulation à la surface membranaire (84). Elle catalyse ainsi l'activation de certains facteurs de coagulation et, est nécessaire à la formation du complexe prothrombinase.

L'importance de la PS dans la coagulation peut être illustrée par le syndrome de Scott, maladie hémorragique rare due à un déficit d'exposition de la PS amenant à un déficit de synthèse de thrombine.

b. La prothrombine

La prothrombine ou facteur II est une glycoprotéine plasmatique de 72kDa vitamine K dépendante. Elle circule dans le plasma à un taux d'environ 100 µg/ml, sa demi vie est de 60 heures (80). Elle est codée par le gène F2 situé sur le bras court du chromosome 11 (85).

Sa synthèse a lieu dans les hépatocytes sous la forme d'un seul pro-polypeptide (ou zymogène) non actif, composé de 622 acides aminés. Elle subit ensuite d'importantes modifications post-traductionnelles pour aboutir à sa forme mature constituée de 579 acides animés. La forme mature est formée de quatre domaines reliés entre eux par des link (linK1 à linK3) : le domaine gamma carboxylglumannique (Gla) vitamine K dépendant en position N-terminale (résidus 1-46), 2 kringles (kringle 1 [K1] (résidus 65-143), et kringle 2 [K2] (résidus 170-248)) et un domaine sérine protéase en position C-terminale (résidus 285-579) (schéma 1). Le domaine protéase contient une chaîne A et une chaîne B de la thrombine reliées par un pont disulfure (86).

A l'état d'équilibre, la prothrombine existe sous deux formes : la forme fermée, compacte, présente à 80% en condition physiologique et la forme ouverte (87).

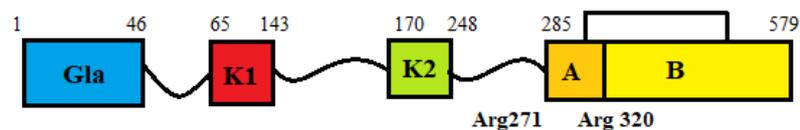


Schéma 1 : Représentation schématique de la prothrombine

Les sites Arg 271 et Arg 320 sont des sites de clivages pour le complexe prothrombinase.

La prothrombine joue un rôle majeur dans la cascade de coagulation. Elle participe à l'hémostase secondaire dans le but d'aboutir à la formation du caillot de fibrine.

Elle est convertie en thrombine par clivage grâce à un complexe macromoléculaire appelé prothrombinase. Ce complexe est composé de facteur Xa, du facteur Va, d'ions calcium et de phospholipides. Le domaine Gla de la prothrombine est le site de liaison aux PL anioniques, fixation calcium dépendante (86), et les kringle-1 et le kringle-2 interagissent avec les facteurs Va et Xa (85).

Il existe deux voies de formation de la thrombine selon deux sites de clivage distincts de la prothrombine. Le clivage du résidu arginine (Arg271) génère deux intermédiaires, la préthrombine-2 et le fragment 1.2 (F12) ; puis le clivage au niveau du résidu arginine 320 (Arg320) de la préthrombine-2 forme la thrombine. La deuxième voie s'initie par le clivage du résidu Arg320 générant un complexe intermédiaire, la meizothrombine. Ce dernier subira le clivage du résidu Arg271 pour induire de la thrombine et le fragment F1.2. L'induction de l'une ou l'autre voie de clivage n'est pas encore définie (86).

Les deux configurations (ouvertes et fermées) peuvent être le substrat du complexe prothrombinase.

La thrombine ainsi formée se caractérise par une activité cellulaire importante. Elle exerce de nombreux rôles (80) :

- clivage du fibrinogène soluble en monomère formant ainsi le réseau de fibrine insoluble (rôle pro coagulant),
- puissant activateur plaquettaire,
- amplification et activation des facteurs V, VIII, XI, XIII. En activant les facteurs V et VIII, la thrombine régule sa propre synthèse (feedback positif),
- liaison avec la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales responsable de l'activation de la protéine C (feedback négatif),
- activation du tPA.

4. Physiopathologie

Depuis plusieurs décennies, il a été prouvé que la prothrombine exerçait un rôle de cofacteur pour la liaison PL/Ac (63).

Néanmoins, à l'heure actuelle la physiopathologie des aPT n'est pas clairement établie.

Plusieurs hypothèses sont émises. Les aPT peuvent être directement dirigés contre un épitope cryptique nouvellement exposé lors de la fixation de la prothrombine aux PL anioniques et/ou les aPT peuvent agir comme des anticorps de faible affinité dont l'avidité pour les PL anioniques augmente lors de la fixation sur ces derniers (80).

Les épitopes reconnus par les aPT ne sont pas encore complètement définis.

L'équipe de Chinnaraj (87) met en évidence une hétérogénéité des aPS/PT d'isotype IgG. Les aPS/PT IgG cibleraient le fragment 1 de la prothrombine qui comprend le domaine Gla et le Kringle 1, au niveau de deux épitopes différents et selon deux mécanismes différents. Ainsi, deux groupes de patients coexisteraient. Le groupe A contient les IgG aPS/PT ciblant le Kringle 1 en conformation ouverte et le groupe B contient les aPS/PT ciblant le domaine Gla dans les conformations fermées et ouvertes.

D'un point de vue physiopathologique, les aPS/PT augmenteraient l'affinité de la prothrombine pour les phospholipides anioniques. Ils sont responsables d'une importante résistance à la protéine C activée (88).

Comme les a β 2GPI, à la surface des monocytes et cellules endothéliales, les aPS/PT activent la cascade impliquant la voie MAPKp38 générant ainsi l'expression de facteur tissulaire (89) (8). Ils induisent aussi la libération d'autres molécules procoagulantes par les cellules endothéliales (80).

Ils sont responsables d'une activité anticoagulante lupique. Une étude réalisée en 2020 par Cattini révèle que chez les patients SAPL tétra-positifs (LA, aCL, a β 2GPI, aPS/PT), l'activité anticoagulante lupique est majoritairement causée par les aPS/PT (90). Cette activité serait induite par les aPS/PT d'isotype IgM (73).

5. Signification clinique

L'importance des aPS/PT dans le diagnostic du SAPL est étudié par de nombreux auteurs et repris dans le tableau 1 ci-dessous.

Référence	Titre / Objectifs	Techniques de dosage des aPS/PT	Caractéristiques des patients	Résultats
Atsumi, 2000, Japon (2)	Corrélation des aPS/PT avec le SAPL et le LA	ELISA Microplaques : Sumilon type S; Sumitomo Bakelite, Tokyo, Japon/ (antigène : diagnostica Stago, Asnieres, France)	265 patients Japonais avec une MAI dont 45 patients avec un SAPL	Corrélation significative IgG et IgM aPS/PT et SAPL (OR 4,39 IC 95% 2,06–9,38). aPS/PT ont une spécificité identique aux a β 2GPI (93%) pour le diagnostic de SAPL. Corrélation significative IgG aPS/PT et LA détecté par dRVVT (OR 38,2 IC 95% 13,4–109,1).
Sciascia, 2012, Londres (91)	Meilleure combinaison d'aPL pour le diagnostic de SAPL chez les patients lupiques : évaluation de 23 combinaisons d'aPL.	ELISA Absence de données sur la référence de la technique et les réactifs utilisés	231 patients LES dont 61 patients SAPL et 55 patients asymptomatiques avec aPL	LA, a β 2GPI, et aPS/PT : - meilleure combinaison des tests pour le diagnostic de SAPL (OR 3,73 IC 95% 1,82-5,38) versus aPL conventionnels (OR 3,22 IC 95% 1,41-7,34). - meilleure spécificité (75%) par rapport à toutes les autres combinaisons de tests (et notamment

				<p>le profil actuel de classification (44%)</p> <ul style="list-style-type: none"> - FDR individuel de thromboses (OR 3,75 IC 95% 2,13–6,62) et d'évènements obstétricaux (OR 4,82 IC 95% 2,17–10,72).
Vlagea 2012 Espagne (92)	aPS/PT comme marqueur potentiel de SAPL	ELISA préparation maison	295 patients avec SAPL probable ou confirmé	Prévalence aPS/PT plus importante chez les patients avec un taux de dRVVT screen / confirm moyen (1,35-1,8) et élevé (>1,8) par rapport aux patients LA faible (p<0,001).
Fabris, 2014, Suisse (93)	Evaluation de l'introduction des aPS/PT au laboratoire pour le diagnostic de SAPL : 6 mois d'observation	ELISA Quanta Lite aPS/PT INOVA Diagnostic Inc, (San Diego, CA) Sérum IgG aPS/PT positifs si > 40 U/mL IgM aPS/PT positifs si > 30 U/mL	421 patients avec prescription de aPS/PT 52 donneurs sains	<p>Prévalence des patients avec aPS/PT IgG et/ou IgM 49/421 (11,6%) dont 37/49 IgM (75,5%) et 11/49 IgG (22,4%)</p> <p>Prévalence du LA : 11,2%</p> <p>Prévalence des aCL et/ou α2GPI: 7%.</p> <p>Corrélation LA et aPS/PT : 23/41 (56,1 %) patients avec LA ont des aPS/PT (9% sont positifs en IgG et 62% en IgM aPS/PT).</p> <p>Sensibilité des aPS/PT supérieure aux aPT (55,8% versus 15,4 %) chez les patients LA positif.</p>
Litvinova, 2018, France (94)	Utilité en pratique clinique des aPL non conventionnels	ELISA Quanta Lite INOVA Diagnostic Werfen Sérum IgG et IgM aPS/PT si >30AU/mL	41 patients SAPL 11 patients asymptomatiques avec aPL persistants	<p>Prévalence des aPS/PT chez patients SAPL : 43,9% pour les IgG versus 65,8% pour les IgM.</p> <p>Spécificité des aPS/PT pour le diagnostic de SAPL : 95,1% pour les IgG et 73,2% pour les IgM aPS/PT.</p> <p>Prévalence aPS/PT chez patients asymptomatiques avec aPL persistants : 18,2% pour les IgG versus 81,8% en IgM.</p> <p>Corrélation LA et aPS/PT : 34/40 patients LA positifs ont des IgM aPS/PT (sensibilité 87,5%) et 36/40 ont des IgM et IgG aPS/PT (sensibilité 90%)</p> <p>⇒ Etroite corrélation LA et IgM aPS/PT (chi-square test = 52,7).</p>

<p>Pengo, 2018, Italie (73)</p>	<p>Identification des cibles antigénique responsables de l'activité anticoagulante lupique en l'absence des aβ2GPI</p>	<p>ELISA Quanta Lite INOVA Diagnostic Werfen Sérum</p>	<p>25 patients LA positif et aβ2GPI négatif 33 patients LA positifs et aβ2GPI positif</p>	<p>Comparaison patients LA isolé (LA positif et aβ2GPI négatif) par rapport aux patients LA et aβ2GPI positifs:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sont tous positifs en aPS/PT, d'isotype IgM principalement - Plus âgés (59,5 ans vs 50,8 p=0,04) - Moins d'évènements thromboemboliques (1 vs 28 p<0,01) - Titre IgG aPS/PT est plus bas (13 unités (U) vs 103 U p<0,0001). <p>Comparaison patients LA et aβ2GPI positifs par rapport aux patients LA isolé :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sont tous positifs en aPS/PT, l'isotype IgG est retrouvé - Valeur du LA plus important (dRVVT 2,3 vs 1,7 p = 0,01). <p>Ne diffère pas selon la présence ou non de aβ2GPI chez les patients LA:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le sexe - La présence de MAI - La positivité en aPS/PT - Le titre IgM aPS/PT.
<p>Shi, 2018, Chine (95)</p>	<p>aPS/PT comme marqueurs diagnostiques potentiels et prédictifs du risque de thrombose veineuse et de complications obstétricales dans le SAPL</p>	<p>ELISA Quanta Lite INOVA Diagnostic Inc. (San Diego, CA, USA) Positivité IgG et IgM aPS/PT si >30 U</p>	<p>186 patients SAPL 48 patients SNAPS 176 patients MAI 90 patients sains</p>	<p>Spécificité des aPS/PT pour le diagnostic de SAPL : 95,8% pour les IgG et 83% pour les IgM.</p> <p>Prévalence similaire aPS/PT dans SAPL primaire et secondaire.</p> <p>Prévalence aPS/PT chez patients lupiques sans thrombose : 30/79 patients (38%)</p> <p>Association significative IgG aPS/PT et évènements TE artériel, veineux et obstétricaux (OR : 4,62 / OR : 6,42 / OR 5,66).</p> <p>Association significative IgM aPS/PT et évènements TE artériels, veineux et</p>

				<p>obstétricaux (OR : 3,12 / OR : 3,24 / OR : 4,71).</p> <p>Quand aPS/PT et LA sont tous deux positifs : OR 101,6 pour le diagnostic de SAPL</p>
<p>Tonello, 2019 (96)</p>	<p>aPS/PT comme facteur de risque de thromboses chez les patients porteurs d'aPL</p>	<p>ELISA</p>	<p>191 porteurs aPL</p>	<p>Association significative IgG et IgM aPS/PT et triple positivité des aPL (p = 0,0000 pour les deux isotypes).</p> <p>Prévalence significative IgM aPS/PT chez patients LA isolé (p = 0,005).</p> <p>Prévalence significative des IgG aPS/PT chez les patients thrombotiques (p = 0,015).</p>
<p>Sciascia, 2019, Italie (97)</p>	<p>Fiabilité des auto-anticorps LA et aPS/PT pour le diagnostic SAPL réalisés par différents laboratoires</p>	<p>ELISA Quanta Lite INOVA Diagnostic Sérum Positivité IgG et IgM aPS/PT si >30U</p>	<p>43 patients SAPL</p> <p>7 patients thrombotiques avec positivité LA inconstante</p> <p>10 patients thrombotiques avec aPL à titres faibles</p>	<p>Entre les laboratoires d'analyses, discordance de rendu de résultats de LA ou de résultats peu concluants évaluée à 45%. Sous AVK, discordance chiffrée à 75%.</p> <p>Concordance des résultats aPS/PT entre les différents laboratoires évaluée à 83%. Sous AVK, concordance à 90%.</p>

Tableau 1 : Revue de littérature des aPS/PT.

Les aPS/PT font partie du score *Global Anti-Phospholipid Syndrome Score* (GAPSS) (98). Mis en place en 2013, ce score permet de stratifier les patients selon leur risque thrombotique. Il combine plusieurs FDR clinico-biologiques indépendants de thrombose. Les paramètres sont affectés d'un coefficient de 1 à 5 (tableau 2) (99). Le score peut varier de 0 à 20. Il est validé au cours du SAPL et du LES avec aPL sans événement thrombotique antérieur (100). Il est évalué par Zuily *et al.* dans une étude prospective multicentrique incluant des patients avec SAPL ou LES. Un nombre de points supérieur à 16 est significativement prédictif de la survenue d'événement thrombotique.

Facteurs de risque	Points
aCL IgG/IgM	5
LA	4
a β 2GPI IgG/IgM	4
aPS/PT IgG/IgM	3
Hyperlipidémie	3
Hypertension artérielle	1

Tableau 2 : Score GAPSS

Au total, les aPS/PT sont un marqueur étroit de SAPL avec une spécificité égale voire supérieure aux autres aPL conventionnels (60). Il existe une corrélation significative entre la présence des aPS/PT et du LA (supérieure par rapport aux aPT). Les aPS/PT sont associés aux événements thromboemboliques (artériels et veineux) et aux événements obstétricaux ; cette association serait indépendante de la présence de LA (101).

Les aPS/PT, et principalement l'isotype IgM, sont retrouvés chez les patients avec un LA isolé (73). La très grande majorité des patients triple positifs sont également positifs en aPS/PT (patients dit tétra positifs) (90) et les deux isotypes IgG et IgM aPS/PT sont présents (73). Ces patients sont considérés comme à haut risque thrombotique. L'action concomitante des a β 2GPI et aPS/PT entraîne un état d'hypercoagulabilité responsable du développement de la thrombose tandis que la présence des aPS/PT chez les patients LA isolé entraîne un risque plus faible d'événements thromboembolique (73). D'un point de vue physiopathologique, il n'est pas encore déterminé pourquoi les aPS/PT avec activité anticoagulante lupique favorise la formation de thrombus quand ils sont associés aux a β 2GPI (90).

III. Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est d'étudier la corrélation entre les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine et la présence du lupus anticoagulant chez les patients suspects ou atteints de SAPL.

Le but étant d'évaluer l'intérêt du dosage des aPS/PT dans ce contexte avant une mise en place éventuelle du dosage au sein du laboratoire d'Immunologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Dijon.

Pour ce faire, nous avons utilisé une technique par ELISA QUANTA LITE aPS/PT IgG et IgM, INOVA diagnostic Werfen proposée par le laboratoire Werfen.

IV. Matériels et Méthodes

A. Mise en place de l'étude

Pour la réalisation de cette étude, nous avons recueilli de manière rétrospective tous les patients du CHU de Dijon avec un dosage de LA positif de mai 2019 à avril 2020. La présence du LA est retenue chez les patients avec au moins l'un des deux tests positifs : indice de Rosner ≥ 15 et/ou un ratio normalisé (dRVVT screen/dRRVT confirm) $\geq 1,20$.

Quatre-vingt-quinze patients avec un résultat de LA positif sont sélectionnés. Les patients âgés de moins de 18 ans, les patients avec des données manquantes (absence de renseignements cliniques) et les patients pour lesquels le sérum n'est pas disponible sont exclus de l'étude.

Au total, 81 patients constitués par 41 femmes et 40 hommes d'âge moyen de 49 ans (18 à 87 ans) sont inclus dans l'étude. Tous les patients ont un ratio normalisé $\geq 1,20$ associé ou non à un indice de Rosner positif. A l'inverse, aucun patient n'est retrouvé avec un indice de Rosner positif sans ratio normalisé positif associé.

Pour chaque patient, différentes données cliniques et paramètres biologiques sont recueillis grâce aux logiciels informatiques disponibles :

- l'âge et sexe
- le service prescripteur
- la date du prélèvement
- le contexte clinique au moment du dosage (événement thrombotique (type et localisation) complications obstétricales, suivi de MAI)
- la présence éventuelle d'une MAI sous-jacente
- le traitement anticoagulant au moment du dosage
- le résultat du LA (tests dRVVT et indice de Rosner)
- les résultats des aCL et des a β 2GPI d'isotypes IgG et IgM concomitants au dosage du LA
- les éventuels résultats antérieurs de LA, aCL et a β 2GPI dosés au sein du même laboratoire.

Régulièrement, une revue de chacun des dossiers patients est effectuée afin de rechercher la prescription d'un deuxième dosage de LA.

B. Recueil des échantillons

La recherche de LA est effectuée sur le plasma du patient par le laboratoire d'Hémostase. Le dosage des aPS/PT est réalisé à partir du sérum du patient. L'échantillon de sérum est donc récupéré au laboratoire d'Immunologie puisqu'une prescription d'aCL et aβ2GPI sur sérum est le plus souvent concomitante à celle de LA.

Tous les sérums sont conservés au congélateur à une température de - 80°C jusqu'à la réalisation de l'analyse.

C. Description des différents groupes

Nous avons classé les dossiers en quatre groupes distincts (tableau 3) :

- groupe avec LA persistant et évènement thrombotique (artériel ou veineux) et/ou obstétrical, aussi nommé groupe SAPL. La persistance de la positivité du LA est confirmée sur deux dosages positifs de LA durant la période de l'étude ou sur des résultats de LA positifs antérieurs à celui du recueil,
- groupe avec LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical. La persistance de la positivité du LA est confirmée sur deux dosages positifs durant la période de l'étude ou sur des résultats de LA positifs antérieurs à celui du recueil.
- groupe avec un premier résultat de LA positif et évènement thrombotique ou obstétrical
- groupe avec un premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical associé.

Notre cohorte est majoritairement représentée par le groupe premier résultat de LA positif et évènement thrombotique ou obstétrical (n= 41 patients).

Les caractéristiques cliniques et biologiques des différents groupes sont décrites dans le tableau 4.

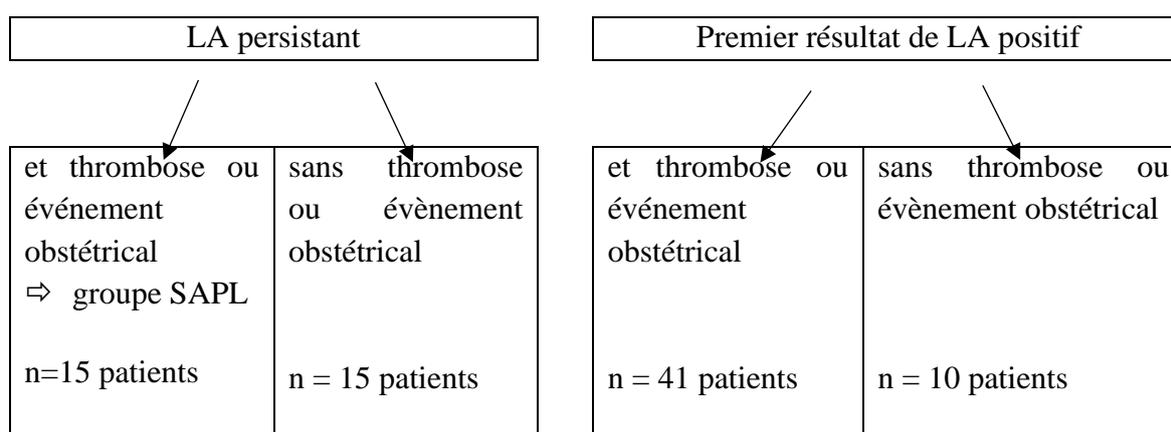


Tableau 3 : Définition des groupes

	Nombre (%)
Sexe	
Femme	41 (51)
Homme	40 (49)
Age	
18-30 ans	16 (20)
31-60 ans	42 (52)
61-87 ans	23 (28)
Groupes des patients	
1. Groupe SAPL	15 (19)
<u>Evènements cliniques :</u>	
Thromboses veineuses	10 (66)
Thromboses artérielles	1 (6)
Evènements obstétricaux	4 (27)
<u>SAPL primaire ou secondaire :</u>	
SAPL primaire	10 (67)
SAPL secondaire	5 (33)
<u>aPL conventionnels :</u>	
LA isolé	5 (33)
2 aPL conventionnels	1 (7)
3 aPL conventionnels	9 (60)
<u>TTT anticoagulants au moment du dosage :</u>	
Héparine (HNF/HBPM)	1 (6)
2. Groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical	15 (19)
<u>Evènements cliniques :</u>	
Absence ATCD notable	4 (26)
Atteintes neurologiques	1 (7)
PTI	1 (7)
Cancer solide	1 (7)
LES	8(53)
<u>aPL conventionnels :</u>	
LA isolé	6 (40)
2 aPL conventionnels	1 (7)
3 aPL conventionnels	8 (53)
<u>TTT anticoagulant lors du dosage :</u>	
Héparine (HNF/HBPM)	1 (7)
3. Groupes premier résultat de LA positif et thrombose ou évènement obstétrical	41 (50)
<u>Evènements cliniques :</u>	
Thromboses veineuses	23 (56)
Thromboses artérielles	15 (37)
Evènements obstétricaux	3 (7)
<u>aPL conventionnels :</u>	
LA isolé	39 (95)
3 aPL conventionnels	2 (5)

<u>TTT anticoagulants au moment du dosage :</u>	
Héparine (HNF/HBPM)	12 (29)
AVK	1 (2)
AOD	12 (29)
4. Groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou événement obstétrical associé	10 (12)
<u>Evènements cliniques :</u>	
Infections	3 (30)
PTI	4 (40)
Maladies auto-immunes	2 (20)
Ulcère MI	1 (10)
<u>aPL conventionnels :</u>	
LA isolé	8 (80)
3 aPL conventionnels	2 (20)
<u>TTT anticoagulant lors du dosage</u>	
AOD	1 (10)

Tableau 4 : Caractéristiques clinico-biologiques des différents groupes

Par définition, la double positivité est définie par la présence de deux anticorps conventionnels (LA et aCL ou a β 2GPI). La triple positivité correspond à la présence simultanée des trois anticorps conventionnels.

D. Méthodes de dosage

1. Recherche du LA

La détection du lupus anticoagulant réalisée au laboratoire d'Hémostase du CHU de Dijon respecte les recommandations émises par l'ISTH (28).

Les différentes étapes de détection du LA sont réalisées par mesure chronométrique sur l'automate STAR de Stago. Ces tests sont réalisés sur plasma citraté après centrifugation. La mesure du TCA est effectuée à l'aide des réactifs TriniCLOT Automated APTT Tcoag et STA®-CaCl₂ 0.025. Les tests dRVVT dépistage et confirmation sont réalisés au moyen des réactifs de STA-StacLOT dRVV Screen et STA-StacLOT dRVV Confirm. Pour chaque test (test de mélange et tests dRVVT) et à chaque série, un pool de plasma normal Cryocheck™ Pooled Normal Plasma (Cryopep) est utilisé pour le calcul des ratios. Le pool est dosé 3 fois en double détermination. Une moyenne des 6 résultats est obtenue et définit la valeur du temps de coagulation du plasma témoin pour chacun des tests réalisés.

Dès lors que les traitements anticoagulants sont mentionnés par le médecin prescripteur, le laboratoire effectue au préalable :

- en cas de prise d'héparine, une mesure de l'activité anti-Xa (méthode chromogénique anti Xa réactif liquid anti-Xa Stago).

Tout indice de Rosner positif avec héparine détectable n'est pas rendu. Tout résultat d'activité anti-Xa supérieur à 0.8 UI/ml exclut la faisabilité des tests dRVVT screen et confirm.

- en cas de prise d'AOD, une méthode par neutralisation au charbon activé.
Par cette technique, tout résultat positif de l'indice de Rosner n'est pas rendu ou est rendu non interprétable. A l'inverse, tout résultat négatif de l'indice de Rosner est rendu au médecin prescripteur.
Tout résultat de dRVVT positif est rendu au médecin prescripteur mais il est à reconrôler à distance de toute prise d'AOD.
- en cas de prise d'AVK, les tests de dépistage (et confirmation si nécessaire) sont réalisés sur un mélange pool de plasma normal + plasma malade à volume égal.

La présence de LA est suspectée devant un ratio dRVVT screen $\geq 1,20$ et/ou un résultat de TCA sensible $\geq 1,20$.

Concernant les résultats du test de mélange :

- un IR ≥ 15 est en faveur d'un LA
- un IR < 12 est en faveur d'un déficit en facteur de coagulation
- un IR compris entre 12 et 15 correspond à une zone douteuse, zone grise.

Tout ratio normalisé dRVVT screen / dRVVT confirm $\geq 1,20$ est considéré comme positif et confirme la nature antiphospholipidique du lupus anticoagulant.

2. Dosage des aCL et a β 2GPI

Les dosages des anticorps anti-cardiolipines et des anticorps anti- β 2GPI sont réalisés au laboratoire d'Immunologie. Ils sont recherchés par une méthode immunologique multiplex sur l'automate BIOPLEX 2200 de Bio-Rad. Un des avantages de cette technique est la détection et l'identification simultanées des 4 types d'anticorps dans un seul échantillon.

Au sein d'une cuvette réactionnelle sont introduits le sérum du patient, le diluant échantillon et le réactif contenant plusieurs sortes de billes colorées : les billes revêtues d'un double revêtement avec succinyl cardiolipine synthétique liée de manière covalente à la β 2GPI purifiée, les billes revêtues de la protéine β 2GPI purifiée à partir de plasma humain, une bille de standardisation interne (permettant de normaliser la réponse du détecteur), une bille de confirmation de la présence de sérum patient et une bille de réactif à blanc (vérifiant l'absence de liaisons non spécifiques significatives dans le sérum patient). Après une incubation à 37°C puis une étape de lavage, les anticorps monoclonaux anti-IgG humain (ou anti-IgM) conjugués à la phycoérythrine sont associés au mélange. L'identité des billes colorées est déterminée par la mesure de fluorescence. La quantité d'analyte est déterminée par la fluorescence de la phycoérythrine fixée. Avant chaque série, des contrôles internes de qualité (négatif et positif) permettent la validation de la série.

Les résultats suivants sont considérés comme positifs :

- aCL d'isotype IgG > 20 GPL/mL
- aCL d'isotype IgM > 20 MPL/mL
- a β 2GPI d'isotype IgG > 20 U/mL
- a β 2GPI d'isotype IgM > 20 U/mL.

3. Dosage des aPS/PT

Le dosage des aPS/PT est réalisé au laboratoire d'Immunologie par méthode immuno-enzymatique indirecte de type ELISA (QUANTA LITE aPS/PT IgG et IgM, INOVA diagnostic Werfen) (Annexe 1, schéma 2) mis en place sur l'automate EVOLIS de BioRad. La mise en place de la méthode de dosage des aPS/PT fait partie intégrante de ce travail de thèse.

3.a. Matériels utilisés

Deux kits différents sont nécessaires pour la réalisation de l'analyse : l'un permet la recherche des isotypes IgG et l'autre des isotypes IgM.

Au total, 2 kits par isotype sont fournis par le laboratoire Werfen, ils sont issus du même lot de réactifs. Chaque kit comprend 12 barrettes de 8 puits de réaction contenant l'antigène PS/PT, un contrôle négatif (sérum humain ne contenant aucun aPS/PT), un contrôle de réaction positif (contenant des aPS/PT sériques humains), les calibrateurs (au nombre de 5, nommés de A à E), et les réactifs nécessaires : le diluant HRP, la solution tampon de lavage HRP, le conjugué HRP, le TMB chromogène et la solution stop HRP. Tous les réactifs sont conservés au réfrigérateur jusqu'à la réalisation du dosage.

3.b. Etapes de la technique

Les réactifs et les échantillons patients sont ramenés à température ambiante. Le tampon de lavage est reconstitué selon une dilution 1 : 40 avec de l'eau distillée. Au sein d'un tube à hémolyse, 5 μ L de sérum du patient sont dilués manuellement dans 500 μ L de diluant HRP sample fourni. Cette dilution est à réaliser pour tous les patients. Les calibrateurs et les contrôles sont directement prêts à l'emploi. La notice fournisseur conseille de doser chaque calibrateur et chaque contrôle en double lors d'une même série.

Tout en veillant au respect des consignes fournisseurs, nous avons mis en place un protocole informatisé sur l'automate Evolis permettant la réalisation des différentes étapes de la technique ELISA.

Ainsi après avoir introduit simultanément au sein de l'automate le nombre de barrettes nécessaires, les tubes des patients (sérum dilué), les contrôles, les calibrateurs et les différents réactifs, l'automate a exécuté les différents points :

1. Distribution des réactifs et échantillons patients (Annexe 2, schéma 3) :
 - ajout de 100 μ L de chacun des calibrateurs (A à E), du contrôle positif et du contrôle négatif en double dans chacun des puits
 - ajout de 100 μ L du sérum des patients dans les puits suivants
 - incubation pendant 30 minutes à température ambiante
2. Etape de lavage répété trois fois au moyen du tampon de lavage HRP dilué

3. Distribution du conjugué (conjugué HRP) :
 - ajout 100 µL de conjugué HRP au sein de chaque puit
 - incubation pendant 30 minutes à température ambiante
4. Nouvelle étape de lavage identique à la précédente
5. Distribution du substrat (chromogène TMB) :
 - ajout de 100 µL de chromogène TMB au sein de chaque puit
 - incubation pendant 30 minutes dans le noir et à température ambiante
6. Ajout de 100 µL de solution stop HRP dans chaque puit.
7. Enfin, chaque puit est lu par un spectromètre à une longueur d'onde égale à 450 nm dans l'heure suivant la fin de la réaction. Une réaction positive se traduit par une coloration jaune proportionnelle à la quantité d'anticorps immobilisée par l'antigène (Annexe 3, schéma 4).

L'absorbance est proportionnelle à la concentration (Loi de Beer – Lambert).

A partir des concentrations connues de chaque calibrateur, une courbe de calibration est obtenue. Les concentrations des aPS/PT des patients sont déterminées à partir de cette courbe de calibration.

3.c. Contrôle Interne de Qualité

Pour considérer les résultats des tests comme valides, il convient de s'assurer du respect des contrôles de qualité :

- l'absorbance du calibrateur A est supérieure à l'absorbance du contrôle positif, elle-même supérieure à l'absorbance du contrôle négatif et,
- le calibrateur A a une absorbance supérieure à 1,0 tandis que l'absorbance du contrôle négatif est inférieure à 0,2 et,
- l'absorbance du contrôle positif est deux fois supérieure à celle du contrôle négatif ou supérieur à 0,25 et,
- la concentration du contrôle positif est comprise dans la fourchette établie par le fournisseur.

3.d. Expression des résultats

Selon les données de la fiche technique fournisseur, un résultat aPS/PT d'isotype IgG ou IgM est positif s'il est strictement supérieur à 30 unités (U).

D'après les données du laboratoire Werfen, la valeur seuil fixée à 30 unités est déterminée à partir de 247 patients normaux, 24 patients avec un LA positif, 71 patients atteints de SAPL et de 40 patients sans SAPL.

Tout résultat supérieur à 150 unités est rendu > 150 U.

V. Résultats

Les aPS/PT d'isotype IgG sont dosés chez tous les patients hormis deux patients du groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical, faute de sérum disponible. Les aPS/PT d'isotype IgM sont dosés pour tous les patients.

Pour la très grande majorité des patients, un seul dosage d'aPS/PT par patient est réalisé pendant la période de l'étude.

La corrélation des paramètres LA et aPS/PT est effectuée au sein de chacun des groupes précédemment définis.

Dans cette étude, le ratio normalisé (dRVVT screen/dRVVT confirm) est désigné par le terme LA dRVVT.

1. Groupe SAPL

Le groupe SAPL est constitué de 15 patients (tableau 5), principalement des femmes (n=13, 87%). L'âge moyen est de 43 ans. Les principales atteintes cliniques sont les évènements thrombotiques veineux (n=10, 66%). La majorité des patients sont triple positifs en aPL conventionnels (n=9, 60%).

La positivité des aPS/PT d'isotype IgM est corrélée à celle du LA dRVVT pour 14/15 patients (93%) (tableau 5). Les IgM aPS/PT sont positifs quel que soit la valeur du LA dRVVT (graphique 2).

Les IgM aPS/PT sont positifs alors que la majorité des aCL et a β 2GPI d'isotype IgM sont négatifs (seuls 2 patients sont positifs en aCL IgM et/ou a β 2GPI IgM).

La positivité des aPS/PT d'isotype IgG est corrélée à celle du LA dRVVT pour 7/15 patients (47%). Tous les patients positifs en IgG aPS/PT sont positifs en IgM aPS/PT. Les patients positifs en aPS/PT IgG ont tous un résultat de LA dRVVT élevé (supérieur à 1,5) (graphique 1).

Concernant les autres aPL conventionnels, les aCL IgG sont positifs chez 9 patients sur 15 avec un LA (60%) et les a β 2GPI IgG sont positifs chez 10 patients sur 15 avec un LA (67%).

Parmi les patients triples positifs (LA, aCL, a β 2GPI), 8/9 patients sont positifs en IgM aPS/PT (89%) et 5/9 patients sont positifs en IgG aPS/PT (55%).

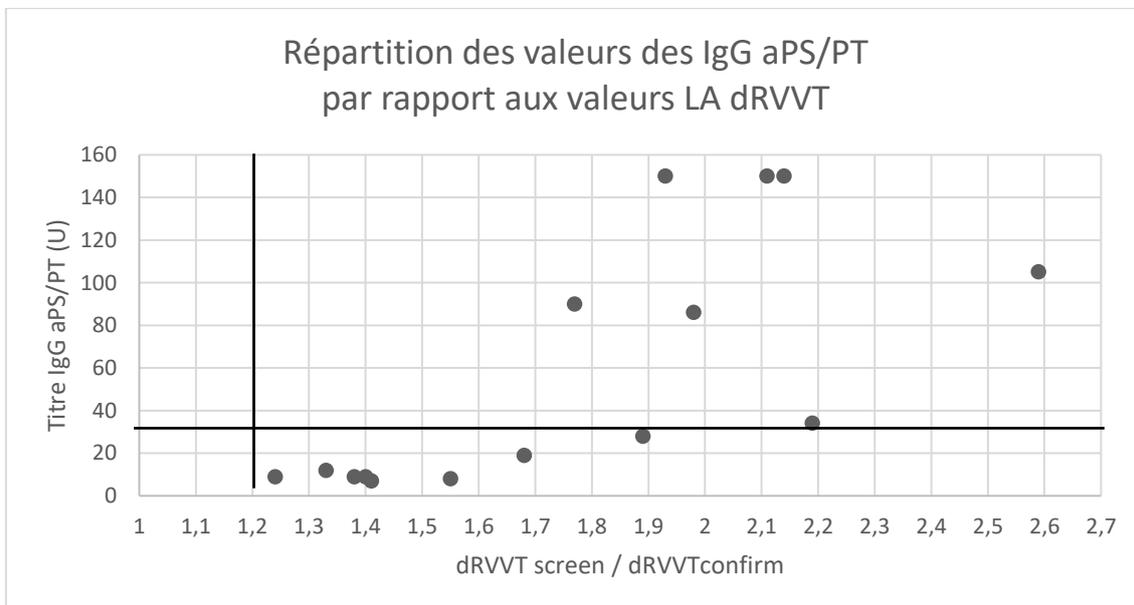
Parmi les 5 patients avec un LA isolé (sans aCL ni a β 2GPI), tous les patients sont positifs en IgM aPS/PT (100%) et 1 patient est positif en IgG aPS/PT (20%)

Enfin, pour 5 patients (patients 6', 9', 12', 13' et 15'), un deuxième dosage d'aPL conventionnels est demandé par le service clinique à 12 semaines du dosage analysé. Nous avons donc dosé les aPS/PT. Pour chaque patients, les dosages d'aPS/PT à 12 semaines sont identiques au premier dosage.

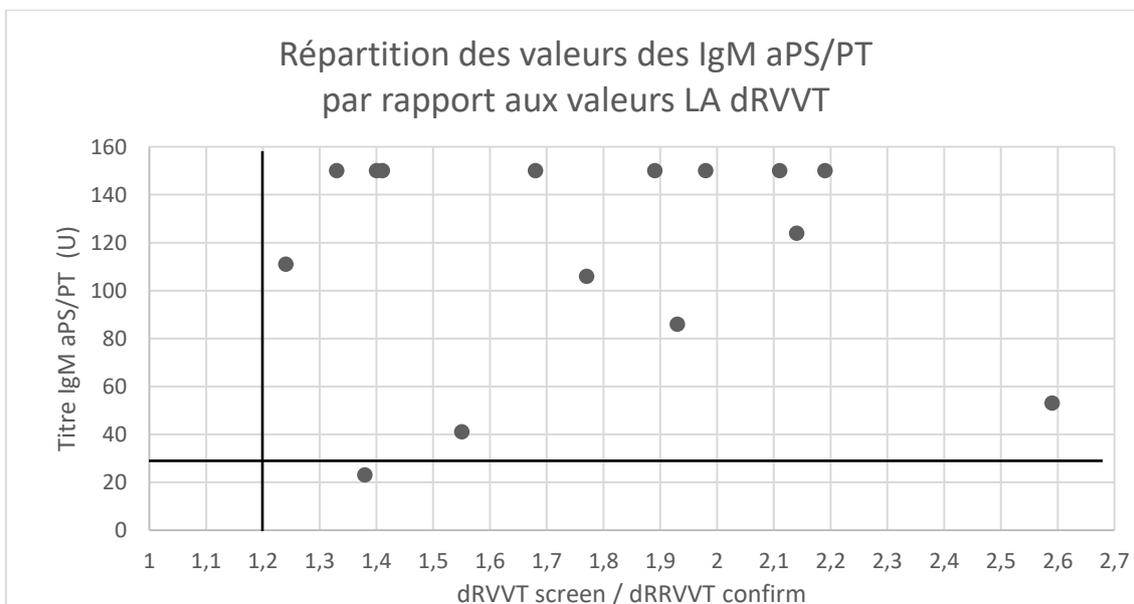
Patient	Sexe	Age	Signes cliniques	TTT	LA dRVVT	Indice de Rosner	IgG aPS/PT U	IgM aPS/PT U	IgG aCL GPL/mL	IgM aCL MPL/mL	IgG aβ2GPI U/mL	IgM aβ2GPI U/mL
1	F	64	SAPL veineux		1,4	12-15	9	>150	<1,6	3,2	<1,4	2,9
2	F	24	SAPL veineux		2,11	≥15	>150	>150	>160	11,5	>160	14,8
3	H	22	SAPL veineux		1,93	≥15	>150	86	11,9	1,4	14,6	1,5
4	F	68	SAPL veineux		1,33	≥15	12	>150	<1,6	5,9	<1,4	4,5
5	F	50	SAPL veineux		1,41	≥15	7	>150	<1,6	2,7	<1,4	2,8
6	F	53	SAPL veineux		1,68	≥15	19	>150	>160	0,7	>160	1,9
6'					1,75	12-15	26	>150	>160	1,8	>160	0,7
7	F	29	SAPL veineux + LES		1,38	<12	9	23	>160	1,8	>160	1,9
8	F	63	SAPL veineux + LES		2,14	≥15	>150	124	>160	16,4	>160	18,7
9	F	46	SAPL veineux + LES		1,77	≥15	90	106	37,6	25,3	56,5	42,5
9'					1,71	≥15	42	69	45,4	26,3	64,6	34,2
10	F	74	SAPL veineux + LES		1,24	<12	9	111	7,8	5,3	7,3	6,4
11	H	57	SAPL artériel	Héparine	2,19	≥15	34	>150	>160	1,4	>160	1,5
12	F	37	SAPL obstétrical + LES		2,59	≥15	105	53	>160	2,4	>160	9,1
12'					2,09	≥15	119	48	>160	3	>160	10,6
13	F	22	SAPL obstétrical		1,55	<12	8	41	>160	2,9	>160	3
13'					1,81	<12	8	43	>160	2,6	>160	2,8
14	F	51	SAPL obstétrical		1,89	≥15	28	>150	139,5	>160	123,4	>160
15	F	31	SAPL obstétrical		1,98	≥15	86	>150	15,1	6,3	26,7	9,1
15'					2	≥15	113	>150	14,5	6,5	27,2	9,2

Tableau 5 : Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT dans le groupe SAPL.

Chaque ligne correspond à un patient. Les cases rouges correspondent à un résultat qualitativement positif. Les cases jaunes correspondent à un résultat qualitativement négatif (H : Homme, F : Femme).



Graphique 1 : Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe SAPL.



Graphique 2 : Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe SAPL.

2. Groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical

Ce groupe est également constitué de 15 patients (tableau 6), majoritairement des femmes (n=10, 67%). L'âge moyen est de 43 ans. Les patients sont principalement triple positifs en aPL conventionnels (n=8, 53%).

La positivité des aPS/PT d'isotype IgM est corrélée à celle du LA dRVVT pour 12/15 patients (80%) (tableau 6). Là encore, les IgM aPS/PT sont positifs quel que soit la valeur du LA dRVVT (graphique 4).

Les IgM aPS/PT sont positifs alors que la majorité des aCL et a β 2GPI d'isotype IgM sont négatifs (seuls 2 patients sont positifs en aCL IgM et/ou a β 2GPI IgM).

La positivité des aPS/PT d'isotype IgG est corrélée à celle du LA dRVVT pour 4/13 patients (30%) (faute de sérums disponibles, deux patients n'ont pas été testés en aPS/PT IgG). Tous les patients positifs en IgG aPS/PT sont positifs en IgM aPS/PT.

Les patients positifs en IgG aPS/PT ont tous un résultat de LA dRVVT élevé (graphique 3). Concernant les autres aPL conventionnels, les aCL IgG sont présents chez 7 patients sur 15 avec un LA (47%) et les a β 2GPI IgG sont présents chez 8 patients sur 15 (53%)

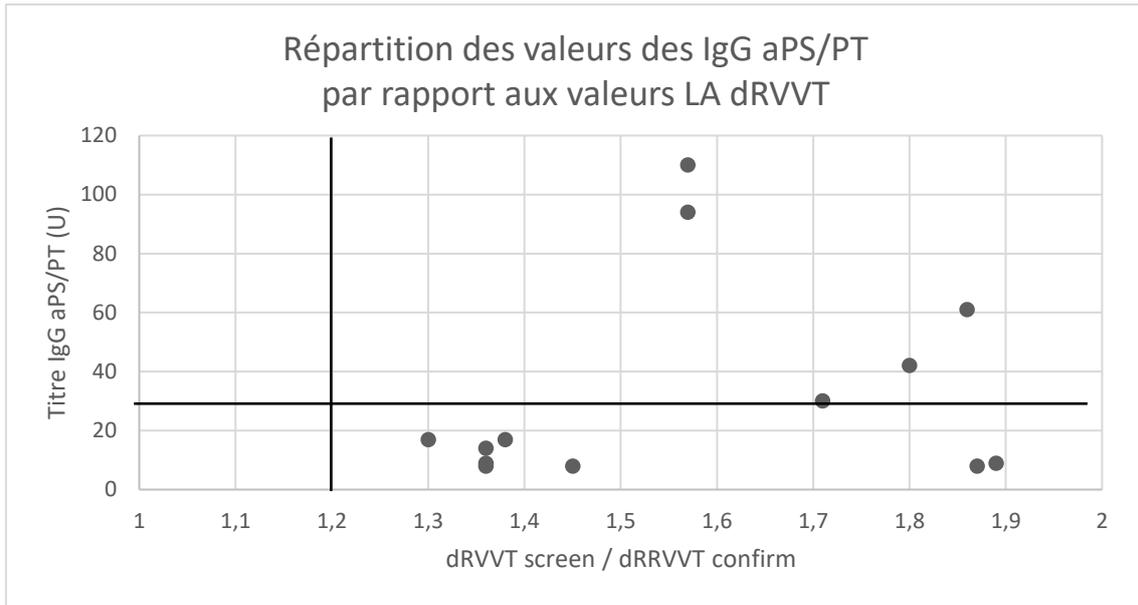
Parmi les patients triples positifs, 6/8 patients sont positifs en IgM aPS/PT (75%) et 2/8 patients sont positifs en IgG aPS/PT (25%).

Parmi les patients avec un LA isolé, 5/6 sont positifs en IgM (83%) aPS/PT et 2/6 patients sont positifs en IgG aPS/PT (33%).

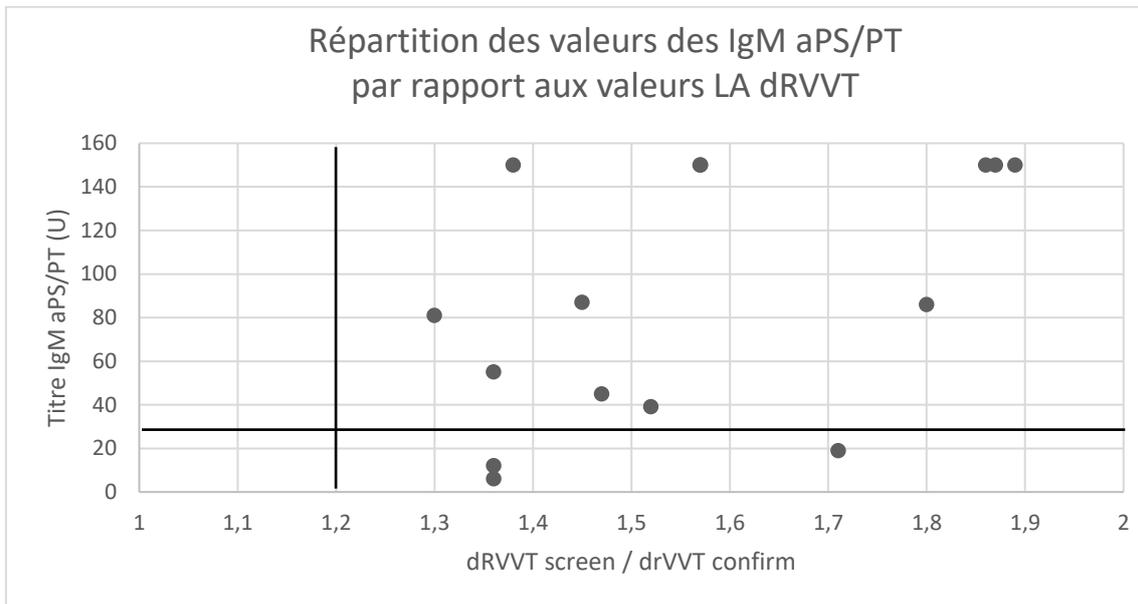
Pour 3 patients (patients 6', 7' et 13') un deuxième dosage d'aPS/PT est réalisé à plus de 12 semaines d'intervalle du dosage analysé. Pour le patient 7', le résultat des aPS/PT est identique en isotype IgM mais discordant en IgG entre les deux dosages. Quantitativement, les 2 résultats des aPS/PT IgG sont proches du seuil de positivité. Pour les deux autres patients, les deux dosages en aPS/PT sont identiques.

Patient	Sexe	Age	Signes cliniques	TTT	LA dRVVT	Indice de Rosner	IgG aPS/PT U	IgM aPS/PT U	IgG aCL GPL/ mL	IgM aCL MPL/ mL	IgG aβ2GPI U/mL	IgM aβ2GPI U/mL
1	H	46	Absence ATCD notable		1,89	≥15	9	>150	<1,6	0,3	<1,4	0,3
2	F	32	Absence ATCD notable		1,47	>12	NR	45	10,6	47,7	14,2	78,9
3	F	72	Absence ATCD notable		1,87	≥15	8	>150	<1,6	3,8	<1,4	2,6
4	F	19	Absence ATCD notable		1,8	<12	42	86	>160	0,7	>160	0,7
5	H	66	Troubles neurologiques		1,45	<12	8	87	>160	11,1	>160	10,6
6	H	63	PTI		1,36	<12	8	12	1,7	11,7	2,3	11,1
6'					1,31	<12	8	19	<1,6	7,6	1,4	7,2
7	H	69	Cancer solide	Héparine	1,38	NI	17	>150	2,6	2,3	2,2	2,8
7'					1,27	≥15	43	>150	NR	NR	NR	NR
8	F	37	LES		1,52	≥15	NR	39	46,3	2,7	144	2,4
9	F	25	LES		1,36	<12	14	6	78,9	12,6	79,6	14,2
10	F	31	LES		1,3	<12	17	81	16,3	9,2	22	12,2
11	F	57	LES		1,57	≥15	94	>150	3,0	8,2	2,9	7,8
12	F	36	LES		1,86	≥15	61	>150	<1,6	3,1	<1,4	3,1
13	H	32	LES		1,36	<12	9	55	156	11,9	158	14,1
13'					1,82	<12	27	>150	>160	NR	>160	NR
14	F	19	LES		1,57	≥15	110	>150	>160	23,8	>160	30,4
15	F	45	LES		1,71	<12	30	19	>160	3,2	>160	8,3

Tableau 6: Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT du groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical. (F : Femme, H : Homme, PTI : purpura thrombopénique idiopathique, NI : non interprétable, NR : non réalisé).



Graphique 3 : Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical.



Graphique 4 : Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical.

3. Groupe premier résultat de LA positif et thrombose ou événement obstétrical

Ce groupe de patients est constitué de 41 patients (tableau 7), principalement des hommes (n=27, 66%). L'âge moyen est de 52 ans. La majorité des prescriptions de LA provient des services d'urgences, de neurologie, de médecine interne et des consultations réalisées au Centre Régional de Traitements de l'Hémophilie et des Coagulopathies. Les prescriptions font suite à un événement thrombotique artériel ou veineux dans 93% des cas. Quasiment tous les patients ont un résultat de LA isolé (n=39, 95%). Trente patients sur 41 ont un résultat de LA dRVVT proche du seuil de positivité (entre 1,20 et 1,30) et ils n'ont pas d'aPL conventionnels associés. Chez ces patients, l'indice de Rosner est négatif hormis chez un patient (patient 11).

La positivité des aPS/PT d'isotype IgM est corrélée à celle du LA dRVVT pour 6/41 patients (15%). Les IgM aPS/PT sont positifs quel que soit la valeur du LA dRVVT (graphique 6). Concernant les autres aPL conventionnels, les IgM aCL et/ou IgM aβ2GPI sont positifs chez deux patients.

La positivité des aPS/PT d'isotype IgG est retrouvée uniquement chez 1/41 patients (2%) avec un LA positif. L'unique résultat positif en aPS/PT IgG (patient 41) est une femme de 34 ans, lupique, dont le contexte clinique est une prééclampsie et un HELLP syndrome. Le dosage de LA est réalisé en l'absence de traitement anticoagulant, les autres aPL conventionnels sont négatifs. Un seul patient est positif en IgG aCL et/ou aβ2GPI.

Parmi les 39 patients avec un LA isolé, 5 patients sont positifs en IgM aPS/PT (13%) et 1 patient est positif en IgG aPS/PT (2%).

Dans cette cohorte, parmi les deux patients triple positifs, un seul patient est positif en aPS/PT d'isotype IgM seulement.

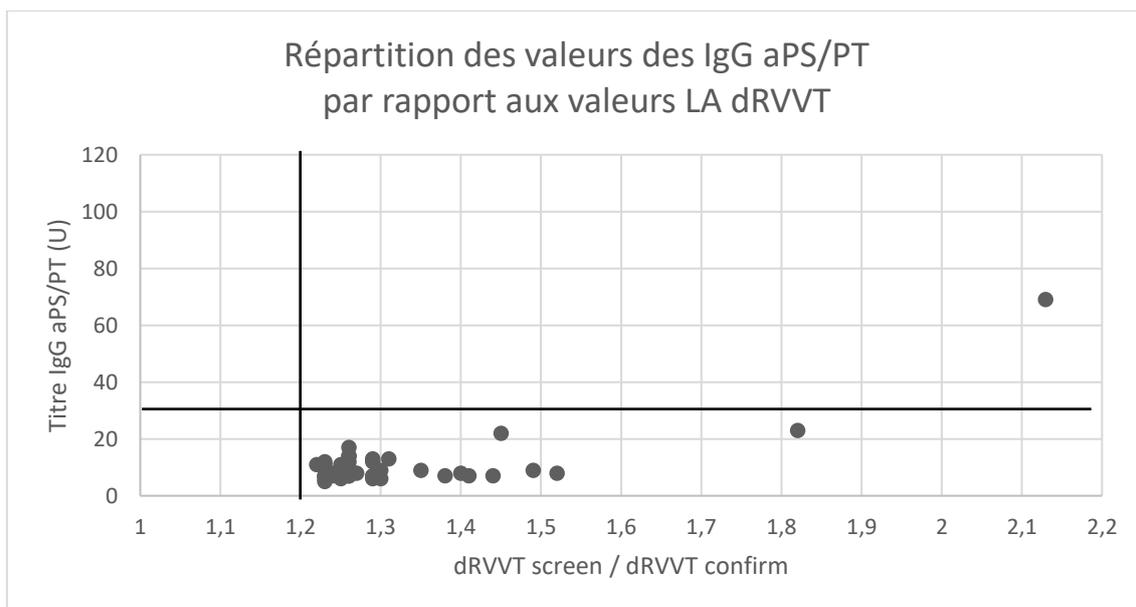
Parmi les 12 patients ayant bénéficié d'un dosage de LA sous AOD après neutralisation au charbon activé, aucun patient ne possède un résultat de dRVVT élevé. Un seul patient (patient 20) est positif en aPS/PT d'isotype IgM seulement (à taux faible).

Pour 2 patients (patients 15' et 22'), un deuxième dosage aPS/PT est réalisé 3 mois après le premier dosage analysé. Pour chacun des 2 patients, les dosages en aPS/PT sont identiques.

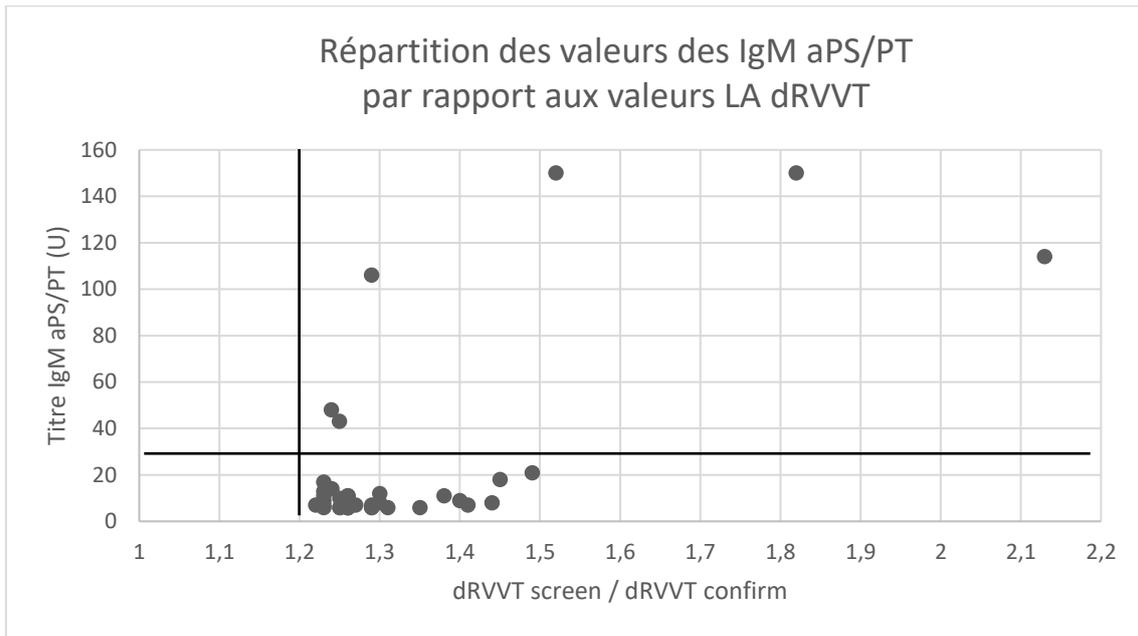
Patient	Sexe	Age	Signes cliniques	TTT	LA dRVVT	Indice de Rosner	IgG aPS/PT U	IgM aPS/PT U	IgG aCL GPL/ mL	IgM aCL MPL/ mL	IgG aβ2GPI U/mL	IgM aβ2GPI U/mL
1	H	35	Thrombose veineuse	Héparine	1,27	NI	8	7	<1,6	<0,2	<1,4	<0,2
2	F	53	Thrombose veineuse		1,23	<12	5	7	<1,6	2,5	<1,4	2,5
3	H	77	Thrombose veineuse	Héparine	1,25	<12	8	6	<1,6	8,1	<1,4	7,5
4	F	53	Thrombose veineuse		1,82	12-15	23	>150	26,3	74,1	27,3	82
5	H	39	Thrombose veineuse		1,24	<12	8	14	<1,6	1,5	<1,4	1,4
6	F	48	Thrombose veineuse		1,23	<12	12	11	<1,6	0,4	<1,4	0,6
7	F	53	Thrombose veineuse	Héparine	1,29	<12	13	106	<1,6	4,7	<1,4	4
8	H	65	Thrombose veineuse		1,26	<12	7	6	<1,6	6,5	<1,4	5
9	H	63	Thrombose veineuse	Héparine	1,31	NI	13	6	<1,6	1,4	<1,4	1,4
10	H	23	Thrombose veineuse	Héparine	1,23	NI	6	6	<1,6	0,3	<1,4	0,2
11	H	57	Thrombose veineuse	AVK	1,26	≥15	8	6	<1,6	0,4	<1,4	0,4
12	H	30	Thrombose veineuse	AOD	1,23	NI	7	13	<1,6	0,7	<1,4	3,3
13	F	47	Thrombose veineuse	AOD	1,3	<12	6	8	<1,6	1,8	<1,4	1,9
14	F	45	Thrombose veineuse	AOD	1,38	<12	7	11	2,8	1,1	3	1,3
15	H	63	Thrombose veineuse	AOD	1,26	<12	14	11	<1,6	1,7	<1,4	3
15'				AOD	1,37	<12	22	8	<1,6	NR	<1,4	NR
16	H	87	Thrombose veineuse	AOD	1,45	NI	22	18	2,2	10,8	2,3	10,4
17	H	49	Thrombose veineuse	AOD	1,44	<12	7	8	<1,6	2	<1,4	1,6
18	F	30	Thrombose veineuse	AOD	1,22	<12	11	7	<1,6	0,2	<1,4	1,1
19	F	70	Thrombose veineuse	AOD	1,49	<12	9	21	13,1	50,8	15,4	48,5
20	F	71	Thrombose veineuse	AOD	1,25	<12	7	43	5,2	0,8	<1,4	0,8
21	H	82	Thrombose veineuse	AOD	1,26	<12	12	7	<1,6	3,3	<1,4	2,9
22	H	45	Thrombose veineuse	AOD	1,41	<12	7	7	<1,6	0,3	<1,4	<0,2
22'				AOD	1,45	<12	7	8	<1,6	0,4	<1,4	<0,2
23	H	68	Thrombose veineuse	AOD	1,26	<12	17	10	<1,6	<0,2	<1,4	<0,2
24	H	60	Thrombose artérielle		1,26	<12	8	8	<1,6	0,9	<1,4	0,9
25	H	51	Thrombose artérielle		1,29	<12	7	6	<1,6	1,4	<1,4	0,4
26	H	56	Thrombose artérielle	Héparine	1,3	NI	9	12	<1,6	3	<1,4	1,4

27	H	42	Thrombose artérielle		1,29	<12	6	7	<1,6	2,4	<1,4	2
28	H	28	Thrombose artérielle	Héparine	1,24	<12	7	48	<1,6	0,2	<1,4	0,2
29	F	39	Thrombose artérielle		1,25	<12	11	10	<1,6	0,2	<1,4	0,7
30	H	29	Thrombose artérielle	Héparine	1,29	<12	12	6	<1,6	<0,2	<1,4	0,2
31	H	64	Thrombose artérielle		1,26	<12	14	6	<1,6	4	<1,4	3,4
32	H	49	Thrombose artérielle	Héparine	1,4	NI	8	9	<1,6	5,7	<1,4	4,7
33	H	59	Thrombose artérielle		1,23	<12	11	9	<1,6	3,9	<1,4	4,3
34	F	83	Thrombose artérielle	Héparine	1,52	NI	8	>150	2,7	9,7	3	15,1
35	H	55	Thrombose artérielle	Héparine	1,25	<12	6	6	<1,6	0,2	<1,4	0,3
36	H	58	Thrombose artérielle		1,26	<12	7	6	2,1	8	<1,4	6,8
37	H	51	Thrombose artérielle	Héparine	1,26	NI	7	11	2,3	7,9	3,1	9,8
38	H	54	Thrombose artérielle	Héparine	1,23	NI	7	17	<1,6	2	<1,4	2,4
39	F	42	Evènement obstétrical		1,26	<12	10	6	<1,6	0,9	<1,4	0,8
40	F	27	Evènement obstétrical		1,35	<12	9	6	<1,6	0,2	<1,4	0,3
41	F	34	Evènement obstétrical		2,13	≥15	69	114	<1,6	0,8	<1,4	0,8

Tableau 7 : Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT du groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical (NI : non interprétable).



Graphique 5: Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical.



Graphique 6: Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical.

4. Groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical

Ce groupe est constitué de 10 patients (tableau 8) de 5 hommes et 5 femmes. L'âge moyen est de 48 ans. La recherche de LA est le plus souvent demandée par le médecin prescripteur devant une MAI ou une thrombopénie. Les patients ont majoritairement un LA isolé (n=8, 80%).

La positivité des aPS/PT d'isotype IgM est corrélée à celle du LA dRVVT pour 4/10 (40%) (tableau 8). Parmi eux, deux patients présentent une infection. La encore, les IgM aPS/PT sont positifs quel que soit la valeur du LA dRVVT (graphique 8). Seul 1/10 patient est positif en aCL et/ou aβ2GPI d'isotype IgM.

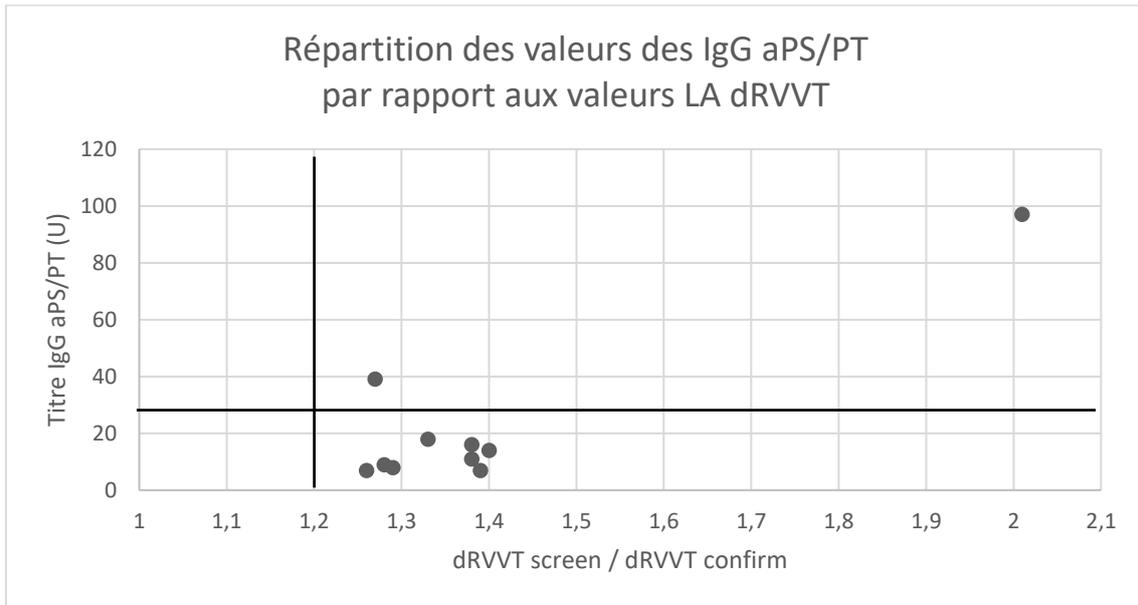
La positivité des aPS/PT d'isotype IgG est corrélée à celle du LA dRVVT pour 2/10 patients (20%). Il s'agit d'une femme de 40 ans (patient 8) atteinte de LES avec présence d'aPL triple positifs et d'une patiente de 73 ans (patient 10) dont le dosage de LA est réalisé sous AOD et dont le résultat d'aPS/PT est proche du seuil de positivité. En comparaison avec les autres aPL, les aCL IgG et/ou aβ2GPI IgG sont présents chez 2 patients sur 10 avec un LA (20%).

Parmi les 8 patients avec un LA isolé, 3 patients sont positifs en IgM aPS/PT (37%) et 1 patient est positif en IgG aPS/PT (12%)

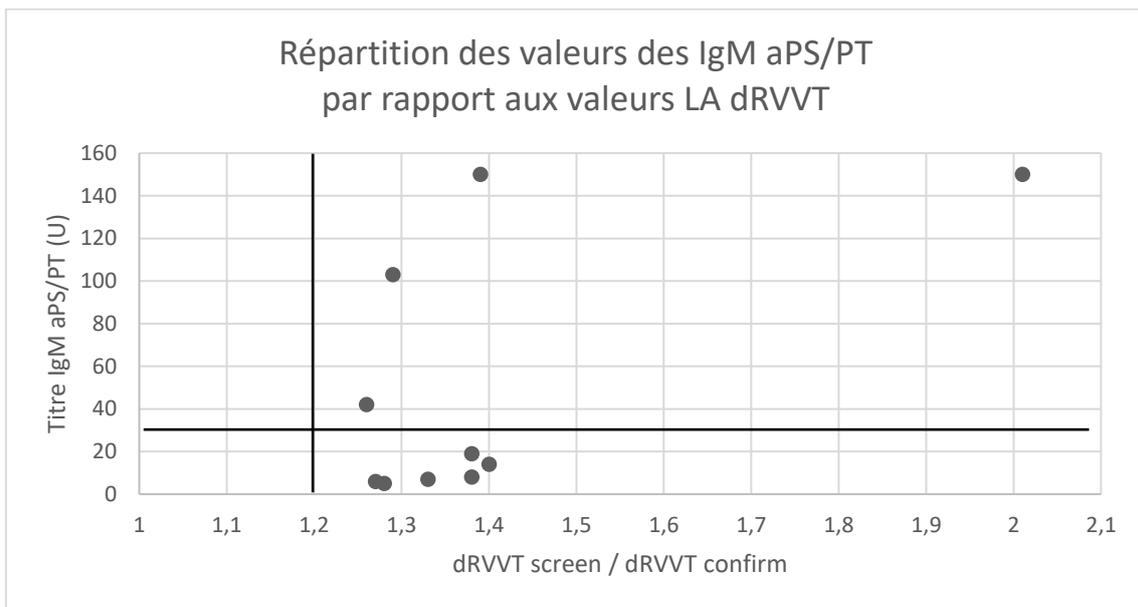
Parmi les 2 patients triple positifs, 1 patient est positif en IgG aPS/PT et en IgM aPS/PT.

Patient	Sexe	Age	Signes cliniques	TTT	LA dRVVT	Indice de Rosner	IgG aPS/PT U	IgM aPS/PT U	IgG aCL GPL/mL	IgM aCL MPL/mL	IgG aβ2GPI U/mL	IgM aβ2GPI U/mL
1	H	21	Infection		1,29	12-15	8	103	<1,6	3,5	<1,4	3,3
2	F	24	Infection		1,39	<12	7	>150	4,4	4	4	3,8
3	H	22	Infection		1,38	<12	11	19	<1,6	0,5	<1,4	0,6
4	F	20	PTI		1,4	<12	14	14	2,4	1,7	2	2
5	H	68	PTI		1,26	<12	7	42	<1,6	3,1	<1,4	3,4
6	H	87	PTI satellite hémopathie		1,28	<12	9	5	<1,6	<0,2	<1,4	<0,2
7	H	74	PTI satellite hémopathie		1,38	<12	16	8	35	32,4	34,6	56,3
8	F	40	LES		2,01	≥15	97	>150	32,1	11,9	38,2	10,6
9	F	56	Sclérodémie systémique		1,33	<12	18	7	<1,6	1,1	<1,4	1,2
10	F	73	Ulcères MI	AOD	1,27	<12	39	6	<1,6	0,7	<1,4	3,3

Tableau 8: Caractéristiques cliniques et biologiques associées aux résultats des dosages d'IgG aPS/PT et IgM aPS/PT du groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical.



Graphique 7 : Répartition des valeurs des IgG aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical.



Graphique 8 : Répartition des valeurs des IgM aPS/PT par rapport aux valeurs du LA dRVVT dans le groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical.

5. Synthèse des résultats

Au total, nous pouvons résumer les résultats de corrélation entre les aPS/PT et les autres aPL conventionnels par rapport à la présence du LA dans les différents groupes (tableau 9). Le dénominateur représente le nombre de patients LA positif dans chaque groupe.

	aPS/PT IgG	aPS/PT IgM	aCL IgG	aCL IgM	aβ2GPI IgG	aβ2GPI IgM
Groupe SAPL	7/15 (47%)	14/15 (93%)	9/15 (60%)	2/15 (13%)	10/15 (67%)	2/15 (13%)
Groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical	4/13 (30%)	12/15 (80%)	7/15 (47%)	2/15 (13%)	8/15 (53%)	2/15 (13%)
Groupe premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	1/41 (2%)	6/41 (15%)	1/41 (2%)	2/41 (3%)	1/41 (2%)	2/41 (3%)
Groupe premier résultat de LA sans thrombose ou évènement obstétrical	2/10 (20%)	4/10 (40%)	2/10 (20%)	1/10 (10%)	2/10 (20%)	1/10 (10%)

Tableau 9 : Résumé des corrélations entre les aPL et le LA.

6. Contrôle des résultats de LA à 3 mois du premier dosage

Pour les patients ayant bénéficié d'un unique dosage de LA durant la période du recueil, un suivi régulier des dossiers est réalisé. Ce suivi permet de confirmer ou non le résultat du premier dosage de LA à 12 semaines (tableau 10).

Nous n'avons pas pu doser les aPS/PT correspondants.

A ce jour (décembre 2020), sur les 51 patients nécessitant un deuxième dosage d'aPL à 12 semaines, seulement 9 patients (17%) en ont bénéficié (7/41 patients du groupe premier résultat de LA positif avec thrombose et 2/10 patients du groupe patients avec un premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical).

Parmi les 9 dosages de LA recontrôlés, 7 sont revenus négatifs en LA. Parmi eux, 2 patients étaient positifs en aPS/PT lors du premier dosage :

- le patient 2, positif en IgM aPS/PT à taux élevé dont l'atteinte clinique était une infection,
- le patient 28, positif en IgM aPS/PT à taux faible.

Et donc parmi les 9 dosages de LA recontrôlés, 2 patients sont toujours positifs en LA :

- le patient 4, unique patient triple positifs dont le résultat des IgM aPS/PT est positif à taux élevé,
- le patient 12 dont ce deuxième contrôle a également été réalisé sous AOD après technique de neutralisation par charbon activé.

Groupe	Patient	Clinique	LA dRVVT	Indice de Rosner	IgG aPS/PT U	IgM aPS/PT U	IgG aCL GPL/mL	IgM aCL MPL/mL	IgG aβ2GPI U/mL	IgM aβ2GPI U/mL
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	4	F, 53 ans thrombose veineuse	1.82	12-15	23	>150	26.3	74,1	27.3	82
	4'		1.59 Sous AVK	≥15	NR	NR	18	21.9	36.8	43
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	10	H, 23 ans thrombose veineuse	1,23	NR	6	6	<1,6	0,3	<1,4	0,2
	10'		1,02 sous AOD	<12	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	12	H, 30 ans thrombose veineuse	1,23 neutralisation charbon activé	<12	7	13	<1,6	0,7	<1,4	3,3
	12'		1,27 neutralisation charbon	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

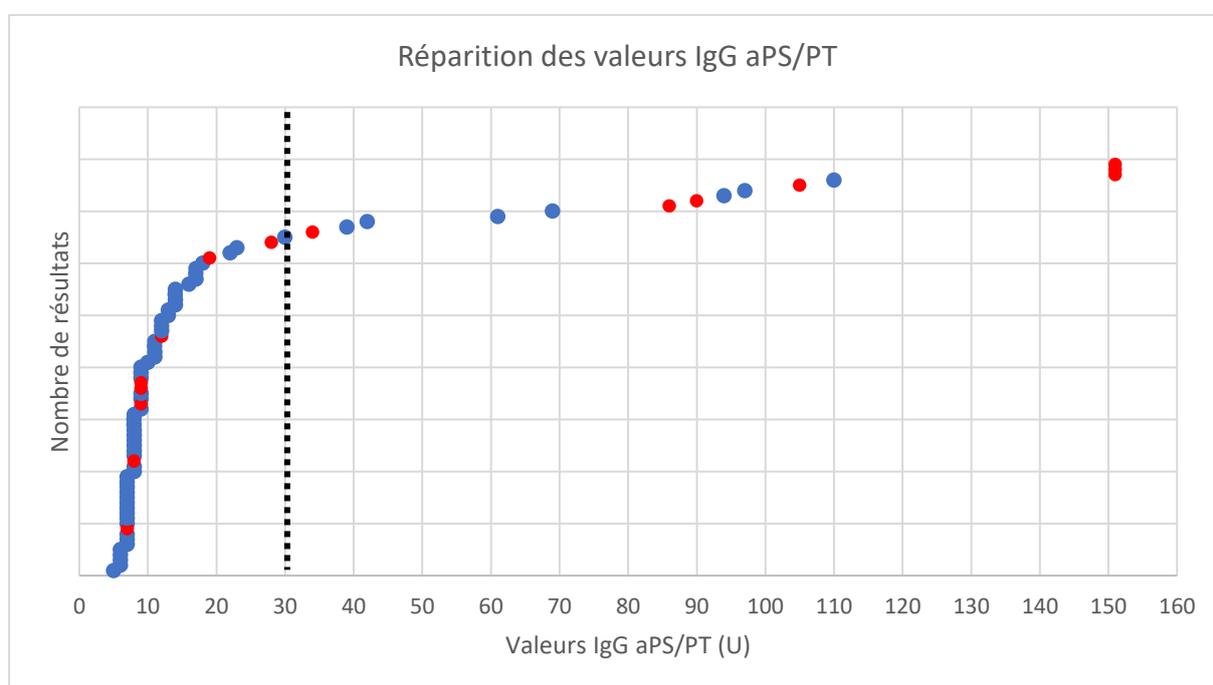
			activé							
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	14	F, 45 ans thrombose veineuse	1,38 neutralisation charbon activé	<12	7	11	2,8	1,1	3	1,3
	14'		1,18	NR	NR	NR	<1,6	1,2	1,5	1,1
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	18	F, 30 ans thrombose veineuse	1,22 neutralisation charbon activé	<12	11	7	<1,6	0,2	<1,4	1,1
	18'		0,99	<12	NR	NR	<1,6	0,4	<1,4	1
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	28	H, 28 ans thrombose artérielle	1,24	<12	7	48	<1,6	0,2	<1,4	0,2
	28'		1,08 neutralisation charbon activé	<12	NR	NR	<1,6	NR	<1,4	NR
Premier résultat de LA positif avec thrombose ou évènement obstétrical	40	F, 27 ans évènement obstétrical	1,35	<12	9	6	<1,6	0,2	<1,4	0,3
	40'		0,96	<12	NR	NR	<1,6	0,2	<1,4	0,3
Premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical	2	F, 24 ans Infection	1,39	<12	7	> 150	4,4	4	4	3,8
	2'		1,13	<12	NR	NR	1,8	NR	3,3	NR
Premier résultat de LA positif sans thrombose ou évènement obstétrical	9	F, 56 ans Sclérodémie systémique	1,33	<12	18	7	<1,6	1,1	<1,4	1,2
	9'		1,17	<12	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Tableau 10 : Contrôle du LA à distance du premier dosage.

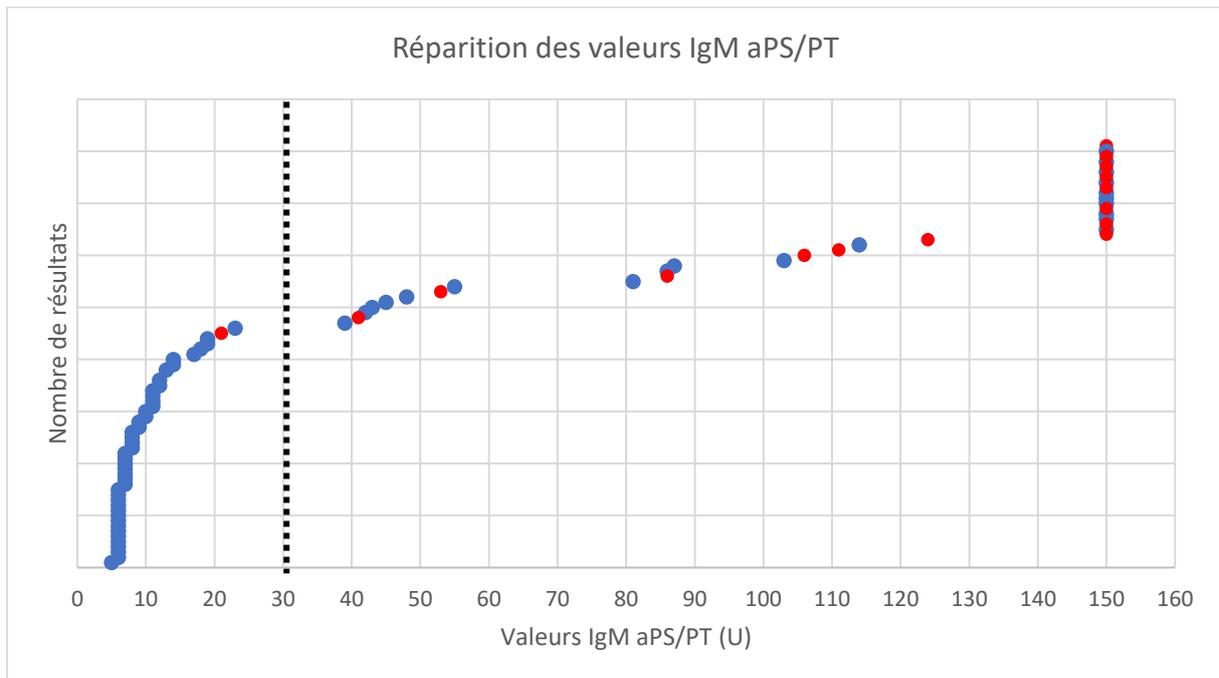
7. Répartition des valeurs selon le seuil de positivité

Dans ce travail, le seuil de positivité des aPS/PT utilisé est celui indiqué par le fournisseur (30 unités). De nombreuses études emploient également ce seuil (tableau 1). Puisque les atteintes cliniques du SAPL sont fréquentes et aspécifiques, la détection des aPL et donc la valeur du seuil de positivité est primordiale pour le diagnostic de SAPL. Nous avons étudié la répartition des valeurs d'aPS/PT au moyen de graphiques en nuage de points.

Il n'est pas retrouvé de valeur d'IgM aPS/PT proche du seuil de positivité (graphique 10). La majorité des patients SAPL (points rouges) ont des résultats d'IgM aPS/PT élevés. Concernant les 79 valeurs des IgG aPS/PT, seulement 3 valeurs sont proches du seuil de positivité (graphique 9). Parmi elles, deux valeurs appartiennent au groupe SAPL.

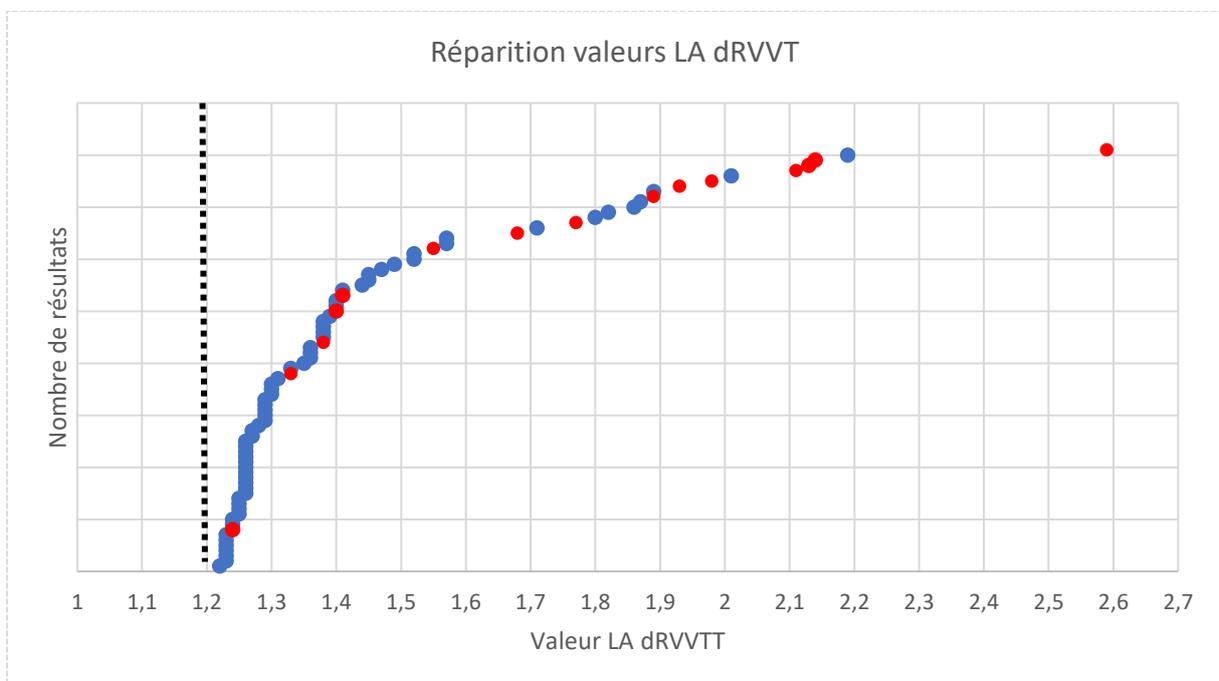


Graphique 9 : Répartition des valeurs IgG aPS/PT selon seuil de positivité. Les points rouges représentent les résultats des patients du groupe SAPL.



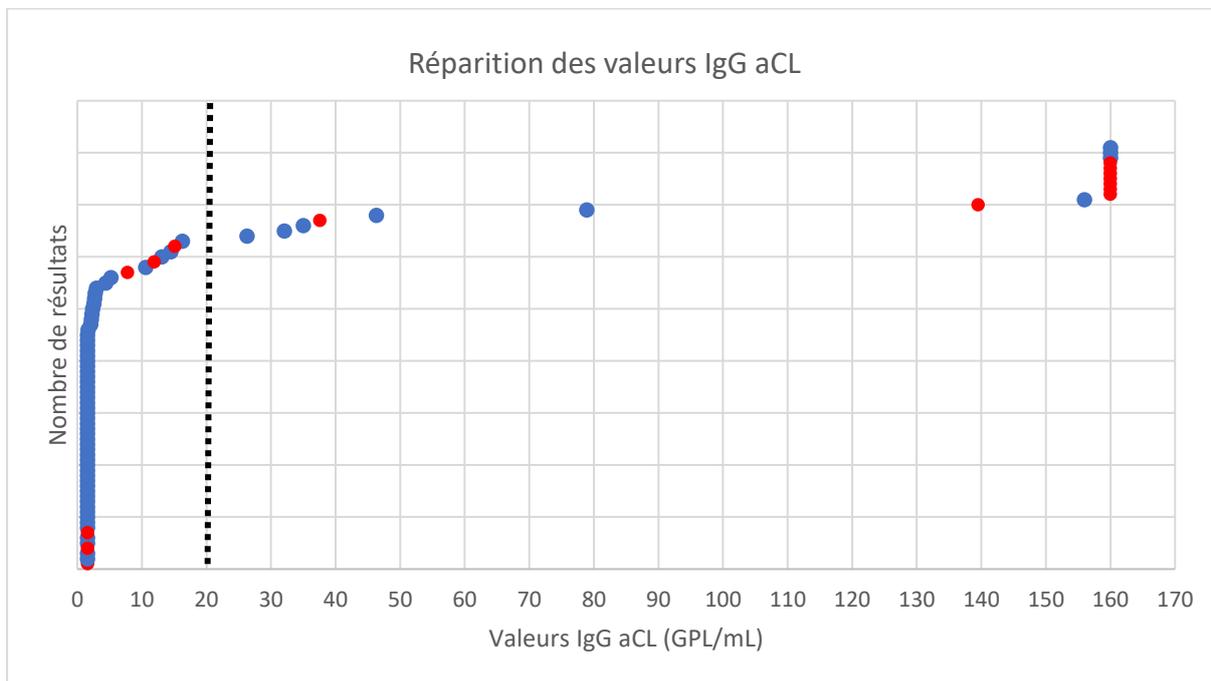
Graphique 10 : Répartition des valeurs IgM aPS/PT selon seuil de positivité.

Pour rappel, tous les patients ont un LA positif à $\geq 1,20$. Concernant la répartition des valeurs de LA dRVVT, un taux important de résultats de LA dRVVT est compris entre 1,20 et 1,30 (36 résultats / 81 résultats des LA totaux, soit 45%) (graphique 11). Parmi eux, un patient est classé SAPL (et aucun patient du groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical).

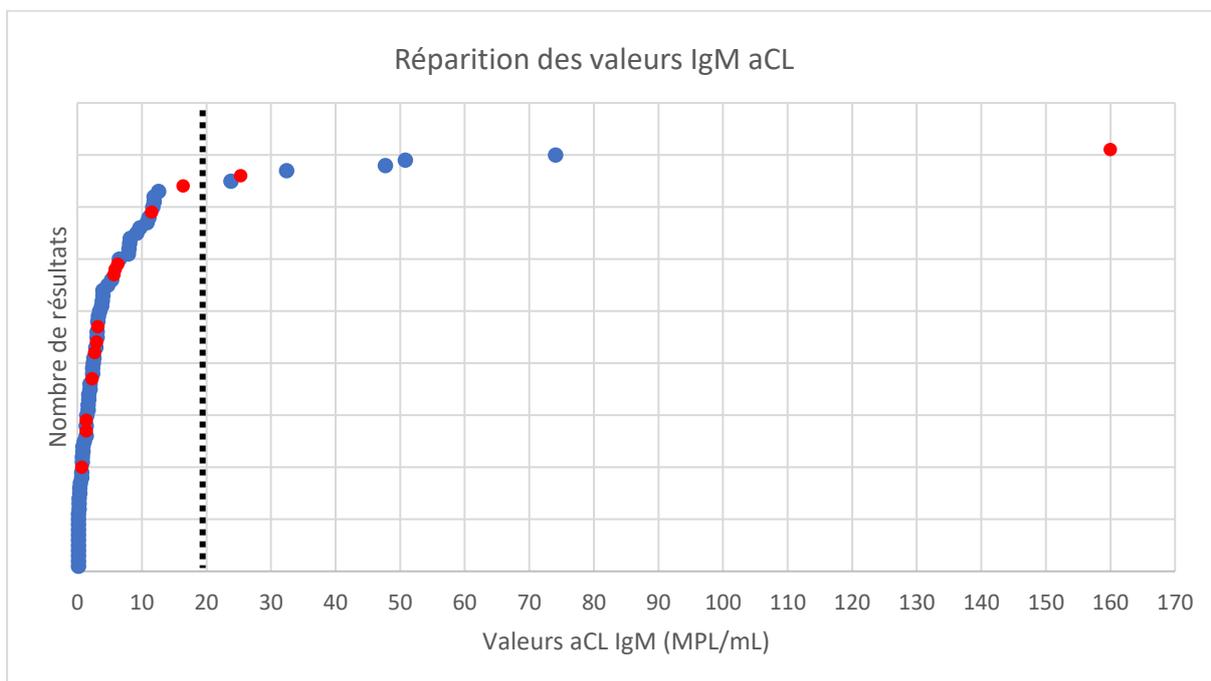


Graphique 11 : Répartition des valeurs LA dRVVT selon seuil de positivité.

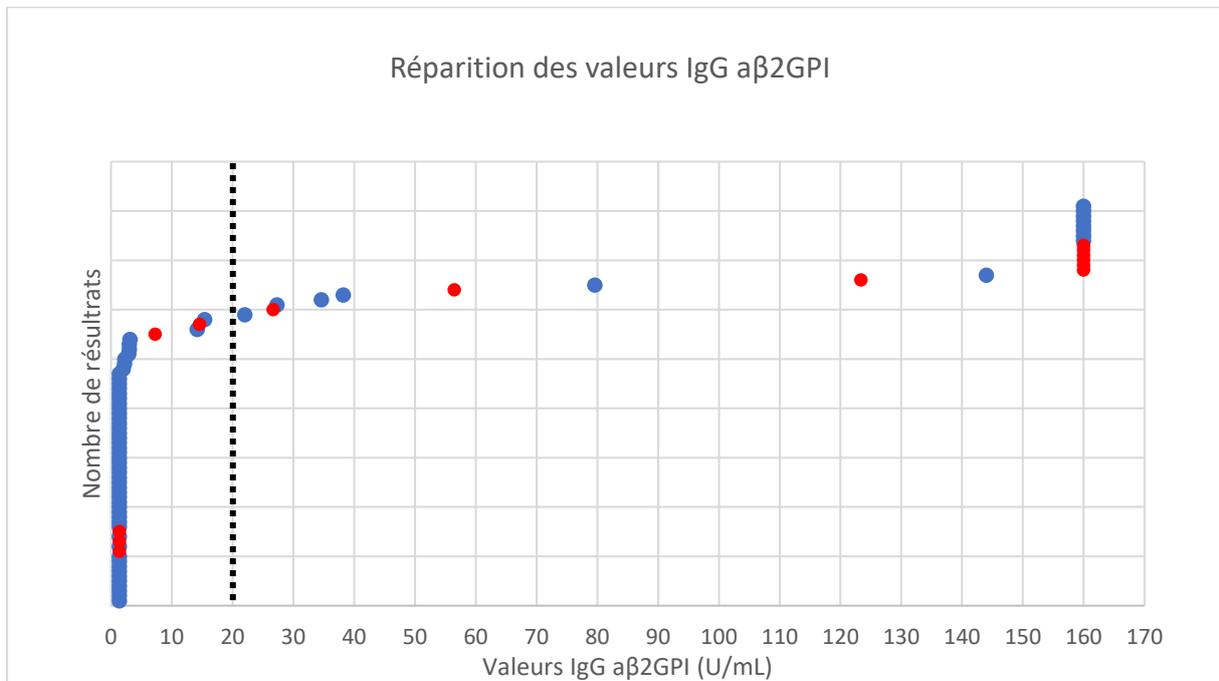
De la même manière, nous avons analysé la répartition des résultats de part et d'autre de la valeur seuil pour les aCL et a β 2GPI (graphiques 12 à 15). Pour chaque aPL, on observe peu de résultats proches du seuil de positivité.



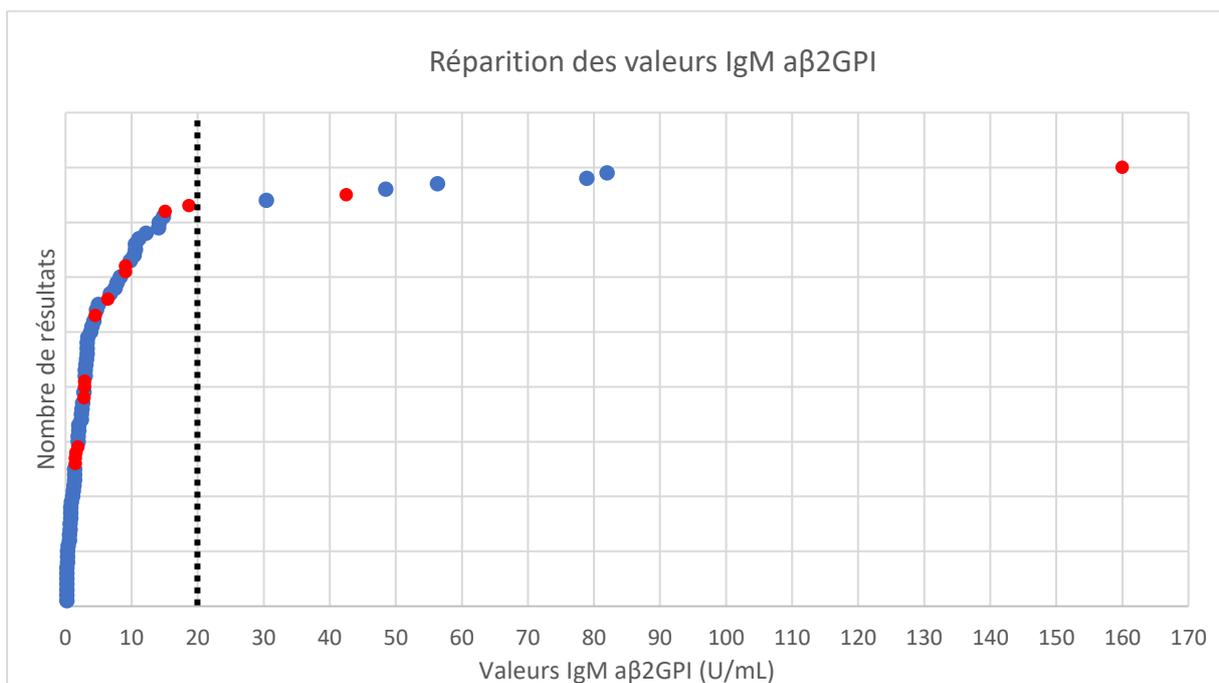
Graphique 12 : Répartition des valeurs IgG aCL selon seuil de positivité.



Graphique 13 : Répartition des valeurs IgM aCL selon seuil de positivité.



Graphique 14 : Répartition des valeurs IgG aβ2GPI selon seuil de positivité.



Graphique 15 : Répartition des valeurs IgM aβ2GPI selon seuil de positivité.

VI. Discussion

Ce travail a pour but d'étudier la corrélation entre les aPS/PT et la présence du LA au sein d'une population de patients suspecte ou atteinte de SAPL.

1. Raisons de l'étude

Le lupus anticoagulant est un marqueur biologique majeur, il s'intègre dans les critères diagnostiques biologiques de SAPL (4). Il est considéré comme le facteur de risque thrombotique le plus étroit par rapport aux autres aPL conventionnels (64) (65). Les patients triples positifs en aPL conventionnels sont les personnes les plus à risques de récives thrombotiques (64).

La recherche de LA se réalise au moyen de tests de coagulation. Grâce aux directives de l'ISTH (28), de nombreux progrès dans l'élaboration et l'interprétation des tests diagnostiques sont réalisés. Néanmoins le dosage de cet anticorps présente encore des problèmes de standardisation. Les conditions de réalisation pré-analytiques sont strictes. Les techniques d'identification sont complexes et se réalisent en quatre étapes. Reflétant ces difficultés, une étude a montré une discordance des rendus de résultats de LA jusqu'à 45% entre les laboratoires (97).

La prescription des AOD en première intention après un épisode thromboembolique a augmenté ces dernières années. Néanmoins, la recherche de LA n'est pas recommandé sous AOD. Il existe un nombre conséquent de résultats faussement positifs du test dRVVT, or ce test est le plus sensible pour le dépistage d'un LA. Cette interférence des AOD sur le dosage de LA peut constituer un dilemme pour le clinicien. Tout LA non recherché peut conduire à tort à l'instauration d'un traitement par AOD (traitement non recommandé en cas de SAPL avéré) et tout LA positif sous AOD peut conduire à un diagnostic erroné de SAPL. Certains laboratoires se sont munis d'un traitement au charbon permettant la neutralisation de la molécule thérapeutique. Ces tests permettent d'éliminer la présence d'un LA dans 9 cas sur 10 (50). Néanmoins, toute positivité de LA devra être confirmée par un nouveau dosage à distance de toute prise médicamenteuse. Concernant les autres anticoagulants (héparine, AVK), la recherche de LA n'est possible que sous certaines conditions bien précises. Il convient au biologiste de connaître le traitement du patient avant toute recherche de LA.

Ainsi, la détection du LA est importante pour le diagnostic de SAPL, pour la prise en charge thérapeutique (choix de la molécule et durée de traitement) et pour le suivi des patients. Il semble donc nécessaire de suppléer le dosage de LA lorsque celui-ci n'est pas réalisable ou que son interprétation est difficile. Des études antérieures ont démontré une étroite corrélation entre la présence des aPS/PT et celle du LA (95) (102) (103) (104). C'est notamment devant les données de l'étude de Litvinova en 2018 (94) que nous avons voulu étudier cette corrélation.

2. Mise en place de l'étude

Afin de déterminer la plus stricte corrélation avec les aPS/PT, nous avons souhaité être exhaustif et tester tous les patients avec un LA positif au CHU de Dijon.

Les patients sont sélectionnés de manière rétrospective à partir d'un logiciel informatique. Les échantillons sont ensuite recherchés au laboratoire Immunologie puisque du sérum (et non du plasma comme le LA) est nécessaire au dosage d'aPS/PT.

Les patients sont classés en quatre groupes distincts : le groupe LA persistant et thrombose ou événement obstétrical (ou groupe SAPL), le groupe avec un LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical, le groupe avec un premier résultat de LA positif et événement thrombotique ou obstétrical et enfin le groupe avec un premier résultat de LA positif sans thrombose ou événement obstétrical associé. Pour la très grande majorité des patients, un seul dosage de LA est réalisé durant notre période d'étude et donc un seul dosage d'aPS/PT est effectué.

Le dosage des aPS/PT n'était pas réalisé au laboratoire d'Immunologie. Son élaboration fait partie intégrante de ce travail de thèse.

Les conditions pré-analytiques sont simples. Une faible quantité de sérum (5 μ L) est nécessaire. Il n'existe pas d'interférence avec les traitements anticoagulants.

Celui-ci se réalise au moyen d'une technique immuno-enzymatique indirecte de type ELISA, semi automatisée (dilution manuelle des patients). Nous avons utilisé le kit mis au point par le laboratoire Werfen (QUANTA LITE aPS/PT IgG et IgM, INOVA diagnostic). Ce même kit commercial est employé dans de nombreuses études sur les aPS/PT. Il a été validé dans l'étude de Sciascia (97) où il s'est avéré précis et reproductible pour le dosage des aPS/PT. Le résultat peut être rendu en moins de 3 heures.

3. Principaux résultats

On retrouve une étroite corrélation entre la présence du LA et des aPS/PT d'isotype IgM dans le groupe SAPL (14/15 patients, 93%) et dans le groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical associé (12/15 patients, 80%). Cette corrélation est retrouvée quel que soit la valeur du LA dRVVT. La corrélation LA et IgM aPS/PT est décrite dans la littérature. Litvinova par exemple (94) retrouve aussi une corrélation à 93% chez les patients SAPL (26 patients sont positifs en IgM aPS/PT sur 29 patients LA positif).

Les IgM aPS/PT sont fortement corrélés au LA isolé (5/5 patients du groupe SAPL (100%) et 5/6 patients du groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical (83%)). D'après une étude de Pengo (73), la majorité des patients avec un LA isolé sont positifs en aPS/PT. L'isotype IgM aPS/PT est prédominant chez ces patients. La présence de ces IgM aPS/PT chez les patients LA isolés décrit un groupe de patients à faible risque thrombotique par rapport aux patients LA, a β 2GPI et aPS/PT positifs (73). Le diagnostic de SAPL n'en reste pas moins important. En effet, il existe de véritables tableaux de SAPL et notamment les SAPL obstétricaux avec comme seul aPL conventionnel positif, le lupus anticoagulant (70). Dans ces situations où l'impact diagnostique et thérapeutique est majeur, il peut être

intéressant de confirmer la présence du LA à l'aide d'un autre marqueur qui de surplus est réalisé par une technique différente des tests de coagulation.

En 2018, au moyen d'une technique par chromatographie d'exclusion, Pengo (73) a identifié au sein d'une population de patients LA isolé, l'isotype IgM des aPS/PT comme la molécule responsable de l'activité anticoagulante lupique.

L'isotype IgM est également corrélé au LA chez les patients triple positifs (8/9 patients SAPL(89%) et 6/8 patients LA persistant (75%)). Selon les données de la littérature, les patients triple positifs sont également positifs en aPS/PT mais le profil des isotypes est différent puisque les deux isotypes IgG et IgM sont retrouvés (73). La présence de ces quatre anticorps définit un groupe de patients dit tétra-positifs. La tétra-positivité consolide le diagnostic de SAPL, et aucun autre dosage n'est alors conseillé pour la prise en charge de ces patients (105).

La corrélation entre le LA et l'isotype IgG des aPS/PT est principalement retrouvée dans le groupe SAPL (7/15 patients (47%)) par rapport au groupe LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical (4/13 patients (30%)). Les patients avec aPS/PT IgG positifs ont tous des taux élevés de LA dRVVT. Pour reprendre les données de Litvinova, la corrélation entre LA et aPS/PT s'élevait à 62% dans le groupe SAPL (18 patients sont positifs en IgG aPS/PT sur les 29 patients LA positifs) et 18% dans le groupe de patients avec LA persistant sans évènement thrombotique (2 patients sont positifs en IgG aPS/PT sur les 11 patients LA positifs). Ces données confirment l'association de l'isotype IgG aPS/PT avec les événements thromboemboliques (73).

La corrélation LA et IgG aPS/PT est plus importante en cas de triple positivité (5/9 patients SAPL (55%)) et les aPS/PT IgG ne sont que très peu associés au LA isolé (1/5 patients SAPL (20%) et 2/6 patients avec LA persistant (33%)). Ces résultats sont en accord avec l'étude de Pengo *et al.* dont la prévalence des aPS/PT IgG est plus importante chez les patients triple positifs par rapport aux patients avec LA isolé.

Au total, en combinant les deux groupes de patients (SAPL et LA persistant sans thrombose ou évènement obstétrical), les aPS/PT IgG sont retrouvés dans 40% des cas de LA positifs et les IgM sont présents dans 86% des cas. Dans son étude, Litvinova (94) retrouvait des résultats similaires avec une corrélation LA et aPS/PT estimée à 50% pour les IgG aPS/PT et 87,5% pour les IgM aPS/PT.

Concernant le groupe avec un premier résultat de LA positif et thrombose ou événement obstétrical, la corrélation LA et aPS/PT est très faible (1/41 patients et 6/41 patients selon les isotypes IgG et IgM aPS/PT). Les patients ont quasiment tous un premier résultat de LA isolé (39/ 41 patients).

Une positivité isolée du LA est souvent observée chez les personnes âgées ou sur un premier dosage non confirmé à 12 semaines (28). Celle-ci ne persiste que dans 40% des cas à 12 semaines (69). Dans notre étude, sur les 39 patients LA isolé nécessitant un deuxième dosage d'aPL à 12 semaines, seulement 6 patients en ont bénéficié. Parmi ces dosages recontrôlés, tous sont revenus négatifs en LA (hormis un dosage à recontrôler car le résultat est positif sous AOD après neutralisation au charbon activé). Ces patients avaient un premier résultat d'aPS/PT négatif hormis un patient dont le résultat des IgM aPS/PT est positif à taux faible. Ainsi, si cette négativité du LA à 12 semaines se confirme, la négativité des aPS/PT lors du premier dosage pourrait être en faveur d'une absence de LA.

Dans ce même groupe, 30/41 patients ont une valeur du LA dRVVT proche du seuil de positivité (entre 1,20 et 1,30) et tous sont négatifs envers les autres aPL conventionnels (aCL et a β 2GPI). Un résultat isolé et à taux faible de LA peut également être la conséquence d'une méthodologie complexe des tests de coagulations dépendant des phospholipides. Tout d'abord, on peut se demander si les conditions pré-analytiques au dosage de LA (28) sont respectées. Toutes les informations quant à une éventuelle prise médicamenteuse sont-elles transmises au laboratoire, le prélèvement est-il réellement réalisé à distance de l'évènement thrombotique ou de tout syndrome infectieux et grossesse ? Le GFHT en 2020 (46) rappelle que si la première recherche positive d'aPL est réalisée à moins de 3 mois de la première manifestation clinique, au moins deux contrôles ultérieurs espacés d'au moins 3 mois sont indispensables.

Au laboratoire d'Hémostase du CHU de Dijon, le temps de coagulation du plasma témoin est déterminé à chaque série à partir d'un pool de plasma normal commercialisé et un ratio normalisé $\geq 1,20$ est retenu comme seuil de positivité. Cependant, les recommandations quant au temps de coagulation du plasma témoin et la valeur du seuil de positivité du LA ne sont pas clairement définis par l'ISTH (28) ou le GFHT (46). Le temps de coagulation du plasma témoin peut être déterminé au moyen d'un pool de plasma normal mesuré à chaque série, préparé localement ou être issu d'un plasma commercial. Le nombre exact de plasmas normaux constituant le pool est difficile à définir (45). Pour diminuer la variabilité entre les lots de réactifs, il a été proposé de déterminer la moyenne du temps de coagulation pour chaque lot de réactifs. Enfin, concernant le seuil de positivité du ratio normalisé dRVVT screen/dRVVT confirm, les dernières propositions du GFHT (46) n'émettent pas de recommandation spécifique. Il est seulement recommandé de vérifier le seuil de positivité établi par le laboratoire au moment de chaque changement de lot de réactifs (au moyen de 20 plasmas de sujets normaux si le seuil indiqué par le fournisseur est utilisé).

C'est pourquoi, le diagnostic biologique de SAPL ne peut être posé que si la persistance des anticorps à 12 semaines est démontrée. Il convient de recontrôler systématiquement les 3 aPL conventionnels (46).

Dans le groupe premier résultat de LA positif sans thrombose ou événement obstétrical, la corrélation est également faible pour les IgG aPS/PT (2/10 patients) et les IgM aPS/PT sont retrouvés chez 4/10 patients avec un LA positif.

4. Limites de l'étude

La plus grande limite de notre étude réside dans l'absence de contrôle des résultats de LA et aPS/PT à 12 semaines.

Par ailleurs, nous n'avons pas pu confirmer par un deuxième dosage chaque résultat d'aPS/PT. Cette vérification apparaît d'autant plus importante pour les dosages à la limite du seuil de positivité (notamment pour les résultats des IgG aPS/PT).

D'autres limites sont à prendre en compte, l'étude est monocentrique réalisée sur un faible nombre de patients dont le recueil et la classification des patients ont été réalisés par un seul examinateur. Du fait d'un faible nombre de patients témoins (au nombre de 5) définis comme patients sans aPL conventionnels ni événement clinique, aucune analyse n'a pu être rendue.

Il n'a pas été possible de récupérer du sérum d'un ou plusieurs patients issus d'un laboratoire extérieur réalisant l'analyse des aPS/PT. Ceci aurait permis de comparer nos résultats.

Enfin, pour compléter notre étude, nous veillons à recueillir les sérums avec un résultat de LA négatif et un résultat des aCL et/ou aβGPI positifs. Les données de Cattini (90) montrent que les patients double positifs aCL et aβ2GPI sont négatifs en aPS/PT.

5. Perspectives

Au vu de ces résultats, la mise en place du dosage des aPS/PT au sein du laboratoire d'Immunologie du CHU de Dijon s'avère intéressante.

Ce dosage pourrait s'intégrer en complément aux dosages des aPL conventionnels dans la démarche diagnostique du SAPL. Le diagnostic de SAPL est important d'autant plus qu'il touche des patients jeunes, des femmes enceintes dont les complications et l'absence de prise en charge thérapeutique peuvent être graves. A l'inverse, un diagnostic de SAPL à tort entraîne la mise en place d'un traitement anticoagulant au long cours dont les effets indésirables peuvent être majeurs.

Le dosage et le résultat des aPS/PT semblent être intéressants dans plusieurs situations :

- à l'inverse du LA, la recherche des aPS/PT est réalisable chez les patients sous anticoagulants et en cas de syndrome inflammatoire,
- chez les patients LA persistant de manière isolée, il peut-être rassurant pour le médecin clinicien en charge du patient de conforter le diagnostic de SAPL au moyen d'un autre marqueur, analysé de surplus par une technique différente des tests de coagulation,
- chez les patients triple positifs en aPL conventionnels, la recherche des aPS/PT pourrait consolider le diagnostic de SAPL à haut risque thrombotique,

- chez les patients pour lesquels un premier dosage de LA est positif sans aPS/PT associé, cette négativité des aPS/PT lors du premier dosage pourrait être prédictif d'une absence de LA à 12 semaines.

Depuis la fin de l'étude, nous veillons donc à recueillir les sérums des patients pour lesquels un deuxième dosage de LA est réalisé afin de doser ultérieurement les aPS/PT et de confirmer ces données.

VII. Conclusions

Les autoanticorps dirigés contre le complexe phosphatidylsérine/prothrombine ne font pas partie des critères diagnostiques du syndrome des antiphospholipides. Cependant, ils sont de plus en plus étudiés pour leur utilité diagnostique chez les patients suspects de syndrome des antiphospholipides.

Grace à une méthode immuno-enzymatique de type ELISA (QUANTA LITE aPS/PT IgG et IgM, INOVA diagnostic Werfen) nous avons mis en évidence une étroite corrélation entre les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine et la présence du lupus anticoagulant détecté par le test dRRVT dans le groupe syndrome des antiphospholipides et le groupe lupus anticoagulant persistant sans thrombose ou évènement obstétrical associé. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature.

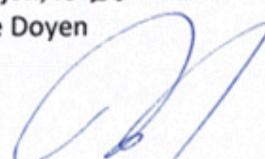
Les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine d'isotypes IgG et IgM s'avèrent être un marqueur prometteur pour aider à confirmer ou infirmer la présence de lupus anticoagulant. Ils pourraient être un outil diagnostique complémentaire à la prise en charge du syndrome des antiphospholipides et ce d'autant plus que la présence du lupus anticoagulant est isolée.

Le Président du jury,



Pr. M. MAYNADIÉ

Vu et permis d'imprimer
Dijon, le 25 Février 2021
Le Doyen



Pr. M. MAYNADIÉ

Bibliographie

1. Joste V, Dragon-Durey M-A, Darnige L. Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome: From criteria to practice. *Rev Med Interne*. 2018;39(1):34-41.
2. Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, et al. Association of autoantibodies against the phosphatidylserine–prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum*. 2000;43(9):1982-93.
3. Wendell A, Wilson. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: Report of an International workshop. 1999;42(7):1309-13111.
4. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006;4(2):295-306.
5. Cervera R, Serrano R, Pons-Estel GJ, Ceberio-Hualde L, Shoenfeld Y, de Ramón E, et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(6):1011-8.
6. Cervera R. Antiphospholipid syndrome. *Thromb Res*. 2017;151:S43-7.
7. Domenico Sebastiani G, Minisola G, Galeazzi M. HLA class II alleles and genetic predisposition to the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2003;2(6):387-94.
8. Bertolaccini ML, Sanna G. Recent advances in understanding antiphospholipid syndrome. *F1000Research*. 2016;5.
9. Groot PGD, Meijers JCM. β 2-Glycoprotein I: evolution, structure and function. *J Thromb Haemost*. 2011;9(7):1275-84.
10. Masliah-Planchon J, Darnige L. Antiphospholipid antibodies and haemostasis. *Rev Med Interne*. 2012;33(4):181-8.
11. Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, Yu P, Berndt MC, Andrews RK, et al. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in complex with β 2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum*. 2006;54(8):2558-67.
12. Sikana M, Routsias J. β 2 Glycoprotein I (β 2GPI) binds platelet factor 4 (PF4): implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome | *Blood* | American Society of Hematology. 2010.
13. Giannakopoulos B, Passam F, Rahgozar S, Krilis SA. Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2007;109(2):422-30.
14. Oku K, Amengual O, Atsumi T. Pathophysiology of thrombosis and pregnancy morbidity in the antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(10):1126-35.
15. Chaturvedi S, Brodsky RA, McCrae KR. Complement in the Pathophysiology of the Antiphospholipid Syndrome. *Front Immunol*. 2019;10(449).
16. Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *The Lancet*. 2010;376(9751):1498-509.

17. Wahl D, Membre A, Perret-Guillaume C, Regnault V, Lecompte T. Mechanisms of antiphospholipid-induced thrombosis: effects on the protein C system. *Curr Rheumatol Rep.* 2009;11(1):77-81.
18. Arnout J, Vermeylen J. Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. *J Thromb Haemost.* 2003;1(5):931-42.
19. Regnault V, Béguin S, Wahl D, de Maistre E, Coenraad Hemker H, Lecompte T. Thrombinography shows acquired resistance to activated protein C in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 2003;89(2):208-12.
20. Arslan E, Branch DW. Antiphospholipid syndrome: Diagnosis and management in the obstetric patient. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2020;64:31-40.
21. Pasquali J-L, Sibilia J, Poindron V, Korganow AS, Soulas-Sprauel P, Martin T. Aspects immunologiques du syndrome des antiphospholipides. *Rev Med Interne.* 2012;33(4):189-93.
22. Sacharidou A, Shaul PW, Mineo C. New Insights in the Pathophysiology of Antiphospholipid Syndrome. *Semin Thromb Hemost.* 2018;44(5):475-82.
23. Vianna JL, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Font J, Cervera R, Lopez-Soto A, et al. Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome: a European Multicenter Study of 114 patients. *Am J Med.* 1994;96(1):3-9.
24. Cervera R, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, Jacobsen S, Kiss E, et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 5-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(9):1428-32.
25. Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Font J, Lie JT, Burcoglu A, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome. Clinical and laboratory features of 50 patients. *Medicine (Baltimore).* 1998;77(3):195-207.
26. Cervera R, CAPS Registry Project Group. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): update from the « CAPS Registry ». *Lupus.* 2010;19(4):412-8.
27. Lockshin MD, Sammaritano LR, Schwartzman S. Validation of the Sapporo criteria for antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2000;43(2):440-3.
28. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost.* 2009;7(10):1737-40.
29. Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa MC, Piette JC, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines. *Lupus.* 2003;12(7):530-4.
30. Tektonidou MG, Andreoli L, Limper M, Amoura Z, Cervera R, Costedoat-Chalumeau N, et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(10):1296-304.
31. Couturaud F, Girard P, Laporte S, Sanchez O. Quelle est la durée du traitement anticoagulant pour une EP/TVP proximale ? *Rev Mal Respir.* 2019.
32. Dufrost V, Risse J, Reshetnyak T, Satybaldyeva M, Du Y, Yan X-X, et al. Increased risk of thrombosis in antiphospholipid syndrome patients treated with direct oral anticoagulants.

Results from an international patient-level data meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2018;17(10):1011-21.

33. Ordi-Ros J, Sáez-Comet L, Pérez-Conesa M, Vidal X, Riera-Mestre A, Castro-Salomó A, et al. Rivaroxaban Versus Vitamin K Antagonist in Antiphospholipid Syndrome: A Randomized Noninferiority Trial. *Ann Intern Med.* 2019;171(10):685-94.
34. Cerdà P, Becattini C, Iriarte A, Hernández JC, Corbella X, Riera-Mestre A. Direct oral anticoagulants versus vitamin K antagonists in antiphospholipid syndrome: A meta-analysis. *Eur J Intern Med.* 2020;79:43-50.
35. Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Jose SP, Hoxha A, Ruffatti A, et al. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2018;132(13):1365-71.
36. Pangborn MC. Cardiolipin and its application in a chemically purified antigen for the serodiagnosis of syphilis. *Proc N Y State Assoc Public Health Lab.* 1946;26(1):26-9.
37. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet.* 1990;335(8705):1544-7.
38. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(11):4120-4.
39. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet.* 1990;336(8708):177-8.
40. de Laat B, Derksen RHW, Urbanus RT, de Groot PG. 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.* 2005;105(4):1540-5.
41. Steinkasserer A, Estaller C, Weiss EH, Sim RB, Day AJ. Complete nucleotide and deduced amino acid sequence of human beta 2-glycoprotein I. *Biochem J.* 1997;277(Pt 2):387-91.
42. Tripodi A, Groot PG de, Pengo V. Antiphospholipid syndrome: laboratory detection, mechanisms of action and treatment. *J Intern Med.* 2011;270(2):110-22.
43. HAS. Biologie des anomalies de l'hémostase. Rapport d'évaluation technologique. 2011;VI.
44. Aringer M, Costenbader KH, Daikh DI, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 EULAR/ACR Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* sept 2019;71(9):1400-12.
45. Devreese KMJ, Groot PG, Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost.* 2020;18(11):2828-39.
46. Gruel Y, Morange P et al. Recherche d'une thrombophilie biologique : propositions du GFHT 2020. *Revue Francophone d'Hémostase et Thrombose.* 2020;2(3):93-126.
47. de Groot PG, Urbanus RT. The significance of autoantibodies against β 2-glycoprotein I. *Blood.* 2012;120(2):266-74.

48. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost.* 1995;74(4):1185-90.
49. Ratzinger F, Lang M, Belik S, Jilma-Stohlawetz P, Schmetterer KG, Haslacher H, et al. Lupus-anticoagulant testing at NOAC trough levels. *Thromb Haemost.* 2016;116(2):235-40.
50. Delrue M, Valaize J, Dermagny J, Borgel A, Jourdi G, Nedelec-Gac F, et al. Recherche d'anticoagulant lupique chez 100 patients traités par AOD, est-ce possible ? Résultats d'une étude multicentrique. *JMV-J Médecine Vasc.* 2019;44(2):139.
51. Smith LJ. Laboratory Diagnosis of the Lupus Anticoagulant. *Am Soc Clin Lab Sci.* 2017;30(1):7-14.
52. Miyara M, Diemert M-C, Amoura Z, Musset L. Anticorps antiphospholipides en pratique. *Rev Med Interne.* 2012;33(4):176-80.
53. Devreese KMJ. Antiphospholipid antibody testing and standardization. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(3):352-63.
54. de Maistre E, Wahl D, Perret-Guillaume C, Regnault V, Clarac S, Briquel ME, et al. A chromogenic assay allows reliable measurement of factor VIII levels in the presence of strong lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* janv 1998;79(1):237-8.
55. Cohen H, Mackie IJ, Devreese KMJ. Clinical and laboratory practice for lupus anticoagulant testing: An International Society of Thrombosis and Haemostasis Scientific and Standardization Committee survey. *J Thromb Haemost.* 2019;17(10):1715-32.
56. Désage S, Dargaud Y. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides. *Rev Francoph Lab.* 2020;2020(520):34-41.
57. Devreese KMJ, Pierangeli SS, Laat B de, Tripodi A, Atsumi T, Ortel TL. Testing for Antiphospholipid antibodies with Solid Phase Assays: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2014;12(5):792-5.
58. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti- β 2-glycoprotein I testing: Report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum.* 2012;64(1):1-10.
59. Darnige L. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides. *Rev Med Interne.* 2006;27(4):296-301.
60. Sanmarco M, Soler C, Christides C, Raoult D, Weiller PJ, Gerolami V, et al. Prevalence and clinical significance of IgG isotype anti- β 2-glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome: A comparative study w. *J Lab Clin Med.* 1997;129(5):499-506.
61. Petri M. Epidemiology of the Antiphospholipid Antibody Syndrome. *J Autoimmun.* 2000;15(2):145-51.
62. Gómez-Puerta JA, Cervera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2014;48-49:20-5.
63. Galli M, Barbui T. Antiprothrombin Antibodies: Detection and Clinical Significance in the Antiphospholipid Syndrome. *Blood.* 1999;93(7):2149-57.

64. Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost.* 2005;93(6):1147-52.
65. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood.* 2003;101(5):1827-32.
66. Somers E, Magder LS, Petri M. Antiphospholipid Antibodies and Incidence of Venous Thrombosis in a Cohort of Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol.* 2002;29(12):2531-6.
67. Wahl DG, Guillemin F, de Maistre E, Perret C, Lecompte T, Thibaut G. Risk for venous thrombosis related to antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus--a meta-analysis. *Lupus.* 1997;6(5):467-73.
68. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gresele P, Barcellona D, Erba N, et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 2010;8(2):237-42.
69. Pengo V, Ruffatti A, Ross TD, Tonello M, Cuffaro S, Hoxha A, et al. Confirmation of initial antiphospholipid antibody positivity depends on the antiphospholipid antibody profile. *J Thromb Haemost.* 2013;11(8):1527-31.
70. Mattia E, Tonello M, Del Ross T, Zerbinati P, Campello E, Simioni P, et al. Clinical and laboratory characteristics of isolated lupus anticoagulants. *Thromb Res.* 2018;165:51-3.
71. Pengo V, Testa S, Martinelli I, Ghirarduzzi A, Legnani C, Gresele P, et al. Incidence of a first thromboembolic event in carriers of isolated lupus anticoagulant. *Thromb Res.* 2015;135(1):46-9.
72. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood.* 2011;118(17):4714-8.
73. Pengo V, Del Ross T, Ruffatti A, Bison E, Cattini MG, Pontara E, et al. Lupus anticoagulant identifies two distinct groups of patients with different antibody patterns. *Thromb Res.* 2018;172:172-8.
74. Del Ross T, Ruffatti A, Cuffaro S, Tonello M, Calligaro A, Favaro M, et al. The clinical relevance of the IgM isotype of antiphospholipid antibodies in the vascular antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2015;136(5):883-6.
75. Boffa M-C, Boinot C, De Carolis S, Rovere-Querini P, Arousseau M-H, Allegri F, et al. Laboratory criteria of the obstetrical antiphospholipid syndrome. Data from a multicentric prospective European women cohort. *Thromb Haemost.* 2009;102(1):25-8.
76. Barbhuiya M, Erkan D. Primary Thrombosis Prophylaxis in Antiphospholipid Antibody-Positive Patients: Where Do We Stand? *Curr Rheumatol Rep.* 2011;13(1):59-69.
77. Sanmarco M, Gayet S, Alessi M-C, Audrain M, Maistre E de, Gris J-C, et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. *Thromb Haemost.* 2007;97(6):949-54.
78. Zohoury N, Bertolaccini ML, Rodriguez-Garcia JL, Shums Z, Ateka-Barrutia O, Sorice M, et al. Closing the Serological Gap in the Antiphospholipid Syndrome: The Value of "Non-criteria" Antiphospholipid Antibodies. *J Rheumatol.* 2017;44(11):1597-602.

79. Galli M, Beretta G, Daldossi M, Bevers EM, Barbui T. Different anticoagulant and immunological properties of anti-prothrombin antibodies in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost.* 1997;77(3):486-91.
80. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies. *Arthritis Rheum.* 2003;48(4):886-95.
81. Pengo V, Zardo L, Cattini MG, Bison E, Pontara E, Altinier S, et al. Prothrombin Is Responsible for the Lupus Cofactor Phenomenon in a Patient with Lupus Anticoagulant/Hypoprothrombinemia Syndrome. *J Thromb Haemost.* 2020;4(1):e40-4.
82. Fleck RA, Rapaport SI, Rao LV. Anti-prothrombin antibodies and the lupus anticoagulant. *Blood.* 1988;72(2):512-9.
83. Arvieux J, Darnige L, Caron C, Reber G, Bensa JC, Colomb MG. Development of an ELISA for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1995;74(4):1120-5.
84. Martínez MC, Kunzelmann C, Freyssinet J-M. Remodelage de la membrane plasmique et stimulation cellulaire. *Médecine Sci.* 2004;20(2):189-95.
85. Chinnaraj M, Chen Z, Pelc LA, Grese Z, Bystranowska D, Di Cera E, et al. Structure of prothrombin in the closed form reveals new details on the mechanism of activation. *Sci Rep.* 2018;8(1):2945.
86. Chinnaraj M, Planer W, Pozzi N. Structure of Coagulation Factor II: Molecular Mechanism of Thrombin Generation and Development of Next-Generation Anticoagulants. *Front Med.* 2018;5.
87. Chinnaraj M, Planer W, Pengo V, Pozzi N. Discovery and characterization of 2 novel subpopulations of aPS/PT antibodies in patients at high risk of thrombosis. *Blood Adv.* 2019;3(11):1738-49.
88. Pontara E, Cattini MG, Cheng C, Bison E, Denas G, Pengo V. Insight into the hypercoagulable state of high-risk thrombotic APS patients: Contribution of a β 2GPI and aPS/PT antibodies. *J Thromb Haemost.* 2020;
89. Cifù A, Domenis R, Pistis C, Curcio F, Fabris M. Anti- β 2-glycoprotein I and anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies exert similar pro-thrombotic effects in peripheral blood monocytes and endothelial cells. *Autoimmun Highlights.* 2019;10(1):3.
90. Cattini MG, Bison E, Pontara E, Cheng C, Denas G, Pengo V MG. Tetra positive thrombotic antiphospholipid syndrome: Major contribution of anti-phosphatidyl-serine/prothrombin antibodies to lupus anticoagulant activity. 2020.
91. Sciascia S, Murru V, Sanna G, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. Clinical accuracy for diagnosis of antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: evaluation of 23 possible combinations of antiphospholipid antibody specificities. *J Thromb Haemost.* 2012;10(12):2512-8.
92. Vlaga A, Gil A, Cuesta MV, Arribas F, Diez J, Lavilla P, et al. Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies (aPS/PT) as Potential Markers of Antiphospholipid Syndrome. *Clin Appl Thromb.* 2013;19(3):289-96.

93. Fabris M, Giacomello R, Poz A, Pantarotto L, Tanzi N, Curcio F, et al. The introduction of anti-phosphatidylserine/prothrombin autoantibodies in the laboratory diagnostic process of anti-phospholipid antibody syndrome: 6 months of observation. *Autoimmun Highlights*. 2014;5(2):63-7.
94. Litvinova E, Darnige L, Kirilovsky A, Burnel Y, de Luna G, Dragon-Durey M-A. Prevalence and Significance of Non-conventional Antiphospholipid Antibodies in Patients With Clinical APS Criteria. *Front Immunol*. 2018;9.
95. Shi H, Zheng H, Yin Y-F, Hu Q-Y, Teng J-L, Sun Y, et al. Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies (aPS/PT) as potential diagnostic markers and risk predictors of venous thrombosis and obstetric complications in antiphospholipid syndrome. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(4):614-24.
96. Tonello M, Mattia E, Favaro M, Del Ross T, Calligaro A, Salvan E, et al. IgG phosphatidylserine/prothrombin antibodies as a risk factor of thrombosis in antiphospholipid antibody carriers. *Thromb Res*. 2019;177:157-60.
97. Sciascia S, Radin M, Cecchi I, Rubini E, Scotta A, Rolla R, et al. Reliability of Lupus Anticoagulant and Anti-phosphatidylserine/prothrombin Autoantibodies in Antiphospholipid Syndrome: A Multicenter Study. *Front Immunol*. 2019;10.
98. Sciascia S, Bertolaccini M. Thrombotic risk assessment in APS: the Global APS Score (GAPSS). *Lupus*. oct 2014;23(12):1286-7.
99. Salle V. Syndrome des antiphospholipides « séronégatif » : mythe ou réalité ? *Rev Med Interne*. 2020;41(4):265-74.
100. Sciascia S, Sanna G, Murru V, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. GAPSS: the Global Anti-Phospholipid Syndrome Score. *Rheumatology*. 2013;52(8):1397-403.
101. Bertolaccini ML, Sciascia S, Murru V, Garcia-Fernandez C, Sanna G, Khamashta MA. Prevalence of antibodies to prothrombin in solid phase (aPT) and to phosphatidylserine-prothrombin complex (aPS/PT) in patients with and without lupus anticoagulant. *Thromb Haemost*. 2013;109(2):207-13.
102. Matsuda J, Saitoh N, Gotoh M, Kawasugi K, Gohchi K, Tsukamoto M. Phosphatidyl serine-dependent antiprothrombin antibody is exclusive to patients with lupus anticoagulant. *Br J Rheumatol*. 1996;35(6):589-91.
103. Miyara M, Arnaud L, Dufat L, Ankri A, Mathian A, Haroche J, et al. Les titres d'anticorps antiphosphatidylsérine/prothrombine (aPS/PT) sont fortement corrélés aux tests de recherche d'anticoagulants circulants lupiques chez les patients ayant des anticorps antiphospholipides. *Rev Médecine Interne*. 2011;32:S282-3.
104. Bertolaccini ML, Sciascia S, Murru V, Garcia-Fernandez C, Sanna G, Khamashta MA. Prevalence of antibodies to prothrombin in solid phase (aPT) and to phosphatidylserine-prothrombin complex (aPS/PT) in patients with and without lupus anticoagulant. *Thromb Haemost*. 2013;109(2):207-13.
105. Pengo V. Additional laboratory tests to improve on the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2020;18(8):1846-8.

Annexe

Annexe 1

Principe de l'ELISA indirecte

La méthode par ELISA indirecte consiste à détecter la présence de l'anticorps au sein de l'échantillon. Elle se compose de quatre étapes distinctes :

- l'antigène connu (antigène PS/PT), spécifique à l'anticorps recherché est fixé au fond des puits d'une plaque de microtitration,
- le sérum du patient contenant l'anticorps (aPS/PT) à doser est incubé au fond du puit. Les anticorps spécifiques se fixent à l'antigène tandis que les anticorps non fixés sont retirés par des étapes lavage.
- un second anticorps couplé à une enzyme (peroxydase de raifort) est ajouté au sein de chaque puit. Cet anti-IgG va reconnaître l'anticorps patient. Les anticorps non fixés sont ôtés par des étapes de lavage.
- un substrat spécifique de l'enzyme est ensuite ajouté. En présence de l'anticorps recherché, il induit la formation d'un produit coloré (jaune). L'intensité de la coloration mesurée par spectrophotométrie est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration de l'anticorps recherché.

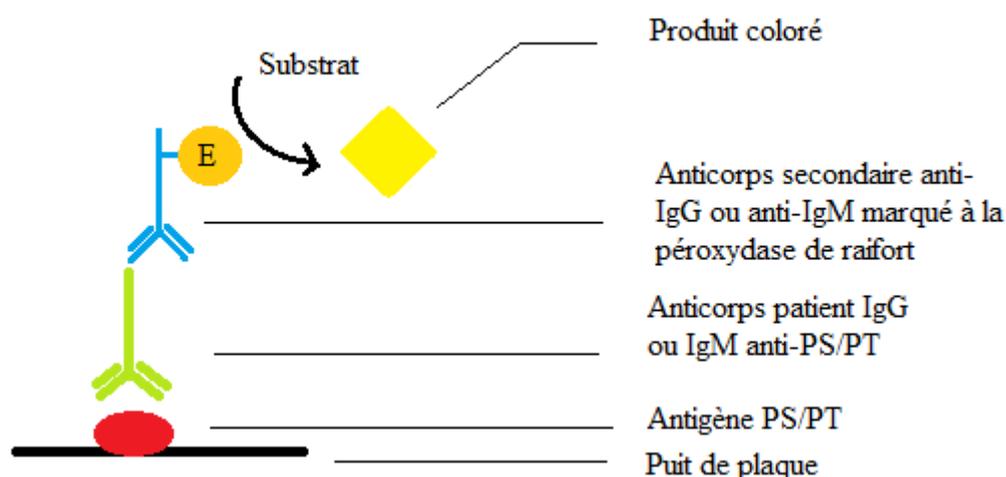


Schéma 2 : Schéma de la technique ELISA pour la détection des aPS/PT d'isotype IgG ou IgM.

Annexe 2

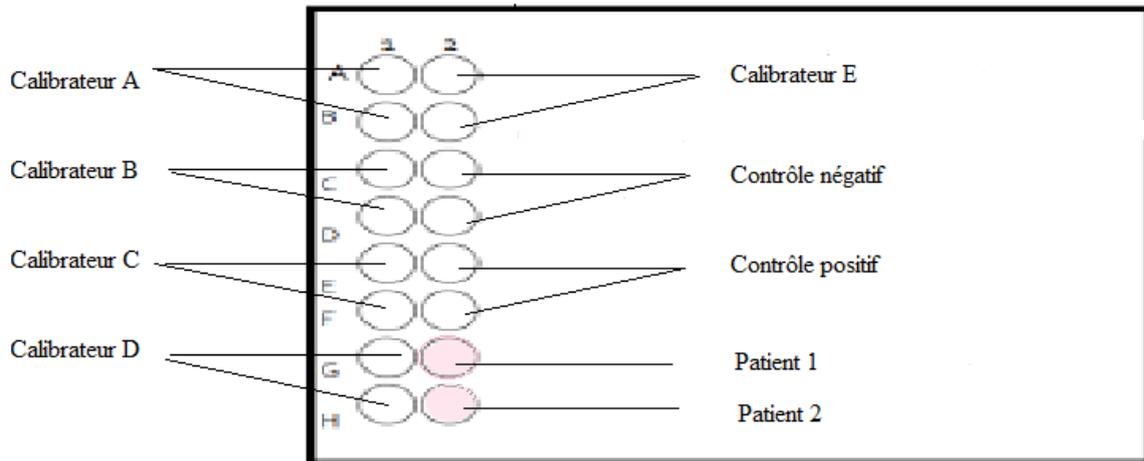


Schéma 3 : Plan de plaque de microtitration contenant deux barrettes avec dépôts des calibrateurs et des contrôles en double. Deux sérums dilués de patients ont été déposés.

Annexe 3

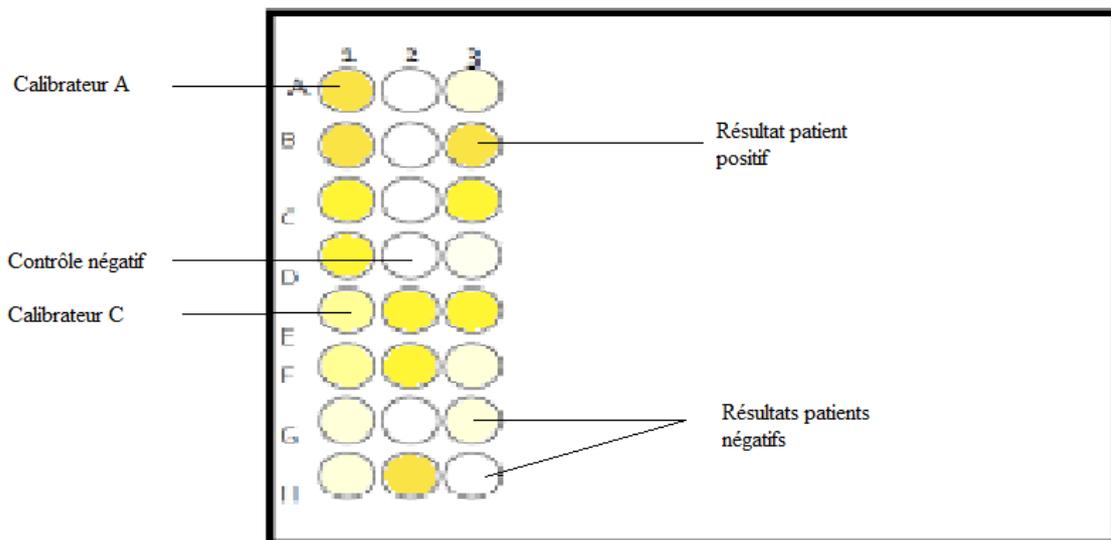


Schéma 4 : Plan de plaque après la fin des réactions et lecture par le spectromètre. Une réaction positive se traduit par une coloration jaune proportionnelle à la quantité d'anticorps immobilisée par l'antigène.

TITRE DE LA THESE : Etude de la corrélation entre les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine et la présence du lupus anticoagulant chez les patients suspects ou atteints de syndrome des antiphospholipides.

AUTEUR : MARIE CROGNIER

RESUME :

Introduction : Le syndrome des antiphospholipides est une maladie auto-immune du sujet jeune. Le diagnostic est complexe. Il repose sur des critères cliniques et biologiques par la persistance d'anticorps antiphospholipides conventionnels. Parmi eux, le lupus anticoagulant (LA) est l'autoanticorps le plus corrélé au risque thrombotique. Cependant, sa recherche repose sur des étapes pré-analytiques et analytiques complexes. Les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine (aPS/PT) sont de plus en plus étudiés pour leur rôle prometteur dans le diagnostic du syndrome des antiphospholipides. Il existerait une corrélation significative entre les aPS/PT et la présence de LA. L'objectif de ce travail est d'étudier la corrélation entre les aPS/PT et la présence du LA chez les patients suspects ou atteints de syndrome des antiphospholipides.

Méthode : Etude rétrospective réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de Dijon entre mai 2019 et avril 2020 de 81 échantillons LA positifs. Le dosage des aPS/PT est réalisé sur sérum au moyen d'une technique ELISA Quanta Lite aPS/PT IgG et IgM INOVA diagnostic Werfen mis en place sur l'automate Evolis.

Résultats : Il existe une étroite corrélation entre la présence des aPS/PT d'isotype IgM et le LA dans le groupe syndrome des antiphospholipides et le groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical associé. Les IgM aPS/PT sont fortement associés au LA isolé et à la triple positivité des aPL conventionnels. Cette association existe quel que soit la valeur de LA.

La corrélation LA et aPS/PT d'isotype IgG est plus importante dans le groupe syndrome des antiphospholipides par rapport au groupe LA persistant sans thrombose ou événement obstétrical. Les IgG aPS/PT sont principalement associés à une triple positivité des aPL conventionnels. Les patients positifs en IgG aPS/PT ont tous des valeurs de LA élevé. Tous les patients avec un LA faible sont négatifs en aPS/PT IgG.

Discussion : Les aPS/PT apparaissent comme un marqueur prometteur pour aider à confirmer ou infirmer la présence de LA, et ce d'autant plus que la présence du LA est isolée. Ils pourraient suppléer le dosage de LA et principalement quand celui-ci n'est pas réalisable ou d'interprétation difficile.

Aussi, le dosage des aPS/PT pourrait s'intégrer en complément aux aPL conventionnels dans la démarche diagnostique du syndrome des antiphospholipides. Chez les patients LA persistant de manière isolée, le résultat des aPS/PT pourrait conforter le diagnostic de syndrome des antiphospholipides. Chez les patients triple positifs en aPL, le résultat des aPS/PT pourrait consolider le diagnostic de syndrome des antiphospholipides. Si les données se confirment chez les patients pour lesquels un premier dosage de LA est positif, l'absence des aPS/PT lors du premier dosage pourrait être prédictif d'une absence de persistance de LA à 12 semaines.

MOTS-CLÉS : ANTICORPS ANTI-PHOSPHATIDYLSERINE/PROTHROMBINE, LUPUS ANTICOAGULANT, ANTICORPS ANTI-B2GPI. SYNDROME DES ANTIPHOPHOLIPIDES.