

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM  
FACULTE DE MEDECINE

**THESE**

Pour l'obtention du grade de

**DOCTEUR D'ETAT  
EN SCIENCES MEDICALES**

***Hémobiologie***



Présentée et soutenue publiquement

Par

**TAOULI-DIB Katia Mansouria**

*Titre :*

**PROFILS BIOLOGIQUES DU SYNDROME DES  
ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES AU COURS DU  
LUPUS ERYTHEMATEUX SYSTEMIQUE DANS L'OUEST  
ALGERIEN**

**JURY**

**Président :**

*Pr. H. TOUHAMI*

**Membres :**

*Pr. A. REGHIS (Directeur de thèse)*

*Pr. J.F. SCHVED*

*Pr. H. OUELAA*

*Pr. M.F. MESLI*

*Pr. F. ZERHOUNI*

*Pr. O. BOUDGHENE STAMBOULI*

**ANNEE : 2006**

*Ce travail est dédié :*

*A Papa et Maman, pour m'avoir apporté tant de soutien dans ma vie professionnelle et personnelle, pour m'avoir aidé à dépasser tous les aléas de la vie.*

*A Salim, pour m'avoir encouragé dans ma vie professionnelle.*

*A Nesrine et Hind, pour m'avoir rempli ma vie de bonheur*

*A Bachir, Zakia, Ghyslène, Mimi, Kacem, Myriam, Rachid, Lyna, Zakari et Elias, pour leur précieuse aide*

*A tous mes amis.*

## **A notre Directeur de Thèse**

**Monsieur le Professeur A. REGHIS (Faculté des Sciences Médicales d'Alger)  
Chef de service : Centre d'Hémodiologie Transfusion Sanguine Med Benabadi- CHU  
Mustapha Alger**

Vous m'avez confié ce travail et j'espère qu'il sera digne de la confiance que vous me témoignez. Toujours à notre écoute, vous avez su nous guider tout au long de nos études, et tracer une conduite tant sur le plan scientifique que professionnel. J'admire votre savoir et votre exercice de la biologie clinique. Je suis sensible à vos qualités humaines, votre honnêteté et votre disponibilité. Pour tout cela, je vous remercie sincèrement.

## **A Mesdames et Messieurs les membres du Jury**

**Monsieur le Professeur H. Touhami. (Faculté des Sciences Médicales d'Oran)  
Chef du service d'Hématologie Clinique CHU d'Oran.**

Je vous remercie de faire partie du jury et de nous honorer de votre présence.

**Monsieur le Professeur JF Schved (Faculté de Médecine de Montpellier)  
Chef du Laboratoire d'Hématologie CHU Saint Eloi Montpellier**

J'exprime toute ma reconnaissance et ma sympathie pour m'avoir ouvert les perspectives de connaissance par une bibliographie et vos conseils précieux et pertinents.

**Madame le Professeur H Ouleaa (Faculté des Sciences Médicales de Annaba)  
Chef du Service Hémodiologie- transfusion sanguine CHU Annaba**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

**Madame le Professeur F Zerhouni (Faculté des Sciences Médicales d'Alger)  
Chef de laboratoire d'Hématologie CPMC Alger**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

**Monsieur le professeur MF Mesli (Faculté des Sciences Médicales d'Oran)  
Chef du laboratoire des bios statistiques Oran**

Je vous remercie de faire partie du jury, mais aussi votre aide précieuse et vos conseils grâce aux séminaires de formation que vous nous avez organisé avec la collaboration de toute votre équipe.

**Monsieur le Professeur O Boudghene Stambouli (Faculté des Sciences Médicales de  
Tlemcen) Chef du service de dermatologie CHU Tlemcen**

Je vous remercie de m'avoir aidé à réaliser cette étude, notamment le recrutement des malades.

**Madame le Professeur O Chafa (Faculté des Sciences Médicales d'Alger)**  
**Chef de l'unité d'Hémostase du Service d'Hémodiologie- Transfusion Sanguine**  
**Med Benabadji CHU Mustapha Alger**

J'ai été sensible à la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de m'aider à la réalisation de ce travail. Je suis heureuse de votre enseignement au sein du collège de l'hémostase. Je remercie également toute votre équipe en particulier Dr S.Kolai.

**Monsieur le Docteur L Badereddine (Faculté des Sciences Médicales d'Alger)**  
Je vous remercie des conseils précieux lors de la réalisation de ce travail.

**Monsieur le professeur K Merad (Faculté des Sciences Médicales d'Alger)**  
**Chef du service de Cardiologie CHU Mustapha Alger.**  
Je vous remercie de votre collaboration scientifique.

**Je remercie**

**Monsieur N Ghouali, Recteur de l'université des sciences de Tlemcen**  
Pour votre gentillesse et votre appui et votre ouverture d'esprit à notre égard

**Monsieur le Professeur K Meguenni, Doyen de la faculté des Sciences Médicales de Tlemcen**  
Pour vos encouragements et votre compréhension

**Monsieur A Lalama, le Directeur Général du CHU Tidjani -Damerdji Tlemcen**  
Je suis reconnaissante pour m'avoir facilité la tâche et mis à ma disposition les moyens matériels.

**Monsieur le Professeur A Taleb, Vice doyen chargé de la post graduation (Faculté de Médecine de Tlemcen)**  
Pour vos conseils et l'aide que vous m'avez apporté à l'analyse statistique et vos encouragements tout au long de ce travail.

**Monsieur le Professeur C Abi Ayad, Vice Doyen de la Faculté de Médecine de Tlemcen**  
Pour vos encouragements et vos conseils précieux.

**Mr M Nelhil, Mr A Chouiter et l'équipe de recherche attachée à la société STAGO notamment Madame B. Dacosta.**  
Pour votre aide, en particulier pour les conseils précieux et les données bibliographiques et matériel mis à ma disposition.

**Monsieur le Professeur M Benmansour (Chef de Service), Dr R Sari et Dr R Dali**  
**Service de Nephro Hemodialyse CHU Tlemcen**  
De m'avoir aidé dans ce travail, par le recrutement des patients et votre collaboration active.

**Monsieur le Professeur M Bouziani (Laboratoire des Biostatistiques Oran)**  
Pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de m'aider à l'analyse statistique.

**Madame le Docteur C Biron et toute son équipe**  
**Unité d'hémostase du laboratoire d'hématologie du CHU Saint Eloi Montpellier**  
Pour votre aide à la réalisation technique et les données bibliographiques mises à ma disposition.

**Monsieur le Professeur Kaci ; Laboratoire d'ana pathologie privé Alger**  
Pour votre collaboration.

**Monsieur le Docteur H Kendouci (chef de service de medecine interne CHU Tlemcen),  
les docteurs T Habri, Kaouadji des services de Médecine Interne .** Pour votre collaboration active.

**Monsieur le Docteur B. Benmoussa (cabinet privé de Rhumatologie Tlemcen)**  
Je vous remercie de m'avoir aidé à réaliser cette étude.

**Monsieur le Professeur Boudilmi et toute son équipe (Centre vétérinaire de Tlemcen)**  
Je suis reconnaissante d'avoir mis à ma disposition les moyens matériels.

**Monsieur le Docteur D. Benmansour.** Maître de conférence en Statistiques université de Biologie de Tlemcen.

**Dr W. Benziane,** pour l'aide à la réalisation du traitement de texte.

**Toute l'équipe du laboratoire d'Hémobiologie du CHU Tlemcen.**

**Tous ceux que j'ai pu oublié.**

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>4</b>
<b>I. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE</b>	<b>4</b>
I-1. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE	4
I-1-1. Le temps vasculaire:	4
I-1-2. Le temps plaquettaire :	5
I-2. LA COAGULATION	6
I-2-1. Déroulement de la coagulation	6
I-2-2. Inhibition de la coagulation	8
I-3. LA FIBRINOLYSE	9
<b>II- LUPUS ERYTHEMATEUX SYSTEMIQUE</b>	<b>10</b>
II-1. DEFINITION	10
II-2 .EPIDEMIOLOGIE	10
II-3. CLINIQUE	10
II-3-1. Les manifestations dermatologiques	10
II-3-2 .Les manifestations rhumatologiques	11
II-3-3 .Les manifestations rénales	11
II-3-4 .Les manifestations neurologiques	11
II-3-5. Les manifestations cardiaques	12
II-4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	12
II-4-1. Syndrome Inflammatoire	12
II-4-2. Anomalies immunologiques	12
II-5.CRITERES DE DIAGNOSTIC	12
II-6.TRAITEMENT	14
II-7. PRONOSTIC	14

<b>III. SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES : DONNEES ACTUELLES SUR LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES.</b>	<b>15</b>
III-1. HISTORIQUE	16
III-1-1 .Le SAPL	16
III-1-2. Les anti-phospholipides	17
III-2. PHYSIOPATHOLOGIE	18
III-2-1. Nature des aPL et des lupus anticoagulants	18
III-2-2. Les anticorps anti $\beta$ 2GPI	20
III-2-3.Principales cibles et pathogenicité des anticorps	24
III-2-4 .Mécanisme des thromboses associées aux LA/APA	24
III-2-5 .Origine des anticorps	27
III-3. EPIDEMIOLOGIE	27
III-4. MANIFESTATIONS CLINIQUES LIEES AU SAPL	28
III-4-1. Les thromboses veineuses	28
III-4-2. Les thromboses artérielles	28
III-4-3. Les manifestations cardiaques	29
III-4-4. Les complications obstétricales	29
III-4-5. Les manifestations dermatologiques	29
III-4-6 .Les manifestations neurologiques	29
III-4-7. Les manifestations rénales	30
III-5 .CRITERES ET DIFFICULTES DIAGNOSTIQUES DU SAPL	30
III-5-1. Définition de Harris 1987	31
III-5-2. Les critères d'Alarcon Segovia 1992	32
III-5-3. Critères de Wilson 1999.	34
III-5-4. Critères de Wilson révisés	35
III-6. SAPL PRIMAIRE ET SECONDAIRE	36
III-7.DETECTION DES ANTIPHOSPHOLIPIDES ET DIFFICULTES METHODOLOGIQUES	38
III-7-1. Détection des LA	38
III-7-2. Dosages des anticorps anti-phospholipides par technique immunologique.	48

III-8. LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES COFACTEUR	52
III-8-1. Notion de cofacteur	53
III-8-2. Cofacteur et anticorps anti-cardiolipine	53
III-8-3. Cofacteur et anticoagulants circulants anti-prothrombinase	53
III-8-4. Anticorps dirigés contre les protéines cibles	54
III-8-5. Signification de ces anticorps dirigés contre ces protéines cibles	57
III-9. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL	58
III-10. TRAITEMENT ET PRONOSTIC	58
III-10-1. Prévention primaire	58
III-10-2. Prise en charge des thromboses	59
III-10-3. Prise en charge des complications obstétricales	59
III-10-4. Prise en charge des valvulopathies	60
III-10-5. Prise en charge des thrombopénies	60
III-10-6. Prise en charge du syndrome catastrophique des APL.	60
III-11. CONCLUSIONS PERSPECTIVES DE DEVELOPPEMENT	60
<b>PATIENTS -MATERIEL ET METHODES</b>	<b>61</b>
I. PATIENTS ET MATÉRIEL	61
I.1. POPULATION DE MALADES	61
I.2. POPULATION TEMOIN	62
I-3. LES PRELEVEMENTS	62
II. MÉTHODES	63
II-1. LES TESTS D'HEMOSTASE	63
II-1-1. Temps de Quick (TQ)	63
II-1-2. Dosage différentiel des facteurs de la voie extrinsèque de la coagulation	64
II-1-3. Temps de céphaline et activateur : PTT Automate	64
II-1-4. Dosage différentiel des facteurs de la voie intrinsèque de la coagulation :	64
II-1-5. Temps de thrombine (TT)	65
II-1-6. Temps de reptilase (TR) :	65
II-1-7. Dosage du fibrinogène	65
II-1-8. Numération des plaquettes	65

II-2.LES TESTS DE MISE EN EVIDENCE DES LUPUS ANTICOAGULANTS	66
II-2-1. Les tests de dépistage	66
II-2-2. Epreuve de correction :	68
II-2-3. Test de confirmation : Le Staclot LA	68
II.3.TESTS DE DOSAGE DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES	71
PAR METHODE MMUNOLOGIQUE	71
II-3-1. Dosage immuno-enzymatique et typage des anticorps anti phospholipides	71
II.3.2. Dosage immuno-enzymatique des anticorps anti $\beta$ 2GPIgG et IgM	73
II-4.TESTS COMPLEMENTAIRES	76
II-4-1.Mesure des inhibiteurs de la coagulation et de la RPCA.	76
II-4-2 Mesure des anticorps anti-ADN natif	78
II-4-3 Autres	78
II-5. METHODES STATISTIQUES	79
<b>RÉSULTATS</b>	80
<b>I. RÉSULTATS CHEZ LES 60 PATIENTS ATTEINTS DE LES</b>	80
I-1 .CARACTERISTIQUES DES PATIENTS	80
I-2 .RESULTATS BIOLOGIQUES.	86
I-2-1. Population témoin :	86
I-2-2. Fréquences des anti-phospholipides au cours du LES	89
I.2.3. Comparaison des patients aux sujets témoins.	92
<b>II. PREVALENCE DU SAPL</b>	94
II-1.CARACTERISTIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE SAPL:	94
II-2. BIOLOGIE DU SAPL	101
II-2-1. Fréquences des aPL au cours du SAPL	101
II-2-2. Profils biologiques du SAPL	102
II-2-3. Comparaison des tests dans les différents groupes.	105
II-2-4 .Valeur diagnostique des aPL au cours du SAPL	111
II-2-5. Etude de la corrélation des tests entre eux	114

II-3.CORRELATIONS DES aPL ET MANIFESTATIONS CLINIQUES DU SAPL	117
II-3-1. Analyse univariée _____	117
II-3-2.Analyse multivariée _____	119
<b>DISCUSSION</b> _____	121
<b>CONCLUSION</b> _____	138
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> _____	142
<b>ANNEXES</b> _____	161

5,

## ABBREVIATIONS UTILISEES

aCL :	anticorps antiCardioLipines
a $\beta$ 2GPI:	anti $\beta$ 2GlycoProteine I
aPL:	antiPhosphoLipides
aPA:	antiPhospholipides Anticorps (déterminés par les tests immunologiques)
aPT-A :	Anticorps antiProThrombine
aPS-PT :	anti-PhosphatidylSerine –ProThrombine
ADP :	Adenosine DiPhosphate
ATCD :	Antécédents
ACC:	AntiCoagulants Circulants
Anti-ADN :	Anti-Acide DesoxyriboNucleique.
Ac-RNP :	Anticorps RiboNucleoProteique.
ACR :	Collège Américain de Rhumatologie
AINS :	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
AVK:	AntiVitamine K
AT:	AntiThrombine
CaCl <sub>2</sub> :	Chlorure de Calcium
C1S :	Complément 1 Système
CAPS :	<i>Catastrophic Antiphospholipid Syndrom</i>
C4Bp :	<i>C4 Binding protein</i>
CRP:	C Reactive Proteine
D-Di :	D-Dimères
dRVVT :	Temps de Venin Vipère Russel Dilué
DO :	Densité Optique
ECG :	ElectroCardioGramme
ELISA :	Enzym Linked Immunoabsorbent Assay
EDRF :	Endothélium Derived Relaxing Factor
EPCR :	Endothélial Protein C Receptor
EP :	Embolie Pulmonaire
F VIIIc :	Facteur VIII coagulant
Fg :	Fibrinogène
FAV :	Fistule Artério Veineuse
FN :	Faux Négatifs
FP :	Faux Positifs
GNEM :	GlomeruloNephrite ExtraMembraneuse
FT :	Facteur Tissulaire
FR :	Facteur Rhumatoïde
FAN :	Facteurs AntiNucleaires
GPIb :	GlycoProteine Ib
HIV :	Virus responsable du SIDA ( <i>Human Immunodeficiency Virus</i> )
HTA :	Hypertension Artérielle
HDL :	Lipoprotéines de Haute Densité
HCV :	Virus de l'Hépatite virale C
IDM :	Infarctus du Myocarde
IRC :	Insuffisance Rénale Chronique
ICAM1:	Intra Cellular Adhesion Molecular
IR :	Indice de Rosner
INR :	<i>International Normalized Ratio</i>
IL1 :	InterLeukine 1
IRM :	Inductance de Résonance Magnétique
KHPM :	Kininogène de Haut Poids Moléculaire

KCT :	<b>Kaolin Coagulation Temps</b>
LA :	<b>Lupus Anticoagulant</b>
LED :	<b>Lupus Erythémateux Disséminé</b>
$\alpha$ 2AP :	<b><math>\alpha</math>2AntiPlasmine</b>
LDL :	<b><i>Low Density Lipoproteine (lipoproteine de faible densité)</i></b>
PC :	<b>Protéine C</b>
PCa :	<b>Protéine C activée</b>
PL :	<b>PhosphoLipides</b>
PS :	<b>Protéine S</b>
PE :	<b>PhosphatidylEthanolamine</b>
PAF :	<b><i>Platelet Activating Factor</i></b>
PCI :	<b>Proteine C Inhibiteur</b>
Pro-UK :	<b>Pro-Urokinase</b>
PAI :	<b><i>Plasminogen Activator Inhibitor</i></b>
PDF :	<b>Produits de Dégradation du Fibrinogène-fibrine</b>
Pgen :	<b>Plasminogène</b>
PTT LA :	<b>Temps de Thrombine Partiel Lupus Anticoagulant</b>
pNA :	<b>paraNitroAniline</b>
PPP :	<b>Plasma Pauvre en Plaquettes</b>
PNP :	<b><i>Platelet Neutralization Procedure</i></b>
PNPP :	<b>Para Nitro Phényl Phosphate</b>
RPCA :	<b>Résistance à la Protéine C Activée</b>
SAPL :	<b>Syndrome des AntiPhosphoLipides</b>
SAPS :	<b>Syndrome des AntiPhospholipides Secondaire</b>
SAPLP :	<b>Syndrome des AntiPhospholipides Primaire</b>
Spe :	<b>Spécificité</b>
TPHA :	<b><i>Treponem Pallidum Hemagglutination Assay</i></b>
TCA :	<b>Temps de Céphaline avec Activateur</b>
TM :	<b>ThromboModuline</b>
TQ :	<b>Temps de Quick</b>
TT :	<b>Temps de Thrombine</b>
TTD :	<b>Temps de Thromboplastine Diluée</b>
TXA2 :	<b>ThromboXane A2</b>
TNF :	<b><i>Tumor Necrosis Factor</i></b>
TFPI :	<b><i>Tissue Factor Pathway Inhibitor, inhibiteur de la voie du facteur tissulaire</i></b>
TAFI :	<b><i>Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor</i></b>
t-PA :	<b>Activateur tissulaire du Plasminogène</b>
TV Mésent :	<b>Thrombose Veineuse Mésentérique</b>
TV Minf :	<b>Thrombose Veineuse profonde des Membres inférieurs</b>
TNF :	<b><i>Tumor Necrosis Factor</i></b>
TMB :	<b>Tetra Methyl Benzidine</b>
TP :	<b>Taux de Prothrombine</b>
VDRL :	<b><i>Veneral Disease Reference Laboratory</i></b>
VN :	<b>Vrai Négatifs</b>
VP :	<b>Vrai Positifs</b>
VPN :	<b>Valeur Prédictive Négative</b>
VPP :	<b>Valeur Prédictive Positive</b>
vWF :	<b><i>Von Willebrand Factor</i></b>
VCAM1 :	<b>Vascular Cell Adhesion Molecular</b>
VS :	<b>Vitesse de Sedimentation</b>

# | INTRODUCTION

Le Syndrome des antiphospholipides (SAPL) fait l'objet d'une abondante littérature, dont plusieurs revues générales récentes, depuis son individualisation comme entité clinico-biologique au cours des années 1980.

La détection des anti-phospholipides (aPL), en tant que critère incontournable du SAPL, repose sur la mise en œuvre conjointe de tests immunologiques de type ELISA et de tests de coagulation, elle occupe une place croissante dans la pratique quotidienne de la biologie.

Les examens biologiques à notre disposition se sont affinés et multipliés, mais leur interprétation est encore sujette à de nombreuses discussions. Une parfaite maîtrise des techniques utilisées et de l'interprétation des résultats, est plus que jamais nécessaire en raison de la chronicité et de la gravité potentielle de cette pathologie auto-immune affectant souvent des sujets jeunes et de ses implications thérapeutiques.

Le SAPL se manifeste par des événements thrombotiques récurrents, il est défini selon les critères actuels de Wilson (révisés en 2002), par l'association d'une anomalie clinique ; d'au moins, une thrombose (veineuse, artérielle ou capillaire) et/ou d'une pathologie obstétricale (trois avortements précoces spontanés consécutifs, une mort fœtale ou une naissance prématurée en rapport avec une éclampsie ou une insuffisance placentaire sévère), à la présence d'une anomalie biologique, anticorps anti phospholipides (aPA) ou anticorps anti $\beta$ 2GPI ou lupus anticoagulants (LA).

Le SAPL peut être primaire ou secondaire à une pathologie dys-immunitaire.

La relation entre la présence d'anticorps dirigés contre les phospholipides anioniques et les complications thromboemboliques est bien établie durant ces 25 dernières années, mais la pathophysiologie et encore mal élucidée, un débat important reste concernant la spécificité et la sensibilité des tests de détection des aPL.

L'idée que les anticorps antiphospholipides anioniques dépendants de la  $\beta$ 2-Glycoprotéine1 sont les majeurs anticorps pathologiques est clairement établie bien qu'il n'y ait pas de consensus clair sur la corrélation de ces anticorps avec les différentes manifestations cliniques du SAPL.

Les découvertes des années 1990 sont primordiales, les « aPL » qui sont associés au SAPL ne sont pas dirigés contre les phospholipides mais contre des protéines de forte affinité pour les phospholipides, dont la plus étudiée est la  $\beta$ 2GPI.

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI seraient plus spécifiques pour le diagnostic du SAPL que les « aPA conventionnels » [126, 223]

## | OBJECTIFS DE CE TRAVAIL

Nous avons réalisé une étude visant :

1- L'évaluation et l'implantation des techniques de diagnostic des antiphospholipides (aPL) ; lupus anticoagulants (LA), par les tests de coagulation et les anticorps antiphospholipides (aPA) et anti- $\beta$ 2GPI, par les tests immunologiques, notamment analyser leur capacité discriminante vis-à-vis des différents groupes clinico-biologiques, leur valeur diagnostique par des tests statistiques de comparaison des proportions.

2- À déterminer la prévalence de ces anticorps au cours du lupus érythémateux systémique et celle du SAPL.

3- L'analyse des profils biologiques observés dans notre population lupique étudiée.

Le large spectre des cibles des anticorps anti-phospholipides, offre l'opportunité de démembrer cette vaste famille d'auto anticorps comme principal objectif et l'établissement de corrélations clinico-biologiques.

C'est une étude transversale d'une population de l'ouest Algérien qui a été réalisée au centre hospitalier et universitaire de Tlemcen de septembre 2003 à décembre 2005.

Nous décernons dans une première partie les rappels bibliographiques et dans une deuxième partie les résultats de notre étude portant sur, d'une part la mise au point et l'implantation des techniques des aPL au laboratoire d'Hémostase du CHU Tlemcen, d'autre part l'étude de la prévalence et l'analyse des profils biologiques du SAPL au cours du LES dans cette population.

# | BIBLIOGRAPHIE

## I. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

L'hémostase regroupe l'ensemble des mécanismes physiologiques de l'organisme qui visent à prévenir et à limiter, le *saignement* spontané ou après une lésion vasculaire et l'extension *d'une thrombose*. La définition de l'hémostase comprend l'hémostase primaire avec les temps vasculaire et plaquettaire, et la coagulation.

In vivo, les mécanismes physiologiques sont complexes. Pour chaque réaction, il existe un véritable équilibre dynamique, faisant intervenir des activateurs et des inhibiteurs physiologiques.

### I-1. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE

L'hémostase primaire fait intervenir trois acteurs principaux : les vaisseaux, les plaquettes et le facteur Willebrand. Le fibrinogène, à l'état de traces, est également nécessaire à l'hémostase primaire <sup>[157]</sup>.

#### I-1-1. Le temps vasculaire:

L'endothélium intact est non thrombogène. En cas de brèche vasculaire, une vasoconstriction réflexe immédiate mais transitoire des petits vaisseaux lésés implique l'interaction plaquettes-endothélium vasculaire. Les plaquettes renforcent cette vasoconstriction grâce à l'apport d'adrénaline, de noradrénaline, de sérotonine et d'épinéphrine au niveau de la lésion. Une fois activées, elles sont en outre capables de synthétiser localement du thromboxane A2 (TXA2) doué de propriétés proagrégantes et vasoconstrictives. Les cellules endothéliales secrètent en revanche de la prostacycline I2 (PGI2), et du monoxyde d'azote (NO) <sup>[157]</sup> dont l'action opposée à celle du TXA2, assure l'équilibre nécessaire au bon déroulement des premières étapes de l'hémostase.

### I-1-2. Le temps plaquettaire :

Après la brèche vasculaire, les plaquettes viennent adhérer aux surfaces sous endothéliales avant de sécréter leur contenu granulaire et d'agréger.

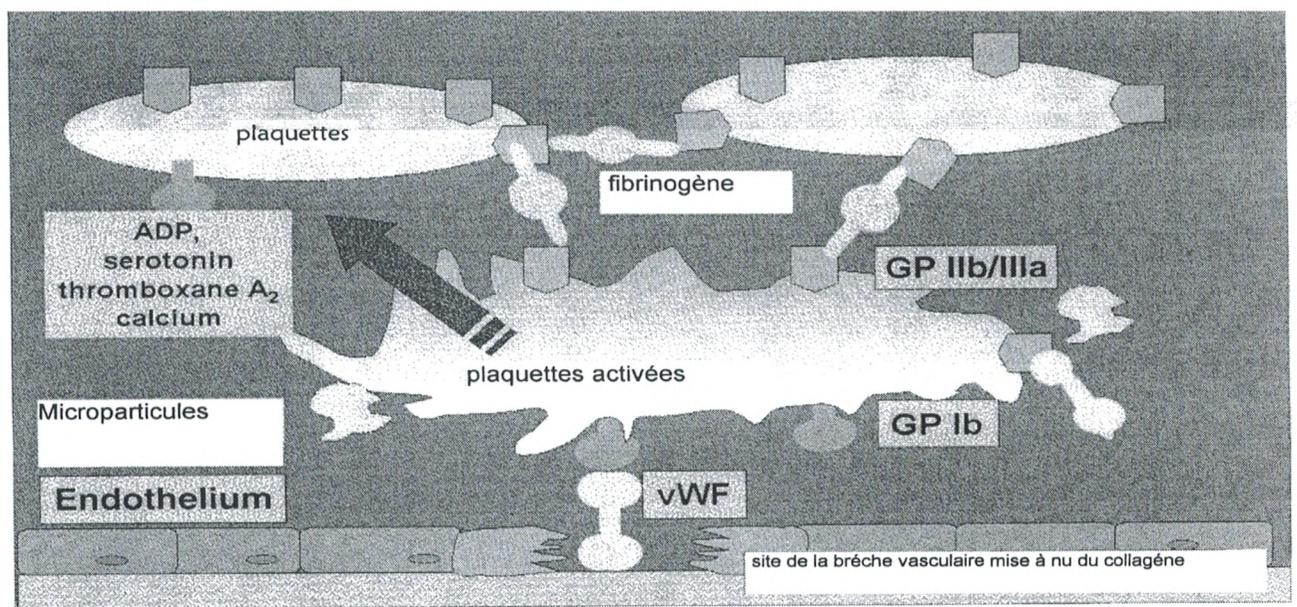
L'adhésion est facilitée par la fixation du facteur Willebrand plasmatique à la glycoprotéine Ia présente au niveau de la membrane plaquettaire, mais aussi au niveau du complexe IIb/IIIa (en cas d'activation plaquettaire), la liaison de la GPIb, signale la cascade d'activation plaquettaire.

L'agrégation plaquettaire fait intervenir l'interaction entre le fibrinogène et le complexe glycoprotéique IIb/IIIa présent à la surface des plaquettes, qui forment avec le calcium des ponts intercellulaires.

#### Les microparticules

Un processus important contribue à l'activation d'autres plaquettes et des facteurs de la coagulation est la libération de la membrane plaquettaire de microparticules thrombogéniques<sup>[218]</sup>. Celles-ci constituent une surface idéale aux facteurs de la coagulation, soutenant ainsi la génération de thrombine.

Ces petites particules sont détectables par les techniques de cytométrie en flux.



**Fig. 1 :** Adhésion et agrégation plaquettaire

*D'après Kolde H.J 2004<sup>[157]</sup>*

## I-2. LA COAGULATION

La coagulation doit être appréhendée sous forme dynamique. Après son initiation, elle s'amplifie mais doit rester limitée à la brèche vasculaire et ne pas être associée à une hypercoagulabilité circulante. Des mécanismes régulateurs importants sont pour cela mis en jeu.

### I-2-1. Déroulement de la coagulation

Pendant longtemps, dans la **représentation classique**, ont été distinguées deux voies : la voie extrinsèque et la voie intrinsèque, le schéma classique de la coagulation conserve une place essentielle en biologie dans le diagnostic des principales anomalies de la coagulation. L'activateur extrinsèque du facteur X (extrinsic tenase ou Xase) et l'activation intrinsèque du facteur X (intrinsic Xase) activent le facteur X en FXa, conduisent à la formation de prothrombinase. Cette dernière est à l'origine de la transformation de la prothrombine (FII) en thrombine (FIIa) (**Fig.2**).

Tous ces phénomènes se produisent au contact de la bicouche phospholipidique à la surface des plaquettes, des cellules endothéliales et des tissus, ainsi que dans les réactifs thromboplastine et céphaline utilisés pour la réalisation des temps de coagulation globaux.

**La représentation moderne** est plus dynamique que la précédente et plus représentative des phénomènes in vivo. La coagulation initiée par la mise à nu du facteur tissulaire ; présent dans le sous endothélium mais, absent de l'endothélium sain et apparaissant, lorsque celui-ci est anormal, lésé ou activé. De très faibles concentrations de F VIIa sont toujours présentes dans le sang (demi vie 2,5 h) et responsables de l'activation au niveau des sites où sont exposés le FT <sup>[218]</sup>. Il a été récemment démontré que des traces de FT soluble existent dans le sang circulant <sup>[218]</sup>.

Le complexe FT-FVIIa est le détonateur de la réaction ; le nouveau modèle <sup>[141]</sup> ainsi proposé, la coagulation n'est plus en cascade mais se passe en 3 phases (**Fig.2**) :

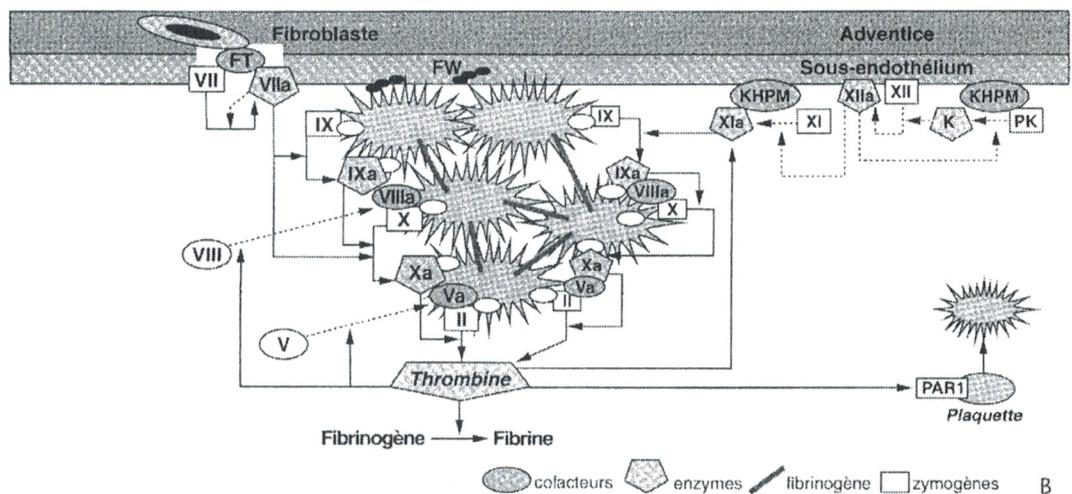
**Phase 1 : Initiation** : le FT se lie à la fois aux facteur VII et des traces de VIIa, il en résulte l'activation des facteurs IX et X (IXa et Xa) qui activent leurs substrats respectifs (facteurs X et II) à la surface des plaquettes, les premières molécules de thrombine sont

formées ; la thrombine transforme le fibrinogène en fibrine. Cette phase est rapide et inhibée par le Tissue Factor Inhibiteur Pathway ou TFPI.

### Phase 2 : Formation de la thrombine et amplification du processus

La thrombine amplifie immédiatement sa propre formation, en stimulant d'une part les plaquettes en se fixant sur son récepteur (PAR1)<sup>[137,139]</sup>, recrutant de nouvelles plaquettes et donc d'autres surfaces catalytiques et d'autre part les facteurs V et VIII leur permettant de remplir leur fonction ; le facteur VIIIa vient accélérer l'activation du facteur X par le facteur IXa ; le facteur Va vient accélérer l'activation du facteur II par le facteur Xa.

**Phase 3 : Propagation.** Le facteur XI est activé par la thrombine générée à la surface des plaquettes, induisant des réactions enzymatiques et la formation explosive de thrombine<sup>[137]</sup>. Cette phase se déroule une fois les molécules de fibrine formées. Lorsque la concentration de thrombine formée atteint un certain seuil, la thrombine va convertir le fibrinogène soluble en fibrine, le facteur XIIIa entraîne très rapidement la stabilisation des polymères de fibrine, formant une solide enveloppe autour de l'agrégat de plaquettes pour réaliser le caillot.



**Fig. 2 : Schéma de la coagulation**  
*D'après Beseaud A. et col 2001 [41].*

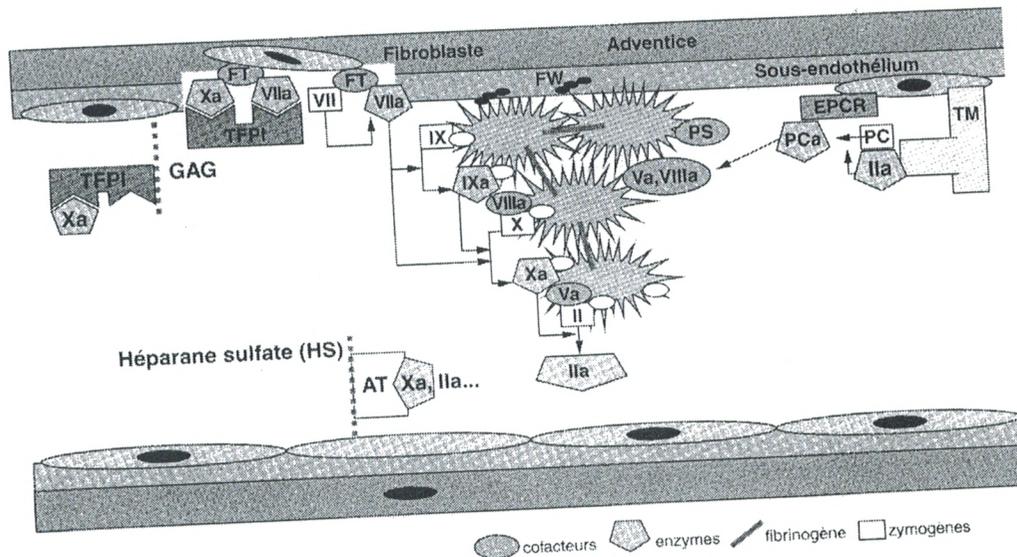
## I-2-2. Inhibition de la coagulation

Dès que les premières traces de facteurs Xa apparaissent, elles se trouvent en opposition avec le **TFPI**, inhibiteur plasmatique synthétisé par la cellule endothéliale, capable de bloquer la voie extrinsèque de la coagulation à son site d'initiation en constituant un complexe quaternaire inactif avec le FT, le FVIIa et le FXa <sup>[41]</sup> (**Fig.3**).

Dans le même temps, la thrombine en présence de thrombomoduline permet l'activation de la protéine C en PC activée, capable d'inhiber les facteurs Va et VIIIa <sup>[41]</sup> (**Fig. 3**).

Dans l'inactivation du facteur VIIIa, le facteur V joue un rôle de cofacteur qui sera déficient dans le cas du facteur V muté (Facteur V Leiden). Cette boucle de rétroaction démontre la complexité du phénomène et son caractère hémodynamique, en parfait équilibre. La thrombine procoagulante, génère elle-même un anticoagulant, la protéine C activée (PCa). A cela s'ajoute l'**antithrombine**, qui agit sur presque tous les facteurs activés de la coagulation et joue un rôle essentiel pour freiner les mécanismes de la coagulation <sup>[157]</sup>.

Chaque réaction comprend une sérine protéase IXa, Xa, un cofacteur Va ou VIIIa, des phospholipides et du calcium. A noter également le rôle singulier de la vitamine K qui participe à la synthèse de 4 activateurs (facteurs II, VII, IX, X) et au moins deux inhibiteurs de la coagulation PC, PS.

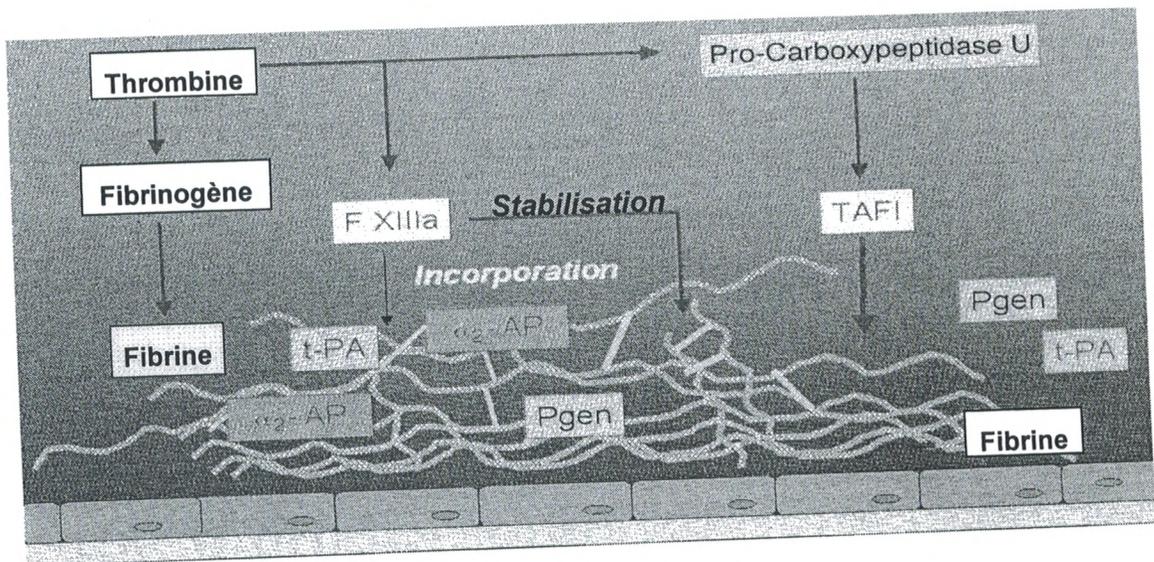


**Fig. 3 : Régulation de la coagulation**  
D'après Beseaud et col 2001 <sup>[41]</sup>

### I-3. LA FIBRINOLYSE

La fibrinolyse intervient de façon physiologique pour assurer la reperméabilisation d'un vaisseau après formation d'un thrombus. Elle correspond à la dégradation de la fibrine sous l'effet d'une enzyme spécifique la **plasmine**, enzyme protéolytique provenant de l'activation du plasminogène par une voie vasculaire dépendante de la fibrine, faisant intervenir l'activateur tissulaire du plasminogène (le t-PA), va ainsi agir sur la fibrine, mais aussi sur le Fg et les facteurs V et VIII de la coagulation, pour lyser le caillot et former les produits de dégradation de la fibrine (D-Dimères) et du fibrinogène <sup>[157]</sup>.

La libération des inhibiteurs de la fibrinolyse permet dans un second temps de circonscrire le processus de lyse au vaisseau concerné. Ils comprennent essentiellement le PAI-1, inhibiteur du t-PA et les inhibiteurs de la plasmine, principalement l'alpha-2 anti plasmine. Enfin un nouvel inhibiteur de la fibrinolyse a récemment été décrit. Il s'agit du TAFI (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor), son rôle apparaît capital dans l'équilibre physiologique existant entre la coagulation et la fibrinolyse <sup>[157]</sup> (**Fig 4**).



*Fig. 4 : Schéma de la fibrinolyse  
D'après Kolde H.J 2004<sup>[157]</sup>*

## **II- LUPUS ERYTHEMATEUX SYSTEMIQUE**

### **II-1. DEFINITION**

Le lupus érythémateux systémique ou disséminé (LED) est une maladie auto-immune, d'étiologie inconnue, caractérisée par un dysfonctionnement complexe du système immunitaire, peut être variable selon certaines sous classes de patients, sous contrôle génétique, multigénique et favorisée par des facteurs endocriniens, le rôle des autres facteurs est hypothétique (rôle de virus notamment rétrovirus endogène, les rayons ultraviolets et des médicaments). Le diagnostic de LED repose sur le regroupement de signes cliniques, biologiques, immunologiques et éventuellement histologiques.

Le tableau clinique est très polymorphe et variable selon les patients et chez le même patient selon les poussées évolutives.

### **II-2. EPIDEMIOLOGIE**

La prévalence de la maladie oscille selon les enquêtes de 16 à 60/100000<sup>[158]</sup>. Celle-ci est beaucoup plus fréquente dans les populations antillaises, afro-américaines et hispano-américaines<sup>[206]</sup>. L'affection peut concerner tous les âges, du nouveau-né aux sujets de 70 ans ; le début de la maladie s'observe en général chez l'adulte jeune de 10 à 40 ans. La prédominance féminine retrouvée dans toutes les séries, est de 80% en moyenne (66 à 96%).

### **II-3. CLINIQUE**

Les manifestations cliniques sont variées, peuvent toucher plusieurs organes dont chacun peut inaugurer la maladie et s'accompagnent lors des poussées de signes généraux : fièvre, asthénie, amaigrissement.

#### **II-3-1. Les manifestations dermatologiques**

Très fréquentes et très polymorphes elles sont parfois déclenchées par l'exposition au soleil (photosensibilité), leur fréquence est de 25 à 30 %<sup>[156]</sup>.

- Les lésions spécifiques

Elles sont caractérisées par leur aspect érythémateux, maculeux ou maculo-papuleux, finement squameux, plus ou moins œdémateux, à bordures émiettées. Les lésions siègent principalement sur le nez et les pommettes, avec une topographie en vespertilo ou « loup », mais les lésions similaires peuvent être observées sur d'autres zones photoexposées, comme le décolleté et les membres <sup>[156]</sup> .

- Les lésions non spécifiques

Elles sont nombreuses et s'associent fréquemment au lupus, elles comprennent les lésions de vascularite ou équivalentes qui sont un indice précieux d'évolutivité et d'activité de la maladie <sup>[103]</sup> .

L'ulcère des jambes malléolaires, l'érythème et l'œdème péri unguéal, le livedo réticulaire figurent parmi ces lésions <sup>[156]</sup> .

### **II-3-2 .Les manifestations rhumatologiques**

L'atteinte articulaire est souvent inaugurale, presque constante au cours de l'évolution de la maladie et se traduit par de simples arthralgies ou d'arthrites vraies (75%) <sup>[206]</sup> .

### **II-3-3 .Les manifestations rénales**

La fréquence de l'atteinte rénale est diversement appréciée selon les critères utilisés, présente dans 30 à 75% des cas <sup>[213]</sup> . Les manifestations sont dues à une glomérulonéphrite à laquelle peut s'associer une atteinte tubulo-interstitielle et vasculaire, définies par une atteinte histologique glomérulaire en microscopie optique et/ou une diminution de la clairance de la créatinine de 30% sur un an et /ou une protéinurie supérieure à 0,5g /24h.

C'est la biopsie rénale qui permet un diagnostic lésionnel précis et une évaluation pronostique.

### **II-3-4 .Les manifestations neurologiques**

Complicant 30 à 60% du LES ; le « neuro lupus » a un grand polymorphisme clinique, le système nerveux central est plus fréquemment touché que le système nerveux périphérique.

### **II-3-5. Les manifestations cardiaques**

- La péricardite lupique est la plus fréquente des manifestations cardiaques, elle est présente dans 30 % des LED au cours de l'évolution <sup>[68]</sup>.
- L'endocardite verruqueuse de Libman-Sacks pouvant toucher toutes les valves, très rarement symptomatiques (insuffisance aortique ou mitrale) mais fréquemment latente, souvent associée à un syndrome des anticorps anti-phospholipides <sup>[39]</sup>.
- La myocardite lupique, sa prévalence est voisine de 10%, souvent difficile à affirmer <sup>[68]</sup>.

## **II-4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

### **II-4-1. Syndrome Inflammatoire**

Augmentation de la VS : Constante dans les poussées, hyperfibrinémie, la CRP est peu élevée en absence d'infection, anémie inflammatoire, leucopénie (évocatrice du diagnostic) et hyperglobulinémie polyclonale.

### **II-4-2. Anomalies immunologiques**

En pratique, le diagnostic de LED nécessite la recherche des anomalies spécifiques (Anticorps anti ADN natif, Ac. anti Sm) <sup>[5]</sup> et non spécifiques (auto anticorps : FAN, Ac. RNP, Ac. anti Ro, FR, Ac. anti-hématies, Ac. anticardiolipines, anticoagulants circulants de type LA, fausse sérologie syphilitique positive, hypocomplémentémie, diminution du CH50, du C3 et du C4 immunochimique, cryoglobulinémie mixte) <sup>[142]</sup>.

## **II-5. CRITERES DE DIAGNOSTIC**

Une liste de 11 critères clinico-biologiques de classification a été élaborée en 1982, actualisée en 1999 par l'Association Américaine de Rhumatologie (ARA), devenue l'American College of Rheumatism (ACR) <sup>[158]</sup>, un nombre minimum de 4 étant exigé pour retenir le diagnostic de LES avec une sensibilité et une spécificité de 96%.

## CRITERES DE CLASSIFICATION DE LA MALADIE LUPIQUE DE L'ACR RETENUS EN 1982 ET MODIFIES EN 1999 <sup>[158]</sup>

- 1- **Eruption malaire en aile de papillon** : érythème malaire fixe, plan ou en relief
- 2- **Lupus discoïde** : placards érythémateux surélevés avec des squames kératosiques adhérentes et des bouchons cornes folliculaires, cicatrices atrophiques pouvant apparaître sur des lésions anciennes.
- 3- **Photosensibilité** : éruption cutanée résultant d'une réaction inhabituelle au soleil, à l'interrogatoire du patient ou observée par le clinicien.
- 4- **Ulcérations buccales ou nasopharyngées** : observées par le clinicien.
- 5- **Polyarthrite non érosive** : arthrite non érosive touchant au moins 2 articulations périphériques, caractérisées par une douleur, une augmentation de volume ou un épanchement articulaire.
- 6- **Pleurésie ou péricardite** : épanchement pleural patent ou histoire convaincante de douleurs pleurales ou frottement pleural entendu par un clinicien ; péricardite documentée sur un ECG ou frottement péricardique ou mise en évidence de l'épanchement.
- 7- **Atteinte rénale** : Protéinurie supérieure ou égale à 0,5g/24h ou supérieure à 3 croix en l'absence de quantification possible ou cylindres urinaires.
- 8- **Atteinte neurologique** : convulsions, en l'absence de cause médicamenteuse ou de désordres métaboliques (insuffisance rénale, acidose, désordre électrolytique), Psychose en l'absence de cause médicamenteuse ou de désordres métaboliques (insuffisance rénale, acidose, désordre électrolytique).
- 9- **Atteinte hématologique** : anémie hémolytique ou leucopénie <4000/mm<sup>3</sup> constatée au moins à 2 reprises ou lymphopénie <1500/mm<sup>3</sup> constatée au moins à 2 reprises, thrombopénie < 100 Giga/l en l'absence de cause médicamenteuse.
- 10- **Désordres immunologiques** : anticorps anti-ADN natifs positifs ou anticorps anti-Sm, anticorps anti-phospholipides (taux élevé d'IgG ou d'IgM anticardiopines, anticoagulants circulants de type lupique, sérologie syphilitique dissociée).
- 11- **Présence de facteurs nucléaires** : en l'absence de médicaments inducteurs <sup>[158]</sup>.

## II-6. TRAITEMENT

Le traitement du LES a connu beaucoup de progrès : l'amélioration de la qualité de vie , le pronostic des maladies lupiques rénales les plus graves, ainsi que le gain très important dans la survie sont dûs en grande partie à la perfection des protocoles thérapeutiques. Les armes thérapeutiques les plus utilisées sont représentées par les antipaludéens de synthèse, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les corticoïdes et les immunosuppresseurs ; l'indication dépend, de l'organe touché et de la gravité de l'atteinte ; l'application des mesures générales visant à réduire autant que possible l'incidence des facteurs déclenchants connus (exposition solaire, contraception orale, grossesse non planifiée, arrêt intempestif des médicaments prises), le lupus biologique ou les cytopénies mineures ne sont pas traités (surveillance régulière), les AINS et les dérivés anti-malariques sont indiqués en cas d'atteinte articulaire, de rash ou de sérites mineures, la corticothérapie per os faible dans les cas d'atteinte articulaire, de résistante aux AINS et d'épanchement des séreuses ,la corticothérapie de l'ordre de 1-2 mg/kg/24h en cas de fièvre importante, de cytopénies majeurs, d'atteinte rénale de pronostic favorable ou de manifestations neurologiques, bolus de méthyle prednisolone (1g/j en cas de menace vitale) et le recours aux immunosuppresseurs, en cas de localisation péjorative (glomérulonéphrite ) ou en complément d'une corticothérapie ou dans un but d'épargne stéroïdienne.

## II-7. PRONOSTIC

La maladie lupique évolue par poussées entrecoupées de remissions, de durée et de qualité très variables, l'évolutivité se réduit notablement après la ménopause.

On oppose schématiquement des formes bénignes ambulatoires, principalement cutanéarticulaires, aux formes graves associant diverses atteintes viscérales, et des formes vasculaires dans le cadre d'un syndrome des anti phospholipides associé.

Le pronostic de lupus s'est amélioré depuis les années soixante, en raison du diagnostic plus précoce des formes frustres et du meilleur maniement des thérapeutiques. Certains facteurs ont une signification statistiquement péjorative : le sexe masculin, le début dans l'enfance, l'appartenance à une ethnie à peau noire, l'existence d'une atteinte rénale, neurologique ou d'un SAPL [206, 158]. Malgré la variabilité extrême des manifestations cliniques, la reconnaissance de la maladie et sa prise en charge se sont considérablement améliorés au cours des dernières décennies.

### **III. SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES (SAPL) : DONNEES ACTUELLES SUR LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES.**

Les anti-phospholipides sont des auto-anticorps dirigés contre des phospholipides ou des protéines de forte affinité pour les phospholipides. Leur détection implique l'utilisation de techniques immunologiques et de tests de coagulation. Les tests ELISA mettent en évidence des immunoglobulines dirigées contre les cibles antigéniques, phospholipides ou protéines associées. Les tests de la coagulation détectent une activité anticoagulante qui dépend de la présence de phospholipides. L'histoire de leur découverte et leur développement considérable ces dernières années explique en partie la difficulté du clinicien à interpréter leur présence.

La découverte des « anti-phospholipides conventionnels » (LA et aPA) dans les années 1950 est fortuite. Certains patients lupiques présentent un allongement des temps de la coagulation sans manifestation hémorragique. Chez ceux-ci, la fréquence élevée, dans le cadre du programme de dépistage de la syphilis, d'une " fausse sérologie positive " permet d'identifier des anticorps dirigés contre la cardiolipine, un phospholipide anionique, à l'origine de ces deux anomalies biologiques considérées comme des artéfacts. Puis de nombreux auteurs rapportent la survenue paradoxale d'événements thrombotiques récurrents en présence de ces anti-phospholipides, suscitant beaucoup d'intérêt. En 1986, le SAPL est défini par l'association de thromboses et/ou de fausses couches à répétition à un anticoagulant circulant anti-prothrombinase et/ou des anticorps anti-cardiolipine.

Le SAPL affecte principalement les sujets jeunes. La chronicité de la gravité potentielle de cette pathologie auto-immune par le risque de récurrence des événements thrombotiques implique un traitement anticoagulant au long cours.

Ce traitement n'est pas dénué de risque et sa prescription doit être justifiée. Ceci souligne la nécessité d'un test diagnostique qui, effectué lors d'un événement thrombotique, possède une valeur prédictive de récurrence thrombotique élevée, or actuellement, l'association des anticorps anti-cardiolipine aux manifestations thrombotiques est discutée, et aucune étude ne montre que les anticoagulants circulants

anti-prothrombinase ont une valeur prédictive positive de récurrence thrombotique supérieure à 80 % par exemple.

La sélection de critères diagnostiques pour le SAPL, en absence de marqueur spécifique, est difficile et explique l'évolution constante de sa définition.

Les discordances de la littérature quant à la spécificité des « anti-phospholipides conventionnels » pour le SAPL sont au moins en partie expliquées par l'insuffisance de standardisation des techniques biologiques. La définition consensuelle des techniques de référence pour rechercher les anticoagulants circulants anti-prothrombinase et les anticorps anti-cardiolipine est indispensable. Elle devrait permettre la détermination d'un seuil de discrimination entre les anticorps anti-cardiolipine non pathologiques et ceux associés au SAPL.

La standardisation des tests est l'étape actuelle essentielle pour aider le clinicien à interpréter la signification de la présence d'un anti-phospholipide et orienter la prise en charge thérapeutique des patients. De plus la découverte des véritables antigènes spécifiques associés au SAPL, des protéines de forte affinité pour les anti-phospholipides dont la  $\beta$ 2GPI est la mieux connue, permet de rechercher directement les anticorps anti- $\beta$ 2GPI qui constitueraient un marqueur biologique de choix du SAPL.

### **III-1. HISTORIQUE**

#### **III-1-1 .Le SAPL**

Depuis l'introduction de la sérologie syphilitique par Bordet et Wassermann en 1906 [266], on connaît l'existence de faux positifs, avec la réaction de déviation du complément positive (utilisant des antigènes lipidiques) et les réactions treponémiques plus spécifiques négatives (TPHA et Nelson), comme l'a décrit Moore en 1952, ces sérologies dissociées étaient en particulier observées chez de jeunes femmes lupiques.

En 1963, Bowie<sup>[62]</sup> découvrit que les anticoagulants circulants, dits lupiques, encore appelés antiprothrombinase, étaient associés à la survenue de thromboses veineuses ou artérielles.

En 1980, Soulier et Boffa<sup>[285]</sup> constataient que ces anticoagulants circulants étaient également associés à des pertes fœtales répétées même en l'absence de LES.

En 1983 Harris et ses collaborateurs<sup>[151]</sup> cherchant à comprendre le mécanisme de ces sérologies dissociées, mettaient en évidence des anticorps dirigés contre un

phospholipide anionique, la cardiolipine ainsi dénommée car extrait du cœur de bœuf, à l'aide des tests en phase solide (radio immunologique puis immuno-enzymatique).

En **1985**, Graham Hughes<sup>[150]</sup> individualise le syndrome des anticardiolipines, puis en **1987**, on individualise le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) avec des équipes sud africaines et anglaises<sup>[149]</sup>, apparaît dans un abstract du british journal of rheumatology, puis son auto-nomination partielle vis-à-vis du lupus érythémateux systémique (SAPL primaire) par Asherson **1988** <sup>[35]</sup>.

Les années **1990** ont été marquées par la découverte de « cofacteurs » notamment la  $\beta$ 2glycoprotéine ( $\beta$ 2GPI) et autres protéines associées aux phospholipides qui paraissent en fait constituer les véritables cibles des anticorps rencontrés dans les maladies auto-immunes.

En **1996**, Alarcon Segovia et Cabral complètent la dénomination en incluant le concept biologique de cofacteur et retiennent le terme de « syndrome des anticorps anti-phospholipides cofacteurs »

Les critères de ce syndrome et particulièrement les critères obstétricaux ont été affinés en **1999**<sup>[317]</sup>. Le SAPL a été défini comme l'association de thromboses (artérielles, veineuses ou capillaires) ou de pertes embryo-fœtales répétées et d'anticorps anti-phospholipides.

Les critères cliniques et biologiques ont été révisés en **2002**<sup>[174]</sup> puis affinés en **2004**<sup>[188]</sup>

### **III-1-2. Les anti-phospholipides**

En **1952**, le premier cas d'anticoagulant circulant, associé à un lupus fut décrit <sup>[75]</sup>.

En **1972**, le terme anticoagulant de type lupique (LA) a été utilisé <sup>[110]</sup>, il était justifié par l'anomalie de laboratoire permettant sa mise en évidence (allongement du temps de coagulation) et par des circonstances cliniques de survenue dans les premiers cas rapportés (maladie lupique). Ce terme est impropre puisque ces anticorps appartiennent à une famille d'anticorps qui n'allongent pas toujours les temps de coagulation et qu'ils ne se rencontrent pas seulement au cours du lupus mais aussi dans bien d'autres pathologies et quelques fois de façon isolée. Ces anticorps sont également connus sous le terme « d'antiprothrombinase » ou « d'anti-thromboplastine », cette terminologie est également inadéquate du fait du caractère exceptionnel des manifestations hémorragiques qui leur sont associées. Ce sont des anticorps à distinguer des anticorps dirigés contre l'un des facteurs de la coagulation.

Les LA, longtemps considérés comme un artefact de laboratoire puisqu'ils ne sont pas associés à un risque hémorragique ont bénéficié d'un intérêt renouvelé lorsque leur association à un risque thrombotique artériel ou veineux a été reconnue<sup>[300]</sup>.

C'est dans les années **1980** que la spécificité anti-phospholipide et la nature immunoglobulinique des LA ont été démontrées<sup>[304]</sup>.

Parallèlement, les techniques de diagnostic immunologique solide ont été développées pour mettre en évidence des anticorps anti-phospholipides dans le sérum des malades indépendamment de leur effet sur la coagulation<sup>[151]</sup>.

Les aPA et les LA désignent respectivement des anticorps détectés à l'aide de méthodes immunologiques d'une part et de techniques de coagulation d'autre part.

Il s'agit d'identités voisines mais distinctes<sup>[12]</sup>.

## **III-2. PHYSIOPATHOLOGIE**

### **III-2-1. Nature des aPL et des lupus anticoagulants**

#### **a. Spécificité et origine des anti-phospholipides.**

Les anti-phospholipides sont des immunoglobulines de type IgG, M, A ou mixtes dans la plupart des cas polyclonales, caractérisées par leur spécificité pour les phospholipides anioniques.

Les phospholipides incriminés dans le SAPL (**Tableau 1**) sont des constituants normaux des membranes biologiques, organisés en bicouche et classés selon leur charge nette à PH physiologique. Cette charge est négative pour la cardiolipine et la phosphatidylserine, neutre pour la phosphatidyléthanolamine<sup>[12]</sup>.

La cardiolipine est absente de la surface cellulaire, alors que les deux autres phospholipides mentionnés ci-dessus sont des amino-phospholipides séquestrés dans le feuillet interne de la membrane plasmique puis exposés à la surface de la cellule et des microparticules qui s'en détachent après stimulation appropriée<sup>[218]</sup>.

Il est généralement admis que la  $\beta$ 2GPI et les protéines apparentées liées à des phospholipides rendus accessibles à la suite de l'activation ou de la mort cellulaire représentent les principales cibles in vivo d'anticorps anti-phospholipides produits dans un contexte auto-immun.

<b>PHOSPHOLIPIDES ANIONIQUES</b>	<b>PHOSPHOLIPIDES NEUTRES</b>
Cardiolipine	Phosphatidyléthanolamine
Phosphatidylsérine	Sphingomyeline
Acide phosphatidique	Phosphatidylcholine
Phosphatidylinositol	
Phosphatidylglycérol	

**Tableau 1** : *Les phospholipides*

### **b. Nouvelle conception des anticorps anti-phospholipides**

Ambigu mais consacré par l'usage, le terme générique d'anticorps anti-phospholipides désigne une famille très hétérogène d'auto-anticorps reconnaissant des phospholipides anioniques ou neutres (vrais anticorps anti-phospholipides) et/ou des protéines plasmatiques ou endothéliales qui leur sont associées<sup>[253]</sup>, les anticorps anti-phospholipides détectés dans les tests de coagulation et les tests immunologiques courants c'est-à-dire lupus anticoagulant(LA) et anticorps anti-cardiolipines (aCL) sont de près apparentés mais non identiques.

Les aPA sont des critères biologiques du SAPL, bien que leur spécificité soit médiocre<sup>[317]</sup>. Des anticorps anti-phospholipides peuvent en effet se rencontrer dans de nombreuses situations cliniques qui ne s'accompagnent généralement pas de thrombophilie<sup>[195]</sup>.

Il est clairement établi que les anticorps « anti-phospholipides » présumés pathogènes (potentiellement trombogènes) sont caractéristiques de pathologies auto-immunes telles que le SAPL primaire ou secondaire au LES.

Ils ne sont pas dirigés contre des phospholipides anioniques mais contre des protéines plasmatiques qui ont une affinité pour les phospholipides anioniques depuis la découverte en 1990, la  $\beta$ 2 glycoprotéine ( $\beta$ 2GPI) ou apoprotéine H est la principale cible protéique (reconnue par les aCL et une fraction des LA) cofacteur essentiel pour la détection des aCL en ELISA<sup>[208, 209]</sup>.

20 autres protéines ont été décrites, notamment la prothrombine, PC, PS, PAI et l'annexine V<sup>[67]</sup>.

Seulement deux types d'anti-phospholipides, les anticorps anti- $\beta$ 2GPI et les anticorps antiprothrombine sont fréquemment retrouvés dans le plasma, suggérant leur rôle dans la pathophysiologie du SAPL. Actuellement, seuls ces anticorps sont considérés dans ce syndrome <sup>[188]</sup>.

Le rôle prépondérant de la  $\beta$ 2GPI a conduit à la recherche directe des anticorps anti $\beta$ 2GPI par ELISA en absence de tout phospholipide.

### **c- LA et aPA : Des entités distinctes**

Bien qu'ils soient rencontrés dans des situations cliniques similaires, les LA et les anticorps anti-phospholipides mis en évidence par des tests de coagulation et des méthodes immunologiques respectivement, constituent bien des entités distinctes.

In-vitro, plusieurs auteurs ont réussi à séparer à partir de sérums de patients, les anticorps présentant une activité anti-coagulante de type LA de ceux identifiés comme anticorps anti-cardiolipine <sup>[12]</sup>.

Il est également bien démontré que chez des patients présentant une pathologie auto-immune, LES ou SAPL, les « profils anti-phospholipides » détectés sont très hétérogènes, et que les différents types d'anticorps ne sont pas systématiquement associés, leur taux de recouvrement est de 60% environ il est donc fréquent de rencontrer un LA en l'absence d'autres anticorps anti-phospholipides, ou à l'inverse, des anticorps anti-cardiolipine sans LA associé.

### **III-2-2. Les anticorps anti $\beta$ 2GPI**

Les anticorps anti $\beta$ 2GPI étant les plus étroitement associés aux complications thrombotiques, les caractéristiques biochimiques et fonctionnelles de cette protéine méritent d'être rappelés.

C'est une protéine de 326 acides aminés, fortement glycosylée (50kDa), codée par le chromosome 17 q 23-24, synthétisée par le foie et le placenta, circule dans le plasma à la concentration de 100-200  $\mu$ g/ml, formée d'une chaîne unique constituée de 5 domaines répétitifs (I-V), La séquence linéaire du domaine V se lie aux phospholipides anioniques et aux cellules (**Fig. 5**), il existe un polymorphisme allélique et une forte homologie de séquences entre espèces (60 à 80%), elle est sous forme libre ou associée aux lipoprotéines d'où son appellation d'apolipoprotéine H <sup>[192]</sup>.

La  $\beta$ 2GPI intervient dans la cascade de la coagulation et la fibrinolyse (**Fig. 6**), ses fonctions sont multiples ; elle active les plaquettes, les cellules endothéliales (compétition avec les facteurs de la coagulation) ; active les facteurs du système contact (XI, XII), inhibe la génération du facteur X et la protéine C. Il a été récemment démontré que la  $\beta$ 2GPI se lie in vitro au facteur XI à de très faible concentration dans le plasma humain. Ce complexe inhibe l'activation du FXI par la thrombine et le FXIIa <sup>[192]</sup>.

L'affinité de la  $\beta$ 2GPI pour les membranes riches en phospholipides de charge négative relativement faible dans les conditions physiologiques de concentration saline et calcique est fortement majorée ( $\times 100$ ) en présence d'anticorps anti- $\beta$ 2GPI, fixés de façon bivalente <sup>[218]</sup> (**Fig. 7**).

Les complexes  $\beta$ 2GPI-anti $\beta$ 2GPI ainsi stabilisés à l'interface phospholipidique peuvent interférer avec la fixation d'autres protéines de la coagulation et affecter les mécanismes hémostatiques qui en dépendent :

Inhibition de la PC, Inhibition de l'annexine V (protéine anticoagulante placentaire) à l'origine de thrombose et d'avortement.

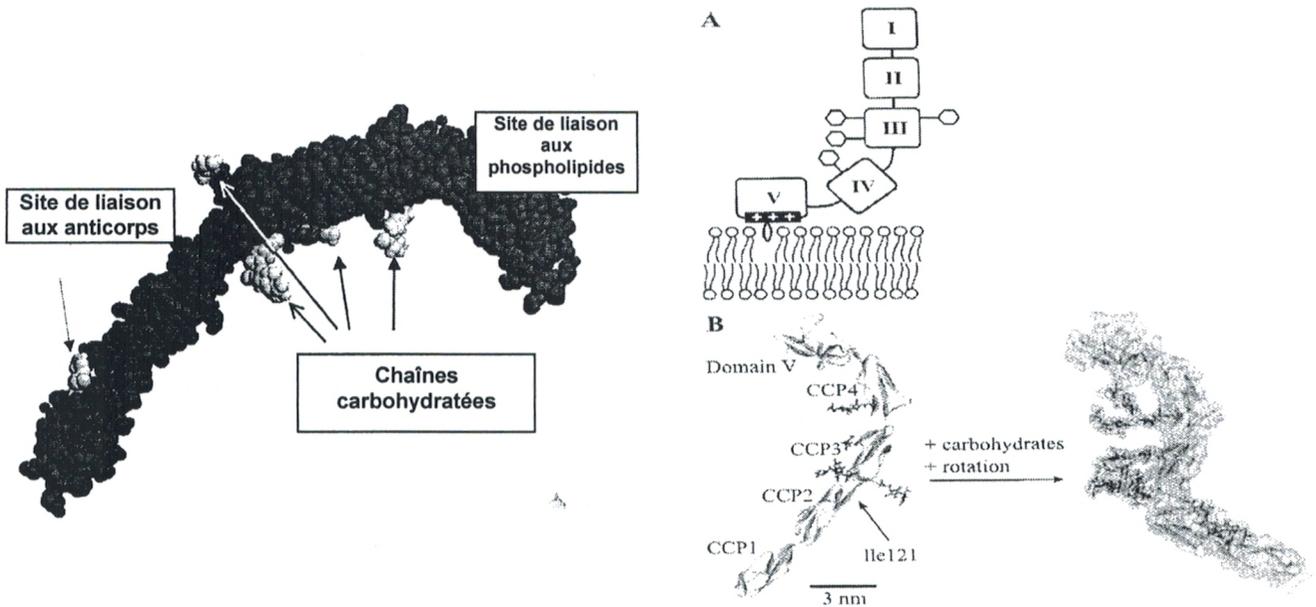
#### **\* Concept changement de conformation de la $\beta$ 2GPI**

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI sont une population hétérogène, ces anticorps sont dirigés contre 5 domaines de la  $\beta$ 2GPI décrits.

Les meilleurs résultats sur l'étude de la spécificité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI ont été publiés par la Jolla Pharmaceutical Group en collaboration avec l'équipe de Degroot <sup>[77, 78]</sup>, qui démontrent que les principaux anticorps pathogènes se fixent au domaine I de la  $\beta$ 2GPI. Les autres anticorps dirigés contre les autres domaines ne sont pas corrélés aux thromboses (**Fig. 5-7**).

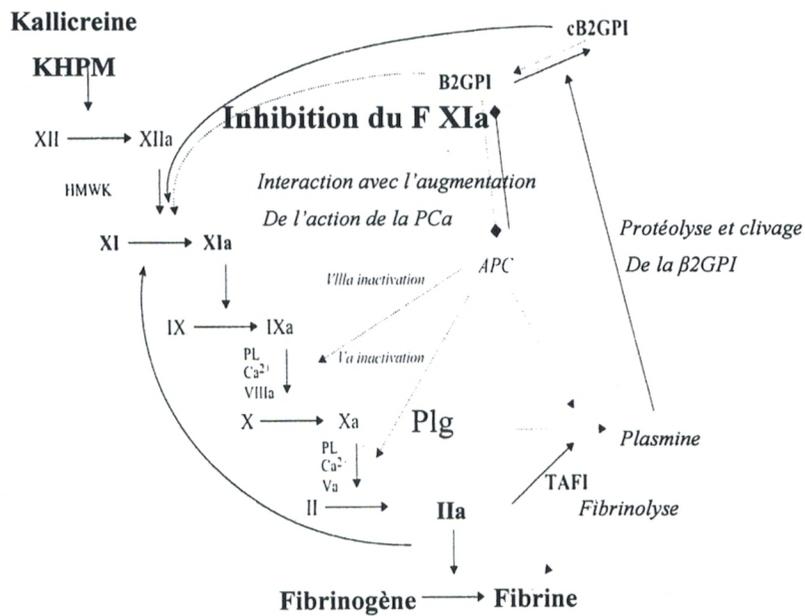
Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI induisent un changement conformationnel de la  $\beta$ 2GPI (Dimérisation) et augmentent son affinité ( $100\times$ ) pour les phospholipides anioniques ; la  $\beta$ 2GPI se fixe sur un récepteur membranaire de la cellule (Apo ER2) par son domaine V entraînant sa phosphorylation en MAPp38Kinase, celle-ci induit, la synthèse de thromboxane A<sub>2</sub>, et l'activation plaquettaire (**Fig. 7-8**) <sup>[192, 193, 218]</sup>.

Seul le complexe Ac- $\beta$ 2GPI est capable d'interférer dans le système de la coagulation au niveau de la surface catalytique <sup>[77, 198]</sup>.



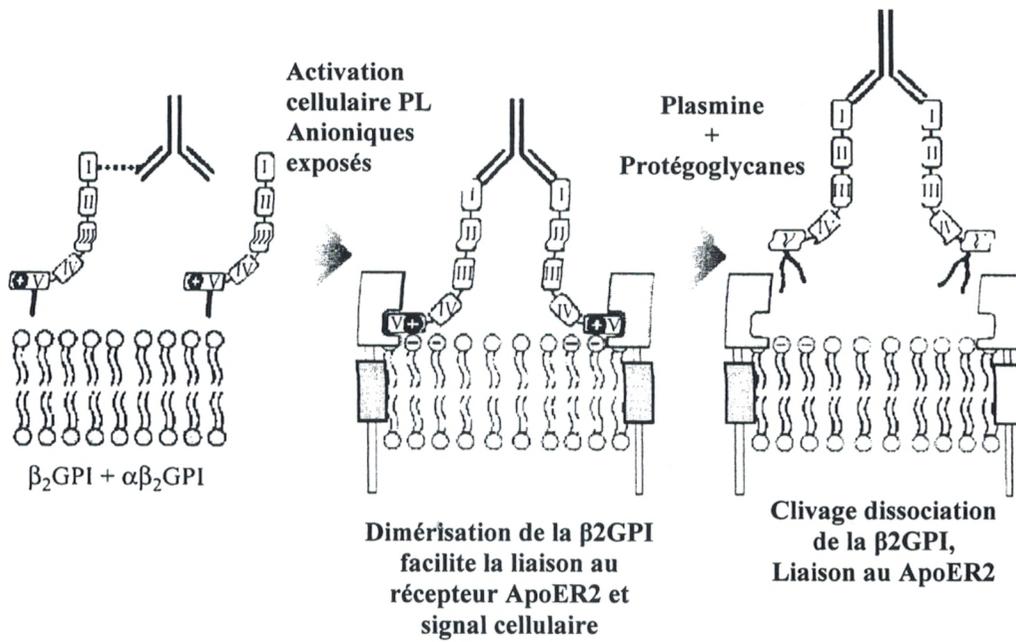
**Fig. 5 :** Représentation de la  $\beta 2GPI$   
D'après De Groot 2005 <sup>[192]</sup>

### Inhibition du F Xa

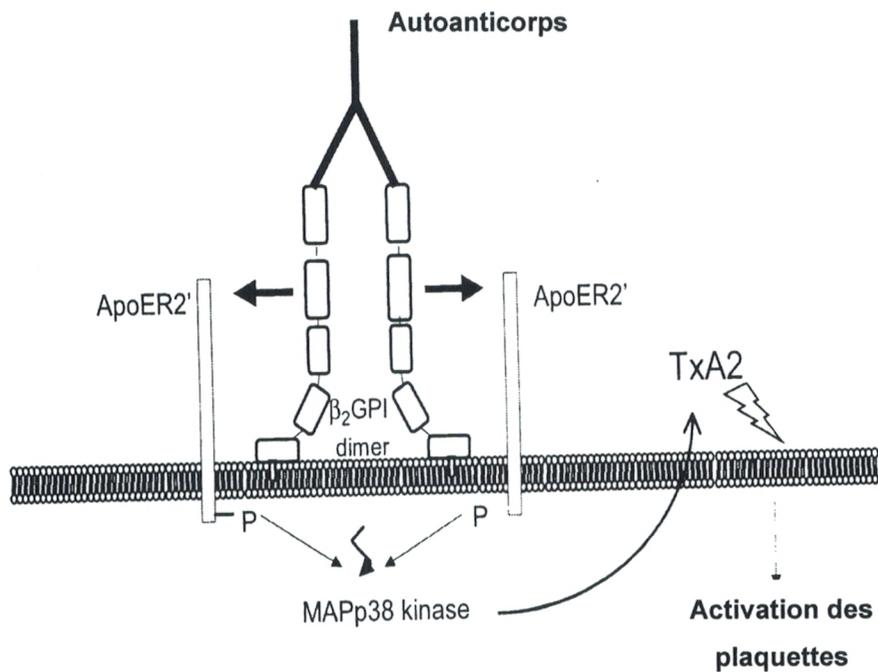


*c $\beta 2GPI$  :  $\beta 2GPI$  clivée*

**Fig. 6 :** Interférence de la  $\beta 2GPI$  au cours de la coagulation et de la fibrinolyse  
D'après Miyakis et col 2004 <sup>[192]</sup>



**Fig.7:** Mécanisme d'action des anticorps anti- $\beta_2$ GPI au cours du SAPL  
 D'après Miyakis et col 2004 <sup>[192]</sup>



**Fig. 8 :** Modèle du mécanisme d'activation des plaquettes par les anticorps anti $\beta_2$ GPI  
 D'après De Groot 2005 <sup>[192]</sup>

### **III-2-3. Principales cibles et pathogénicité des anticorps**

Le développement de plusieurs modèles murins de SAPL, spontanés ou induits expérimentalement, plaide en faveur du rôle pathogène de certains de ces anticorps <sup>[55, 134]</sup>.

Certaines lignées de souris lupiques se caractérisent par une réduction de la taille des portées et une thrombopénie, conjointement à l'apparition d'anticorps anti-phospholipides  $\beta$ 2GPI dépendants. Le transfert passif d'anticorps anti-phospholipides (anti- $\beta$ 2GPI) à des souris gestantes, accroît la fréquence des résorptions fœtales et entraîne une diminution du poids du placenta.

Par ailleurs l'effet thrombogène des aPL a été démontré en étudiant les caractéristiques du thrombus induit par pincement de la veine fémorale chez ces souris immunisées <sup>[226]</sup>.

In-vivo, des modèles animaux ont montré que la  $\beta$ 2GPI pouvait activer les plaquettes <sup>[152]</sup>.

Enfin plusieurs modèles murins semblent corroborer les liens complexes unissant chez les malades SAPL et artériosclérose précoce probablement, par la fixation préférentielle de la  $\beta$ 2GPI aux LDL sous forme oxydée et l'augmentation de leur phagocytose par les macrophages en présence d'anticorps anti $\beta$ 2GPI.

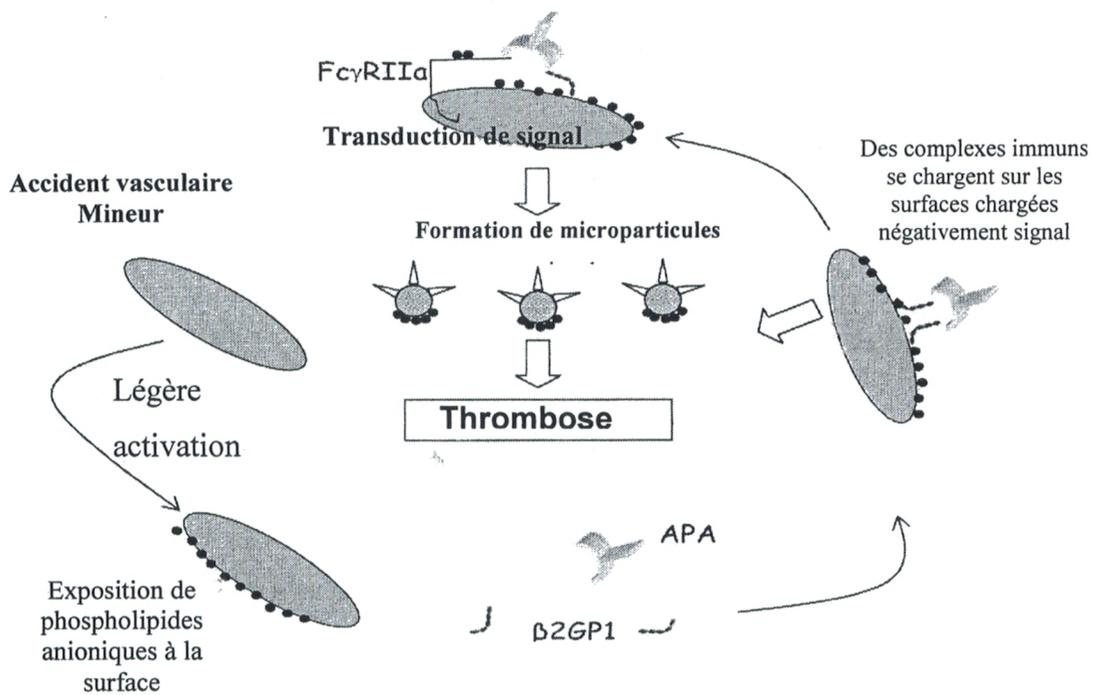
### **III-2-4. Mécanisme des thromboses associées aux LA/APA**

Il est établi avec certitude que les LA et les APA sont des éléments thrombotiques.

Le mécanisme exact par lequel ces anticorps déclenchent des thromboses n'est toujours pas clairement élucidé. Le caractère bicéphale du SAPL est source de nombreuses recherches sur la physiopathologie de ce syndrome, suite au symposium international sur les aPL de septembre 2000 à Tours.

Les théories sur la physiopathologie des phénomènes thromboemboliques liés aux aPL ont été bâties sur:

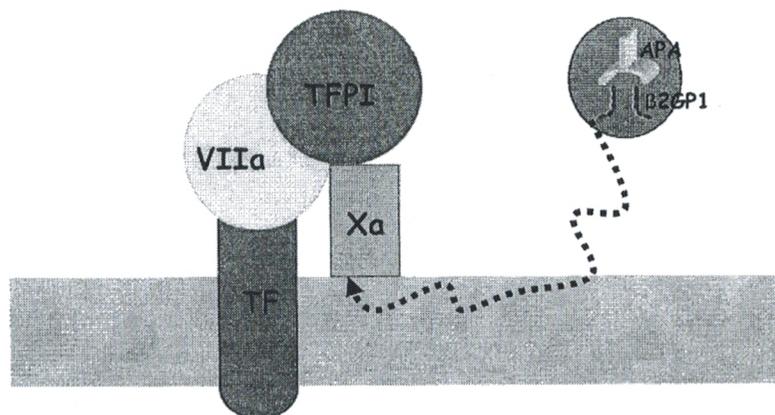
**a. Une anomalie des fonctions plaquettaires :**



**Fig. 9 : Activation cellulaire**  
D'après Arnout et col 2003 [7]

Les complexes immuns, activent les plaquettes et induisent la libération de microparticules thrombogéniques [6,193] (Fig. 9).

**b. Stimulation de la voie du facteur tissulaire**



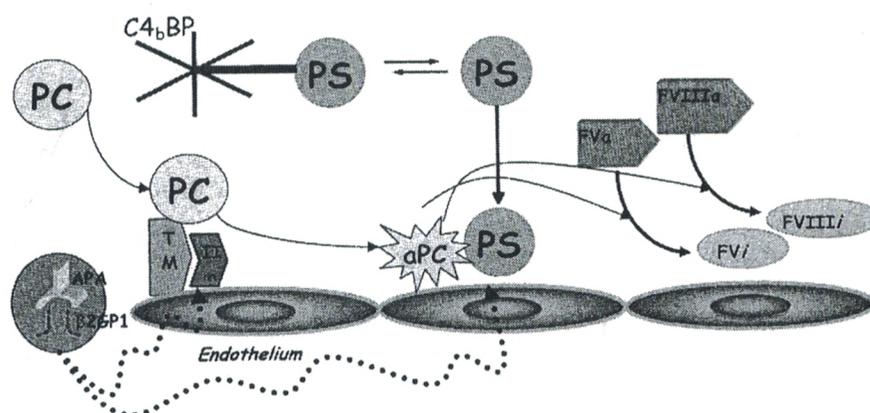
**Fig. 10 : Interférence avec les inhibiteurs de la coagulation Complexe TFPI/TF/FVIIa/FXa**  
D'après Wolber. G et col 2004 [13]

De nombreuses données expérimentales ont montré qu'une augmentation de l'activité du facteur tissulaire sur les monocytes sanguins et/ou sur les cellules endothéliales vasculaires contribuerait à l'état d'hypercoagulabilité du SAPL. Des auto-anticorps dirigés contre le TFPI ont été trouvés chez des patients porteurs de SAPL en association avec des thromboses artérielles et des accidents vasculaires cérébraux <sup>[313]</sup> (Fig. 10).

### c. Effet anticoagulant de l'annexine V placentaire ou endothéliale,

L'annexine V est une protéine qui se lie aux phospholipides anioniques et qui possède une puissante activité anticoagulante. Cette protéine est nécessaire au maintien de l'intégrité placentaire. Les thromboses et les pertes fœtales pourraient résulter d'une rupture de l'effet protecteur de l'annexine V vis-à-vis des aPL <sup>[193]</sup>.

### d. Inhibition de la voie de la protéine C activée



**Fig .11 :** *Interférence avec les inhibiteurs de la coagulation Système protéine C/protéine S*  
D'après Makxorth-young et col 2004 <sup>[193]</sup>

L'hypothèse de l'inhibition des anticorps anti-phospholipides de la voie de la protéine C est retenue pour expliquer les thromboses veineuses plutôt qu'artérielles. (Fig. 11).

### e. Dysfonctionnement de la cellule endothéliale

Différents modèles expérimentaux ont été utilisés démontrant l'implication de la cellule endothéliale.

**In-vitro :** Sur les cultures de cellules endothéliales de veine ombilicale humaine (HUVEC) plusieurs auteurs <sup>[275]</sup> ont démontré que la fixation des aPL, en particulier des anticorps anti- $\beta$ 2GPI, sur les cellules endothéliales induit une expression accrue de molécules d'adhésion P-Selectine, VCAM-1 et ICAM-1 par les cellules endothéliales<sup>[193]</sup>.

**In-vivo :** Un modèle murin de microcirculation a montré que les aPL provoquent l'activation des cellules endothéliales. Les molécules d'adhésion telles que ICAM-1, VCAM-1 et aussi la P-selectine sont les médiateurs de l'effet pathogène des aPL <sup>[196]</sup>.

### **III-2-5. Origine des anticorps**

Récemment S. Pierangeli et col. (2000) <sup>[226]</sup> ont induit l'apparition d'aPL en immunisant des souris à l'aide d'un peptide issu d'un virus (le cytomégalo virus) pathogène pour l'homme. Celui-ci possède une séquence similaire au cinquième domaine de la  $\beta$ 2GPI, site de fixation aux PL.

Ces données suggèrent un mécanisme potentiel d'induction d'auto anticorps pathogènes anti-phospholipides après exposition fortuite à des virus, ou encore à des bactéries.

### **III-3. EPIDEMIOLOGIE**

Les anticorps anti-phospholipides sont fréquents chez le sujet jeune. La prévalence des APA et des LA dans la population générale est de 1 à 5 % <sup>[225]</sup>.

La prévalence des aPA augmente avec l'âge, en particulier chez les personnes âgées où coexistent fréquemment des pathologies chroniques <sup>[175]</sup>(13.3% d'aPA).

La majorité des études épidémiologiques, ont concerné le lupus systémique<sup>[225]</sup>. Le détail de ces études sera donné dans la partie pratique de cette thèse.

La prévalence du SAPL au cours du lupus érythémateux systémique est élevée entre 12 à 30% <sup>[174]</sup> pour les anticorps anti phospholipides et 15 à 34% pour les LA<sup>[72,177]</sup>.

Certains patients ont des anticorps anti-phospholipides sans clinique évidente. Pour les sujets contrôles, les études prospectives sont insuffisantes pour préciser le pourcentage des APA positifs qui pourraient développer des thromboses. Le SAPL se développe chez 50 à 70% des patients avec APA positifs après 20 ans d'évolution. 30% des patients qui présentent un lupus érythémateux systémique et des anticorps anti-phospholipides, n'ont aucun signe de SAPL après 7 ans.

Dans de multiples études prospectives, la présence d'APL est corrélée avec un risque accru de développer des thromboses : un épisode de thrombose veineuse profonde d'infarctus du myocarde <sup>[221]</sup> ou d'AVC <sup>[113]</sup>.

**Sexe et race :** Des études américaines retrouvent significativement moins de LA et d'aCL chez les noirs que chez les blancs <sup>[224]</sup>.

**Facteurs génétiques :** L'existence d'une prédisposition génétique au SAPL primaire est suggéré par la fréquente association intrafamiliale entre le SAPL primaire, le LES et d'autres maladies auto-immunes. La survenue du SAPL primaire semble associée avec la présence des déterminants HLA DQ7, DRw53, ou l'existence d'allèles nuls du C4A ou du C4B<sup>[49,320]</sup>. Des études sont en cours dans de multiples centres, afin de démembrer les aspects génétiques de ces aPL. Les modèles murins suggèrent qu'ils soient multigéniques <sup>[102]</sup>.

### **III-4. MANIFESTATIONS CLINIQUES LIEES AU SAPL**

Le SAPL est en général une pathologie du sujet de moins de 45 ans pour l'âge de la première thrombose <sup>[139]</sup>, il est défini par des thromboses artérielles ou veineuses mais, comporte aussi des lésions dermatologiques, cardiaques et neurologiques, Les pertes fœtales constituent un cadre à part.

Ces manifestations répondent à un mécanisme thrombotique, tous les territoires vasculaires peuvent être touchés : artères, artérioles, capillaires, veinules, veines profondes ou veines superficielles. Ceci explique la diversité des tableaux cliniques.

#### **III-4-1. Les thromboses veineuses**

Les thromboses veineuses sont fréquentes au cours du SAPL <sup>[235,129]</sup>, Les territoires profonds veineux des membres inférieurs sont plus souvent concernés, mais tous les sites sont possibles. Elles se développent chez 29 à 55 % des patients avec un SAPL durant les 6 années d'évolution et la moitié de ces patients développent des embolies pulmonaires <sup>[174]</sup>.

#### **III-4-2. Les thromboses artérielles**

La thrombose peut concerner tous les territoires artériels quelque soit le calibre vasculaire, des gros vaisseaux à la microcirculation. Le système nerveux central est le plus fréquemment concerné (50% des thromboses artérielles)<sup>[113, 174,214]</sup>, les occlusions

coronariennes, 23% et les 27% restants concernent les occlusions rétinienne, rénales et autres <sup>[174]</sup>.

Le syndrome de Sneddon est une entité particulière qui associe livedo et infarctus cérébral, Les aPL sont reconnus aujourd'hui comme un véritable facteur de risque indépendant d'accident ischémique cérébral <sup>[113]</sup>.

Ce risque chez un individu est huit fois plus élevé lorsque les aPL sont présents <sup>[140]</sup>.

### **III-4-3. Les manifestations cardiaques**

Il s'agit surtout d'atteinte valvulaire à type d'épaississements diffus des valves, plus souvent la mitrale que l'aortique, formant parfois de véritables végétations donnant alors le tableau caractéristique de Libman-Sacks <sup>[66]</sup>.

Les aPL apparaissent prédictifs d'infarctus du myocarde chez le sujet jeune <sup>[68, 221]</sup>.

### **III-4-4. Les complications obstétricales**

La forme obstétricale du SAPL est bien individualisée, et se caractérise par des pertes foetales ou embryonnaires, mais peut aussi donner un tableau clinique d'éclampsie, le risque de perte embryofœtale est évalué à 30 % à la première grossesse et paraît augmenter avec une ou plusieurs fausses couches jusqu'à 90% <sup>[37,266]</sup>. Les critères diagnostics, ont été précisés à l'occasion de la conférence de consensus par Wilson en 1999 et affinées en 2004 <sup>[188]</sup> (**annexe1**).

### **III-4-5. Les manifestations dermatologiques**

Le livedo reticularis et le signe cutané le plus fréquent (40% du SAPL) <sup>[266]</sup>. Les études portant sur les associations des différents isotopes des aPL ou des LA et le livedo sont contradictoires <sup>[188]</sup>.

Les autres manifestations cutanées sont du purpura nécrotique, des phlébites superficielles, des nécroses digitales ou des hémorragies sous unguéales en flammèche, très évocateurs mais non spécifiques.

### **III-4-6 .Les manifestations neurologiques**

Les anticorps anti-phospholipides sont plus fréquemment retrouvés chez les lupiques présentant des troubles neurologiques que chez ceux n'en présentant pas (55% versus 20%). Le système nerveux central est le siège le plus fréquent de thromboses artérielles liées au SAPL <sup>[36]</sup>, ce dernier peut se manifester par des accidents ischémiques

transitoires ou constitués, souvent limités, laissant peu de séquelles, mais volontiers récurrents (30%) d'autant plus qu'existe un taux élevé d'anticorps anticardiolipine de type IgG.

Quelques études sur les aPL sans LES, la présence à long terme de LA serait un facteur de risque de démence <sup>[229]</sup>, d'autres études prospectives, montre l'association de la migraine et des aPL.

#### **III-4-7. Les manifestations rénales**

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

Des thromboses d'artères rénales peuvent être responsables d'hypertension artérielle réno-vasculaire, des thromboses artériolaires ou capillaires peuvent se manifester par une hypertension artérielle ou une insuffisance rénale, des thromboses des veines rénales peuvent s'associer à des syndromes néphrotiques <sup>[213]</sup>.

La biopsie rénale montre le plus souvent une hyperplasie fibreuse de l'intima (75%) mais peut révéler des lésions thrombotiques glomérulaires ou artériolaires (68%), une atrophie corticale focale (62%) ou une microangiopathie thrombotique (31%).

#### **III-5. CRITERES ET DIFFICULTES DIAGNOSTIQUES DU SAPL**

Le diagnostic de SAPL est vital en raison du risque de thromboses artérielles, veineuses ou d'avortements récurrents. La mise en route d'un traitement anticoagulant au long cours est essentielle. Néanmoins les effets secondaires de ce traitement peuvent être graves et sa prescription doit être justifiée.

La définition du syndrome qui détermine les patients à traiter doit prendre en compte le risque thrombotique dû aux " anti-phospholipides ".

La littérature actuelle discute beaucoup la signification clinique des «anti-phospholipides conventionnels ». L'anticoagulant circulant anti-prothrombinase est un facteur de risque important de manifestations thrombotiques chez les patients lupiques. La signification de sa présence au cours d'une thrombose chez les patients non lupiques est indéterminée.

De plus l'association des anticorps anti-cardiolipines aux manifestations thrombotiques, chez des patients lupiques ou non est discutée.

La construction des critères diagnostiques pour le SAPL en l'absence de marqueur spécifique est difficile.

3 définitions ont été proposées en 15 ans puis affinées en 2002 et 2004 :

L'établissement des critères diagnostiques n'est pas simple du fait de l'absence de test hautement spécifique, comme les anti-DNA ou anti-Sm pour le lupus. Les critères doivent être basés autour d'un score utilisant des items cliniques et biologiques.

Les discordances de la littérature quant à la valeur diagnostique de ces anticorps expliquent la succession des définitions proposées.

Les critères de Wilson admis actuellement jusqu'à 2002 puis révisés, sont établis d'après des données expérimentales qui démontrent, une relation causale entre les anticorps et les manifestations cliniques. Ils sont préliminaires et devront être précisés parallèlement aux avancées de la recherche.

Ce nouveau syndrome est d'abord nommé « syndrome des anticardiolipines » par Graham Huges en 1985 <sup>[150]</sup> puis « syndrome des anti-phospholipides » par Harris en 1987 <sup>[149]</sup>.

### III-5-1. Définition de Harris 1987

La définition « historique » de Harris a le mérite d'être simple (une manifestation clinique et biologique) et didactique <sup>[145]</sup>, mais elle n'est pas exempte de reproches et Harris lui-même la considère comme « rudimentaire », un peu trop sensible et manque de spécificité.

Le syndrome des aPL est défini par la présence chez un patient d'au moins un des critères cliniques et un des critères biologiques suivants confirmés sur 2 déterminations séparées d'au moins 8 semaines.

Clinique	Sérologie
Thrombose veineuse	aCL IgG*
Thrombose artérielle	(>20 GPL unités)
Pertes fœtales répétées ( $\geq 2$ )	aCL IgM*
Thrombocytopénie	(>20 gpl/ MPL INTES)
	Test LA positif*
* sur au moins 2 déterminations séparées d'au moins 8 semaines	

**Tableau 2:** Critères de diagnostic du SAPL, D'après Harris et col 1987 <sup>[148]</sup>

Les anticorps anticardioline de type IgM ne sont pas inclus dans la définition initiale mais ajoutés aux critères en 1990 en raison de leur présence isolée dans 5 % des cas.

Par exemple les patients cancéreux peuvent présenter un anticoagulant circulant anti-prothrombinase ou des anticorps anti-cardiolipines. Chez ces patients, la présence “d’anti-phospholipides conventionnels” est considérée comme la conséquence de lésions endothéliales, ou plus généralement d’altérations cellulaires telles que, l’activation et la mort cellulaire programmée. Par ailleurs les thromboses en l’absence ”d’anti-phospholipides conventionnels” sont fréquentes chez ces patients.

L’association thrombose et anti-phospholipides peut être le fruit du hasard et n’évoque pas le désordre auto immunitaire décrit dans les années 1980. Il en est de même pour les patients sidéens où il existe une étroite corrélation entre les concentrations plasmatiques d’anticorps anticardioline et de microparticules ayant pour origine l’apoptose accélérée des lymphocytes T.

La définition « historique » conduit à poser le diagnostic de SAPL de manière abusive devant l’association “qui peut être le fruit du hasard” d’un événement clinique avec la persistance d’anticorps anti-cardiolipines et/ou d’un anticoagulant circulant anti-prothrombinase et ce quelque soit le contexte pathologique [238].

### **III-5-2. Les critères d’Alarcon Segovia 1992**

Le caractère simpliste de la définition « historique » conduit Alarcon Segovia (1989-1992) à caractériser plus précisément le SAPL<sup>[30]</sup>. Il rapporte les manifestations statistiquement associées aux aPL chez 667 patients lupiques suivis de janvier 1986 à décembre 1989.

#### **• Manifestations cliniques associées aux anticorps anti-phospholipides**

Les manifestations cliniques statistiquement associées aux anticorps anti-phospholipides : Le livedo reticularis, la thrombocytopénie (définie par moins de 100 Giga /ml), des antécédents d’au moins 3 avortements spontanés, ou 2 s’ils représentent au moins 50% des grossesses, les thromboses veineuses notamment en cas de récurrence, l’anémie hémolytique, l’occlusion artérielle, les ulcérations cutanées, l’hypertension artérielle pulmonaire et la myélite transverse.

Les AVC, accident ischémique transitoire, les migraines, la chorée, les valvulopathies, la nécrose surrenalienne et l’ostéonécrose ont été étudiés sans montrer d’association.

- **Définition du syndrome des anti-phospholipides**

Les patients ont été classés dans différentes catégories.

Titre d'anticorps anti-phospholipides	Nombre de manifestations cliniques			
	≥ 2	1	0	
Elevé (plus de 5 DS)	Défini 10%	Probable 11%	Douteux 9%	30%
Modéré (entre 2 et 5 DS)	Probable 3%	Douteux 10%	Négatif 8%	22%
Négatifs (Moins de 2 DS)	Douteux <sup>h</sup> 6%	Négatif 16%	Négatif 27%	48%
<b>Total</b>	<b>19%</b>	<b>36%</b>	<b>44%</b>	<b>100%</b>

**Tableau 3 :** Répartition des manifestations cliniques et biologiques du SAPL dans la série de 667 patients lupiques d'Alarcon Segovia<sup>[30]</sup>.

Les aPL sont plus fréquents et plus élevés chez les patients qui présentent au moins deux manifestations. La suppression des deux manifestations cliniques les plus rares (hypertension artérielle pulmonaire et myélite transverse) n'affecte pas les résultats.

Les auteurs établissent les critères suivants :

- **Le syndrome est certain** en présence d'au moins 2 des 7 manifestations cliniques (hypertension artérielle pulmonaire et myélite transverse exclue) et d'un titre élevé des anticorps anti-phospholipides (IgG ou IgM supérieurs à 5 déviations standards).

- **Le syndrome est probable** en présence, soit d'une manifestation clinique et d'un titre élevé d'anticorps anti-phospholipides, soit d'au moins deux manifestations cliniques et d'un titre modéré d'anticorps anti-phospholipides (IgG ou Ig M entre 2 et 5 DS incluses), La présence d'anticorps anti-phospholipides à un titre élevé peut être remplacée par la présence d'un anticoagulant circulant anti-prothrombinase d'après les auteurs, mais les associations n'ont pas été validées statistiquement.

Un quart des patients lupiques ont un syndrome des anti-phospholipides certain ou probable selon ces critères, les patients peuvent changer de catégorie avec le temps, le nombre de grossesses, et le traitement immunosuppresseur.

\* Ces critères suscitent plusieurs réserves.

- L'association des manifestations cliniques à l'anticoagulant circulant anti-prothrombinase n'a pas été étudiée.

Certains critères cliniques correspondent à des manifestations exceptionnelles (ulcérations cutanées ou myélite), ou liées de façon inconstante à la présence d'anticorps anti-cardiolipine. En outre, l'existence d'une valvulopathie n'est pas prise en compte.

- Ces critères sont établis pour identifier la présence d'un SAPL au cours du lupus, mais ne sont pas validés au cours du syndrome des anti-phospholipides primaire<sup>[240]</sup>.

Enfin, et cette remarque s'applique à toute série de critères cumulatifs : le clinicien se doit de reconnaître précocement le SAPL, pour mettre en œuvre une prévention secondaire des thromboses. Il ne peut attendre passivement la constitution d'un tableau « typique ».

En définitive, retenir la « définition historique » du SAPL, ou celle (beaucoup plus complexe) proposée par Alarcon Segovia, conduit au choix difficile entre la sensibilité et la spécificité.

### **III-5-3. Critères de Wilson 1999.**

En 1998, une classification préliminaire a été proposée au cours du VIII<sup>ème</sup> symposium sur les anti-phospholipides (critères de Sapporo) au Japon, les critères du SAPL, comprennent les manifestations cliniques dont la relation causale avec les antiphospholipides est démontrée<sup>[317]</sup> :

Le SAPL “ certain” est défini par la présence chez un patient d’au moins un des critères cliniques et un des critères biologiques suivants (Tableau 4)

Les anomalies cliniques et biologiques décrites au cours du SAPL, dont la spécificité ou la prévalence sont trop faibles et la physiopathologie incertaine pour les inclure dans les critères diagnostiques de la classification de Wilson, sont définis comme des critères mineurs.

Leur combinaison entre eux et avec les critères majeurs définissent des catégories de diagnostic certain et probable du SAPL, d'après Wilson<sup>[314]</sup> (**annexe 1**).

### *Définition du syndrome des anti-phospholipides selon Wilson*

UNE MANIFESTATION CLINIQUE parmi.

- ≥ 1 thrombose vasculaire : artérielle, veineuse profonde, capillaire confirmée par imagerie ou histologie.

- Complications obstétricales : ≥ 3 FCS, consécutives inexpliquées

≥ 1 MFIU inexpliquée avec fœtus de morphologie normale

≥ 1 accouchement prématuré c avec fœtus de morphologie

Normale par pré éclampsie sévère, éclampsie ou

insuffisance placentaire

ET UNE ANOMALIE BIOLOGIQUE à 2 déterminations séparées d'au moins 6 semaines parmi:

- Anticoagulant circulant antiprothrombinase recherchés selon les recommandations de 1995

- Anticorps anti-cardiolipine IgG ou IgM à taux moyens ou élevés.

a- Fausse couche spontanée : avant la dixième semaine de gestation

b- Mort fœtale in-utéro : après la dixième semaine de gestation

c- Accouchement prématuré : avant la trente-quatrième semaine de gestation

**Tableau 4 :** *Définition du SAPL d'après Wilson* <sup>[317]</sup>

Les critères de Wilson placent les “ anti-phospholipides conventionnels” au premier plan de la définition du SAPL. Par rapport à la “définition historique”, les critères obstétricaux sont affinés en retenant des manifestations plus spécifiques, mais les critères qui concernent la pathologie thrombotique sont identiques. La spécificité des critères diagnostiques dépend de la spécificité des “antiphospholipides conventionnels ”.

L'incertitude qui entoure la signification clinique des “antiphospholipides conventionnels” malgré une littérature abondante est au moins en partie expliquée par l'insuffisance de standardisation des techniques biologiques. La relation entre la spécificité et la concentration des anticorps anti-cardiolipine est bien démontrée.

#### **III-5-4. Critères de Wilson révisés**

En 2002, ces mêmes critères ont été révisés, en prenant en compte dans les critères biologiques. Le taux moyen ou élevé des anticardiolipines supérieur au 97.5 ou 98 percentile, est pris en compte et les techniques immunologiques de dosage doivent utiliser des tests aCL ou aPA β2GPI dépendants <sup>[174]</sup>.

Au XXth congrès de l'ISTH à Sydney 6-12 août 2005, Monica Galli <sup>[111]</sup>, propose l'addition des anticorps anti-β2GPI dans la définition des critères biologiques.

Au Forum des anti-Phospholipides à Barcelone décembre 2005 <sup>[188]</sup>, les critères retenus définissent le SAPL, sur l'association d'au moins (**annexe1**) :

**1 Critère clinique** Thrombose vasculaire ou complications obstétricales

**ET**

**1 Critère biologique** LA

**aCL (>40 GPL ou MPL) ou > 99 percentile**

**Ac antiβ2GPI (IgG et IgM) > 99 percentile**

La recherche des APA ou des LA est réalisée au moins 12 semaines après l'événement clinique (thrombose ou perte fœtale) <sup>[188]</sup> car l'événement clinique peut influencer les résultats.

Le SAPL n'est pas conclu si un test biologique positif est éloigné de plus de 5 ans de l'événement clinique. Des variations spontanées des taux d'APA et de LA sont observées chez 25% des patients, et les influences des maladies et des traitements sur le taux d'aPL sont mal connues.

Enfin, confirmer la persistance des anticorps anti-phospholipides et LA à 12 semaines d'intervalle au lieu de 6 semaines et ceci pour éviter les faux positifs.

Par ailleurs les patients avec SAPL sont classés en 2 catégories principales :

- **Catégorie I** : mise en évidence de plus d'un critère biologique (LA, aCL, aβ2GPI)

- **Catégorie II** : Iia mise en évidence de LA

  - Iib mise en évidence d'anticorps aCL

  - Iic mise en évidence d'anticorps anti β2GPI.

### **III-6. SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES PRIMAIRE ET SECONDAIRE**

Dans un premier temps, les auteurs différencient les patients lupiques avec SAPL et ceux qui présentent des manifestations thrombotiques avec "anti-phospholipides conventionnels" mais sans les 4 critères ACR nécessaires au diagnostic du LES, ceux-ci sont classés sous le terme de « lupus like disease », ou « non lupus » <sup>[35]</sup> séparant les lupus like disease et le SAPL primaire.

Le SAPL initialement considéré comme un sous groupe au sein du LES, a été reconnu ultérieurement dans diverses autres circonstances <sup>[174]</sup> (**annexe 1**).

Le SAPL est parfois rencontré en dehors de tout cadre pathologique connu il s'agit alors du « syndrome primaire des aPL » <sup>[35]</sup>, celui-ci fournit au clinicien, un cadre nosologique, permettant de classer les malades dont les thromboses surviennent dans "une atmosphère auto-immune " sans lupus défini <sup>[234]</sup>, Piette a établi une série de critères d'exclusion (**annexe1**).

Le SAPL et le LED ont en commun, la production d'une famille d'auto anticorps spécifiques à une ou plusieurs molécules retrouvées dans les cellules ou dans le système de la coagulation, les conséquences cliniques sont multiples, la thrombopénie par exemple ou les lésions cardiaques valvulaires ou le choréa sont produits aussi bien au cours du LES que le SAPL sans LES, ce sont deux désordres différents.

Dans des études récentes, il a été démontré la survenue d'une forme sévère de LA compliquée de thromboses, de thrombopénie et de pertes fœtales avec des tests aCL positifs.

En ce qui concerne les différences entre SAPL I et II. Aucune différence biologique n'a été observée <sup>[316]</sup>, de même pour les pertes fœtales.

D'autres définitions ont été proposées pour distinguer le SAPL secondaire (SAPS) et le SAPL primaire (SAPLP) notamment les différences génétiques <sup>[102]</sup>, mais cette étude devra se faire sur un nombre plus important de patients.

Le SAPL catastrophique (CAPS) se distingue par la survenue de thromboses simultanées en un temps court sur plusieurs sites et, touchant les petits vaisseaux. Contrairement au SAPL, les thromboses sont sporadiques et souvent concernent un seul site, touchant les larges vaisseaux. La persistance des aCL et des LA associés à un tableau catastrophique sont plus persuasifs de CAPS, souvent difficile à démontrer vu la gravité du tableau. Les différences s'expliqueraient par des facteurs génétiques ou autres facteurs indéfinis <sup>[138]</sup>.

Si le rôle pathogène des aPL chez l'homme est le même, il n'y a pas de différence entre le SAPL primaire, secondaire ou catastrophique.

Au cours du syndrome des anti-phospholipides secondaire, deux diagnostics coexistent APS et LES. Le CAPS est distinct par la gravité des caractéristiques ou traits cliniques et le traitement est donc différent. Dans les études cliniques, la classification des patients en PAPS et SAPS est appropriée, puisque le traitement de l'un peut influencer sur l'autre. En dehors du LES, il est plus indiqué de spécifier les 2 désordres dont le SAPL <sup>[138]</sup>.

## **II-7. DETECTION DES ANTIPHOSPHOLIPIDES ET DIFFICULTES METHODOLOGIQUES**

La valeur des “ anti-phospholipides conventionnels ” (aPA et LA) comme marqueurs de manifestations thrombotiques est grevée par les difficultés de standardisation des tests et par l’hétérogénéité des anti-phospholipides.

L’intérêt croissant des praticiens pour cette famille d’anticorps a contribué au développement de nombreux tests ; la mauvaise reproductibilité des résultats entre différents tests et dans différents laboratoires souligne l’impératif de standardiser les protocoles [51, 230,295].

Néanmoins les anti-phospholipides constituent une famille hétérogène. L’ensemble des anticoagulants circulants anti-prothrombinase ne peut être mis en évidence par un seul et unique test : ceci impose la mise en œuvre d’une combinaison de tests différents. L’objectif de standardisation est d’autant plus difficile à réaliser.

### **III-7-1. Détection des LA**

Il n’existe pas de test de screening 100% sensible et 100% spécifique [250].

#### **a- Difficultés diagnostiques**

Leur mise en évidence fait appel à des tests de coagulation simples mais peut s’avérer délicate, en raison de plusieurs difficultés :

#### **-L’hétérogénéité biologique :**

Anticorps polyclonaux d’iso type IgG ou IgM ou IgA et de spécificités diverses (anti-β2GPI et/ou antiprothrombine) [18,123], impose la mise en œuvre d’une combinaison de tests alliant sensibilité et spécificité [99].

#### **-La qualité du prélèvement**

Des conditions soigneuses de prélèvement, de transport et de préparation des échantillons doivent être respectées pour optimiser la détection des anticoagulants circulants anti-prothrombinase. Dans certaines séries, jusqu’à 15 % des résultats positifs sont dus à une mauvaise préparation [169]. Les tests sont réalisés sur du plasma citraté parfaitement exempt de plaquettes résiduelles. Les phospholipides libérés lors de la lyse des plaquettes résiduelles pourraient neutraliser un éventuel lupus anticoagulant présent en faible concentration.

La préparation de “plasma pauvre en plaquettes” (PPP), défini par moins de 10 Giga/l plaquettes est une phase essentielle. La sensibilité maximale est atteinte après double centrifugation ; la présence d’héparine est une source potentielle d’erreur.

L’appareillage utilisé pour le diagnostic (mode de détection électromécanique ou optique du caillot), semble influencer sur la sensibilité et la spécificité des tests <sup>[175]</sup>.

Une autre limite du diagnostic est liée à l’absence de standard biologique de LA.

Le résultat est qualitatif indiquant seulement “ l’absence ” ou “la présence ” d’un LA éventuellement « fort » ou « faible » en fonction du degré de positivité des tests biologiques, seuls des plasmas de contrôles “ positifs ” ou négatifs sont proposés par certains fabricants. Cette hétérogénéité a longtemps contribué à la recherche d’un test très sensible pour détecter tous les anticoagulants circulants anti-prothrombinase.

De nombreuses techniques existent. On sait maintenant qu’aucun test ne peut à lui seul les détecter tous. La combinaison de plusieurs tests est indispensable.

La diversité des tests, et l’absence de standards freine la comparaison des différentes combinaisons possibles. Malgré des efforts de standardisation importants, il n’y a pas de consensus actuel sur un protocole de référence.

#### **b-Les étapes du diagnostic :**

Le sous comité « lupus anticoagulant/phospholipid-depend antibodies » de l’International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) <sup>[53,99]</sup> et « The lupus anticoagulant working party of the british committee for standardization in haematology, haemostasis and thrombosis task force » <sup>[207]</sup> ont formulé, il y’a quelques années, des recommandations pour le diagnostic des anticoagulants circulants anti-prothrombinase, actualisées en 2000 et en 2004 <sup>[10,80,119]</sup>.

Une approche en 4 étapes est recommandée :

**1. Dépistage des LA :** On peut suspecter la présence d’un LA si au moins un test chronométrique dépendant des phospholipides est allongé.

**2. Mise en évidence d’une activité inhibitrice (test du mélange) :** L’absence de correction de l’allongement après mélange du plasma à tester avec un pool de plasmas normaux, permet la différenciation entre déficience en facteur de la coagulation et la présence d’un inhibiteur circulant.

3. **Confirmation** : mise en évidence que l'effet inhibiteur dépend des phospholipides<sup>[53]</sup>.

4. **Exclusion d'une anomalie associée** : Déficit ou inhibition spécifique de l'un des facteurs de la coagulation.

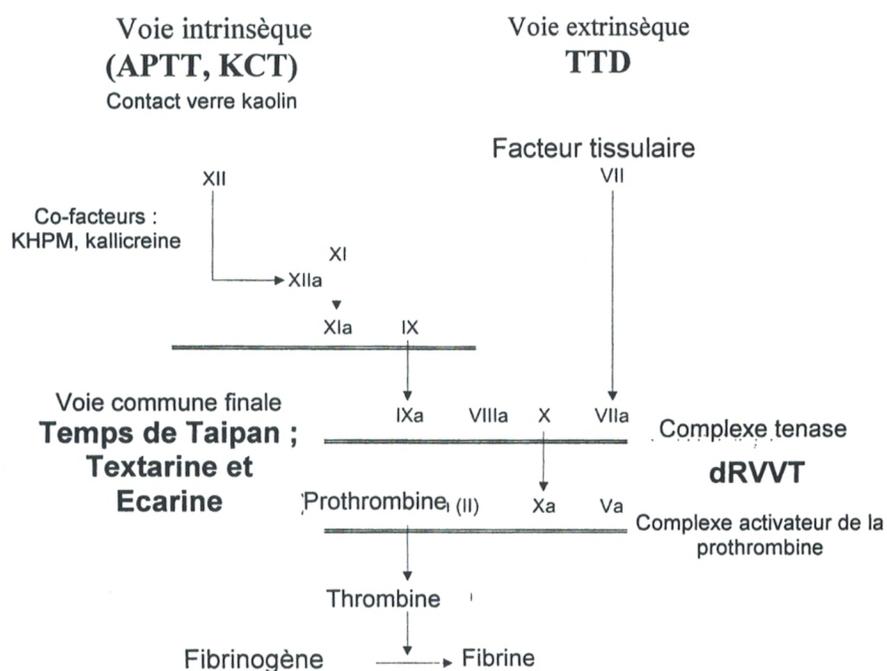
### b-1 Tests de dépistage de LA

#### • Objectif

Au moins 2 tests doivent être utilisés pour dépister les anomalies in-vitro des tests de coagulation faisant intervenir les phospholipides. Ces tests doivent être sensibles aux LA, basés sur des tests différents et au moins un de ces tests est basé sur une concentration faible en phospholipides<sup>[127]</sup>.

#### • Diversité des tests utilisés

De nombreux tests sont utilisés : le temps de céphaline avec activateur, le temps de coagulation avec Kaolin, le temps de venin de vipère Russel dilué, le temps de thromboplastine diluée, le temps de textarine (**Fig.12**).



**Fig 12** : Représentation schématique de la coagulation in vitro  
D'après Derksen.RH.W.M et col 2004<sup>[80]</sup>

### **Le temps de céphaline avec activateur (TCA)**

Ce test est fréquemment utilisé, peu spécifique, sa sensibilité varie considérablement en fonction du réactif utilisé (source de phospholipides), du choix de l'activateur (silice ou acide ellagique plus sensibles que le kaolin ou la celite)<sup>[87]</sup>, des nature et quantité des phospholipides (la concentration relative de la phosphatidylsérine), mais quelque soit le réactif employé, il permet au mieux de dépister entre 50 et 70 % des anticoagulants. La sensibilité du TCA est également affectée par toute augmentation significative du facteur VIII, liée à un contexte inflammatoire ou à la grossesse, qui peut masquer un anticoagulant faible.

*La normalité du TCA n'exclut donc en aucun cas la présence d'un LA*

### **Tests utilisant les concentrations « diluées » de phospholipides**

Le concept de ces tests est basé sur la relation inverse entre la quantité de phospholipides et l'allongement des temps de coagulation. La quantité de phospholipides est diminuée pour accentuer l'allongement des temps de coagulation en présence de l'anticoagulant circulant, donc augmenter la sensibilité des tests.

#### **-Le PTTLA :**

Le PTTLA est un TCA réalisé avec une céphaline très diluée, très sensible aux LA <sup>[108]</sup>.

#### **- Le temps de thromboplastine diluée (TTD) :**

C'est un temps de Quick rendu plus sensible grâce à une forte dilution de la thromboplastine au 1/500<sup>ème</sup> en CaCl<sub>2</sub>, la sensibilité de ce test dépend aussi, mais à un moindre degré, de la nature du réactif mis en œuvre. Pour certains auteurs, les thromboplastines synthétiques, à base de facteur tissulaire recombinant humain relipidé, posséderaient la meilleure sensibilité dans les tests de détection de LA <sup>[106]</sup>. Cette différence de sensibilité entre thromboplastines d'extraction et recombinantes n'a cependant pas été retrouvée dans toutes les études <sup>[127]</sup>. En revanche, le TTD est très peu spécifique des LA. Il est affecté par toute diminution même mineure, de l'un des facteurs explorés par le temps de Quick (II, V, VII, X), sa spécificité est également influencée par la concentration en fibrinogène, ce qui suggère l'utilité d'appliquer au TTD un facteur de correction en cas d'hyperfibrinogénémie<sup>[97]</sup>. C'est un test de dépistage relativement simple à pratiquer, automatisable, peu coûteux (**Fig. 12**).

### **- Le temps de venin de vipère Russel dilué (dRVVT)**

C'est le deuxième test de dépistage utilisé après le TCA, Il fait intervenir un venin activateur du facteur X qui agit en présence de phospholipides (**Fig. 12**)<sup>[301]</sup>. Comme pour le TCA, la valeur diagnostique du dRVVT varie en fonction du réactif utilisé .Il n'est pas influencé par les déficits en facteurs de la voie endogène de la coagulation ou en facteur VII <sup>[201, 288]</sup> .

Le dRVVT détecterait préférentiellement les LA ayant pour cofacteur la  $\beta$ 2GPI <sup>[123]</sup>, à la lumière d'études récentes, c'est le test de dépistage de LA qui aurait la meilleure valeur prédictive du risque thrombotique en particulier artériel <sup>[124, 143]</sup>.

### **Le temps de coagulation avec Kaolin (KCT)**

Très sensible, le KCT est réalisé sur du PPP sans ajouter de phospholipides, ceux-ci étant apportés à l'état de traces par le plasma à tester. Ce test est particulièrement sensible à la contamination plaquettaire des échantillons testés, spécialement après congélation-réchauffement. Il est en outre difficile à standardiser et à automatiser.

Le KCT détecterait préférentiellement des LA ayant pour co-facteur la prothrombine, qui paraissent être associés à un risque thrombotique modéré <sup>[124]</sup>.

### **Le temps de textarine**

Le temps de textarine est un test de dépistage extrêmement sensible. La textarine est une enzyme purifiée de venin de serpent (*pseudonaja textilis*). C'est une serine protéase qui active la prothrombine en thrombine en présence d'ions calciums, de facteur V, et de phospholipides. Le Taipan (*oxyuranus scutellatus*) agit selon le même principe, en l'absence de facteur V <sup>[298]</sup>.

Ces deux derniers tests sont insensibles aux anomalies touchant les facteurs situés plus haut dans la cascade de la coagulation <sup>[109]</sup>.

### **• Recommandations**

L'hétérogénéité des anti-phospholipides implique qu'il n'existe pas un test unique qui puisse détecter tous les anticoagulants circulants anti-prothrombinase. De plus, plusieurs variétés d'anticoagulants peuvent coexister chez un même patient. Par conséquent, une suspicion d'anticorps anti-phospholipides entraîne la réalisation d'un premier test de dépistage en utilisant le TCA, suivi d'un second test si nécessaire (KCT, dRVVT, temps de Textarine...). Si les deux tests sont normaux, la recherche d'anticoagulant circulant

anti-prothrombinase est négative, mais doit être complétée d'une recherche d'anticorps anti-cardiolipine puisque ces deux méthodes sont discordantes dans 40% des cas.

Par ailleurs, le Cut-off est mesuré lors des tests de diagnostic de LA chez 40 sujets normaux, en déterminant la moyenne géométrique  $\pm 2$  DS [188].

### **b-2. Test de mélange, mise en évidence d'une activité inhibitrice**

Si un des tests de dépistage est positif, la recherche d'un inhibiteur fait appel au test des mélanges. Celui-ci doit être basé sur le même principe que le test de dépistage anormal (PTTLA...). La persistance d'un temps anormal est en faveur de la présence d'un inhibiteur.

Le plasma à tester est mélangé avec un pool de plasma normal, l'absence de correction de l'allongement signe la présence d'un inhibiteur, qui reste à caractériser. Au contraire, la normalisation du temps de la coagulation est en faveur d'un déficit en facteur de la coagulation. Il est impératif d'éliminer la présence d'héparine (flush d'héparine, voie artérielle, seringue héparinée...) avant de rechercher d'autres inhibiteurs. L'utilisation du temps de thrombine ou d'agents neutralisant l'héparine (polybréne, protamine, héparinase) donne de bons résultats.

De nombreux protocoles existent et cette deuxième étape est très mal standardisée, il existe plusieurs variables :

#### **- Le choix du plasma normal**

La préparation du plasma normal doit être aussi rigoureuse que celle des échantillons à tester. Idéalement, il s'agit d'un pool de plasma frais provenant de sujets sains (20 au minimum). La quantité de phospholipides contenue dans les plasmas lyophilisés commerciaux est variable et peut entraîner des faux négatifs si le plasma contient un inhibiteur faible.

#### **- Le rapport entre la quantité de plasma normal et de plasma du patient**

Habituellement, le mélange est effectué en quantités égales, à l'exception du KTC où les proportions de 20% de plasma à tester et 80 % de plasma normal sont recommandées. L'utilisation de proportions différentes (quatre parts de plasma à tester pour une part de plasma normal) permet, surtout si l'inhibiteur est présent en petites quantités avec une prolongation minime des temps de coagulation, de sensibiliser le test.

### **- Le temps d'incubation**

Il est recommandé d'incuber le mélange à 37 °C de 60 à 120 minutes car 30 % des inhibiteurs ne sont pas mis en évidence immédiatement.

### **-Les critères d'interprétation de l'épreuve de correction :**

« The second international workshop » propose comme critère de correction un TCA du mélange inférieur ou égal au TCA de plasma normal plus de 5 secondes <sup>[51]</sup> mais ce critère est discuté.

Les critères de positivité habituellement retenus se basent sur le calcul de l'indice de Rosner <sup>[264]</sup> selon la formule :

$$IR = \frac{\text{Temps de mélange (patient + témoin)} - \text{temps de témoin} \times 100}{\text{Temps patient}}$$

Un indice de Rosner supérieur ou égal à 15 signe la présence d'un LA.

Le TTD devient plus qu'un test de dépistage dans la mesure où il intègre une épreuve des mélanges, on prend alors en compte le rapport :

Temps mélange (patient + témoin) / Temps témoin, ce rapport doit être supérieur ou égal à 1,2 pour signer la présence d'un LA.

La plupart des tests de dépistage sont sensibles à la présence d'héparine .La recherche de LA dans des prélèvements contenant l'héparine est déconseillée. L'héparine peut être facilement mise en évidence par la réalisation d'un temps de thrombine.

En revanche, la recherche de LA est possible chez les patients recevant un traitement AVK équilibré.

### **b-3. Tests de confirmation de LA**

Les tests doivent être basés sur le même principe que le test de dépistage anormal (PTTLA...) disponibles pour les principaux tests de dépistage, ils sont réalisés par l'addition de phospholipides. L'absence de correction significative des tests de dépistage lors de l'épreuve des mélanges signe la présence d'un anticoagulant circulant qui reste à caractériser. La troisième étape doit prouver que l'inhibiteur est dépendant en phospholipides et n'est pas un inhibiteur spécifique des facteurs de la coagulation.

S'il existe des antécédents hémorragiques, des dosages de facteurs doivent être réalisés. S'il n'y a pas d'antécédent hémorragique, et le contexte clinique est suggestif d'anticoagulant circulant anti-prothrombinase, alors les investigations doivent être poursuivies pour documenter « la dépendance en phospholipides », éventuellement suivies du dosage des facteurs pour clarifier les résultats ambigus. Cette étape requiert des tests très spécifiques pour éliminer les faux positifs. Comme pour l'étape de dépistage, de nombreux tests sont proposés :

### **Tests de neutralisation**

Le principe consiste à reprendre le(s) test(s) de dépistage initialement allongé(s) en augmentant la concentration en phospholipides des réactifs, afin de neutraliser au moins partiellement l'anticoagulant circulant anti-phospholipides. Un raccourcissement du temps de la coagulation traduit la présence d'un anticoagulant circulant anti-prothrombinase. Le degré de raccourcissement considéré comme significatif varie selon les tests. La nature des phospholipides mis en œuvre dans cette procédure de neutralisation est diverse.

- **Le PNP** (Platelet Neutralization Procedure) décrit par Triplett en 1983 est le test le plus couramment utilisé. L'utilisation de plaquettes lysées par congélation-rechauffement » est une technique fréquemment employée.

C'est un test spécifique, utilisé pour confirmer les anticoagulants circulants anti-prothrombinase dépistés par le TCA, le dRVVT, et le temps de Taipan <sup>[298]</sup>.

- **Le test de confirmation DVV Confirm** utilise un réactif qui contient des concentrations élevées de phospholipides. Il n'y aurait pas de faux positif. Mais il n'y a pas de consensus sur la méthode de calcul de la correction des temps de la coagulation et les limites de positivité sont arbitraires <sup>[201]</sup>.

-**Le test de confirmation du KCT** utilise des micro-vésicules plaquettaires.

-**Le Staclot LA** : Rauch Et Janoff <sup>[263]</sup> rapportent en 1989 la capacité des phospholipides en phase hexagonale II à différencier l'anticoagulant circulant d'autres inhibiteurs plasmatiques. Le Staclot LA, dont le dépistage est réalisé par un réactif sensible le PTTLA, utilise ces phospholipides dans l'étape de confirmation <sup>[298]</sup>.

**-Le temps d'écarrine :** L'écarrine est une enzyme purifiée de venin de serpent (equi carinatus) qui active la prothrombine en absence de phospholipides <sup>[298]</sup>.

Ce test est utilisé dans l'étape de confirmation du test de textarine prolongé ; en présence d'un anticoagulant circulant anti-prothrombinase, le ratio des temps de textarine-écarrine est élevé <sup>[109]</sup> .

En somme les tests disponibles pour détecter un anticoagulant circulant anti-prothrombinase sont très nombreux. De plus les capacités de chaque test dépendent du réactif utilisé (choix de l'activateur et les nature et quantité des phospholipides) et du mode de détection (électromécanique ou optique du caillot).

#### **b-4. Exclusion d'une coagulopathie associée**

Le dosage des facteurs doit être réalisé en cas de suspicion d'inhibiteur spécifique, ou si les résultats des trois premières étapes sont discordantes, mais la diminution d'un ou plusieurs d'entre eux n'élimine pas la présence d'un anticoagulant circulant anti-prothrombinase. La mesure chronométrique des facteurs de la voie endogène, pratiquée dans le système TCA, peut être faussée par la présence d'un LA, entraînent un déficit apparent touchant habituellement plusieurs ou l'ensemble des facteurs.

Devant ce type de résultats, la mesure des facteurs doit être réalisée avec des dilutions plus importantes du plasma à tester. Si le LA est seul en cause, on observe alors une normalisation du taux des facteurs.

#### **b-5. Résumé des recommandations**

Le prélèvement et la préparation soigneuse des échantillons sont primordiaux.

Le test de dépistage permet d'identifier l'allongement des temps de coagulation faisant intervenir les phospholipides

- il est impératif d'éliminer l'absence d'autres coagulopathies (déficience en facteurs, inhibiteurs spécifiques de facteurs anti VIII)
- la persistance des anticorps doit être documentée :Un diagnostic final ne devrait pas être posé sur la base d'un seul test positif mais sur la base de 2 tests positifs ,réalisés au moins à 12 semaines d'intervalles. Des formes transitoires ont été clairement décrites.

## **b-6. Evaluation des recommandations**

### **• Absence de reproductibilité des résultats**

En dépit de ces recommandations internationales, plusieurs études multicentriques et contrôle de qualité inter-laboratoires nationaux et internationaux qui évaluent la reproductibilité des résultats, donnent des résultats décevants.

A titre d'exemple, lors du premier contrôle de qualité français réalisé en 1994, seulement 45% des 4030 laboratoires participants ont correctement identifié un anticoagulant circulant anti-prothrombinase de forte activité<sup>[254]</sup>. Une étude réalisée au Royaume uni entre 1992 et 1995, impliquant 220 centres spécialisés en coagulation montre que les recommandations sont suivies et que 96% des laboratoires reconnaissent un anticoagulant circulant puissant.

Néanmoins, seulement 50% reconnaissent un anticoagulant circulant de faible activité, et à l'inverse, 26% portent un faux diagnostic d'anticoagulant circulant anti-prothrombinase en présence d'un déficit en facteur IX. Les principaux problèmes soulevés sont la source du plasma contrôle dans les tests de mélange, et l'étape de confirmation du dRVVT<sup>[154]</sup>.

Dans une étude récente européenne, 20% des laboratoires participants identifient un inhibiteur du facteur VIII auto-immun comme un anticoagulant circulant anti-prothrombinase<sup>[17]</sup>.

### **• Difficultés de standardisation**

Même si les recommandations sont suivies, la reproductibilité des résultats est mauvaise, de nombreux points peuvent être à l'origine de cette déficience et sont encore à améliorer :

- Les recommandations actuelles imposent la combinaison de plusieurs tests. Si le premier test de dépistage recommandé est un TCA utilisant un réactif sensible, le second test de dépistage n'est pas standardisé.
- Il n'existe pas de standard biologique d'anticoagulant circulant de type anti-prothrombinase. Aucun matériel de référence permettant une évaluation quantitative de l'anticoagulant circulant d'un plasma n'est disponible à ce jour.

Ce problème pourrait à l'avenir trouver une solution, grâce au développement d'anticorps monoclonaux anti- $\beta$ 2GPI et anti-prothrombine doués d'une activité anti-coagulante de type LA et qui, isolément ou en mélange pourraient permettre de calibrer les tests de diagnostic<sup>[18]</sup>.

Quelles valeurs peut on donc accorder aux sensibilité et spécificité des tests évalués ?

- Pour chaque test, la sensibilité et la spécificité varient selon le réactif et l'appareillage.
- Les tests de mélange correcteurs ne sont pas standardisés et de nombreux protocoles et valeurs d'interprétation des résultats existent.
- Les tests de confirmation sont variés, et il n'y a pas de consensus sur les valeurs de confirmation du dRVVT.

### **QUE RETENIR ?**

*La recherche d'un anticoagulant circulant anti-prothrombinase est très complexe malgré les recommandations publiées et actualisées ces dernières années, et même lorsqu'elles sont suivies, la reproductibilité des résultats entre les laboratoires reste mauvaise, pourtant l'anticoagulant circulant anti-prothrombinase semble le marqueur prépondérant du SAPL. Les efforts de standardisation doivent continuer pour améliorer sa détection et permettre de préciser sa signification clinique.*

### **III-7-2. Dosages des anticorps anti-phospholipides par technique immunologique.**

La détection des anticorps anticardiolipine par technique immuno-enzymatique ELISA s'est considérablement développée en pratique quotidienne, leur détection requiert la mise en œuvre de plusieurs tests, dont la standardisation s'est avérée difficile<sup>[255]</sup>.

Les critères internationaux récemment élaborés pour la classification du SAPL retiennent sur le plan biologique, deux variétés d'anticorps détectés par des tests dépendants des phospholipides<sup>[317]</sup>. Il s'agit des anticorps anticardiolipine (anticorps dépendent de la  $\beta$ 2GPI mesuré par un ELISA standardisé) et des LA, auxquels se sont ajoutés lors du dernier congrès 2004 les anticorps anti- $\beta$ 2GPI<sup>[188]</sup>.

#### **a. Anticorps anti-cardiolipine**

Les anticorps révélés par l'ELISA-aCL habituel reconnaissent aussi d'autres phospholipides anioniques. La cardiolipine est néanmoins le phospholipide anionique le plus utilisé, pour des raisons historiques, et surtout parce que toutes les tentatives de standardisation de cette technique immuno-enzymatique l'utilisent comme antigène.

## **a-1. Diversité des protocoles utilisés**

### **• Protocole de Harris**

A l'origine, le dosage des anticorps anti-cardiolipine utilise le test ELISA-aCL décrit par Harris en 1983. Le schéma de base du test ELISA sandwich est classique. Il comporte successivement :

-l'adsorption d'antigène adéquat sur les cupules d'une microplaque  
-le blocage des sites de liaison résiduels du support par un excès de protéines ou de détergent, afin de réduire la fixation non spécifique ultérieure des immunoglobulines des sérums à tester.

-l'incubation du sérum à tester à la dilution appropriée, suivie de lavages.

-l'addition d'anticorps anti-immunoglobulines couplés à une enzyme, puis du substrat chromogénique donnant une densité optique proportionnelle à la quantité d'anticorps fixés.

Rapidement, les premiers travaux internationaux de standardisation mettent en évidence la faible reproductibilité des résultats, à l'origine de deux mesures :

-l'expression semi quantitative : taux bas (inférieur à 20), taux moyen (entre 20 et 60), et taux élevé (supérieur à 60), celle-ci améliore la reproductibilité <sup>[146, 147]</sup>.

-l'utilisation de standards communs pour uniformiser les résultats. Les standards recommandés en 1987 sont produits par l'université de Louis villes (Antiphospholipid standardization Laboratory, University of Louisville, Kentucky, USA) et couramment appelés « standards Harris » <sup>[28]</sup>.

## **DEVELOPPEMENT DES TROUSSES COMMERCIALISEES ET DIVERSITE DES PROTOCOLES UTILISES**

Etant donné l'enjeu commercial du diagnostic biologique du SAPL, un grand nombre d'industriels proposent ces kits, qui donnent entre eux des résultats discordants.

Tincani <sup>[290]</sup> compare les trousse commercialisées fournies par 13 industries italiennes, et Reber <sup>[255]</sup> compare 8 trousse utilisées en France. Les protocoles ne sont pas identiques. Les différences identifiées concernent :

-la dilution de l'échantillon (1/50 contre 1/100), le volume ajouté dans chaque puits (100 ou 200µl) et le temps d'incubation (de 30 à 150 minutes) ;

-le conjugué utilisé/type (peroxydase ou phosphatase alcaline), quantité (100 ou 200µl) et le temps d'incubation (de 15 à 30 minutes).

- le substrat utilisé : quantité (100 ou 200µl) et le temps d'incubation (de 6 à 30 minutes).
- le nombre de standards inclus (de 1 à 7)
- la valeur seuil (de 5 à 23 GPL et de 6 à 15 MPL)

Les échantillons contrôles : 7 utilisent des contrôles négatifs et positifs, 2 utilisent uniquement des contrôles négatifs et 2 n'utilisent aucun contrôle.

23 des 24 laboratoires présents au 7<sup>ème</sup> symposium international sur les anticorps anti-phospholipides (New Orleans, 1996) réalisent un ELISA-aCL, appliquant des protocoles pas complètement comparables. Pour détecter les anti-phospholipides, 18 laboratoires utilisent les « standards Harris » : En Europe, un questionnaire envoyé à 30 laboratoires révèle que 100% d'entre eux réalisent un ELISA-aCL en 1<sup>ère</sup> intention et 24 d'entre eux utilisent les standards Harris.

En somme, de nombreuses trousse commerciales et test "maison" existent.

### **MAUVAISE REPRODUCTIBILITE DES RESULTATS**

Sur 24 laboratoires européens qui ont accepté de doser les anticorps anti-cardiolipines de 10 échantillons en exprimant les résultats de manière semi quantitative, seulement 6 donnent des résultats identiques.

L'évaluation multicentrique française des trousse commerciales confirme ce manque de reproductibilité. Huit kits sont comparés au test "maison" selon le protocole de Harris. Tous utilisent 7 standards HARRIS identiques<sup>[28]</sup>.

Les dosages successifs par chaque trousse d'un échantillon de 50 GPL et MPL donnent des résultats qui s'échelonnent de 15 à 48 GPL et 15 à 45 MPL respectivement, les résultats sont concordants entre différents centres. Par contre, le taux de positivité entre les différentes trousse est très variable (18,9% à 48,9% de ces échantillons tests).

La distribution internationale d'étalons standard ne suffit pas à instaurer une bonne reproductibilité des résultats. En fait plusieurs lots de ces standards ont été produits et il y'a peu de concordance d'un lot à un autre.

### **L'UKEQS (UNITED KINGDOM EXTERNAL QUALITY SURVEY)**

Un programme de contrôle de qualité révèle que les résultats varient autant avec les tests « maison » qu'avec les trousse commercialisées, et ce en dépit de l'utilisation de standards communs.

Pour les laboratoires généraux, il est actuellement recommandé d'utiliser les trousse commerciales plutôt qu'un test maison, effectués par un personnel inexpérimenté [314].

L'autre raison majeure de cette fluctuation des résultats est la variation de la valeur seuil celle-ci est en rapport avec l'utilisation des différentes méthodes de calcul ; la plupart des auteurs utilisent la moyenne des sérums normaux additionnée de N déviations standards.

Harris et Alarcon Segovia, dans les années 1990 préconisent 5 déviations standard pour obtenir une spécificité correcte. "N" varie en fait de 2 à 6 si on regarde les différentes études publiées. La distribution des anticorps anti-cardiolipine dans la population normale n'est pas gaussienne, la méthode de percentiles parait la plus adaptée (95-98<sup>ème</sup> p le plus souvent) mais est adoptée par peu de laboratoires malgré les recommandations internationales.

#### ***A RETENIR***

*Les différences de protocole, des valeurs seuil, et l'absence de standards impliquent la nécessité de poursuivre les efforts de standardisation initiés en 1986.*

*La reproductibilité des résultats reste mauvaise. La signification clinique des anticorps anti-phospholipides est discutée. Tant que le test n'est pas complètement standardisé, l'interprétation et la comparaison des résultats de différentes études doit être relativisée.*

Au forum européen des anti-phospholipides (janvier 2004-Mai 2004), un protocole européen de standardisation des anticorps anti-phospholipides a été entrepris et a permis d'établir des recommandations internationales comprenant :

-L'utilisation de nouveaux calibrants et contrôles contenant des anticorps monoclonaux produits par le Professeur Koike, les HCAL et les EY2C9 comme références internationales [287].

-L'addition d'unités arbitraires (MAU/GAU, MPL/GPL).

-Le dosage doit se faire en double, la détermination de la valeur seuil doit être déterminée pour chaque laboratoire sur au minimum 50 plasmas normaux (calculés en percentiles 97, 98 ou 99).

Ce qui est attendu de ce protocole, c'est la moindre variabilité entre les kits commercialisés et les kits maison et de meilleures sensibilité et spécificité.

## **b. Anticorps anti-phospholipides**

Secondairement, Harris teste en 1995 un ELISA dont l'antigène est un mélange de phospholipides anioniques .Il est possible que ce test soit aussi sensible et plus spécifique que l'ELISA-aCL [179].

*Cerner avec précision le contour du SAPL nécessite une grande rigueur non seulement dans la réalisation mais aussi dans l'interprétation des examens biologiques en particulier en regard des valeurs seuil. La présence d'un anticoagulant circulant anti-prothrombinase ou d'anticorps anti-cardiolipine comme critère diagnostique du SAPL place les problèmes techniques au centre des préoccupations .il n'est pas possible de définir la valeur seuil d'un test peu spécifique s'il est faiblement positif de façon arbitraire. D'autre part, l'absence de reproductibilité affaiblit la valeur de ces critères ; il est nécessaire de définir et utiliser rapidement des tests de référence afin de continuer à préciser la définition du SAPL, en déterminant le seuil à partir duquel les anticorps sont spécifiques par une analyse de sensibilité.*

## **III-8. LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES COFACTEUR**

Les années 1990 sont marquées par une avancée dans le diagnostic et la physiopathologie du SAPL. Les « anti-phospholipides » associés aux manifestations thrombotiques ne sont pas dirigés contre les phospholipides eux-mêmes. Ils se fixent sur des protéines plasmatiques de forte affinité pour les phospholipides .la plus connue étant la  $\beta$ 2glycoprotéine I [208].

Au contraire, les anticorps retrouvés dans d'autres circonstances (infection, tumeur) en absence de thrombophilie sont réellement dirigés contre la cardiolipine et les autres phospholipides anioniques. La recherche directe des anticorps anti- $\beta$ 2GPI semble prometteuse pour le diagnostic de syndrome des anti-phospholipides. Rapidement, les études montrent une association avec les manifestations thrombotiques plus forte qu'avec les " anti-phospholipides conventionnels" puis d'autres cibles sont identifiées : la prothrombine [122, 214,215], l'annexine V [160], la phosphatidyléthanolamine (PE) [273], la protéine C et la protéine S.

### **III-8-1. Notion de cofacteur**

La nécessité d'un cofacteur pour la liaison des "anti-phospholipides conventionnels" aux phospholipides est connue depuis 1959. Le rôle de la prothrombine est alors soulevé, puis infirmé.

Il faudra attendre les années 1990 pour démontrer la nécessité de la  $\beta$ 2GPI ou de la prothrombine<sup>[21]</sup>, pour la fixation des anticorps aux plaques recouvertes de phospholipides anioniques, ou pour la mise en évidence d'une activité anti-coagulante anti-prothrombinase.

### **III-8-2. Cofacteur et anticorps anti-cardiolipine**

Depuis 1986, il est recommandé d'utiliser du sérum bovin adulte ou du sérum de veau fœtal comme tampon dans L'ELISA aCL. Ils améliorent la détection des anticorps, sans que le mécanisme en soit compris, puis en 1990, plusieurs groupes démontrent que dans les maladies auto-immunes, contrairement aux maladies infectieuses, les anticorps anti-cardiolipine nécessitent un cofacteur pour se lier à la cardiolipine :

C'est une protéine sérique de 50 kDa, la  $\beta$ 2GPI, un inhibiteur plasmatique de la coagulation, de forte affinité pour les phospholipides<sup>[192]</sup>. C'est pourquoi les tampons de saturation et/ou de dilution des échantillons doivent contenir du sérum ou du plasma d'origine animale, afin d'apporter une quantité suffisante de  $\beta$ 2GPI.

Le test ELISA-aCL détecte à la fois des anticorps dépendants de  $\beta$ 2GPI qui seraient spécifiques du syndrome des anti-phospholipides, et les anticorps indépendants de la  $\beta$ 2GPI, non associés au syndrome des anti-phospholipides.

### **III-8-3. Cofacteur et anticoagulants circulants anti-prothrombinase**

Les expériences de 1959, combinées à la description du syndrome anticoagulant-hypoprothrombinémie, désignent la prothrombine comme cible antigénique potentielle des anticoagulants circulants anti-prothrombinase.

Il faudra néanmoins attendre les années 1990 pour démontrer que l'activité anticoagulante nécessite comme le test ELISA aCL, un cofacteur : la prothrombine dans la majorité des cas, ou la  $\beta$ 2GPI.

Récemment certaines méthodes ont été décrites permettant la différenciation entre les LA anti- $\beta$ 2GPI et anti-prothrombine. Simmelink (2003)<sup>[220]</sup> et ses collaborateurs différencient les LA anti- $\beta$ 2GPI en rajoutant des vésicules de cardiolipine dans le test APTT ; l'addition de ces vésicules modifient les temps de coagulation.

Pengo (2004) <sup>[220]</sup>, rapporte que la réduction de la concentration de calcium dans le dRVVT ou le TTD augmentent le temps de coagulation lorsqu'il s'agit de LA anti- $\beta$ 2GPI.

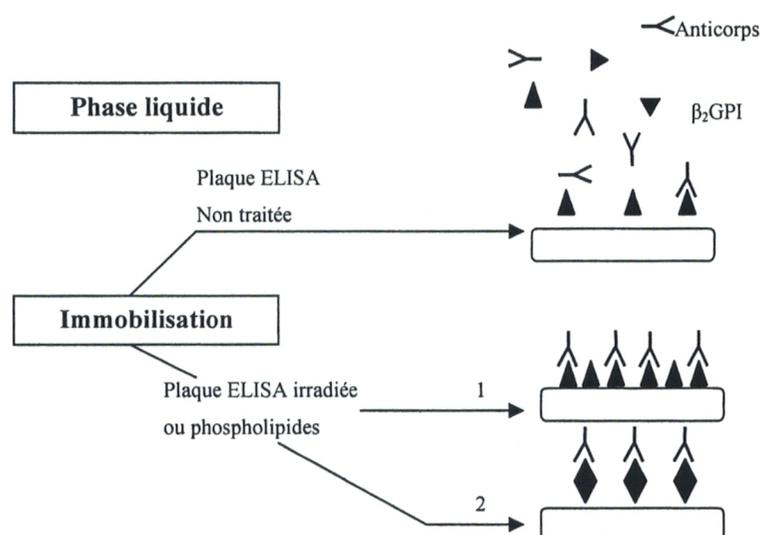
### III-8-4. Anticorps dirigés contre les protéines cibles

Les anticorps détectés au cours du SAPL sont en fait dirigés contre des protéines qui ont une forte affinité pour les phospholipides : la  $\beta$ 2GPI et la prothrombine principalement, mais aussi les protéines C ou S, l'annexine V, les kininogènes de haut et de bas poids moléculaire, la prékallikreine ou le facteur XI, et probablement d'autres, pas encore identifiées.

#### a. Anticorps anti- $\beta$ 2GPI

Le  $\beta$ 2GPI-Elisa pourrait s'avérer un bon test diagnostique du SAPL. Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI, qui seraient plus spécifiques du SAPL, sont détectés à la fois par les tests ELISA-aCL et le  $\beta$ 2GPI-ELISA, alors que les anticorps anti-cardiolipine authentiques, peu spécifiques ne sont détectés que par l'ELISA-aCL. Cependant, l'étude de leur signification clinique doit prendre en compte leur hétérogénéité.

#### a-1. Détection des anticorps anti- $\beta$ 2GPI par test immunologique



**Fig. 13 :** *Interprétation de la réactivité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI faisant intervenir un changement de conformation de la protéine (1) ou la faible affinité des anticorps (2)*  
D'après Arvieux et col. 2003 <sup>[9]</sup>

L'antigène des « anticorps anti-cardiolipine  $\beta$ 2GPI-dépendants » est la  $\beta$ 2GPI. Les anticorps se fixent sur la  $\beta$ 2GPI humaine purifiée, immobilisée sur microplaque en absence de phospholipides. Le choix des plaques utilisées dans le  $\beta$ 2GPI-ELISA est crucial. : Chlorure de polyvinyle ou polystyrène irradié <sup>[292]</sup> (**Fig.13**).

L'irradiation ( $\beta$  ou  $\gamma$ ) augmente la sensibilité des tests (plaques qualifiées de « high binding »), elle entraîne une oxydation du polystyrène qui produit des groupes carbonyle chargés négativement qui pourraient mimer les phospholipides.

Les deux interprétations suivantes (non mutuellement exclusives) sont proposées pour rendre compte de l'effet de la fixation de la  $\beta$ 2GPI à des charges anioniques.

1- Il est possible que le(s) changement(s) de conformation de la  $\beta$ 2GPI après immobilisation sur une surface phospholipidique ou sur le polystyrène irradié expose(nt) un (ou plusieurs) déterminant(s) antigénique(s) masqué(s) dans la structure native de la protéine <sup>[232]</sup>.

2- La densité de  $\beta$ 2GPI fixée aux plaques est augmentée par le traitement préalable du plastique, favorisant la liaison d'anticorps de faible affinité par des interactions bivalentes <sup>[9]</sup>.

Il n'existe pas de consensus quant au choix de l'anticorps révélateur : anti-immunoglobulines polyvalentes (anti-IgG, +IgM, IgA), anti-IgG (H+L) ou anti- $\gamma$  spécifique.

### **a-2. Hétérogénéité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI**

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI font partie intégrante de la grande famille des anti-phospholipides ou anti-complexe «protéine-phospholipide», qui comprend des anticorps et activités anti-coagulantes de spécificités et propriétés très diverses dont toutes n'ont sans doute pas été identifiées <sup>[274]</sup>.

*Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI eux même ne sont pas uniformes.*

### **a-3. Anticorps anti- $\beta$ 2GPI et activité anti-coagulante**

Comme les anticorps anti-cardiolipine détectés par ELISA, certains anticorps anti- $\beta$ 2GPI présentent une activité anti-coagulante, alors que d'autres n'en présentent pas <sup>[261]</sup>.

### **a-4. Anticorps anti- $\beta$ 2GPI et anticorps anti-cardiolipine**

De nombreuses études ont comparé l'Elisa aCL avec le  $\beta$ 2GPI-ELISA pour confirmer la meilleure spécificité de ce dernier. De manière surprenante, de rares échantillons de

patients donnent des résultats discordants anticorps anti-cardiolipine négatifs/anticorps anti-  $\beta$ 2GPI positifs. Deux explications existent :

D'après *Arvieux (2001)* <sup>[9]</sup>, certains anticorps sont spécifiques d'espèce, ils reconnaissent la  $\beta$ 2GPI humaine (utilisée dans Le test Elisa-a $\beta$ 2GPI) mais pas la  $\beta$ 2GPI bovine (prépondérante dans l'ELISA aCL). Cependant, la majorité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI reconnaissent des zones d'homologie entre espèces animales, ce qui se traduit par la positivité des deux tests précédents. Les faux négatifs de l'ELISA aCL, sont peu fréquents car les anticorps anti- $\beta$ 2GPI de spécificité restreinte à la protéine humaine sont presque exclusivement de type IgM. Or ils sont souvent associés à des IgG non spécifiques d'espèce et correctement détectées.

D'après *Alarcon Segovia*, les anticorps détectés uniquement par ELISA-a $\beta$ 2GPI, reconnaissent des epitopes rendus inaccessibles par l'interaction de la protéine avec les phospholipides. Il recommande l'utilisation d'un ELISA-a  $\beta$ 2GPI sur plaques non irradiées chez les patients qui présentent les manifestations cliniques du SAPL sans « anti-phospholipides conventionnels ».

#### **b. Anticorps anti-prothrombine**

Ces anticorps comprennent les anticorps dirigés contre la prothrombine seule (aPT-A) et les anticorps dirigés contre le complexe phosphatidylserine et prothrombine (aPS-PT)

Ils sont détectés par Elisa. Les associations cliniques rapportées dans la littérature sont contradictoires <sup>[188]</sup>, La relation entre la présence de ces anticorps et celle des complications thromboemboliques n'est pas encore établie, seules certaines études ont montré une association significative <sup>[3, 111]</sup>.

La sensibilité et la spécificité des aPS-PT est plus élevée que celle des aPT, par ailleurs 95 % des patients présentant des aPS-PT ont des LA positifs ce qui suggère l'utilisation comme test de confirmation des LA, rapportée dans une seule étude <sup>[16]</sup>.

Le test Elisa anti-prothrombine est loin d'être standardisé et de nombreuses variables influencent les résultats. Dans l'état actuel des connaissances, la recherche des anticorps anti-prothrombine ne paraît pas encore s'imposer en routine.

#### **c. Anticorps dirigés contre d'autres protéines cibles**

La reconnaissance du rôle essentiel de la  $\beta$ 2GPI et de la prothrombine dans la détection des anticorps anti-phospholipides fait envisager l'implication d'autres protéines,

plasmatiques ou exprimées à la surface des cellules sanguines, et de l'endothélium vasculaire, dans la fixation d'anticorps non détectés par les tests conventionnels mais pouvant s'associer au SAPL, et jouer un rôle dans sa pathogénie.

- **Anticorps dirigés contre l'annexine V**

Ces anticorps ont été décrits dans des contextes de pertes fœtales, l'annexine V est une protéine qui se fixe sur les phospholipides anioniques avec une très forte affinité et exerce une puissante activité anticoagulante in-vitro. Elle est fortement exprimée à la surface apicale des microvillosités du syncytiotrophoblaste riche en phosphatidylserine. Gris et ses collaborateurs <sup>[118]</sup> ont montré que les anticorps anti-annexine V d'isotype IgG représentaient un facteur de risque de pertes foetales dites « inexplicées » (OD ratio 3.2).

- **Anticorps dirigés contre la protéine C et S**

Des anticorps dirigés contre la protéine C et S complexées aux phospholipides, distincts des anticorps anti-cardiolipine et de l'anticoagulant circulant sont mis en évidence dès 1993.

### **III-8-5. Signification de ces anticorps dirigés contre ces protéines cibles**

Au terme de cette longue énumération des protéines cibles, la question essentielle est la suivante. Le démantèlement des anti-phospholipides basé sur leur reconnaissance d'une cible antigénique précise améliorera-t-il notre compréhension de l'origine de ces anticorps ou encore la prédiction d'un risque thrombotique associé ?

#### **a. Anticorps anti-β2GPI**

Dans ce sens, les données de la littérature concernant les anticorps anti-β2GPI sont encourageantes. Elles montrent une association avec les manifestations cliniques du SAPL plus fortes qu'avec les antiphospholipides conventionnels, "leur valeur prédictive" du SAPL serait meilleure <sup>[126]</sup>.

#### **b. Autres anticorps dirigés contre les protéines cibles**

La relation entre la présence de ces autres anticorps et celle de complications thromboemboliques n'est pas encore établie : la littérature est d'ores et déjà discordante en ce qui concerne la valeur diagnostique des anticorps anti-prothrombine <sup>[109, 214, 215, 222]</sup>.

### **III-9. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL**

Le syndrome des anti-phospholipides est l'un des risques thrombotiques sévères touchant les artères ou les veines. L'originalité de ce syndrome est qu'il s'accompagne d'autres manifestations cliniques [174, 218]. D'autres circonstances peuvent prédisposer aux thromboses artérielles ou veineuses, (thrombocytopénie induite par l'héparine, homocystéinémie, désordres myéloprolifératifs et hyperviscosité, thrombophilie...), toutes ces circonstances peuvent être détectées dans le laboratoire de routine. Il est important d'éliminer les autres facteurs de risque thrombotique tel que la stase veineuse, les médications notamment les contraceptifs oraux et les facteurs d'athérosclérose.

Il est parfois difficile de distinguer les différents facteurs de risque chez un patient atteint de SAPL bien documenté, tel que le syndrome nephrotique souvent associé au SAPL qui est lui-même un risque thrombotique.

### **III-10. TRAITEMENT ET PRONOSTIC**

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

#### **III-10-1.Prévention primaire**

En présence d'anticoagulant circulant, ou d'anticorps anticardiolipine à un taux élevé (>40 U) sans manifestation clinique, un traitement par aspirine à faibles doses peut être institué. Il paraît d'autant plus indiqué dans le contexte de LES, de grossesse, de facteurs de risque vasculaires associés. Ce traitement est connu pour réduire le risque d'accident vasculaire cérébral ischémique et de perte embryofœtale [140]. Les autres antiagrégants plaquettaires n'ont pas été évalués dans cette indication. Dans les situations à risque majoré de thrombose, notamment veineuse, une prévention par héparine de bas poids moléculaire à dose iso coagulante s'impose.

### **III-10-2. Prise en charge des thromboses**

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

Sous anti-vitamine K, l'objectif est d'obtenir un INR compris entre 3 et 3,5 .En effet, plusieurs études ont montré que les récives thrombotiques sont fréquentes lorsque l'INR est inférieur à 3 et exceptionnels au-delà <sup>[92]</sup>.

Le traitement anticoagulant doit être poursuivi au long cours, car la récive thrombotique est fréquente sans traitement: 50 % à 2 ans et 78 % à 8 ans, bien équilibré, son efficacité est proche de 100 % puisque le risque de récive de thrombose est alors de l'ordre de 1.5 % par an. Ce risque est majeur (54 %) durant les six mois qui suivent l'arrêt du traitement AVK. Le sevrage apparaît donc à éviter formellement <sup>[63]</sup>.

### **III-10-3. Prise en charge des complications obstétricales**

La découverte d'anti-phospholipides chez une femme enceinte, asymptomatique et sans antécédent évocateur de SAPL, n'impose pas de traitement car la probabilité de mener cette grossesse à terme est de l'ordre d'une chance sur deux. Toutefois, un traitement par aspirine à dose antiagrégante, dont l'innocuité est prouvée, peut être envisagé dès le début de la grossesse. En revanche, en cas d'antécédent de perte(s) foetale(s), un traitement est impératif dès le début de la grossesse. On peut commencer par l'aspirine seule (50 à 150 mg/j) dont l'efficacité est au moins de 40 % jusqu'à 100 % dans une étude rapportée <sup>[266]</sup>. Elle est habituellement arrêtée à la 35<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée afin de permettre une anesthésie péridurale.

En cas d'échec de l'aspirine seule, le traitement de référence est l'association aspirine-héparine sous-cutanée qui permet d'obtenir 70 à 80 % de réussite <sup>[172]</sup>. La surveillance d'une grossesse dans le cadre d'un SAPL doit être attentive rapprochée effectuée conjointement par un obstétricien et un interniste <sup>[266]</sup>.

#### **III-10-4. Prise en charge des valvulopathies**

L'antibioprophylaxie de l'endocardite bactérienne doit être appliquée malgré la rareté des surinfections. Un traitement symptomatique notamment diurétique peut être indiqué dans environ 5% des cas. Des cas d'amélioration de valvulopathies sous corticoïdes (1mg/kg/j) ont été décrits mais aucune étude n'en a prouvé l'intérêt. Dans environ 2 à 7% des cas, un remplacement valvulaire est nécessaire : il doit être suivi d'une anticoagulation efficace quelle que soit la nature de la valve et même en l'absence d'antécédent thrombotique. La mortalité périopératoire peut atteindre 25 %<sup>[266]</sup>.

#### **III-10-5. Prise en charge des thrombopénies**

L'objectif thérapeutique est de maintenir les plaquettes au-delà de 50 Giga/l. La corticothérapie est souvent suffisante. En cas d'échec, le danazol, la dapson ou les immunoglobulines intraveineuses peuvent être efficaces. En dernière ligne, la splénectomie est efficace dans 90 % des cas y compris durant la grossesse<sup>[104]</sup>.

#### **III-10-6. Prise en charge du syndrome catastrophique des aPL.**

L'association d'une anticoagulation à dose curative, d'une corticothérapie et de plasmaphérèses permet de réduire à 30 % la mortalité de cette complication gravissime<sup>[32]</sup>.

### **III-11. CONCLUSIONS PERSPECTIVES DE DEVELOPPEMENT**

Le SAPL constitue une entité complexe, à la fois clinique et biologique, connue depuis longtemps ainsi que ses premiers outils diagnostiques. Cependant son approche physiopathologique connaît actuellement une évolution importante. Des perspectives d'études cliniques, biologiques et thérapeutiques apparaissent.

La découverte des véritables cibles des anti-phospholipides associés aux manifestations thrombotiques permet d'envisager une amélioration de la spécificité des techniques biologiques pour le diagnostic du SAPL.

Si les premières données concernent les anticorps anti-  $\beta$ 2GPI, semblent encourageantes, la place des autres anticorps dirigés contre les protéines cibles n'est pas définie.

# | PATIENTS -MATERIEL ET METHODES

Nous envisagerons successivement les modalités de recrutement des sujets, la réalisation des techniques et enfin le traitement des données.

## I. PATIENTS ET MATÉRIEL

### I.1. POPULATION DE MALADES

#### a- Patients sélectionnés

60 sujets des deux sexes comprenant 51 femmes et 9 hommes âgés de 16 à 65 ans ont été sélectionnés de septembre 2003 à décembre 2005 au centre hospitalier et universitaire de Tlemcen, pour participer à cette étude.

#### Critères d'inclusion :

Nous avons sélectionné les dossiers consécutifs des patients ,pour lesquels le diagnostic de lupus érythémateux systémique a été apporté de façon objective en se basant sur un ensemble d'arguments cliniques et biologiques, soit 11 critères de la classification ACR, définie en 1982 puis révisée en 1999, 4 critères sont exigés .

Ces patients ont été recrutés des différents services d'hospitalisation, principalement des services de médecine interne, de dermatologie et de néphrologie, ainsi que les patients adressés par les consultations externes de rhumatologie.

Les renseignements cliniques ont été fournis à partir des dossiers cliniques après avoir établi une fiche modèle. (**Annexe 2**).

#### b. Patients étudiés

Dans le groupe de patients sélectionnés, notre travail a consisté à recueillir les informations relatives aux manifestations du syndrome des anticorps anti-phospholipides (manifestations thrombotiques, complications de la grossesse et autres) en se basant sur les critères révisés de Wilson :

Les manifestations thrombotiques artérielles ou veineuses siégeant quelque soit l'organe ont été prises en compte.

Les thromboses veineuses apparues chez certains patients, ont été confirmées par échographie- doppler (thromboses veineuses profondes des membres inférieurs) ou phlébographie.

L'embolie pulmonaire par scintigraphie ventilation/perfusion,

La thrombose veineuse mésentérique a été confirmée par scanner abdominal l'angiographie pour la thrombose de la veine centrale de la rétine.

L'histopathologie (thromboses rénales en absence de lésion de vascularite)

Les thromboses neurologiques ont été confirmées par scanner ou par IRM.

Au plan obstétrical, les principaux éléments à prendre en compte, le nombre d'avortements (plus de 3, premier trimestre sans cause anatomique), 1 ou plusieurs morts fœtales à 10 semaines révolues de gestation inexplicables et 1 ou plusieurs enfants prématurés (<34 semaines) suite à une éclampsie ou à une insuffisance placentaire.

## **I.2. POPULATION TEMOIN**

Il s'agit de 62 sujets des deux sexes, comprenant 30 hommes et 32 femmes âgés de 19 à 51 ans en bonne santé apparente, en dehors de toute hospitalisation et sans antécédent (prise médicamenteuse au long cours de molécule pouvant induire un lupus, de contraceptifs oraux, avortements à répétition...) (**Annexe 2**).

Ce recrutement concerne les donneurs de sang chez qui la présence de treponem pallidum (agent de la syphilis), d'antigène HbS, d'anticorps anti-HCV et d'anticorps anti-HIV a été recherchée et trouvée négative.

## **I-3. LES PRELEVEMENTS**

Le bilan d'hémostase a été réalisé au laboratoire d'hémobiologie du centre hospitalier et universitaire de Tlemcen, en dehors de tout épisode infectieux, à distance d'un accident thrombotique (au moins 3 mois) .

Les modes de prélèvements ont été réalisés selon les recommandations édictées par l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) et du GEHT (Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose 1998) :

Réalisé classiquement sur un sujet à jeûne ou ayant pris un repas léger sans lipides, L'échantillon sanguin est obtenu par ponction veineuse franche, avec une aiguille de taille 19G (Gauge), sur citrate trisodique 0,109M (3,2%), dans un rapport de 9 volumes de sang pour un volume d'anticoagulant.

En ce qui concerne les donneurs de sang, le prélèvement a été réalisé avant chaque don de sang en suivant les mêmes recommandations.

Les prélèvements sont acheminés rapidement au laboratoire dans un délai d'une heure.

Les examens d'hémostase sont réalisés sur du plasma citraté très pauvre en plaquettes (inférieur à 10 Giga/l), obtenu par double centrifugation à 2500 g/minute pendant 15 minutes, dans un délai d'une heure, une décantation plasmatique est impérative entre les deux centrifugations, Le surnageant est recueilli à distance de l'interface avec l'air et le culot cellulaire, les aliquotes sont correctement identifiés puis congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour une conservation de moins de 2 semaines ou de préférence à  $-40^{\circ}\text{C}$  pour une conservation plus longue.

Avant l'étape analytique l'aliquot est décongelé dans un bain marie à  $37^{\circ}\text{C}$  jusqu'à la réalisation des analyses.

La mise en évidence d'une anomalie (présence de LA, aPA ou anticorps anti  $\beta 2\text{GPI}$ ) a été systématiquement contrôlée après 3 mois, de même les déficits en AT, PC, PS et l'excès de facteur VIIIc. Ainsi, seules les anomalies retrouvées à deux reprises ont été retenues comme facteur de risque.

## **II. MÉTHODES**

### **II-1. LES TESTS D'HEMOSTASE**

Les mesures ont été accomplies sur coagulomètre Start 4 et STA Compact CT, dont le principe de mesure en chronométrie est basé sur un mode de détection électromagnétique, qui met à profit l'augmentation de viscosité due à la formation progressive du caillot en détectant l'arrêt de rotation d'une bille d'acier placée dans le mélange plasma et réactif, une diminution de l'amplitude correspond à une augmentation de viscosité du milieu, soit au phénomène de coagulation. Un algorithme utilise cette variation d'amplitude, pour déterminer le temps de coagulation.

#### **II-1-1. Temps de Quick (TQ)**

Le principe consiste à comparer les temps de coagulation à  $37^{\circ}\text{C}$  d'un plasma citraté à étudier, pauvre en plaquettes après addition de facteur tissulaire, de phospholipides et d'ions calcium par rapport à un témoin normal servant de référence.

Le TQ explore les facteurs de la voie exogène d'activation du facteur X, FVII (proconvertine), FX (facteur stuart), FII (prothrombine), FV (proaccelerine) et le fibrinogène. Le réactif utilisé est la thromboplastine calcique (STA Néoplastine CI) préparée à partir de tissu cérébral frais, il contient également un inhibiteur de l'héparine.

### **II-1-2 .Dosage différentiel des facteurs de la voie extrinsèque de la coagulation**

#### **F II, F VII, F X, ET FV**

Le dosage différentiel de ces facteurs consiste à mesurer sélectivement dans le plasma l'activité coagulante de chacun d'entre eux, par la mesure du temps de coagulation à 37°C du plasma du patient en présence d'un réactif adapté.

Le principe consiste à ajouter à une dilution optimale du plasma à tester, un plasma déficient contenant tous les facteurs à l'exception de celui que l'on veut doser, de la thromboplastine calcique et à mesurer le temps de coagulation du mélange à 37°C. Dans ces conditions, le temps de coagulation est directement fonction de l'activité du facteur que l'on veut doser.

Cette mesure est faite quand le TQ exprimé en pourcentage, est inférieur à 70%.

### **II-1-3. Temps de céphaline et activateur : PTT Automate**

Il s'agit du le temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes (PPP) après addition de phospholipides, d'un activateur du système contact de la coagulation et d'ions calcium <sup>[186, 187]</sup>.

C'est un test semi analytique qui explore les facteurs de la voie endogène d'activation du facteur X (XII, XI, VIII, IX, X, II, V et le fibrinogène).

Le réactif utilisé est constitué de céphaline et d'un activateur particulière non sédimentable du système contact de la coagulation (silice). L'activation du facteur XII est standardisée en milieu tamponné.

### **II-1-4. Dosage différentiel des facteurs de la voie intrinsèque de la coagulation :**

#### **F VIII, IX, XI, XII**

Le principe de ces dosages consiste à mesurer un temps de céphaline activée sur un mélange du plasma à explorer et d'un plasma artificiellement déplété en l'un de ces facteurs à doser qui apporte l'ensemble des autres facteurs en excès. Dans ces

conditions, le temps de coagulation est directement fonction de l'activité du facteur que l'on veut doser. L'activité de chaque facteur est mesurée par comparaison au temps de coagulation d'un plasma commercial de référence dont l'activité est de 100%.

#### **II-1-5. Temps de thrombine (TT)**

Il s'agit du temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes auquel est ajouté de la thrombine exogène. Ce test explore la fibrinoformation, en présence d'héparine, qui est une antithrombine, ce temps s'allonge. Les résultats sont exprimés en secondes par rapport au temps d'un témoin.

Le temps est allongé lorsqu'il est allongé de 3 secondes par rapport au témoin. Les valeurs usuelles sont de 14 à 21 secondes.

#### **II-1-6. Temps de reptilase (TR) :**

C'est le temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes auquel est ajoutée de la reptilase, enzyme extraite du venin de vipère *Bothrops Atrox*.

La reptilase est capable de transformer directement le fibrinogène en fibrine par libération du fibrinopeptide A (FPA) de la chaîne A $\alpha$  du fibrinogène le temps de reptilase explore donc comme le temps de thrombine, la dernière phase de coagulation. Le temps est allongé lorsqu'il est allongé de 3 secondes par rapport au témoin. Les valeurs usuelles sont de 12 à 20 secondes.

#### **II-1-7. Dosage du fibrinogène**

La mesure est effectuée par méthode fonctionnelle chronométrique basée sur la mesure du temps de thrombine (TT), selon Clauss<sup>[74]</sup>. En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma contenant une faible concentration de fibrinogène est proportionnel au taux de fibrinogène plasmatique. Le réactif est de la thrombine calcique titrée (100 unités NIH/ml) contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine (fibriprest Automate).

#### **II-1-8. Numération des plaquettes**

Le taux de plaquettes a été déterminé sur automate de numération sanguine.

## **II-2. LES TESTS DE MISE EN EVIDENCE DES LUPUS ANTICOAGULANTS**

### **II-2-1. Les tests de dépistage**

#### **a. Le temps de céphaline activée (TCA) avec le réactif PTT LA**

##### **Définition :**

C'est un test à faible concentration en phospholipides qui consiste à déterminer un temps de céphaline + activateur (TCA) selon Langdell et ses collaborateurs <sup>[186, 187]</sup>.

##### **Principe :**

Le principe est basé sur la détermination du temps de céphaline activateur (TCA) avec le réactif PTT sensibilisé constitué de céphaline extraite de tissu cérébral de lapin et un activateur particulière (silice micronisée ) en milieu tamponné.

Les temps de coagulation sont plus allongés en cas de LA qui neutralisent les phospholipides du test.

##### **Mode opératoire :**

Nous réalisons avec ce réactif un TCA dont le temps d'incubation est de 3 minutes.

Le test est réalisé sur le témoin (T), le malade (M) :

Nous mesurons le temps de coagulation à 37°C de :

Plasma : 50µl

PTT LA homogénéisé avant emploi : 50µl

Mélanger et incuber à 37°C : 3mn

La réaction est déclenchée par :

CaCl<sub>2</sub> (0,025 M) : 50µl

- Témoin : est un pool de plasmas provenant d'au moins 20 sujets sains (donneurs de sang), parfaitement déplaqueté, utilisé frais ou après décongélation à 37°C.

##### **Interprétation :**

Les résultats sont exprimés en ratio :

Le ratio temps malade (M)/temps témoin (T) (PTTLA M/T) est calculé. Si ce ratio est supérieur à 1,2, le test est positif et doit entraîner la réalisation d'un test du mélange.

Réalisation du mélange : volume à volume.

## **b. Le temps de thromboplastine induite ou diluée (TTD ou TTI)**

Décrit par Schleider et col 1976, est un temps de Quick réalisé avec une thromboplastine diluée. Le test est réalisé sur les malades et les témoins.

### **Principe :**

Le principe consiste à mesurer en présence de thromboplastine calcique diluée, le temps de formation du caillot. On met en évidence l'absence ou la présence de LA.

### **Mode opératoire :**

La thromboplastine (Néoplastine CI), est diluée au 1/500<sup>ème</sup> dans le CaCl<sub>2</sub> (0,025M) soit (10 dans 4900 µl), préparée extemporanément.

Nous mesurons le temps de coagulation de :

-0,1 ml de plasma incubé à 37°C pendant 1 minute

La réaction est déclenchée par : 0,2 ml de thromboplastine diluée

On réalise pour chaque échantillon deux TTD :

- TTD malade (TTD M)

- TTD malade/témoin (1/1). 0,1 ml du mélange (TTD M/T)

### **Interprétation**

Le TTI est exprimé sous forme d'un ratio calculé :

On calcule le ratio :  $\frac{\text{Temps malade}}{\text{Temps témoin}}$

La mesure du témoin est incluse dans chaque série de test.

Le test ne peut être interprété que si le taux de prothrombine est supérieur à 80 %, il est négatif si le ratio est inférieur à 1,1 ; douteux entre 1,1 et 1,2 ; positif si supérieur ou égal à 1,2 <sup>[44]</sup> et doit induire un test de mélange.

Les valeurs de références sont obtenues à partir de plasma provenant de sujets sains.

### **• Remarque :**

Effectuer un test de correction en cas d' hyperfibrinogénémie : TTD FG

- Si taux de fibrinogène > 4 g/l faire la correction du TTD par le calcul selon la formule suivante : **TTDFG = TTD - (S × Fg)**

S=Pente de la droite de régression entre TTD et fibrinogène

S=0,081 (thromboplastine de cerveau de lapin <sup>[97]</sup>).

### II-2-2. Epreuve de correction :

Le test de mélange permet la mise en évidence de l'effet inhibiteur du plasma par la présence d'un anticoagulant circulant.

On apprécie la correction de l'allongement du ou des test(s) de dépistage (PTT LA ou TTD) après mélange à parties égales, du plasma à tester et d'un pool de plasmas témoin. Si le test du mélange est normal, on procède au même test après une incubation d'une heure à 37°C. La non correction de l'allongement initial du ou des tests (PTTLA ou TTD) est évaluée par le calcul de l'index de Rosner (IR)<sup>[44]</sup>.

$IR = [(temps\ du\ mélange\ (M+T) - temps\ (T) / temps\ (M)] \times 100.$

$$* PTTLA : IR = \frac{PTTLA \times 1/2 - PTTLA\ témoin}{PTTLA\ malade} \times 100$$

$$* TTD IR = \frac{TTD \times 1/2 - TTD\ témoin}{TTD\ malade}$$

Si IR est <12 le test est négatif, 12 et 15, le test est douteux et s'il est  $\geq$  à 15, le test est positif.

La présence d'un inhibiteur se traduit par la non correction de l'allongement initial du test (test positif), au contraire la normalisation du temps de coagulation par l'ajout de plasma normal (test de mélange négatif) est en faveur d'un déficit de l'un des facteurs explorés par le test. En l'absence de correction totale après le mélange avec du plasma normal, on effectue un test de confirmation (Staclot LA pour le PTTLA).

Le test du mélange utilisant le principe de TTD est considéré comme un test de confirmation.

### II-2-3. Test de confirmation : Le Staclot LA

Décrit par Rauch<sup>[263]</sup>. C'est un test de neutralisation par des phospholipides purifiés en phase hexagonale. Ce test démontre la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur et d'effectuer le diagnostic différentiel entre anticoagulants de type lupique et anticoagulants spécifiques.

**Principe :** En solution aqueuse à 37°C les molécules de phosphatidyléthanolamine (PE) purifiées présentent des structures moléculaires hexagonales de phase HII. Ces structures sont reconnues par les anticorps antiphospholipides de type lupique. En système de temps de Céphaline + activateur sensibilisé, l'apport de PE de phase HII corrige l'allongement du TCA du à la présence de LA. Le test prévoit un apport de plasma normal (correction des déficits en facteurs) et contient un inhibiteur d'héparine

(polybrène, efficace jusqu'à une 1U/ml). Le réactif de TCA est sensible au LA (Phospholipides de cerveau de lapin, silice micronisée).

### **Mode opératoire**

<b>Dans un tube à hémolyse à 37°C</b>	<b>Tube 1</b>	<b>Tube 2</b>
Plasma du malade.....	25	25
<b>Réactif 1</b> Tampon .....	25	25
<b>Réactif 2</b> Ethanolamine.....	–	25
Mélanger, incubé pendant	9 mn	
<b>Réactif 3...</b> plasma normal.	25	25
Mélanger, incubé pendant	1 mn	
<b>Réactif 4...</b> Réactif PTT-LS	50	50
Mélanger, incubé pendant	5 mn	
En déclenchent un chronomètre, ajouter le <b>CaCl<sub>2</sub></b> 0,025M préincubé à 37°C	50	50

**Tableau 5 :** *Mode opératoire du test Staclot LA*

### **Modalités techniques :**

Réalisées sur le coagulomètre STRART 4 (**Tableau.5**) :

On mesure les temps de coagulation (TC) :

TCA (malade+Tampon) :T1

TCA (malade +PE) :T2

Calcul de la différence : T1-T2

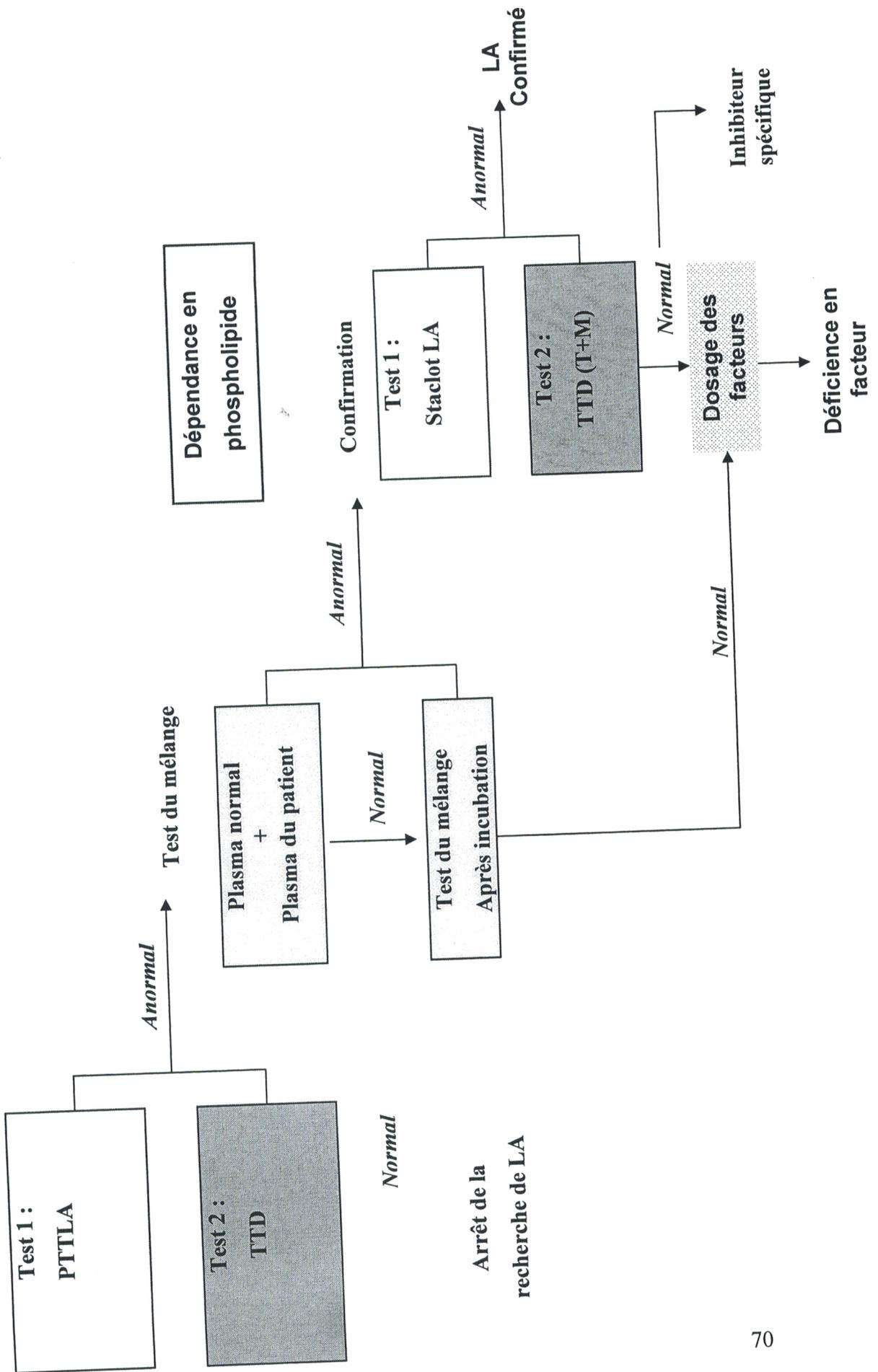
### **Interprétation :**

Une diminution du temps de coagulation du tube 2 (T2) supérieur ou égale à 8 secondes par rapport à celui du tube 1 est significative d'une neutralisation des anticorps anti-phospholipides.

• **Remarque :** Un temps de coagulation du tube 2 supérieur à celui du tube 1 n'a pas de signification particulière.

CONDUITE PRATIQUE TENUE DANS CE TRAVAIL POUR LA MISE EN ÉVIDENCE DE LA.

**DÉPISTAGE**



*Normal*

Arrêt de la  
recherche de LA

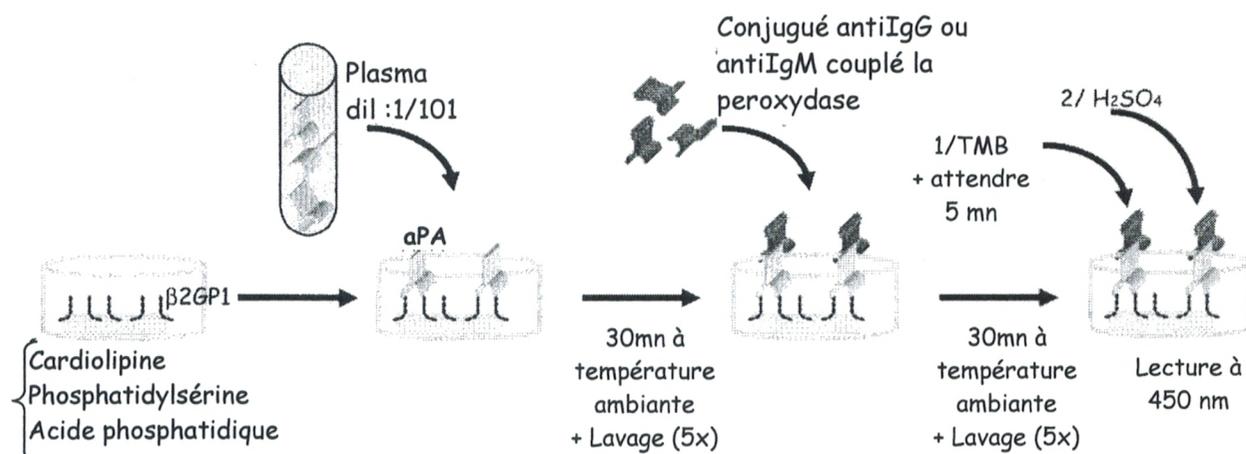
## II.3. TESTS DE DOSAGE DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES PAR METHODE IMMUNOLOGIQUE

Ces anticorps, sont recherchés par méthode immunologique indirecte en utilisant un test ELISA Sandwich (Enzym Linked Immunoassay-Sorbent Assay).

### II-3-1. Dosage immuno-enzymatique et typage des anticorps anti phospholipides (Asserachrom aPA IgG, M).

**Définition :** Dosage semi quantitatif des anticorps antiphospholipides (aPA) de classe IgG ou IgM par méthode ELISA.

#### Principe :



**Fig.14 :** Dosage immuno-enzymatique des aPA IgG ou IgM

Un support plastique recouvert de phospholipides (cardiolipine, acide phosphatidique et phosphatidylsérine) est mis en contact avec une solution stabilisante contenant de la  $\beta 2GPI$ , cette dernière se fixe sur les anticorps anti-phospholipides éventuellement contenus dans le plasma à tester : les aPA fixés sont révélés à l'aide d'un immunoconjugué qui se fixe sur les déterminants antigéniques libres, le taux de peroxydase liée est mesuré par son activité sur un substrat, l'intensité de la coloration, après arrêt de la réaction par un acide fort, est fonction de la concentration initiale d'anticorps anti-phospholipides présente dans le milieu (**Fig.14**).

### Mode opératoire :

Déposer dans les puits:		
<b>FIXATION DES aPA</b>	ECHANTILLON (plasma dilué et dilution étalon)	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 5 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement		
<b>FIXATION DE L'IMMUNO CONJUGUE</b>	* Soit anti-IgG couplé à la peroxydase	200 µl
	* Soit anti-IgM	200 µl
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 5 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre		
<b>COLORATION</b>	TMB(tétraméthylbenzidine)	200 µl
	Attendre très exactement 5 minutes à 18-25°C pour chaque échantillon puis ajouter:	
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 M	50 µl
Après avoir distribué l'acide dans tous les puits, agiter la plaque		
<b>15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction, mesurer l'absorbance à 450nm Ajuster le 0 sur le blanc réactif</b>		

**Tableau 6 :** *Dosage immuno-enzymatique des anticorps antiphospholipides IgG et IgM*

L'antigène est adsorbé sur un support solide constitué de 12 barrettes de 8 micropuits en plastique dans un premier temps (**Tableau.6**).

L'échantillon dilué est distribué dans un puits, s'il contient les anticorps recherchés, ceux-ci vont se fixer sur l'antigène. Après incubation, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non fixés.

On ajoute ensuite un conjugué, un anticorps monoclonal de souris anti-IgG ou anti-IgM humaine couplé à la peroxydase qui se fixe au complexe antigène-anticorps précédemment formé. Après incubation, l'excès de conjugué est éliminé par un second lavage. L'étape de chromogénèse est réalisée en déposant le substrat de l'enzyme TMB. Au cours de celle-ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-phospholipides présents dans l'échantillon.

- L'addition de  $H_2SO_4$  1M permet de bloquer la réaction enzymatique
- La lecture des densités optiques à 450 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape de réalisation du test.

Les échantillons, les contrôles et les étalons doivent être testés de façon simultanée, les échantillons sont dilués au  $1/101^{ème}$ , l'étalonnage est réalisé à l'aide d'un calibrant contenant une quantité connue d'anticorps anti- $\beta 2GPI$ , exprimée en GPL/ml et MPL/ml, sa concentration étant le point le plus élevé de la courbe, la gamme d'étalonnage est réalisée à l'aide de 5 points permet par interpolation, de définir le titre du sérum patient. Les anticorps utilisés sont des anticorps monoclonaux, HCAL (IgG ACL activité) et EY2C9 (IgM ACL activité).

#### d- Expression des résultats et Interprétation

Sur du papier bilogarithmique, porter en abscisse le taux d'anticorps anti phospholipides IgG des différents points de la gamme d'étalonnage et en ordonnée la valeur de l'absorbance correspondante, de même pour les IgM. Les taux d'anticorps des échantillons testés sont lus directement sur les courbes d'étalonnage.

Le taux d'anticorps est normalement inférieur à la valeur du seuil de positivité, les valeurs seuil données par la littérature des aPA IgG et IgM sont respectivement de 11 unités GPL et de 9 MPL /ml.

### II.3. 2. Dosage immuno-enzymatique des anticorps anti $\beta 2GPI$ IgG et IgM : $\beta 2$ -LISA

#### IgG/IgM

##### Principe

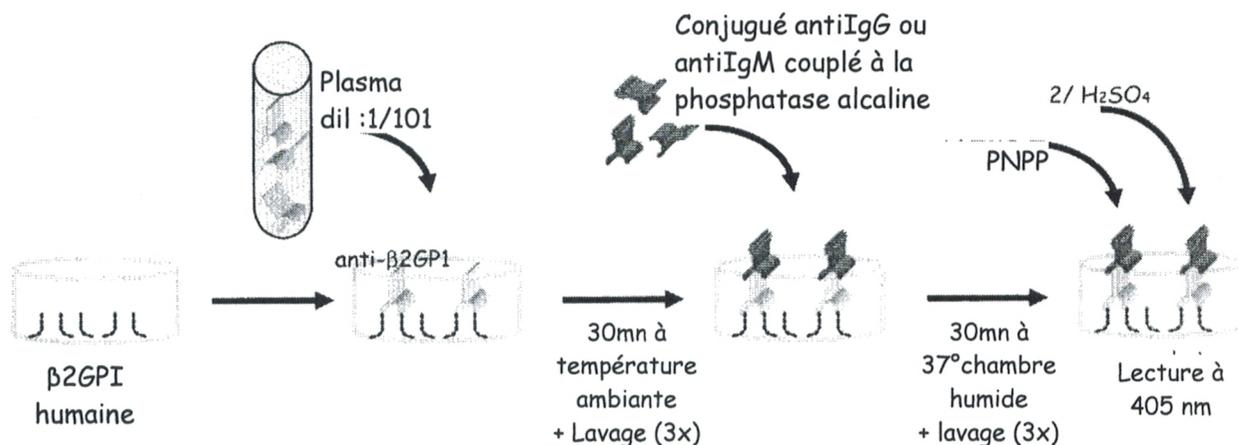


Fig.15 : Dosage immuno-enzymatique des  $\alpha \beta 2GPI$  IgG ou IgM

Le test permet la détection par méthode ELISA des anticorps dirigés contre la  $\beta$ 2-glycoprotéine I ou apolipoprotéine H, d'iso type IgG ou IgM (**Fig.15**).

L'antigène ( $\beta$ 2-GPI) est adsorbé sur un support solide constitué de 12 barrettes de 8 micropuits en plastique.

Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans chacun des puits. S'il contient les auto-anticorps recherchés, ceux ci vont se fixer à l'antigène, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non fixés.

On ajoute ensuite un conjugué (anti-IgG ou anti-IgM) humain couplé à la phosphatase alcaline qui se fixe au complexe antigène-anticorps précédemment formé. Après incubation l'excès de conjugué est éliminé par un second lavage, l'étape de chromogénèse est réalisée en déposant un substrat de l'enzyme. Au cours de celle ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'anticorps anti $\beta$ 2-GPI présents dans l'échantillon. L'addition de NaOH (soude) 1N permet de bloquer la réaction enzymatique.

### Mode opératoire

Déposer dans les puits :		
<b>FIXATION DES ANTI-<math>\beta</math>2GPI</b>	ECHANTILLON Plasma dilués ou calibreur	100 $\mu$ l
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 3 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement		
<b>FIXATION DE L'IMMUNO CONJUGUE</b>	* Soit Anti-IgG	100 $\mu$ l
	* Soit anti-IgM	100 $\mu$ l
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 3 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre		
<b>COLORATION</b>	PNPP	100 $\mu$ l
	Attendre très exactement 30 minutes à 37°C chambre humide pour chaque échantillon puis ajouter:	
	NaOH 1N	50 $\mu$ l
Après avoir distribué l'acide dans tous les puits, agiter la plaque		
<b>15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction, mesurer l'absorbance à 405 nm Ajuster le 0 sur le blanc réactif</b>		

**Tableau 7 : Dosage immuno-enzymatique des anticorps anti- $\beta$ 2GPI IgG et IgM**

Les échantillons, les étalons et les contrôles doivent être testés de façon simultanée. Ils sont dilués au 1/101<sup>ème</sup> en tampon TDL (tampon PBS- tween dilué). Les déterminations des anticorps antiβ2GPI IgG et IgM sont faites séparément et en double (**Tableau.7**).

Après une incubation de 30 mn à température ambiante, la microplaque est lavée au moins 3 fois par le tampon TDL. On procède ensuite à l'addition de conjugué anti-IgG et/ou IgM humaine dans les puits correspondants aux étalons, aux contrôles et aux échantillons, avec de nouvelles phases d'incubation et de lavage selon le même procédé. La révélation se fait par l'addition de substrat PNPP (**Para Nitro Phényl Phosphate**), avec une nouvelle incubation. La lecture des densités optiques à 405 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape de réalisation du test.

### **Résultats:**

Pour chaque iso type recherché, les résultats peuvent être calculés de la façon suivante :  
Calculer la densité optique (DO) moyenne pour le calibrateur, le contrôle positif et les échantillons testés en double.

Calculer pour chaque iso type, le facteur de conversion égal à :

$$\text{Facteur de conversion} = \frac{[\text{concentration de l'étalon en anti-}\beta 2\text{GPI (IgG ou IgM)}]}{[\text{Densité optique de l'étalon}]}$$

La concentration des anticorps anti-β2GPI IgG ou IgM de l'échantillon est alors égale à :

**Concentration d'anticorps anti-β2GPI de l'échantillon =**

Facteur de conversion × densité optique de l'échantillon

Le facteur de conversion doit être calculé pour chacun des étalons à chaque série sous peine d'invalider les résultats.

### **Interprétation**

Un taux d'antiβ2-GPI IgG ou IgM <10 unités arbitraires est négatif, un taux ≥ à 10 UA est positif

Ce test a été évalué par le Dr J. Arvieux (laboratoire d'immunologie CTS de Grenoble) par rapport aux résultats obtenus avec le test ELISA développé dans son laboratoire, les taux de concordance étaient de 100 % pour les IgG et 96 % pour les IgM.

## II-4. TESTS COMPLEMENTAIRES

### II-4-1. Mesure des inhibiteurs de la coagulation et de la résistance à la protéine C activée.

Les tests ont été effectués sur le STA Compact. Le principe de détection des tests chromogéniques est basé sur l'absorbance (densité optique, D.O) d'une lumière monochromatique (405 nm ou 540 nm) passant au travers d'une cuvette au moment où une réaction chromogénique a lieu. Les tests ont tous été réalisés selon les préconisations des fabricants.

#### a. Dosage de l'antithrombine (AT)

Le dosage photométrique de l'AT, utilise une méthode amidolytique sur substrat synthétique chromogène, il mesure l'activité cofacteur de l'héparine.

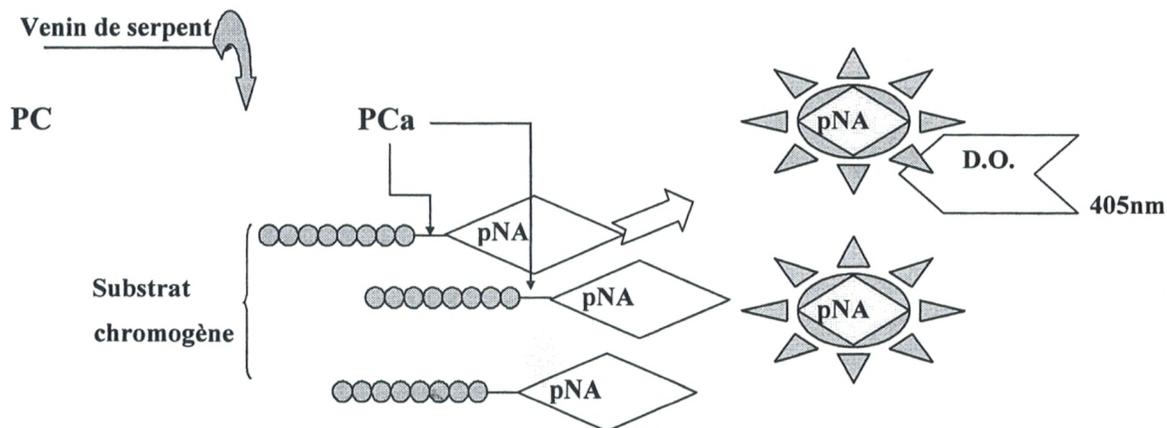
L'antithrombine (AT) exerce une action anti-thrombinique puissante et immédiate en présence d'héparine, cette méthode chromogénique étudie l'inhibition de la thrombine par l'AT plasmatique en présence d'héparine. La thrombine, d'une quantité fixe est apportée en excès à la dilution du plasma à tester. L'AT neutralise une partie de celle-ci par formation de complexes inactifs. La quantité de thrombine résiduelle hydrolyse le substrat chromogène CBS 61.50. Le taux de pNA (molécule chromophore, paranitroaniline) libéré, mesuré à 405 nm est inversement proportionnel à la quantité d'AT plasmatique présente dans le milieu. Le dosage n'est pas influencé par l'héparine thérapeutique :

Phase d'inhibition	$F\ IIa_{(excès)} + AT \xrightarrow{\text{héparine(plasma)}} II-AT_{(inactive)} + F\ IIa_{(résiduel)}$
Phase de détection	$F\ IIa_{(résiduel)} + \text{Substrat chromogène} \longrightarrow pNA$

#### b. Dosage de la protéine C

Comme dosage de première intention nous avons utilisé une méthode chromogénique qui teste l'activité fonctionnelle de la protéine C, insensible aux élévations du facteur VIII. Cette méthode (**Fig.16**) comprend une étape préalable d'activation de la protéine C dans le plasma du patient, non par la thrombine-thrombomoduline, l'activateur physiologique mais par un venin de serpent (Agkistrodon c.contortrix) [284]. La quantité de protéine C activée est déterminée par la mesure de son activité amidolytique sur le substrat synthétique CBS 42.46 (thc-Pro-Arg-Pna, aCoh). Le taux de pNA

(paranitroaniline) libéré, mesuré à 405nm, est proportionnel à la concentration en protéine C dans le plasma du patient.



**Fig.16 :** Dosage de l'activité PC sur automate STA compact par méthode amidolytique.

### c. Dosage immuno-enzymatique de la PS libre ou de la PS totale

Nous avons utilisé une méthode immuno-enzymatique (Asserachrom) permettant de doser la PS antigénique totale et la PS libre.

C'est un dosage par méthode immuno-enzymatique (ELISA) en un temps <sup>[26]</sup>.

Dans les puits d'une barrette plastique recouverts d'anticorps monoclonal anti-protéine S libre ou totale (fragments F (ab') 2) d'un premier anticorps monoclonal de souris anti-protéine S libre ou totale humaine, sont ajoutés le second anticorps monoclonal couplé à la peroxydase, et l'échantillon contenant la PS totale ou libre à doser. Celle-ci est captée simultanément par les deux déterminants antigéniques spécifiques de la PS totale ou libre. Elle est aussi fixée et marquée en une seule étape. Le taux de peroxydase liée est mesuré par son activité sur le substrat ortho-phénylène-diamine en présence d'eau oxygénée. L'intensité de la coloration, après arrêt de la réaction, par un acide fort, est fonction de la quantité de PS totale ou libre présente initialement dans le milieu.

### d. Recherche de la résistance a la protéine C activée (RPCA)

Le principe de la détection de la résistance à la PCa repose sur un allongement anormalement faible du temps de coagulation du plasma testé en présence de PCa et en milieu calcique dans le système STA Staclot RPCA, la coagulation de l'échantillon dilué est réalisée en présence de plasma déficient en facteur V et de venin de *Crotalus viridis heleri*. Ce venin agissant comme un activateur du facteur X, déclenche la coagulation à ce niveau et élimine l'interaction des facteurs situés en amont.

L'allongement du temps de coagulation d'un plasma normal en présence de PCa résulte de la capacité de la PCa apportée par le réactif, à inactiver le facteur Va du plasma testé. Les plasmas, dont le temps de coagulation est supérieur ou égal à 120 secondes, sont considérés négatifs vis-à-vis de la résistance à la PCa (APC-R positifs).

#### **II-4-2 Mesure des anticorps anti-ADN natif**

Le dosage est réalisé par méthode immuno-enzymatique dans le sérum humain, L'antigène ADN natif est adsorbé sur un support solide en plastique. Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans un puits, s'il contient les anticorps recherchés, ceux-ci vont se fixer sur l'antigène. Un premier lavage permet d'éliminer les éléments non fixés. On ajoute ensuite un conjugué anti-IgG humaine couplé à la phosphatase alcaline qui se fixe au complexe antigène-anticorps précédemment formé.

L'étape de chromogénèse est réalisée en déposant le substrat de l'enzyme PNPP

Au cours de celle-ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-ADN natif présents dans l'échantillon. L'addition de NaOH 1N permet de bloquer la réaction enzymatique, la lecture des densités optiques à 405 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape de réalisation du test.

#### **Résultats et interprétation**

Une gamme d'étalonnage constituée de 4 étalons, permet, par interpolation, de définir le titre du sérum du patient. Les titres des étalons (UI/ml) sont standardisés par rapport à la référence internationale : Wo/80 WHO. Le test est négatif si le taux est <7UI (39WHO), limite s'il est compris entre 7UI et 10UI et positif si > 10UI ou 56 WHO.

#### **II-4-3 Autres**

On a recueilli (dossier médical), pour le groupe des patients les examens complémentaires habituellement pratiqués dans le diagnostic de maladie lupique, à la date des prélèvements effectués pour ce travail.

- Numération et formule sanguine : Leucopénie, anémie ?
- Recherche et quantification d'anticorps antinucléaires, anticorps anti-ADN, anti-mitochondries, anti-muscles lisses.
- Positivité des tests de Coombs direct
- Dosage du complément C3 et C4
- Bilan inflammatoire.

## II-5. METHODES STATISTIQUES

Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel Epi-info 6.04 dfr puis sur SPSS 8.0 (Chicago, Illinois).

Des analyses univariées puis des régressions logistiques ont été effectuées pour étudier séparément les facteurs de risque du syndrome des antiphospholipides.

La stratégie utilisée dans l'analyse multivariée est la procédure descendante pas à pas selon l'approche de Hosner et Lemeshow<sup>[286]</sup>.

Nous avons effectué une analyse des caractéristiques cliniques et biologiques des patients et nous avons comparé sur ces caractéristiques les patients ayant un SAPL aux autres patients sans SAPL. Une corrélation entre les anticorps antiphospholipides et les anticorps anti- $\beta_2$ GPI a été recherchée au sein de ces deux groupes.

Nous avons ensuite étudié les valeurs diagnostiques de sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative des anticorps anti- $\beta_2$ GPI et de VPP des APA et LA pour le SAPL.

La sensibilité d'un test est la probabilité que ce test soit positif lorsque le patient est atteint de la maladie recherchée.

La spécificité est la probabilité que le taux d'anticorps soit négatif lorsque le patient n'a pas de SAPL.

La VPP est la probabilité de présenter un SAPL, si le test est positif, et la VPN est la probabilité de ne pas avoir de SAPL si le test est négatif.

Nous avons appliqué une transformation logarithmique aux variables biologiques afin d'avoir des courbes de distribution de ces variables proches de la courbe normale.

Les données qualitatives ont été comparées par les tests de Chi deux ou par le test exact de Fisher lorsque la taille des effectifs le nécessitait.

Les données quantitatives ont été comparées par l'analyse de variance ANOVA. La recherche d'une corrélation entre les aPA et les anticorps anti- $\beta_2$ GPI a été réalisée en calculant le coefficient de Pearson.

Une différence significative était définie par un degré de signification "p" inférieur à 0,05, les intervalles de confiance autour des valeurs de sensibilité, spécificité et VP ont été calculées par une méthode exacte tenant compte de la loi binomiale.

Les analyses statistiques descriptives et comparatives ont été réalisées avec le logiciel Minitab version 12.

# | RÉSULTATS

## I. RÉSULTATS CHEZ LES 60 PATIENTS ATTEINTS DE LES

### I-1 .CARACTERISTIQUES DES PATIENTS

Pour chaque patient une fiche détaillée comprenant des données cliniques et biologiques est établie. Ces patients se répartissent comme suite :

#### • Répartition selon le service de provenance

La majorité des patients étaient suivis par les services de médecine interne et de dermatologie principalement (Tableau.8).

Service de provenance	Effectif	%
Service de Médecine interne .CHU Tlemcen	44	73.5
Service de Néphro-Hemodialyse .CHU Tlemcen	2	3
Clinique de Néphro-Hémodialyse Renadial	2	3
Dermatologie .CHU Tlemcen	8	13.5
Pédiatrie .CHU Tlemcen	3	5
Rhumatologie. Consultation privée	1	2
	60	100

Tableau 8 : Répartition des patients selon les services de provenance

#### • Origine géographique

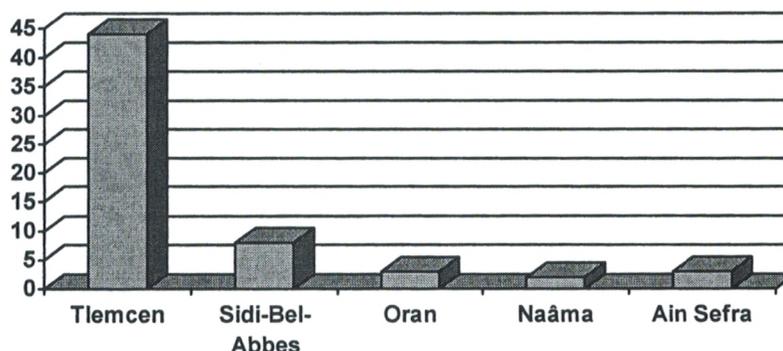


Fig.17: Répartition des patients selon l'origine géographique

Bien que pour des raisons évidentes de proximité, la majorité des malades résident à Tlemcen et dans les wilayas limitrophes (Oran, Ain Sefra, Sidi Bel Abbés...) le territoire couvert par le recrutement est assez vaste (Fig.17).

• Répartition selon l'âge et le sexe

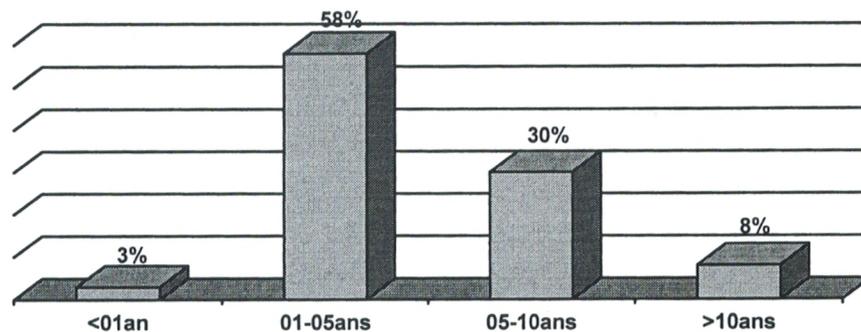
	Sexe		Tranches d'âge				
	Féminin	Masculin	10-19 ans	20-29 ans	30-39 ans	40-49 ans	50 ans et plus
Nombre	51	9	09	16	23	08	04
%	85	15	15	27	38	13	7

**Tableau 9 :** Répartition des patients selon l'âge et le sexe

La population lupique est composée de 9 hommes (15%) et 51 femmes (85%), le sexe ratio est de 0.176 (9/51) avec une nette prédominance féminine (**Tableau.9**).

Les malades sont âgés de 10 à 65 ans, La moyenne d'âge est de 32 ans  $\pm$  11, 84, le pic de fréquence observé était de 30 à 39 ans.

• Répartition selon l'ancienneté de la maladie



**Fig.18 :** Répartition selon l'ancienneté de la maladie

Les patients atteints de LES avaient une durée moyenne d'évolution de la maladie variant entre 1 et 10 ans (**Fig.18**).

- Répartition selon le traitement reçu

Type de traitement	Nombre de malades	%
Corticoïdes seuls	40	67
Corticoïdes+Nivaquine	06	10
Nivaquine	04	7
Aspirine ou anticoagulants	10 (8 et 2)	16(13 et 3)

**Tableau 10 :** Répartition selon le traitement reçu

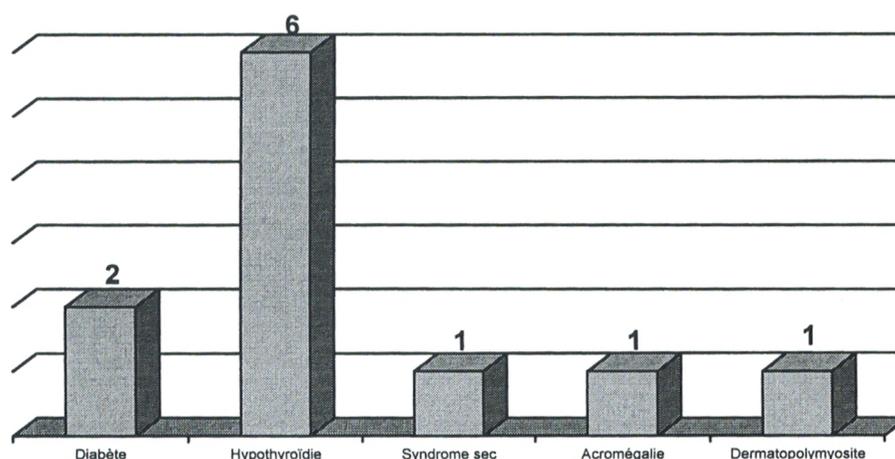
67% des patients étaient traités par les corticoïdes seuls, 10% traités par l'association des corticoïdes avec les antipaludéens de synthèse notamment la nivaquine (**Tableau.10**)

- Situation matrimoniale et antécédents obstétricaux

Sur les 33 patientes mariées, 9 avaient des antécédents de complications obstétricales dont cinq ont eu des morts in utero après 10 semaines de grossesse et trois avaient plus de trois avortements précoces à répétition (moins de 3 mois d'évolution de la grossesse).

- Maladies associées

L'hypothyroïdie était associée chez six patientes, le diabète chez deux patientes particulièrement (**Fig.19**).



**Fig.19 :** Répartition des patients selon les maladies associées

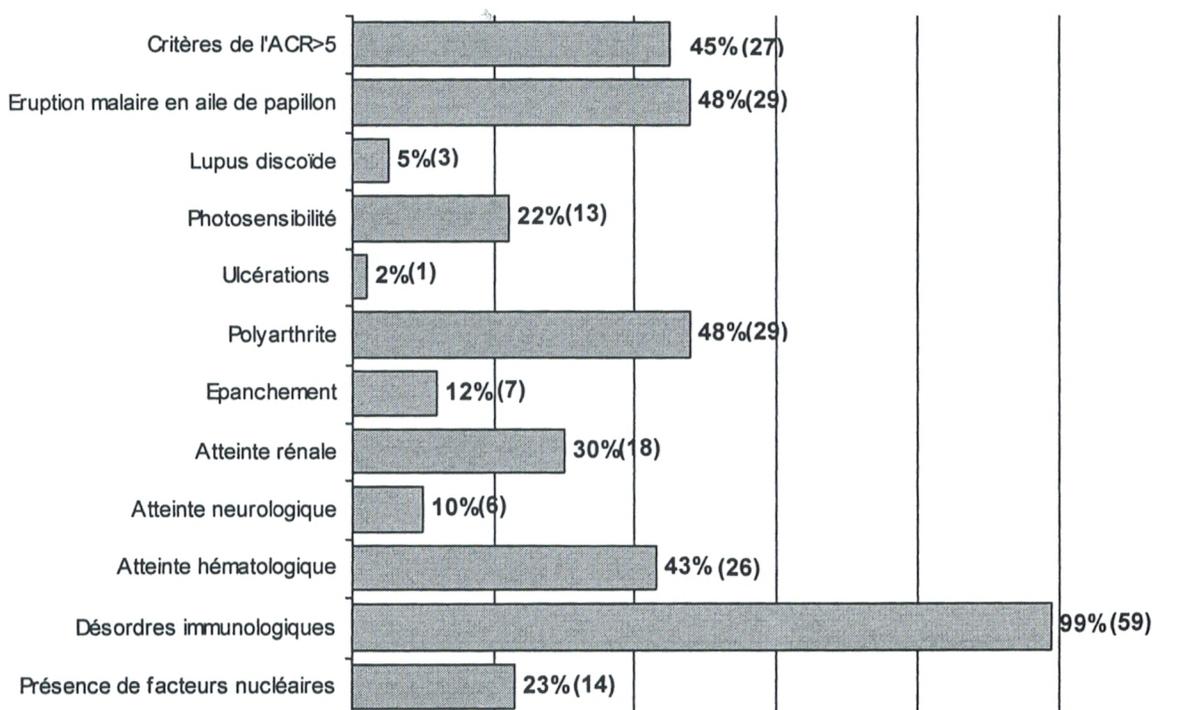
- **Manifestations cliniques des patients**

Les malades ont bénéficié d'un examen physique.

- ❖ **Critères du LES observés**

Tous les malades ont au moins quatre des onze critères recommandés par l'ACR pour le diagnostic du lupus érythémateux systémique.

La figure suivante montre les différents critères du LES observés dans la population de malades étudiée :



**Fig.20** : Fréquences des critères de l'ACR dans la population lupique.

Les symptômes dominants sont (**Fig.20**) :

Articulaires (48%) : à type de polyarthrites des petites et grosses articulations symétriques, et d'arthralgies

Dermatologiques (77%) : essentiellement la photosensibilité, et l'érythème en vespertilio, puis la chute de cheveux avec ou sans lésions de cuir chevelu, le livedo racemosa, les vascularites des extrémités et enfin, le syndrome de Raynaud (**photos 1-2**).

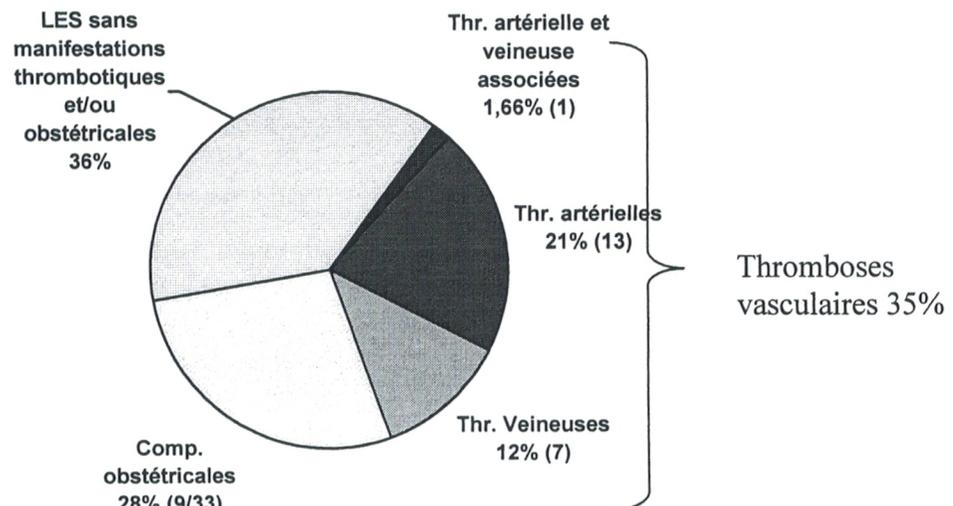
Les épanchements des séreuses : Principalement péricardiques, sont associés dans 12% des cas.

L'examen cardiaque couplé à une échographie systématique a objectivé trois valvulopathies mitrales, à type d'épaississement valvulaire avec ou sans insuffisance mitrale.

On a dénombré dix huit néphropathies glomérulaires (30%).

Les cytopénies 43% se partageaient entre les leucopénies (11%), les anémies (43%), essentiellement inflammatoires, carencielles puis auto-immunes, et dans un cas, l'anémie était rattachée à une  $\beta$  Thalassémie hétérozygote confirmée par l'enquête familiale, les thrombopénies étaient retrouvées ans 34% des cas.

#### ❖ Les manifestations thrombotiques et obstétricales observées



**Fig. 21 :** Manifestations thrombotiques et complications obstétricales observées chez les 60 patients lupiques.

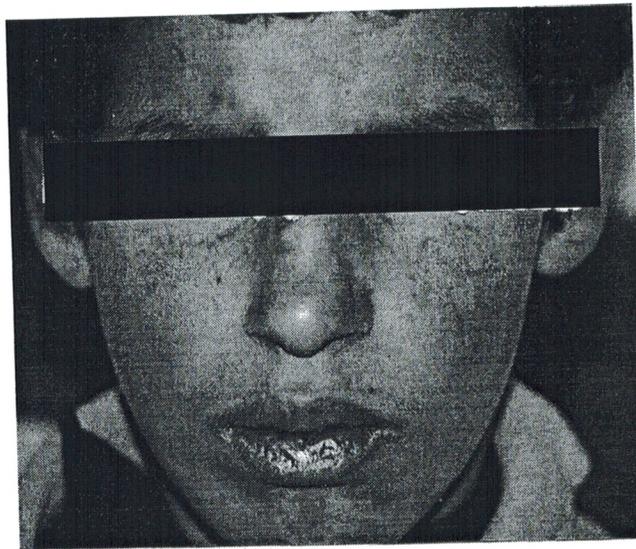
35% (21) présentaient des thromboses vasculaires argumentées (**Fig.21**), dont 61 % (13) étaient des thromboses artérielles et 39% (7) des thromboses veineuses.

Un patient avait des thromboses artérielle et veineuse associées (1,66%).

Les complications obstétricales observées dans cette population étaient de 28% (9/33).



**Photo1** : *Télangiectasies périungueales*  
(*Lésion vasculaire*)



**Photo2** : *Lupus érythémateux aigu du visage*  
(*Érythème en vesperilio*)

## I-2 .RESULTATS BIOLOGIQUES.

### I-2-1. Population témoin :

Ils se répartissent en 62 donneurs de sang : 30 hommes (48,4%) et 32 femmes (51,6%), écart type 0,504, sexe ratio 0.93, la moyenne d'âge est de 29 ans (min 19, max 51 ans, écart type 7,47).

#### a- Les tests d'hémostase

##### • Tests de routine

Les valeurs seuils ont été calculées selon les recommandations de l'ISTH <sup>[188]</sup>, la moyenne a été assignée à un intervalle de confiance de 5 % soit, la moyenne géométrique  $\pm$  2DS (Déviations Standards).

Variable	Notre étude				Littérature		
	Moy	Ecart type	IC (95%)	N	Moy	IC	N
TP (%)	92,2	8,73	74-110	60		70-120	
INR	1.07	0.09	0.9-1.2	60	1	0.8-1.2	51
TQ (sec)	12,8	0,76	11,2-14,3	60	13	11.5-14.5	51
TCA (sec)	36,1	2,79	30.5-41.7	60	33.2	28.6-38.2	42
FIB (g/l)	3.06	0,58	1,8-3,2	60	3.1	1.9-4.3	55
PLAQ (Giga/l)	256	58,84	139-375	54		150-450	
II (%)	102	10	82-122	54	110	78-138	44
V (%)	102	16	70-134	54	118	78-152	44
VII (%)	97	19	59-135	30	129	61-199	44
X (%)	105	15	75-135	30	124	96-171	44
VIII (%)	140	42	58-224	30	160	52-290	44

**Tableau 11 :** Valeurs normales des différents paramètres d'hémostase étudiés dans une population saine, comparaison de nos résultats avec la littérature.

Nos valeurs seuils sont proches de celles rapportées dans la littérature <sup>[190]</sup>, ces résultats valident donc la représentativité de notre groupe témoin (**Tableau.11**).

- **Tests de mesure des inhibiteurs de la coagulation et de la RPCA**

Les valeurs seuils des tests de détection des inhibiteurs de la coagulation et de la résistance à la protéine C activée ont été calculées selon les recommandations du GEHT comme les moyennes géométriques  $\pm 2$  DS.

Variable	Moyenne	Ecart type	Seuil 95%	N	Valeur seuil dans notre étude	Valeur seuil dans la littérature
RPCA (sec)	157	26,24	104-209.5	53	104	120
AT (%)	103,4	12,41	78.6-128.2	54	78	66
PC (%)	106,8	15,76	75.3-138.3	54	75	74
PST (%)	88,6	14	60.6-116.6	52	60.6	70
PSL (%)	98,86	17	64.8-132.8	52	64.86	60

**Tableau 12** : Valeurs normales des taux des inhibiteurs physiologiques de la coagulation étudiés dans une population saine.

Les valeurs seuils sont proches de celles rapportées dans la littérature <sup>[190]</sup> (Tableau.12).

**b- Les tests de mise en évidence des anticorps anti-phospholipides de type lupus anticoagulants (LA)**

Variable	Moyenne (sec)	Ecart type	N	Valeur seuil Notre étude	Valeur seuil Littérature
PTTLA	39	4,79	62	48,6	46
STACLOT LA	1.85	3.3	34	8.45	8
TTD	79.81	7.77	57	95.35	95

**Tableau 13** : Valeurs normales des tests de diagnostic des LA étudiés dans une population saine, comparaison de nos résultats avec la littérature.

Les tests de thromboplastine diluée (TTD) et PTT LA sont des variables brutes, le StacLOT LA est une variable calculée, exprimée sous forme de différence de temps bruts.

Les valeurs seuils sont voisines de celles rapportées dans la littérature (Tableau.13).

L'étude de l'influence de l'âge et du sexe des LA a été approfondie, et n'a retrouvé aucune corrélation ( $p > 0.05$ ).

**c- Tests de mise en évidence des anticorps anti-phospholipides dépendants de la  $\beta$ 2GPI par méthode immunologique (ELISA).**

Le calcul de la valeur seuil était basé sur les recommandations du comité international de standardisation [287], en utilisant le percentile, soit le 99<sup>ème</sup> a été choisi dans cette population, en raison de la distribution non gaussienne des densités optiques.

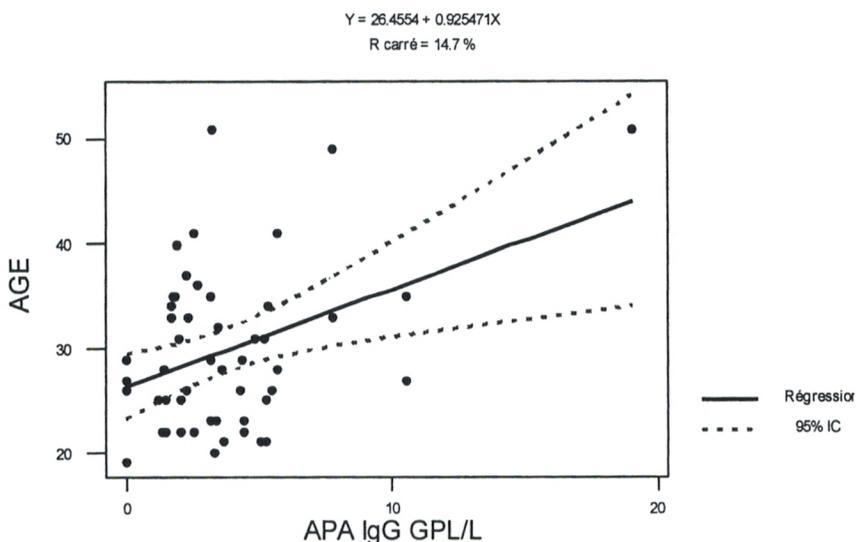
Pour des raisons économiques, les valeurs seuil ont été calculées chez 52 sujets.

Celles-ci ont été trouvées égales à 14.66 GPL/ml pour les aPA IgG et 9,4 MPL/ml pour les aPA IgM (**Tableau.14**). Elles sont proches de celles obtenues par le fabricant.

Variables	Moyenne GPL MPL/ml		Ecart type	Seuil 95%
	Minimum	Maximum		99p
aPA IgG	min 0	3,66 max 19	3,164	<b>14,66</b>
aPA IgM	min 0	3,53 max 9.5	2,75	<b>9,4</b>

**Tableau 14 :** Valeurs normales des taux des anticorps anti-phospholipides aPA IgG et IgM étudiés dans une population saine.

• **Influence de l'âge et du sexe :**



**Fig.22:** Corrélation significative des anticorps anti-phospholipides de type IgG avec l'âge ( $p < 0.01$ )

Seuls les aPA de type IgG sont corrélés avec l'âge ( $p=0.006$ ) (**Fig.22**), Les aPA IgM ne l'étaient pas ( $p= 0.505$ ). Aucune différence par rapport au sexe n'a été observée dans les deux tests. ( $p > 0.05$ ).

### e- Prévalence des aPL dans la population générale

La prévalence des anticorps anti-phospholipides dans la population générale est de 3.3%, celle des aPA IgG est de 1,7% et celle des LA est de 1.7%.

Un sujet présentait des aPA IgG à titre faible (19 GPL/ml) confirmé sur deux prélèvements espacés, et un seul sujet présentait des lupus anticoagulants répondant aux critères de l'ISTH et confirmés sur deux contrôles espacés dans le temps. Aucun cas d'aPA de type IgM positifs n'a été retrouvé.

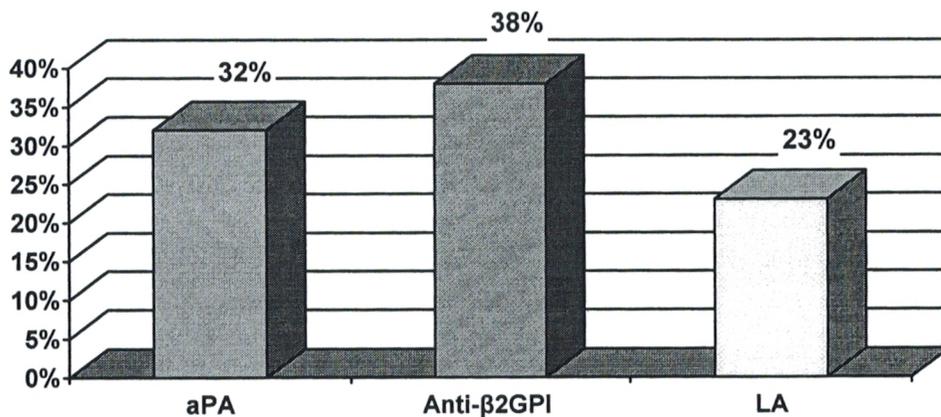
Ces résultats sont concordants avec la littérature<sup>[307]</sup>.

### I-2-2. Fréquences des anti-phospholipides au cours du LES

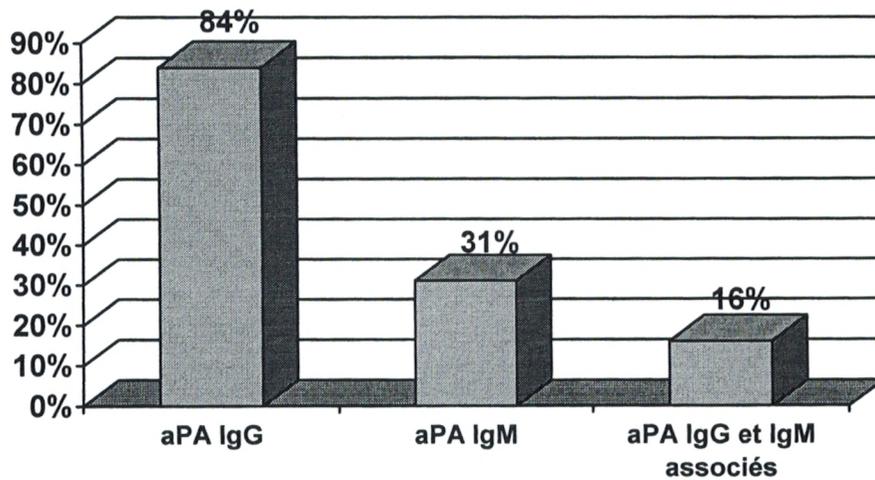
La fréquence des anti phospholipides au cours du LES est de 40% (24/60).

Les fréquences des aPA, des LA et des anticorps anti- $\beta$ 2GPI au cours du lupus érythémateux systémique, sont de 32%, 23% et 38% respectivement (**Fig.23**).

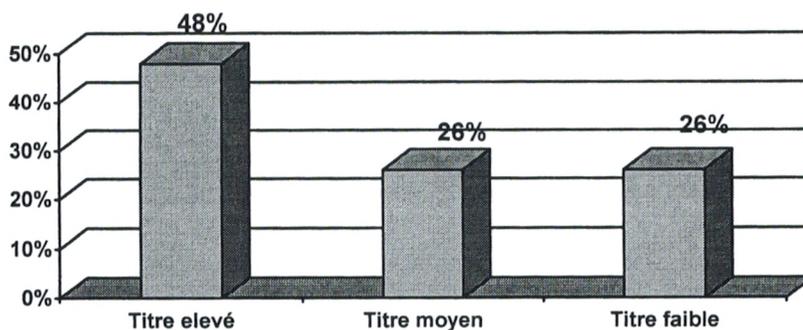
#### a. Anti-phospholipides conventionnels aPA et LA



**Fig. 23 :** Fréquences des anti-phospholipides au cours du LES.



**Fig. 24 :** Répartition des isotypes des anticorps anti-phospholipides chez les 19 patients aPA+



**Fig. 25 :** Répartition des titres des anticorps anti-phospholipides chez les 19 patients aPA+

Sur les 60 patients inclus, 32% (19) présentaient des anticorps anti-phospholipides détectés par les tests immunologiques (**Fig.24**),

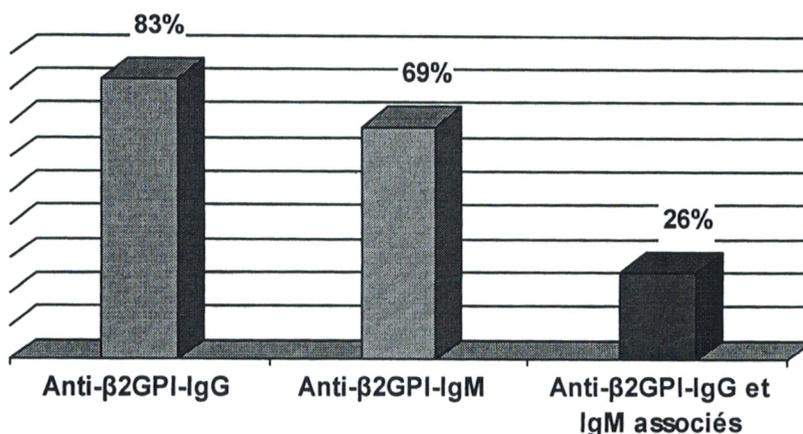
84 % (16) présentaient des aPA de type IgG dont 13 isolés.

31% (6) Présentaient des aPA de type IgM dont 3 isolés et 16% (3) présentaient des aPA IgG et IgM associés.

Les titres des anticorps anti-phospholipides IgG ou IgM variaient de faiblement positifs (26%, 5/19) à titre moyen (26%, 5/19) et fortement positifs (48% 9/19) (**Fig.25**).

La recherche de LA a été effectuée chez les 60 patients et est positive chez 23%(14).

## b. Les anticorps anti-β2GPI



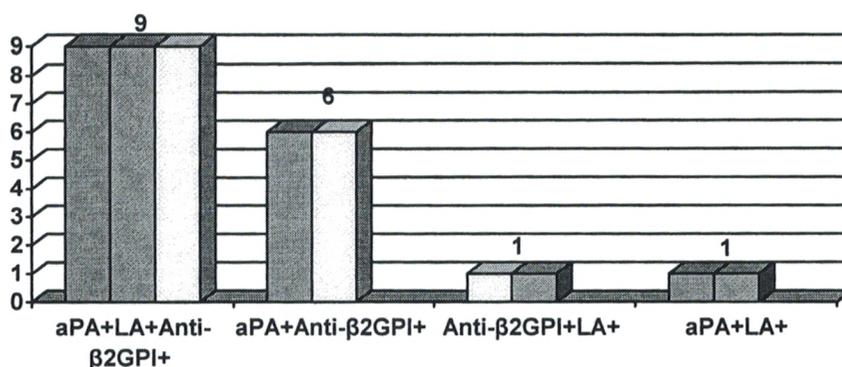
**Fig. 26 :** Répartition des iso types des anticorps anti-β2GPI chez les 23 patients anti-β2GPI +

La fréquence des aβ2GPI au cours du LES est de 38% (23) (**Fig.26**), les aβ2GPI IgG 22% (13) dont 54 % (7) isolés et 46% (6) associés aux IgM.

Les aβ2GPI IgM 27% (16) Dont 10 n'avaient pas de β2GPI IgG associés.

La répartition des anti-phospholipides chez les 60 patients dont les données étaient complètes (résultats d'anticorps anti-phospholipides IgG et IgM et présence ou non de LA) est rapportée en **annexe (3)**.

## c. Associations biologiques.



**Fig.27 :** Répartition des associations des anti-phospholipides au cours du LES

Sur 24 aPL positifs, 4 associations biologiques ont été observées au cours du lupus érythémateux systémique avec une prédominance de la triple positivité aPA, LA et aβ2GPI (**Fig.27**). 7 anticorps isolés aβ2GPI (4) ou LA (3) ont été retrouvés.

### I.2.3. Comparaison des patients aux sujets témoins.

#### a. Tests d'hémostase de routine

Paramètres	TQ		FG		Plq		TCA APTT	
	Témoins	LES	Témoins	LES	Témoins	LES	Témoins	LES
N	60	60	60	60	54	60	60	60
moyenne	92,2	93 .02	3.06	3.86	256	250	36,12	34.34
écart type	8.73	12.7	0.58	1.05	58.84	96	2.79	6.94
p	>0.05		>0.05		>0.05		>0.05	

**Tableau 15 :** Comparaison des tests de routine chez les sujets lupiques (LES) et les témoins

La différence n'est pas significative entre les groupes des patients atteints de lupus érythémateux systémique et les donneurs de sang (témoins), le fibrinogène était souvent supérieur à 4 g/l chez les patients lupiques du fait du caractère inflammatoire de la maladie(**Tableau.15**).

Les groupes sujets "normaux" et patients forment un ensemble homogène à numération plaquettaire normale.

Dans le groupe des patients atteints de lupus érythémateux systémique, 5 avaient une diminution modérée des plaquettes, seuls dans 3 cas le taux de plaquettes était fortement diminué ce qui explique, l'absence de différence significative entre les deux groupes.

#### c. Tests de mise en évidence des LA.

	Tests de dépistage				Test de confirmation	
	PTTLA (sec)		TTD (sec)		Staot LA (sec)	
	Témoins	Patients	Témoins	Patients	Témoins	Patients
Moyenne	39	38,81	79,81	85.43	1,85	1.58
Ecart type	4.79	17.68	7.77	23.2	3.39	17.03
Nombre	62	60	57	60	34	36
p	0,065		0, 67		>0.05	

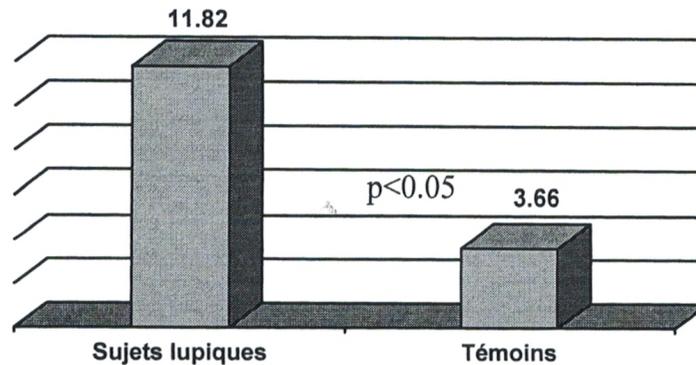
**Tableau 16:** Comparaison des tests de dépistage et de confirmation des LA chez les patients LES et témoins.

Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes de patients LES et les Sujets témoins. Le groupe LES ne se détache pas nettement du groupe de sujets normaux, de par leur composition hétérogène.

Le Staclot LA est une variable qui exprime la correction de l'allongement du temps de base par les phospholipides hexagonaux. Les deux groupes forment un ensemble homogène dont la moyenne est inférieure à la valeur seuil (**Tableau.16**).

### c. Les tests de détection des aPA par ELISA

#### Les aPA IgG

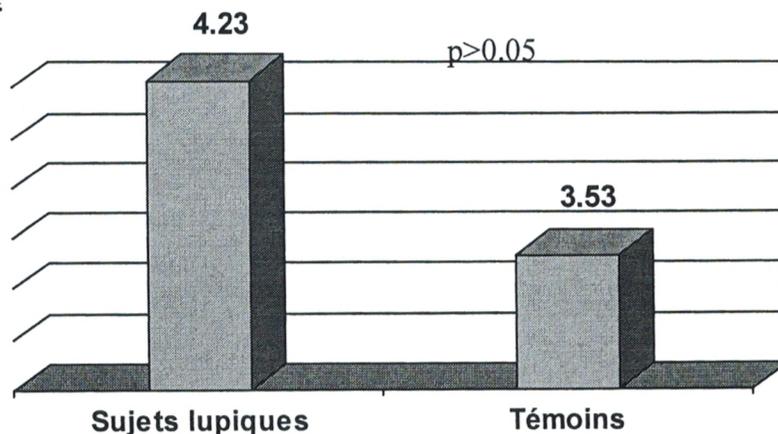


**Fig. 28 :** Moyennes des concentrations des aPA IgG chez les témoins (donneurs de sang) et les patients lupiques

Les moyennes chez les sujets normaux et les lupiques sont de de 3,66 (min 0, max 19 écarts type 3,16) et de 11,82 (min 0, max 65, écart type 14,3) respectivement.

Une différence significative a été observée chez ces deux groupes ( $p < 0.05$ ) (**Fig.28**).

#### Les aPA IgM



**Fig. 29 :** Moyennes des concentrations des aPA IgM chez les témoins (donneurs de sang) et les patients atteints de LES.

La moyenne chez les témoins est de 3,53 (min 0, max 9,5 écart type 2,76)

La moyenne chez les lupiques est de 4,23 (min 0, max 55, écart type 7,915)

Aucune différence significative n'a été observée. ( $p > 0.05$ ) (**Fig.29**).

## II. PREVALENCE DU SAPL

Sur les 24 patients aPL+ de la population lupique, 20(33%) sont définis SAPL selon la classification de Wilson révisée en 2004 (Fig.30).

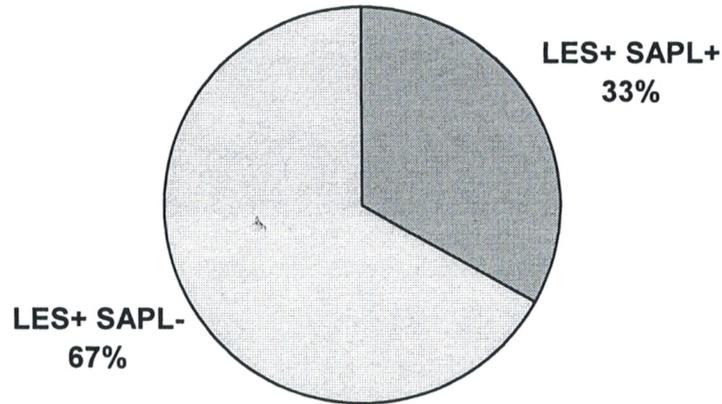


Fig.30 : Prévalence du SAPL dans la population lupique

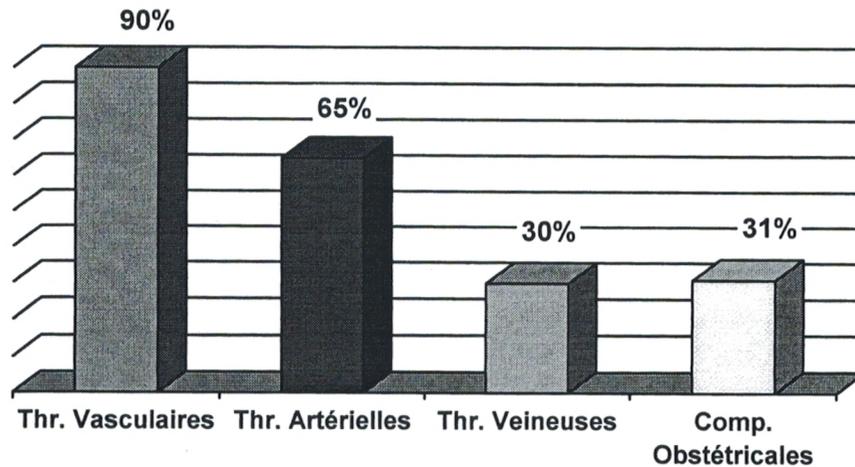
### II-1. CARACTERISTIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE SAPL:

**a- La moyenne d'âge** est de 30 ans (min 10, max 54, écart type 9,8), ceux ci n'étant pas significativement plus jeunes que les patients sans SAPL.

#### **b- Manifestations cliniques**

La fréquence des thromboses vasculaires était de 90% (18/20), celle des thromboses artérielles de 65% (13/20) et celle des thromboses veineuses de 30%.(6/20)

La fréquence des complications obstétricales était de 31% (5/16).



**Fig.31 :** *Fréquences des thromboses vasculaires et des complications obstétricales au cours du SAPL.*

Nous avons observé chez ces 20 patients :

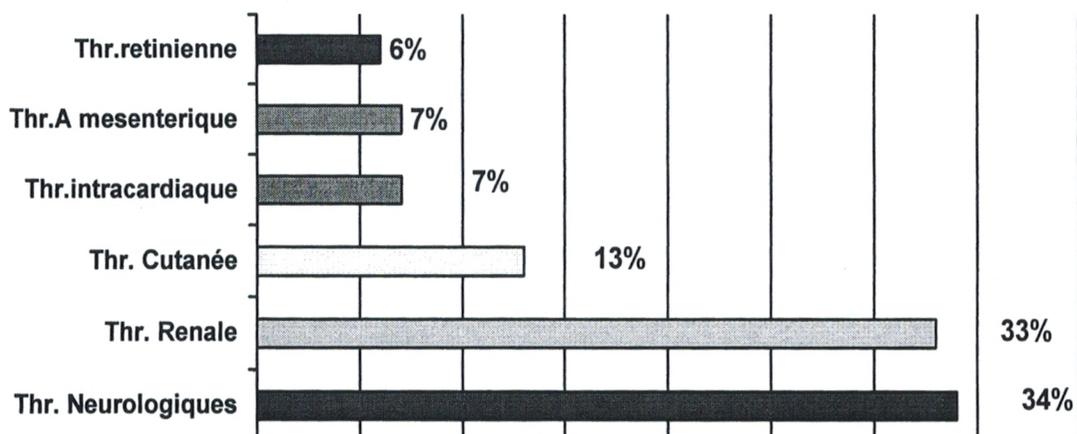
**-21 thromboses vasculaires observées chez 18 patients (Fig.31):**

- 4 thromboses veineuses iléo-fémoro-poplitées.
- une occlusion de la veine centrale de la rétine
- 14 thromboses artérielles rénales, vasculaires, cérébrales et rétiniennes
- Une (1) cardiomyopathie ischémique compliquée d'hypertension artérielle pulmonaire : endocardite de LIEBMAN SACHS.
- Un (1) très probable syndrome catastrophique des aPL.

**- Cinq (5) Interruptions de grossesses sans cause évidente :**

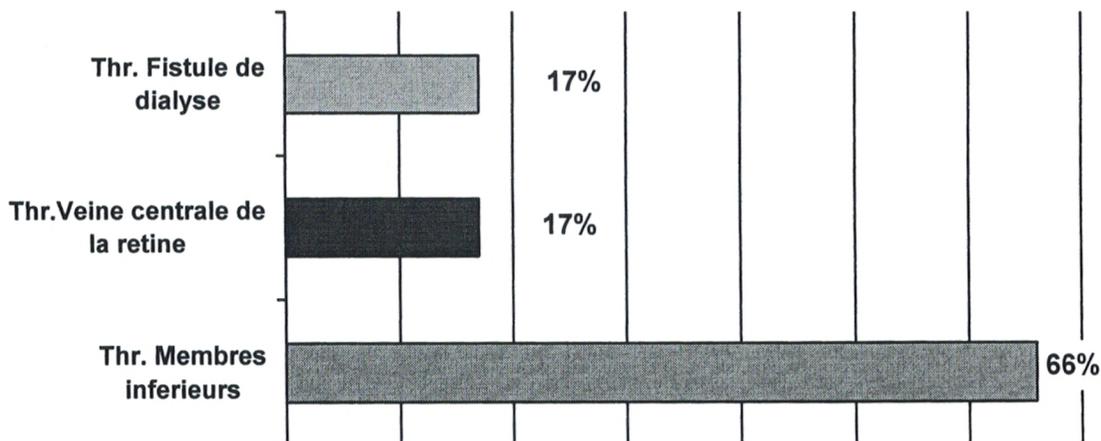
Trois patientes avaient plus de 3 avortements répétés. L'une de ces patientes est celle qui a présenté une thrombose veineuse iléo-fémoro-poplitée. Elle a donc toute à la fois *un SAPL obstétrical et un SAPL vasculaire.*

3 patientes avaient des morts in-utéro sans cause expliquée.



**Fig.32 :** *Fréquences des différents sites de thromboses artérielles au cours du SAPL.*

Les thromboses artérielles sont plus fréquentes que les thromboses veineuses au cours du SAPL dans cette population, le cerveau est le plus souvent atteint sous forme d'accident vasculaire ischémique cérébral (37%), les thromboses rénales sont fréquentes (36%). Les 28% restants sont représentés par les thromboses rétinienne, intracardiaques et cutanées (**Fig.32**).



**Fig. 33 :** *Fréquences des différents sites de thromboses veineuses au cours du SAPL.*

Les membres inférieurs sont le siège le plus commun des thromboses veineuses observées soit 66%. Les autres sièges étaient au niveau de la veine centrale de la rétine et de la fistule de dialyse (**Fig.33**).

En somme 20 syndromes des antiphospholipides définis sur 24 patients APL positifs soit 33%, dont 2 SAPL purement obstétrical, soit 10%.

L'étude clinique complète des 20 cas de SAPL est résumée dans le tableau ci-après.

N/ Age - sexe	Anti-phospholipides			Evénements obstétricaux	Thromboses vasculaires	Autres signes de SAPL	Traitement
	aPA	aβ2GPI	LA				
M1/F23	<b>40GPL</b>	+	-	non	Thr .A. rénale		Cortancyl
M7/F29	<b>65GPL</b>	+	+	G3P0 3 abrts à moins de 10 semaines	AVC Ischémique		Cortancyl
M8/F18	25.2GPL	+	+	non	Gangrène distale des doigts AVC ischémique	Syndrome de Raynaud	Prédnisone AVK
M10/H35	18GPL	+	+		T. A. Mésent	Thrombopénie	Prédnisone
M13/H22	-	+	-		TVP M inf gauche		Cortancyl
M15/F54	29GPL 16MPL	+	+		Thr. A rénale		
M16/F36	<b>41GPL</b>	+	-		T. fistule dialyse	Valvulopathie RM	
M17/F28	21GPL	+	+		T.A. rénale	thrombopénie	
M19/F31	-	+	+	Morts fœtales 6		Thrombopénie sevère	
M25/F41	<b>35GPL</b>	+	-		AVC-CIVD SAPC	Thrombopenie	Cortancyl Transfusions *décédé
M27/F33	<b>53GPL</b>	+	+	3abrts précoces			Cortancyl
M30/F43	<b>42GPL</b>	+	+	G10P1 9 abrt et 1 mort fœtale	T. intracardiaque TVP M inf droit	Endocardite de Liebmann Sachs	Nivaquine Fluinfione
M36/F31	-	-	+	2 mort in- utéro	TVP M inf	Thrombopénie	Cortancyl
M 38/F28	15GPL	+	+		AVC ischémique		Cortancyl
M46/F33	<b>55MPL</b>	+	-		T.A Rénale		Cortancyl
M47/F24	-	-	+		TVP M inf droit		Cortancyl
M48/F35	<b>64GPL</b>	+	-		OVCR droite		Cortancyl
M51/F10	<b>45GPL</b>	-	+		Ischémie des doigts et des poignets	Thrombopénie	Cortancyl *décédé
M52/F33	33GPL	+	+		Thr. A rénale Thr. Artérioles rétiniennes		Cortancyl
M57/F18	<b>55GPL</b> <b>55MPL</b>	+	-		AVC ischémique		Cortancyl

Tableau 17 : Caractéristiques cliniques et biologiques des 20 patients de SAPL

Ces patients, illustrent l'hétérogénéité des thromboses pouvant siéger dans différents endroits (**Tableau.17**). Sur les 20 SAPL observés, les thromboses vasculaires, étaient d'emblée multiples, mettant parfois en jeu le pronostic vital ; avec un décès dans le cas de SAPL catastrophique(M25), ou récurrence avec constitution d'un cœur pulmonaire chronique post embolique malgré une anticoagulation (M30) (**annexe3**) . Bien que des facteurs de risque de thromboses tel que le syndrome néphrotique (M16-52) ou le traitement corticoïde soient présents, la recherche d'une thrombophilie constitutionnelle associée (PC-PS- RPCa- AT) était négative dans tous les cas.

Les thromboses rénales étaient mises en évidence en histopathologie qui avait montré la présence de thrombi glomérulaires, avec la présence de doubles contours des parois glomérulaires, sans signes de vascularite (**Photos 3-4-5**).

Le SAPL catastrophique observé dans un cas (M25), est une forme particulière caractérisée par une défaillance multi viscérale, une cinquantaine de cas ont été rapportées dans la littérature, le décès est survenu malgré le traitement symptomatique de l'insuffisance cardiaque ou rénale <sup>[20]</sup>.

Le SAPL obstétrical pur est rare (10%), le faible nombre de patientes mariées introduit un biais dans l'appréciation de cet aspect. Dans le cas (M19), on note la présence d'avortements à répétition associée à une thrombopénie sévère et à une insuffisance rénale, sans signes de thromboses vasculaires rénales. Le traitement était difficile, l'association aspirine héparine et une surveillance étroite de la grossesse étaient indiquées, le risque de récurrence thrombotique est élevée du fait de la présence forte et la persistance des LA<sup>[76]</sup>.

Dans l'observation M10, la thrombose portale était inexplicée avant la mise en évidence des aPL. Ce cas décrit, répond à la définition du SAPL ; néanmoins, la thrombose mésentérique est une localisation thrombotique rarement rapportée <sup>[47]</sup>, en dehors d'un contexte d'hypercoagulabilité. Ceci suggère de la placer dans le cadre d'un SAPL.

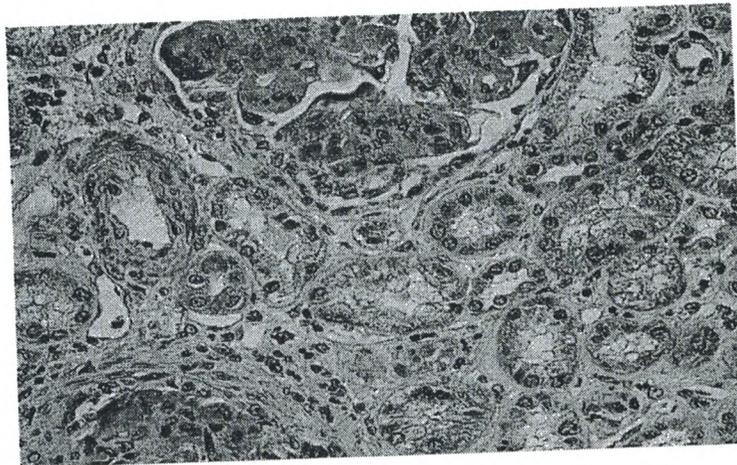
L'examen clinique dans un cas (M30) a permis le diagnostic d'une endocardite non infectieuse notamment de Liebman-Sacks (**Photo : 6-7-8**), la patiente avait toute à la fois un syndrome des antiphospholipides vasculaire et obstétrical avec récurrence des thromboses .Ce tableau sévère a nécessité un traitement anticoagulant au long cours.

2 patients avaient des LA sans aPA ou a $\beta$ 2GPI, ils illustrent le fait que la présence de LA et celle des aPA peuvent être dissociés. Les a $\beta$ 2GPI sont plus fréquemment retrouvés chez les malades ayant aussi un aPA et/ou un LA, ils sont aussi présents en l'absence de

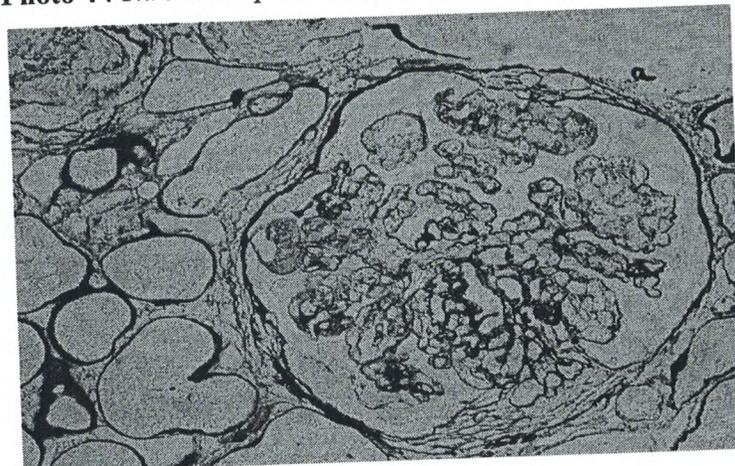
ces derniers. La discordance observée entre les anticorps est fréquemment expliquée par l'hétérogénéité des phospholipides et/ou des protéines contre lesquels ils sont dirigés.



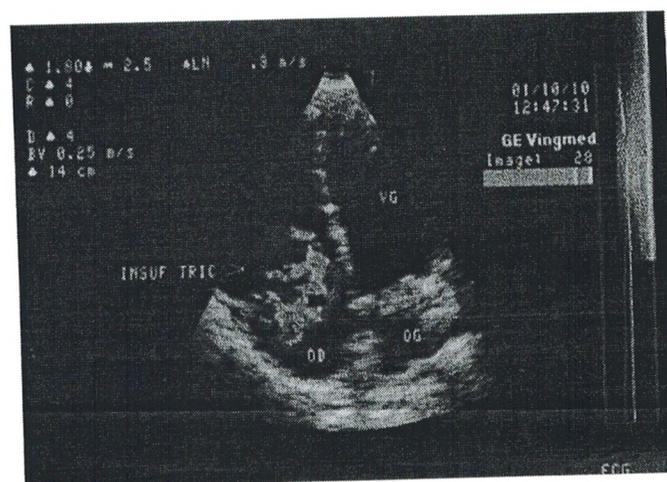
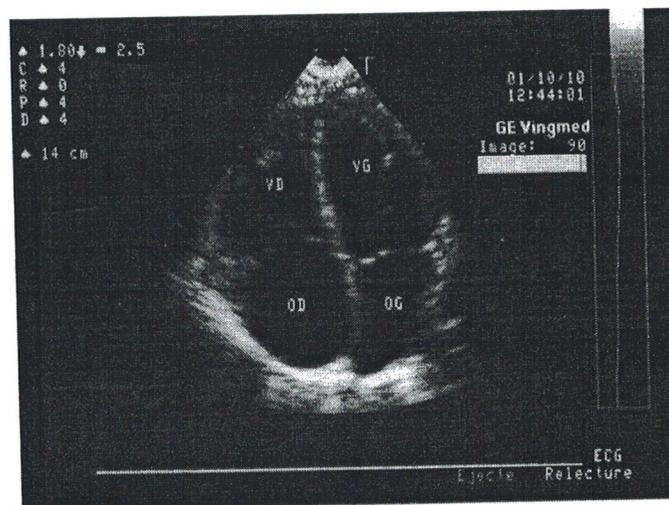
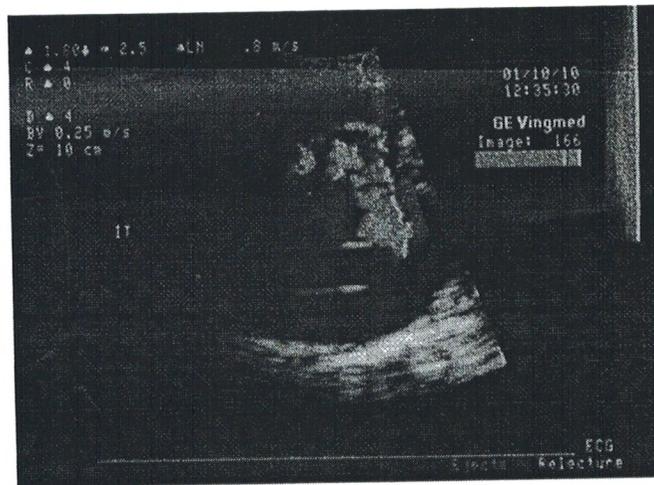
**Photo 3 :** *Thrombi capillaires glomérulaires obstructifs (M15/M17/M46/M52)*



**Photo 4 :** *Thrombi capillaires glomérulaires obstructif*



**Photo 5 :** *Thrombi capillaires glomérulaires obstructifs  
Coloration argentique (présence de doubles contours)*



**Photo 6-7-8 : Endocardite de Liebman Sachs et Embolie intracardiaque (M30)**

## II-2. BIOLOGIE DU SAPL

### II-2-1. Fréquences des aPL au cours du SAPL

La recherche de LA est positive chez 60% (12) des patients atteints de LES et de SAPL.

Sur les 20 patients inclus (Fig.34) :

80% (16) présentaient des aPA.

75% présentaient des aPA IgG (15) dont 80% (12) sont isolés et 20% (3) associés aux aPA IgM. 20% présentaient des aPA IgM (4) dont 75% sont associés aux aPA IgG et 25% isolés (Fig.35).

La fréquence des anticorps anti- $\beta$ 2GPI au cours du SAPL est de 85% (17), les anticorps anti- $\beta$ 2GPI IgG 60% (12), Les anti  $\beta$ 2GPI IgM 55% (11) et 30 % (6) sont associés

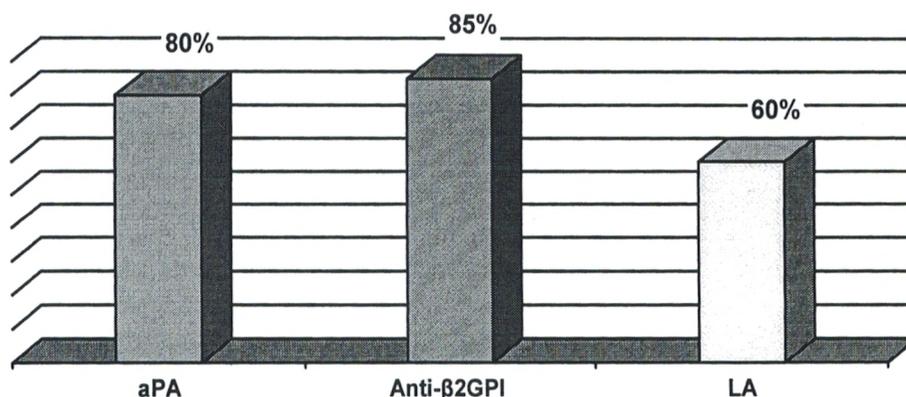


Fig. 34 : Fréquences des anti-phospholipides au cours du SAPL

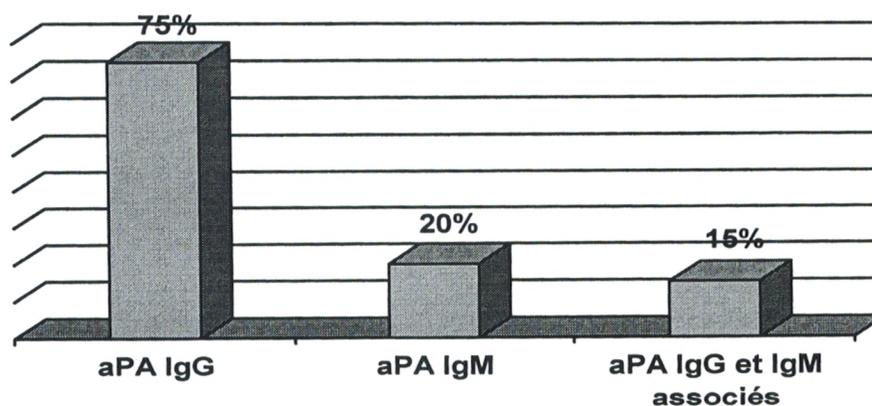


Fig. 35 : Répartition des iso types des aPA au cours du SAPL

Les aPA en particulier l'isotype IgG et les  $\beta$ 2GPI sont les plus fréquemment associés au cours du syndrome des antiphospholipides dans cette population.

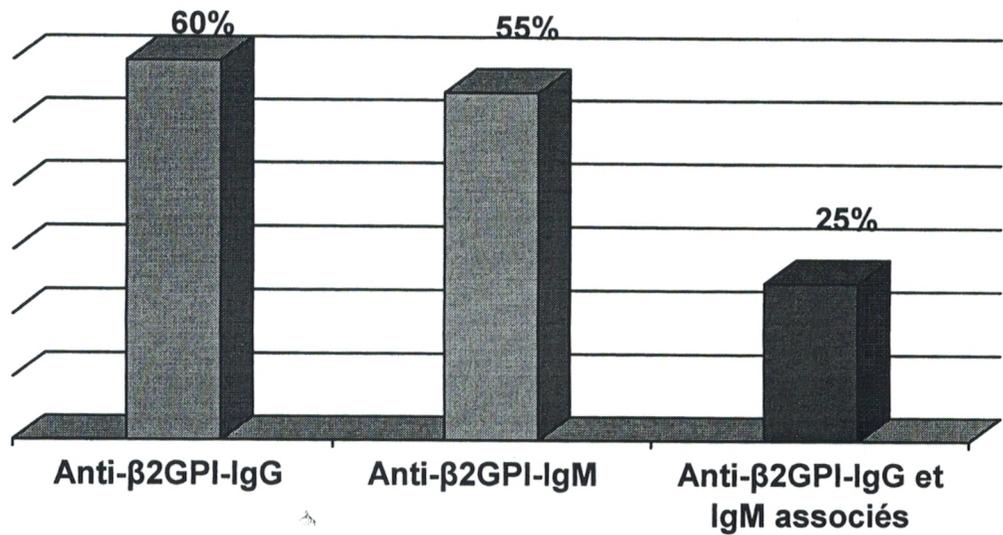


Fig. 36 : Répartition des isotypes des anticorps anti-β2GPI au cours du SAPL

## II-2-2. Profils biologiques du SAPL

### a. Les LA

#### Dépistage

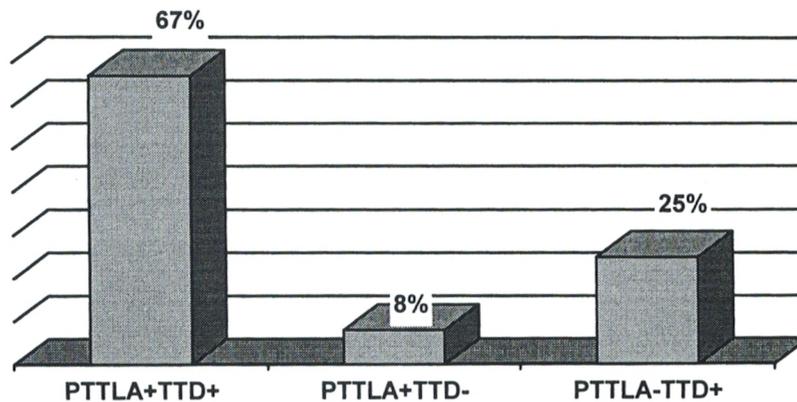


Fig. 37 : Profils Biologiques des tests de dépistage de LA

Chez les patients LA positifs, les deux tests de dépistage réalisés étaient généralement positifs (PTTLA+/TTD+) (67%), le TTD positif sans PTTLA était retrouvé chez 33% des patients avec LA positifs (Fig.37).

Dans 6 cas, le TTD était anormal sans anomalie du PTTLA

Par ailleurs dans 2 cas le TTD était faussement positif (négatif au deuxième contrôle) sans anomalie du PTTLA et dans 1 cas, un allongement du PTTLA sans TTD était observé. La combinaison des deux tests est donc préférable.

Chez un patient (M30), la présence forte d'un lupus anticoagulant a entraîné des faux déficits touchant la voie intrinsèque de la coagulation (FVIII-FIX). Pour cela la technique chromométrique a été réalisée sur des dilutions supérieures du plasma (jusqu'au 1/80<sup>e</sup>), Les déficits apparents de facteurs VIII (20%) et IX (45%) ont été corrigé par les dilutions croissantes de plasma et donc imputable à la présence de LA.

	PUR	1/2		1/4		1/8	
VIII (%)	20	15*	<b>30**</b>	12	<b>48</b>	9	<b>72</b>
IX (%)	45	33	<b>66</b>	20	<b>80</b>		
XI (%)	75						

\*Valeur mesurée de dilution      \*\*Valeur mesurée×facteur de dilution

**Tableau 18** : Distinction entre taux de facteurs VIII et IX bas dus à un inhibiteur type LA, et des déficits vrais en facteurs du TCA : Dilutions croissantes du plasma (resultats du patient M30)

### Confirmation

Dans ce groupe de patients, les résultats sont hétérogènes, le staclot LA parait un bon test de confirmation même en présence d'héparine.

### **b. Associations biologiques**

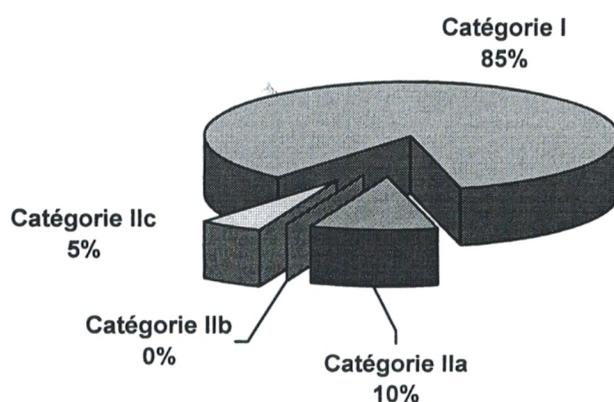
La classification des 20 patients atteints de syndrome des anti-phospholipides défini selon les critères révisés de Wilson et publiés par Miyakis et al en 2005.

La catégorie I (présence de deux ou plusieurs antiphospholipides aPA et /ou LA et/ou aβ2GPI) est retrouvée dans 85% des cas. La catégorie II est retrouvée dans 15% des cas (**Fig.38-Tableau 19**).

Les LA isolés ont été retrouvés positifs dans un cas et des anticorps aβ2GPI IgG à titre élevé (30UA) chez un autre qui a présenté deux accidents thrombotiques veineux au niveau des membres inférieurs.

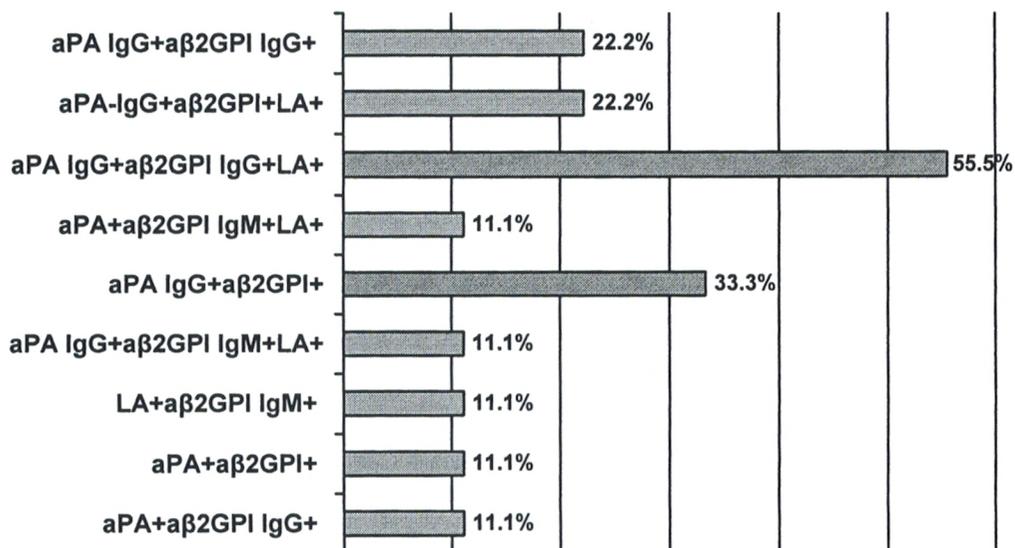
Répartition des APA et des LA	SAPL%		Catégorie
	Nombre	Pourcentage	
LA+et/ou aPA et/ou aβ2GPI	17	85%	I
LA+ aPA-aβ2GPI -	2	10%	IIa
LA- aPA+ aβ2GPI -	0	0%	IIb
LA- aPA- aβ2GPI +	1	5%	IIC

**Tableau 19 :** Classification des 20 Patients atteints de SAPL



**Fig.38:** Fréquences des catégories de patients atteints de SAPL

9 associations avaient été retrouvées avec une prédominance des associations aPA IgG +/ aβ2GPI IgG+ / LA+ et aPA IgG +/aβ2GPI. + (**Fig. 39**).



**Fig. 39 :** Associations biologiques des APL observées au cours du SAPL

### II-2-3. Comparaison des tests dans les différents groupes.

Nous avons comparé, les patients ayant un SAPL aux autres patients lupiques sans SAPL (groupe contrôle).

#### a- Tests de mise en évidence des LA

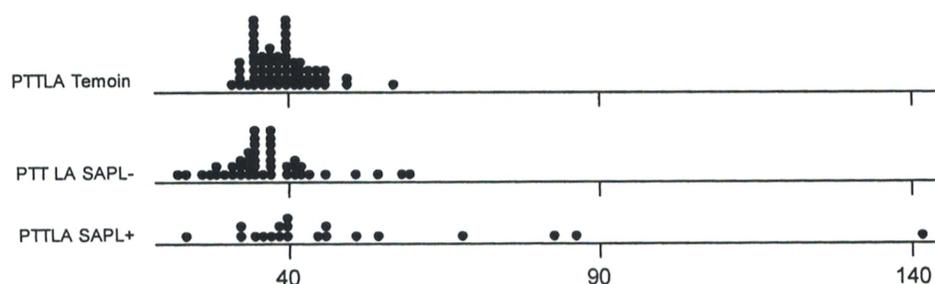
	MOYENNES		
	SAPL+	SAPL-	p
<b>PTTLA</b>	<b>44.59</b>	36.23	<0.05
<b>TTD</b>	<b>103.16</b>	77.09	<0.05
<b>Le Staclot LA</b>	<b>15.19</b>	- 1.02	<0.01

**Tableau 20** : Moyennes des tests de coagulation de dépistage (PTTLA-TTD) et de confirmation (Staclot LA) chez les patients SAPL+ et -.

#### PTTLA

Une différence significative des moyennes du test PTTLA a été observée entre les groupes de patients lupiques avec et sans SAPL ( $p < 0.05$ ) (**tableau 20**).

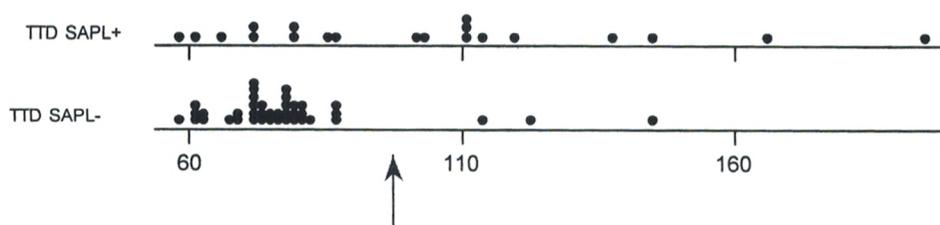
Le groupe SAPL a l'allongement le plus marqué. L'intérêt potentiel de ce test par rapport au TCA apparaît ici.



**Fig.40** : Distribution des PTTLA chez les patients lupiques avec et sans SAPL

9 patients du groupe SAPL avaient un allongement du PTTLA par rapport au témoin Dont 8 ont été confirmés par le test de mélange et le test de confirmation (Staclot LA) (**Fig.40**).

## LE TTD



**Fig.41:** *Distribution des TTD chez les patients lupiques avec et sans SAPL*

La moyenne du TTD observée dans le groupe SAPL est significativement différent du groupe de patients sans SAPL ( $p < 0.05$ ) (**Tableau 20**).

Le SAPL forme un groupe homogène à TTD positif.

13 patients du groupe SAPL avaient un allongement du TTD par rapport au témoin, Confirmé par le test de mélange.

Dans le groupe LES sans SAPL, 3 patients étaient positifs dont un seul confirmé par le test de mélange (**Fig.41**).

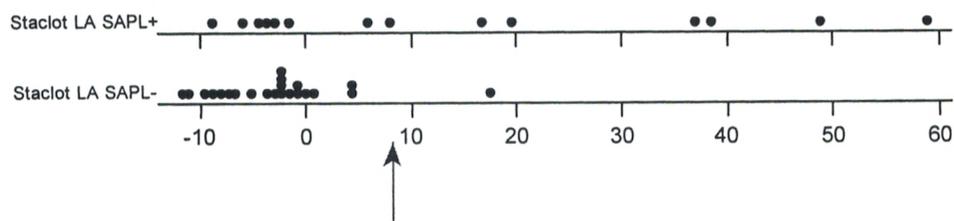
## LE STACLOT LA

Le groupe LES sans SAPL forme un ensemble homogène dont la moyenne est inférieure à la valeur seuil.

Le groupe SAPL+ est significativement différent de celui des patients lupiques sans SAPL ( $p < 0.01$ ).

7 patients du groupe SAPL avaient le test Staclot LA positif (**Fig.42**).

Et 1 patient du groupe LES sans SAPL avait le test positif.



**Fig.42 :** *Distribution des Staclot LA chez les patients lupiques avec et sans SAPL*

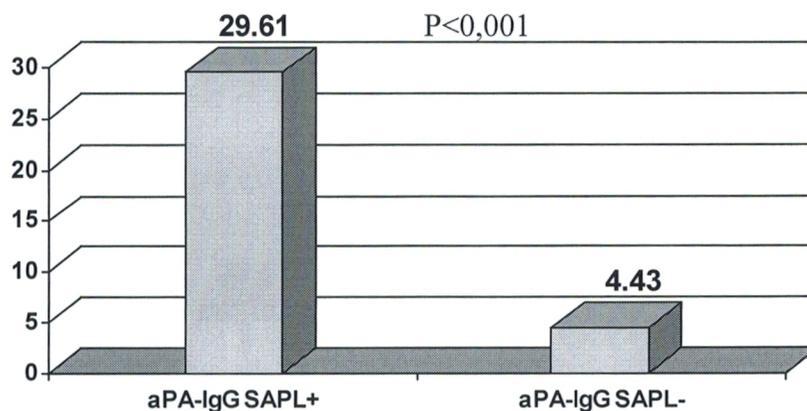
A ce stade d'analyse, certaines orientations peuvent être dégagées. Le groupe SAPL s'individualise quelque soit le test utilisé. Pour le diagnostic LA, le PTTLA paraît mieux séparer le groupe SAPL que les autres tests tel que le TCA (APTT).

Deux tests paraissent mieux séparer le groupe SAPL des autres groupes : le Staclot LA et le TTD (T+M).

## b. Tests immunologiques de diagnostic des anticorps anti-phospholipides APA.

### - aPA IgG

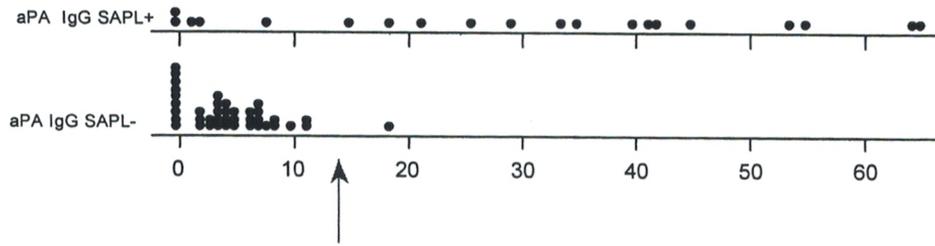
Les moyennes des concentrations des anticorps antiphospholipides de type IgG chez les patients avec et sans syndrome des anti-phospholipides, respectivement de 29,61GPL (minimum 0, maximum 65, écart type 21) et 4,43 GPL (min0, max21, écart type 3,82) étaient significativement différentes (analyse de variance ANOVA  $p < 0,001$ ) (**Fig.43**).



**Fig.43** : Moyennes des concentrations des aPA IgG Chez les sujets SAPL+ et –

15 patients du groupe SAPL avaient un taux positif d'aPA IgG dont les titres variaient de 18 à 65 GPL/m.

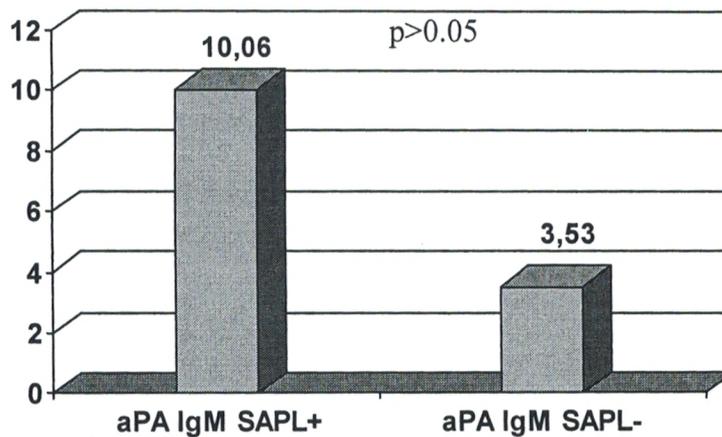
1 seul patient du groupe LES sans SAPL avait un titre faible d'aPA IgG (18 GPL/ml) comparable à la population générale (**Fig. 44**).



**Fig.44 :** Distribution des aPA IgG chez les patients lupiques avec et sans SAPL (groupe contrôle)

### **- aPA IgM**

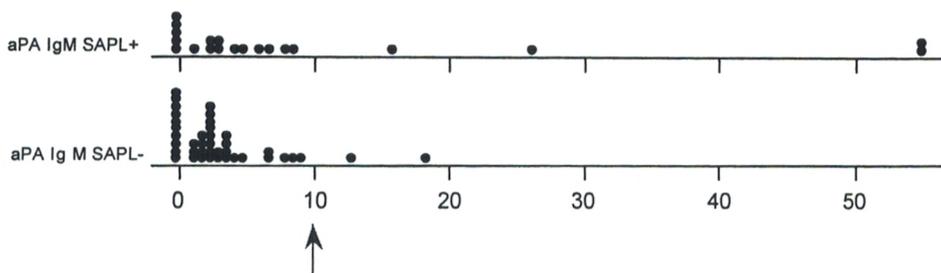
Aucune différence significative des anticorps antiphospholipides de type IgM n'a été retrouvée entre les patients avec et sans syndrome des anti-phospholipides, Les moyennes étaient respectivement de 10,06 MPL/ml ( min 0, max 55, Ecart type 3,11) et de 3.53 (p 0,905) (**Fig.45**).



**Fig.45 :** Moyennes des concentrations des aPA IgM Chez les patients SAPL + et -

4 patients du groupe SAPL avaient un titre d'aPA IgM au dessus du seuil de positivité entre 16 et 55 MPL/ml, dont deux titres étaient élevés (55GPL/ml).

Seuls chez deux patients du groupe LES sans SAPL avaient des aPA IgM positifs à titre faible. Ce qui ne se détache pas de la population générale (**Fig.46**).

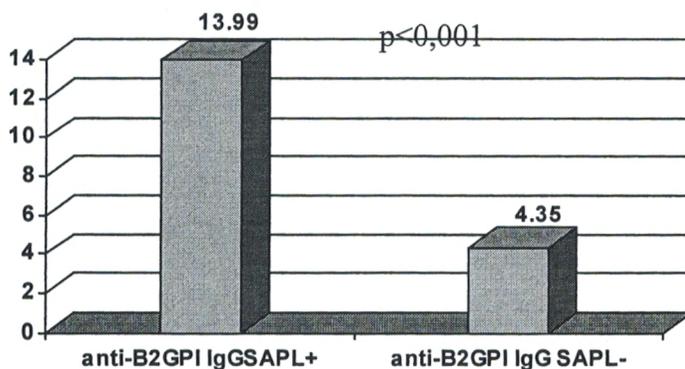


**Fig. 46 :** Distribution des aPA IgM chez les sujets lupiques SAPL+ et –

### -Les anticorps anti-β2GPI

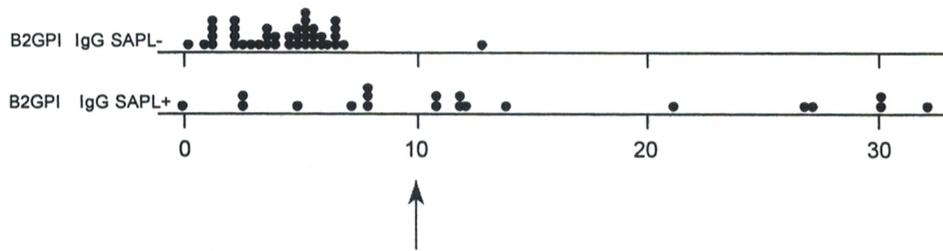
#### *aβ2GPI IgG*

Les moyennes des concentrations des anticorps anti-β2GPI de type IgG chez les patients avec et sans SAPL, respectivement de 13,99 unités IgG (min 0, max 32, écart type 10,11), et 4,35 (écart type 2,32) étaient significativement différentes ( $p < 0,001$ ) (**Fig.47**).



**Fig.47:** Moyennes des concentrations des anticorps anti-β2GPI IgG chez les patients lupiques avec et sans SAPL–

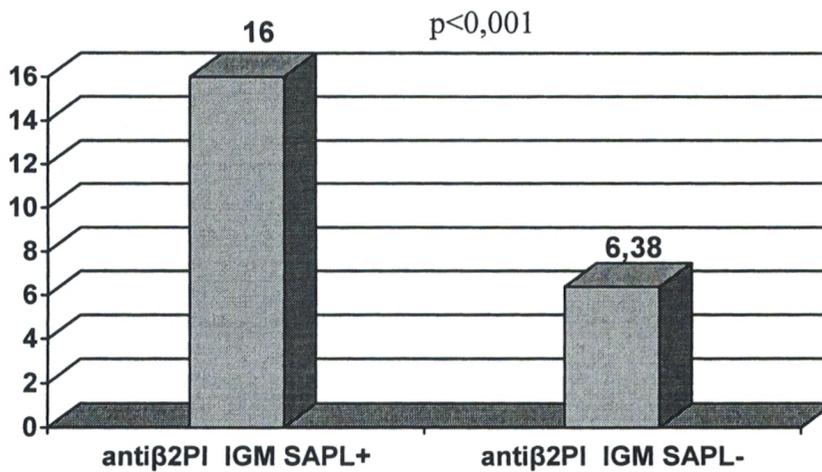
12 patients du groupe SAPL avaient un titre positif des anti-β2GPI d'isotype IgG variant de 11 à 30 UI. 1 seul patient du groupe sans SAPL avait un titre faible d'anti-β2GPI IgG (**Fig.48**).



**Fig. 48 :** Distribution des  $\alpha\beta 2GPI$  IgG chez les patients lupiques avec et sans SAPL

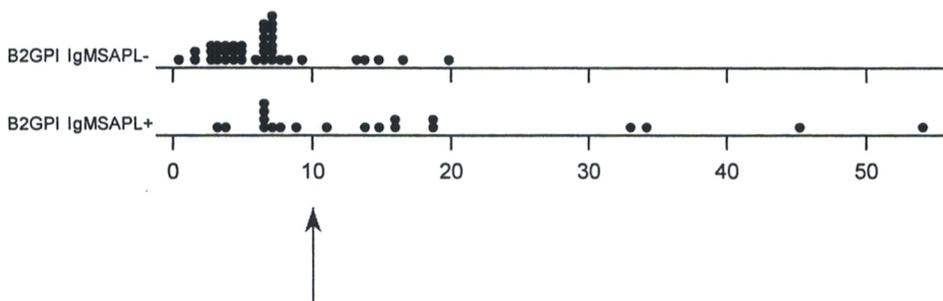
**$\alpha\beta 2GPI$  IgM**

Dans les cas des anticorps anti $\beta 2PI$  de type IgM, les moyennes des taux chez les patients avec et sans SAPL respectivement de 16 (écart type 14) et 6,38 (écart type 4,15), étaient significativement différentes ( $p < 0,001$ ) (**Fig.49**).



**Fig.49 :** Moyennes des concentrations des anticorps anti- $\beta 2GPI$  IgM

Les taux étaient positifs chez 11 patients du groupe SAPL variant entre 11 et 45UA et chez 5 patients du groupe LES sans SAPL mais à titre faible (**Fig.50**).



**Fig.50 :** Distribution des  $\alpha\beta 2GPI$  IgM chez les patients lupiques avec et sans SAPL

## II-2-4 .Valeur diagnostique des aPL au cours du SAPL

### a. Antiphospholipides conventionnels (aPA et LA)

Les valeurs prédictives positives des LA, les aPA IgG et les aPA IgM isolés (sans LA et aPA IgG associés) étaient respectivement de 92, 80% et 50%.

Seuls les LA et aPA IgG sont statistiquement associés au SAPL dans la population étudiée (khi deux de Pearson  $p \leq 0,001$ ).

#### a-1 Association des aPA au SAPL au sein de la population étudiée (LES)

##### • aPA IgG et SAPL

Les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative des aPA IgG sont respectivement de 80%, 95%, 80%, 90.5% (**Tableau 21**).

ELISA–aPA IgG	Syndrome des anticorps anti-phospholipides		
	OUI	NON	Total
<b>Positif</b>	VP= 16	FP =2	18
<b>Négatif</b>	FN =4	VN=38	42
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>

VP=vrais positifs, FP=faux positifs, VN=vrais négatifs, FN=faux négatifs

**Tableau 21** : Valeur diagnostique des aPA IgG pour le SAPL

##### • aPA IgM et SAPL

Les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative des aPA IgM sont respectivement de 10%,95%, 50%, 68% (**Tableau 22**).

Les sensibilité et valeur prédictive positive des aPAIgM sont faibles pour le SAPL.

ELISA –aPA IgM	Syndrome des anti-phospholipides		
	<u>OUI</u>	<u>NON</u>	Total
<b>Positif</b>	VP= 2	FP= 2	18
<b>Négatif</b>	FN =18	VN=38	42
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>

**Tableau 22** : Valeur diagnostique des aPA IgM pour le SAPL

### **a-2. LA et SAPL**

Les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative pour le SAPL sont respectivement de 92%, 60%, 97,5% et 83% (**Tableau 23**).

	<b>Syndrome des anti-phospholipides</b>		
<b>LA</b>	OUI	NON	Total
<b>Positif</b>	VP 12	FP 1	13
<b>Négatif</b>	FN 8	VN39	47
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>

**Tableau 23** : Valeur diagnostique des LA pour le SAPL

### **b- Association des anticorps anti-β2GPI au SAPL**

#### **• aβ2GPI de type IgG et SAPL**

Les anticorps antiβ2GPI de type IgG étaient statistiquement associés avec le syndrome des anti-phospholipides dans la population sélectionnée (Khi-deux de Pearson < 0,001)

	<b>Syndrome des anti-phospholipides</b>		
Elisa -antiβ2GPI IgG	<u>OUI</u>	<u>NON</u>	Total
<b>Positif</b>	VP =15	FP =1	16
<b>Négatif</b>	FN =5	VN=39	44
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>

**Tableau 24** : Valeur diagnostique des anticorps anti-β2GPI de type IgG pour le SAPL

Les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative des anticorps anti-β2GPI-IgG pour le SAPL étaient respectivement de 75%, 97%, 94% et 88% (**Tableau 24**).

Les spécificité et valeur prédictive positive des anti-β2GPI IgG sont élevées pour le SAPL.

• *aβ2GPI de type IgM et SAPL*

Les anticorps anti β2GPI IgM sont statistiquement associés au SAPL

Elisa -antiβ2GPI IgM	Syndrome des anti-phospholipides		
	<u>OUI</u>	<u>NON</u>	Total
<b>Positif</b>	VP =11	FP =5	16
<b>Négatif</b>	FN =9	VN=35	44
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>

**Tableau 25 :** Valeur diagnostique des anticorps anti-β2GPI de type IgM pour le SAPL

Les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative des antiβ2GPI IgM pour le SAPL étaient respectivement de 55%, 87%, 68%, 79,5% (**Tableau 25**).

Les spécificité et valeur prédictive positive des anti-β2GPI IgM sont moins bonnes pour le SAPL que les IgG.

*En conclusion, les sensibilité, spécificité des antiphospholipides, LA, APA et anti-β2GPI sont de 60%, 80,85% et 97%,90% et 84%.*

Tests	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
LA	60	97
aPA/β2GPI	80	90
Anti-β2GPI	85	84

**Tableau 26 :** Sensibilité et spécificité des APL pour le diagnostic du SAPL

En dehors des LA, les antiβ2GPI ont une spécificité élevée pour le diagnostic du SAPL  
Les aβ2GPI ont une valeur diagnostique aussi importante que les aPA.

## II-2-5. Etude de la corrélation des tests entre eux

### a- Les tests chronométriques

Nous avons évalué la combinaison des tests de diagnostic des LA entre eux dans les différents groupes de sujets.

Aucun test n'est 100% sensible ou spécifique.

Ces corrélations ont été étudiées par le test de Spearman qui est un test non paramétrique.

### *TCA APTT ET PTTLA*

Groupes de sujets		p
<b>Tout groupe confondu</b>	<b>n=120</b>	$\leq 0.001$
<b>Groupe témoin</b>	<b>n=60</b>	$\leq 0.001$
<b>Groupe LES</b>	<b>n=60</b>	$\leq 0.001$
<b>Groupe LES sans SAPL</b>	<b>n=40</b>	$\leq 0.01$
<b>Groupe LES et SAPL</b>	<b>n=20</b>	$\leq 0.01$

**Tableau 27** : *Corrélation significative entre le PTTLA et le TCA/APTT chez tous Les groupes étudiés.*

La présence d'une corrélation entre le TCA et le PTTLA suggère que ces tests ont une signification équivalente.

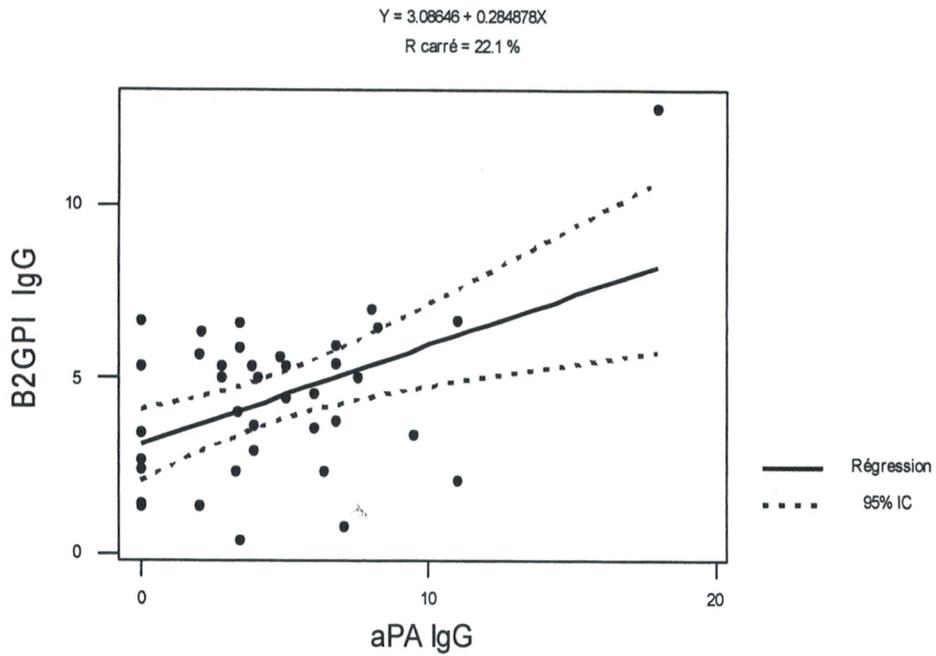
### b- Les tests ELISA

La corrélation entre les anticorps anti-phospholipides et les anticorps anti- $\beta 2$ GPI a été étudiée.

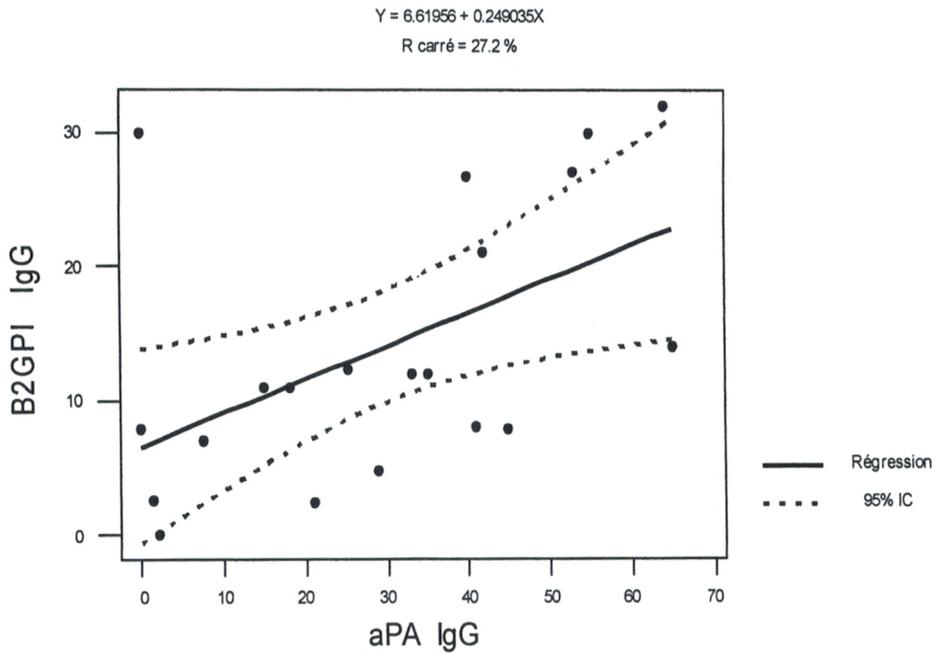
#### *aPA et a $\beta 2$ GPI IgG*

Il existe une corrélation significative positive entre les anticorps antiphospholipides et les anticorps anti $\beta 2$ GPI de type IgG chez les patients présentant un SAPL (coefficient de corrélation de Pearson 0,52, corrélation significative au niveau 0,018) (**Fig.52**).

Cette corrélation a été également retrouvée chez les patients sans SAPL (**Fig.51**).



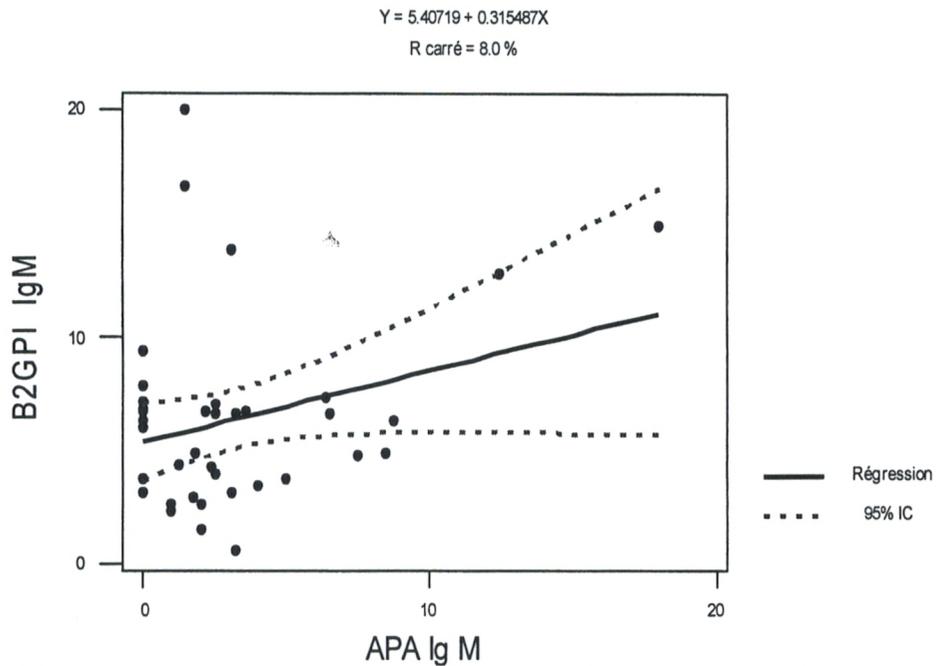
**Fig.51:** *Corrélation significative entre les anticorps anti phospholipides et les anticorps anti-β2GPI de type IgG chez les 40 patients qui présentent un LES sans SAPL (p=0.002).*



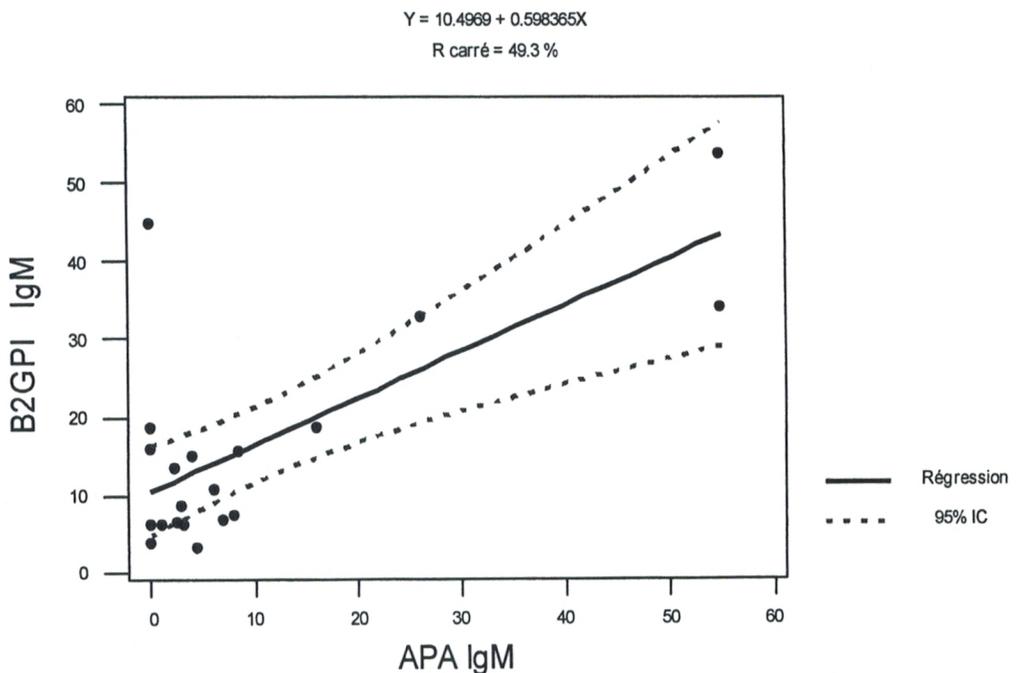
**Fig.52:** *Corrélation significative entre les anticorps antiphospholipides et les anticorps anti-β2GPI de type IgG chez les 20 patients qui présentent un SAPL (p=0.018).*

*aPA et aβ2GPI IgM*

Il existait une corrélation significative entre les anticorps antiphospholipides et anti-β2GPI de type IgM chez les patients qui présentaient un SAPL (coefficient de corrélation de Pearson, corrélation significative ( $P < 0.01$ )) (**Fig.54**). Cette corrélation n'a pas été retrouvée chez les patients sans SAPL ( $p = 0.076$ ) (**Fig.53**).



**Fig.53** : Corrélation non significative entre les anticorps antiphospholipides et les Anticorps anti-β2GPI de type IgM chez les 40 patients qui présentent un LES Sans SAPL ( $p=0.076$ ).



**Fig.54** : Corrélation significative entre les anticorps antiphospholipides et les anticorps anti-β2GPI de type IgM chez les 20 patients qui présentent un LES ET SAPL ( $p=0.001$ ).

## II-3.CORRELATIONS DES aPL ET MANIFESTATIONS CLINIQUES DU SAPL

### II-3-1. Analyse univariée

Variable	Thromboses artérielles (n=15)			Thromboses veineuses (n=11)			Thromboses	
	%	OR	p	%	OR	p	OR	p
aPA IgG	80	26 (4.65-170)	<0.001	63	6.05 (1.24-31)	0.007	30	<0.001
aPA IgM	13	2.15 (NS-18)	<b>0.42</b>	9	1.13 (ns-13.39)	<b>0.92</b>	1.26	<b>0.8</b>
aβ2GPI IgG	60	15 (2.94-90)	<0.001	45	4.27 (ns-22)	0.03	20	<0.001
aβ2GPI IgM	53	5.29 (1.25-23)	0.007	54	4.68 (ns-23)	0.02	5	0.016
LA	40	3.62 (0.81-16)	0.048	45	4.27 (ns-22)	0.03	10	<0.001

**Tableau 28 :** Analyse univariée des APL au cours des thromboses artérielles, veineuses Ou vasculaires au cours du LES

#### a- Thromboses artérielles

Dans notre population de malades atteints de LES, les aPA IgG s'accompagnent d'un risque élevé de thromboses artérielles (OD 26, p <0.001) suivis des anticorps anti-β2GPI IgG (OD 15, p<0.001), les LA sont statistiquement associés aux thromboses artérielles (OD 3.62, p=0.04), aucune association significative n'a été retrouvée avec les aPA IgM.

#### b- Thromboses veineuses

Dans notre population de malades atteints de LES, Les aPA IgG s'accompagnent d'un risque élevé de thromboses veineuses (OD : 6.05 p =0.007) suivis des anticorps anti-β2GPI IgG ou IgM (OD : 4.27, 4.68). Les LA sont statistiquement associés aux thromboses veineuses (OD : 4.27, p=0.03). Aucune association significative n'a été retrouvée avec les aPA IgM (p=0.92).

Les aPA Ig G et les anticorps anti-β2GPI IgG semblent plus fréquemment associés aux thromboses artérielles que veineuses dans cette population.

Les LA semblent plus fréquemment associés aux thromboses veineuses qu'artérielles.

### c- Thromboses vasculaires (artérielle ou veineuse)

Dans notre population de malades atteints de LES, les aPA IgG s'accompagnent d'un risque élevé de thromboses (OD 30 p <0.001) suivis des anticorps anti-β2GPI IgG (OD 20) et IgM (OD 5).

Les LA sont statistiquement associés aux thromboses (OD 10 ; p<0.001), aucune association significative n'a été retrouvée avec les aPA IgM (p=0.8).

Les aPA IgG et les anticorps anti-β2GPI IgG semblent plus fréquemment associés aux thromboses vasculaires que les LA.

### d- Complications obstétricales

LA	Complications obstétricales		Total	OR	p
	Négatif	positif			
NEG	19	3	22	7,6	0,016
POS	5	6	11	1.38-21	
TOTAL	24	9	33		

**Tableau .29 :** Analyse univariée des LA et complications obstétricales au cours du LES

Seuls les lupus anticoagulants sont statistiquement associés (OR 7.6 ; p<0.05) dans cette population.

## II-3-2. Analyse multivariée

Variables explicatives	OR	$\beta$	$s\beta$	Z (Wald)	P(Sigma)	IC 95% (OR)
a $\beta$ 2GPI	1.06	0.06	0.036	2.95	0.08	0.99-1.14
LA	6.7	1.9	0.869	4.79	0.02	1.22-39
aPA IgG	1.05	0.05	0.028	3.67	0.05	0.99-1.11

**Tableau 30 :** Analyse multivariée des APL et thromboses vasculaires au cours du LES

Après la première étape qui a consisté à différencier le groupe de cas (thromboses confirmées) et celui des contrôles (malades sans thromboses), nous avons retenu les variables les plus significatives retrouvées dans l'analyse univariée notamment les aPA IgG, les anti- $\beta$ 2GPI et les LA, la variable à expliquer étant la thrombose vasculaire.

La stratégie adoptée est la procédure pas à pas descendante selon l'approche de Hosmer et Lemeshow : c'est un modèle saturé contenant les variables retenues initialement, puis on élimine successivement les variables qui peuvent l'être.

Le critère d'élimination de la variable est, si la modification est significative au seuil de 5% en utilisant le test de Wald :

Pour éliminer une variable  $X_k$  tel que,  $\varepsilon (= \beta_k / s\beta_k)$  est le plus petit, inférieur à une valeur seuil correspondant à la limite de la loi normale centrée réduite à 5% (1.96).

Une série de régressions logistiques a été effectuée afin de déterminer les variables discriminantes liées au risque de thrombose dans la population lupique.

Dans le modèle retenu, les variables, qualitative (LA) et quantitative, (aPA IgG et anti- $\beta$ 2GPI) ont été introduites,

Il en ressort de ce modèle que la variable la plus discriminante est le LA ayant un effet indépendant sur le risque thrombotique (OR 6.7).

Les aPA IgG et les anti- $\beta$ 2GPI sont à la limite de la signification ( $p=0.08$  et de  $0.05$ ).

Si on élimine les aPA IgG de ce modèle en ne retenant que les LA et les anti- $\beta$ 2GPI, ces deux paramètres biologiques sont retrouvés significatifs avec un OD pour les LA de 7.09 ( $p=0.014$ ) et de 5.71 pour les anti- $\beta$ 2GPI ( $p=0.01$ ).

La régression logistique a permis de confirmer les relations retrouvées dans l'analyse univariée. En effet la thrombose vasculaire est associée de manière significative à la

présence de LA et des anti- $\beta$ 2GPI. Ces deux derniers peuvent être considérés comme des facteurs de risque indépendants de la thrombose vasculaire.

Nous avons retenu ce dernier schéma, ce qui correspond bien à notre problématique, L'étude de la part des anti-phospholipides dans la survenue d'une thrombose artérielle ou veineuse et en raison de ses avantages pratiques.

Bien que le dépistage des thromboses au cours du lupus ayant permis de constituer la population de cas, ait concerné 21 sujets, nous ne pouvons la considérer comme représentative de thromboses.

Après l'analyse des profils biologiques, notamment les différentes associations des aPA observées dans cette population, et en appliquant le même modèle de régression logistique, 3 associations ont été retenues :

- Var1 : aPA IgG+ a $\beta$ 2GPI+LA-
- Var2 : aPA IgG+/a $\beta$ 2GPI IgG+/LA+
- Var3 : aPA+/a $\beta$ 2GPI+

Seule la variable 2 (aPA IgG+/ a $\beta$ 2GPI IgG+/ LA+) était significativement associée aux thromboses (OD 6.36, 1-39) (p=0.04).

La triple positivité aPA IgG+/ a $\beta$ 2GPI IgG+/ LA+ augmente le risque thrombotique (6.39).

## DISCUSSION

Le diagnostic actuel des antiphospholipides (aPL) de type Lupus Anticoagulant (LA) par les tests de coagulation ou les anticorps antiphospholipides (APA) par les tests immunologiques fait appel à une gamme de techniques étendues et mal standardisées, Plusieurs industries ont commercialisé de nouvelles gammes de réactifs, visant à faciliter le diagnostic des LA ou des APA.

Sur un total de 60 patients lupiques, 24 soit 40%, ont des aPL, 20 d'entre eux soit 33%, ont développé un syndrome des anti-phospholipides, parmi lesquels *un syndrome catastrophique* très probable et deux SAPL obstétricaux soit 10%.

### *Les tests chronométriques.*

### *Validité des méthodologies utilisées.*

L'objectif principal était d'évaluer chaque technique en terme de capacité discriminante vis-à-vis des différents groupes clinico-biologiques.

Les seuils positifs ont d'abord été établis à partir d'un groupe de donneurs de sang.

La valeur diagnostique des différentes méthodes a ensuite pu être analysée par des tests statistiques de comparaison de proportions, qui n'imposent pas d'hypothèse préalable sur la nature des distributions.

Cette étude étant une étude pilote, nous avons appliqué une stratégie de recrutement limitée en terme d'effectifs, le groupe de sujets témoins a comporté un effectif conséquent de 62 sujets, le même nombre environ de groupes clinico-biologiques comportait des patients parfaitement documentés. Pour chaque sujet, l'ensemble des techniques a été mis en œuvre, bien que l'effectif ait été limité, nos résultats suivent différentes équipes qui ont eu à évaluer ces techniques <sup>[162, 259, 260]</sup>.

La population témoin s'est présentée pour toutes les variables étudiées, comme très homogène.

La prise en compte d'une éventuelle hétérogénéité en fonction du sexe et de l'âge n'a pas montré de différence significative en fonction du sexe, par ailleurs seuls les aPA IgG présentaient une corrélation significative avec l'âge.

Dans notre étude, nos valeurs seuils se rapprochent de celles décrites dans la littérature pour les tests de mise en évidence des LA (PTT LA, TTD, Staclot LA)<sup>[46]</sup>. En cas de résultat douteux, la valeur serait à confirmer lors d'un prélèvement ultérieur.

Le diagnostic de LA a donc été clairement établi ; quelque soit la méthode utilisée, la réponse était sans équivoque et affirmait la présence de LA, conférant à chacun des tests une sensibilité et une spécificité de 1.

Le TTD semble apporter une réponse supérieure au PTT LA, mais sa spécificité est moins bonne, le choix de ces deux méthodes semble judicieux tant sur le plan économique que du point de vue sensibilité et spécificité lorsqu'on combine les deux tests. 3 patients, avaient des LA positifs sans APA, Ces trois patients illustrent le fait que la présence de LA et celle des APA peuvent être dissociées <sup>[303]</sup>.

Récemment L'ISTH a défini 4 étapes diagnostiques dans la détection des LA <sup>[53]</sup>.

- 1-Deux tests de dépistage phospholipides dépendants (PTT LA, TTD, DRVVT, KCT...)
- 2-Démontrer que cet allongement est dû à un inhibiteur (test de mélange).
- 3-Démontrer que cet allongement est phospholipide dépendant.
- 4-Eliminer une anomalie de la coagulation associée.

**Dans les tests de dépistage :** le TCA avec réactif PTT LA, est un TCA où la céphaline a été diluée afin de la sensibiliser à la présence de LA. Selon les travaux d'Alving<sup>[33]</sup>, la sensibilisation du réactif permettait d'accentuer spécifiquement l'allongement dû au LA, Nous avons donc comparé PTT LA et TCA et avons effectivement trouvé cet allongement. Ainsi Kacsor <sup>[162]</sup>, qui a comparé le PTT LA au TCA pratiqué dans son laboratoire, le trouve plus sensible à la présence de LA que son TCA habituel.

De Moerloose ne trouve qu'une sensibilité de 88% au PTT LA <sup>[259]</sup> sur un recrutement de trois groupes hétérogènes de patients.

Enfin comme le TCA, ce test est sensible aux anticoagulants et aux déficits, Alving<sup>[33]</sup> spécifie bien qu'il faut mesurer l'activité des facteurs et éliminer les anticoagulants circulants avant de pratiquer un TCA dilué devant un allongement du TCA .

**Dans les tests de correction par le plasma témoin,** le principe de ces méthodes est que le plasma témoin apportant des facteurs de la coagulation en excès, corrige l'allongement initial en cas de déficit factoriel. En revanche la présence d'un anticoagulant (spécifique ou non d'un facteur), dans le plasma du malade, neutralise

l'activité des facteurs de la coagulation du plasma témoin, et l'allongement initial persiste, La condition nécessaire pour parler d'anticoagulants circulants est d'obtenir la non correction de l'anomalie des tests de dépistage sur les tests des mélanges correcteurs. Cependant ces épreuves sont difficiles à interpréter: la notion de "non correction" n'est pas clairement définie et varie en fonction du degré d'allongement initial. En effet pour certains déficits, l'épreuve ne ramène pas le temps de coagulation dans les valeurs normales, et il existe souvent pour les anticoagulants une correction partielle. Ce problème évoqué dans plusieurs travaux <sup>[100, 162, 303]</sup> est retrouvé dans notre série.

**Dans les tests de diagnostic positif**, le test de sensibilisation en particulier le temps de thromboplastine diluée (TTD) s'avère sensible aux LA, (pas de faux négatifs).

Le TTD est souvent considéré comme un test sensible mais peu spécifique<sup>[44]</sup>, et ne permettait pas de différencier les LA des déficits de la voie extrinsèque ou d'inhibiteurs<sup>[303]</sup>. La différence des performances discriminantes observée d'une équipe à une autre pourrait s'expliquer par le manque de standardisation des thromboplastines. Celles-ci, sont constituées de facteur tissulaire d'origine humaine (proviennent de cerveau ou de placenta, ou plus récemment recombinantes), ou animale, et de phospholipides. Il n'y a pas de standardisation de la concentration ni de la composition du facteur tissulaire et des phospholipides qui interviennent dans ces réactifs. Cependant l'utilisation de thromboplastine recombinante semble plus spécifique<sup>[108]</sup>, Liu trouve que Le TTD est supérieur au TCA avec neutralisation plaquettaire, dans la détection des LA<sup>[100]</sup>. Par ailleurs, en comparant TTD et dRVVT, il les trouve équivalents alors que d'autres auteurs préfèrent le dRVVT<sup>[98, 166, 227]</sup>.

Le test de neutralisation plaquettaire (Le Staclot LA), paraît un bon test de confirmation, en particulier chez les patients sous anticoagulants. Ces résultats sont confirmés dans plusieurs séries<sup>[259,260]</sup>.

**L'intérêt d'une exclusion d'une coagulopathie associée** paraît dans cette étude, où chez un patient, la présence forte d'un lupus anticoagulant a entraîné des faux déficits touchant la voie intrinsèque de la coagulation (FVIII et FIX). Pour cela la technique chronométrique a été réalisée sur des dilutions supérieures du plasma (jusqu'au 1/80<sup>e</sup>), Le déficit apparent de facteur VIII ou IX a été corrigé par la dilution de plasma et donc imputable à la présence de LA.

### **Intérêt respectif des tests dans le diagnostic de LA**

Il est clair que le contexte clinique, en particulier les thromboses, les complications obstétricales ou le LED, impose de documenter le patient par rapport à l'hypothèse d'un LA. Dans ce cas on souhaite disposer d'un critère parfaitement sensible, dont la positivité pourra être éventuellement confirmée par des techniques spécifiques.

Cette situation impose la mise en œuvre des tests habituels (TCA) et des tests de sensibilisation (PTT LA, TTD). Comme nous l'avons indiqué, tous les tests ont présenté une excellente capacité discriminante dans ce groupe de patients.

Au total, les techniques évaluées se sont comportées de façon équivalente aux techniques habituellement utilisées dans les laboratoires spécialisés.

Un aspect positif est que le choix de ces techniques semble répondre aux recommandations et à l'élaboration du diagnostic parfois difficile de LA, sous réserve que les contrôles de qualité du fabricant soient assez exigeants. Le Staclot LA nous a paru en revanche apporter un progrès intéressant.

### **Les tests immunologiques**

Le calibrateur utilisé dans le test ELISA de diagnostic des aPA était un anticorps monoclonal, HCAL pour les IgG et EY2C9 pour les IgM, ce qui est recommandé par le groupe de standardisation lors du dernier forum européen sur les anticorps antiphospholipides (2004) <sup>[98]</sup>, leur emploi diminuerait à l'avenir les variations inter-laboratoires.

Les valeurs seuils ont été calculées à partir du 99<sup>ème</sup> percentile car la distribution des témoins n'est pas gaussienne. Nos seuils positifs pour les aPA IgG et IgM sont de 14.66 et 9.4 respectivement. Ces valeurs définies dans notre population sont plus élevées que celles rapportées dans la littérature, ce qui rend probablement les critères biologiques plus sensibles au SAPL <sup>[310]</sup>.

Au cours du SAPL, les patients LA ou aPA positifs ont été définis par la permanence du diagnostic depuis plus de 3 mois. Ce critère vise à garantir le caractère immunologique de cette anomalie, et à constituer un groupe nosologique qui élimine les interférences non immunologiques qui miment un LA et les anomalies immunologiques acquises et transitoires dans un contexte infectieux, par exemple. Ces patients avaient tous des

antécédents de complications thrombotiques et leur plasma était doué d'une forte activité LA ou présentait un titre élevé d'anticorps.

### *Fréquences des APA au cours du lupus*

#### *Comparaison des données à la littérature*

La prévalence des APA (aPA ou LA) observée dans la population générale est de 3.2%, ce qui est retrouvé dans la littérature où celle-ci est estimée entre 1 et 5 % [225,307].

La fréquence des lupus anticoagulants dans notre série est de 23%. Celle-ci varie entre 15 et 34% dans la littérature [72, 177, 174].

A séries équivalentes, nos résultats se rapprochent de ceux de Cervera [72] (30%, 100 patients lupiques) et Mchugh (22%, 58 patients lupiques) (**annexe4**).

La prévalence des aPA détectés par les tests immunologiques dans notre groupe est de 33%. Celle-ci est estimée dans la littérature de 12 à 30% [72,177,174]. A séries équivalentes (60-33%), nos résultats rejoignent approximativement ceux de Cervera (100-36%) et Shimada (31-31%) (**annexe4**).

### *APA et manifestations cliniques du SAPL*

Nous avons testé la corrélation des différents anticorps anti-phospholipides et les manifestations cliniques du SAPL (thromboses et complications obstétricales).

Les aPL sont hétérogènes détectés par différents tests. Jusqu'à récemment aucun test n'est préférable au risque thrombotique.

Dans cette étude nous avons utilisé les tests chez 60 patients atteints de LES. Dans ce groupe, 21 patients ont une histoire de thrombose.

Les thromboses artérielles (65%) sont plus fréquentes que les thromboses veineuses (30%) au cours du syndrome des antiphospholipides, ce qui est décrit dans la revue de bibliographie [174].

Par ailleurs le système nerveux central est le site le plus concerné au cours des thromboses artérielles comme décrit par Hachulla <sup>[139]</sup>, la fréquence des thromboses rénales est plus fréquente que celle estimée dans la littérature 33% versus <27% <sup>[35]</sup>.

L'atteinte rénale est bien établie au cours du SAPL, aggrave le pronostic de l'atteinte rénale chez les patients <sup>[35]</sup>.

Dans l'analyse univariée, aucune distinction n'a été faite entre titre élevé et moyen.

Parmi les anticorps antiphospholipides conventionnels, la présence des aPA de type IgG et celle des LA sont statistiquement associées au SAPL contrairement aux aPA de type IgM. Les LA et les aPA de type IgG, augmentent le risque thrombotique artériel ou veineux, ce qui est rapporté le plus souvent dans la littérature <sup>[34, 107, 115, 116, 117]</sup>.

Les aPA IgG sont plus souvent associés aux thromboses artérielles (OR : 26) que veineuses (OR :6.05), les LA sont plus souvent associés aux thromboses veineuses (OR 4.27) qu'artérielles (OR 3.62) dans cette population, ce qui confirme les résultats publiés par Monica Galli (2003)<sup>[117]</sup>, qui rapporte les résultats de 25 études publiées de 1988 à 2001, comprenant 7000 patients et contrôles, dans lesquels, les LA sont considérés comme un facteur de risque important de thrombose artérielle ou veineuse .

Ils augmenteraient de 8 à 10 fois le risque de thromboses artérielles (OD ratio : 8.65 à 10.84) et de 4 à 16 fois le risque veineux (OD 4.09-16.2). De même, les aPA de type IgG (titre élevé), les OR sont respectivement pour les thromboses artérielles et veineuses de ns-18 et ns-2.51 <sup>[115, 116, 117]</sup>.

Seuls les LA ont été trouvés associés significativement aux complications obstétricales. Le faible nombre de patientes mariées introduit un biais dans l'appréciation de cet aspect.

### **Fréquence des anticorps anti-β2GPI chez les patients lupiques**

La fréquence des anticorps anti-β2GPI dans notre série était de 38%(N=60), nos résultats se rapprochent de ceux de Nojima <sup>[214, 215]</sup> qui retrouve une fréquence de 30%(168) et de ceux de Bruce <sup>[43]</sup> dont la fréquence estimée était de 37% (**annexe4**).

### **Anticorps anti-β2GPI et manifestations cliniques du syndrome des anti-Phospholipides**

Certaines études étudient l'association entre les anticorps anti-β2GPI et les manifestations cliniques du SAPL, thromboses et pathologies obstétricales en présence ou non d'anticorps anti-phospholipides :

### **Anticorps anti-β2GPI et pathologies obstétricales chez les patients lupiques**

Aucune des six études citées [24, 43, 205, 294, 308] ne trouve d'association entre les anticorps anti-β2GPI et les pertes fœtales chez les patients lupiques (**annexe 5**). La taille des effectifs (moins de 15 patients présentant des pertes fœtales récurrentes dans toutes les séries) ne permet pas cependant de conclure.

C'est le cas de notre série où aucune corrélation des anticorps anti-β2GPI n'a été retrouvée.

### **Anticorps anti-β2GPI et thromboses chez les patients lupiques**

Sur les 12 études, parmi 32 articles regroupant 5102 patients et 1973 contrôles rapportées par Monica Galli qui examinent l'association entre les anticorps anti-β2GPI et les thromboses chez les patients lupiques [115, 116,117] (**annexe7**), 9 confirment cette association.

60 % des thromboses artérielles sont associées aux anticorps anti-β2GPI de type IgG (OR15) et 53% aux anticorps de type IgM (OR 4.27). Ces résultats se rapprochent des travaux de Lee [115, 116, 117].

45% des thromboses veineuses sont associés aux anticorps anti-β2GPI de type IgG (4.27) et 54 % aux anticorps de type IgM (OR 4.68). Ces résultats se rapprochent de Ceux de Lee [115, 116, 117] (**annexe7**).

Les antiβ2GPI sont statistiquement associés à la maladie quelque soit l'isotype, bien que certaines études confirment l'association préférentielle des IgG que les IgM aux thromboses veineuses.

### *Sensibilité des anticorps anti-β2GPI pour les manifestations cliniques du SAPL*

Un certain nombre de patients présente une symptomatologie typique de SAPL sans que l'on mette en évidence chez eux les aPA ou les LA. Certains d'entre-eux possèdent des anticorps anti-β2GPI isolés. Cette observation met en évidence la sensibilité imparfaite des anticorps anti phospholipides conventionnels pour le SAPL.

La sensibilité des anticorps anti-β2GPI pour le SAPL dépend de la fréquence des anticorps anti-β2GPI isolés et de leur prévalence chez les patients qui présentent des manifestations typiques de SAPL sans antiphospholipides conventionnels.

Nous avons examiné la place des anticorps antiβ2GPI isolés dans la littérature et dans la population lupique durant la période de notre étude.

#### *Littérature et anticorps anti-β2GPI isolés :*

L'équipe d'Alarcon Segovia s'intéresse beaucoup aux anticorps anti-β2GPI, en 1995, il rapporte 17 patients lupiques qui présentent au moins 2 manifestations cliniques du SAPL (selon ses critères) sans "antiphospholipides conventionnels". 15 possèdent des anticorps anti-β2GPI de type IgG [70]. La prévalence de ces anticorps chez les patients avec les manifestations cliniques du SAPL sans "anti-phospholipides conventionnels" semble élevée. En fait les autres auteurs rapportent rarement des anticorps anti-β2GPI isolés (**annexe 4**).

Alarcon Segovia met en avant l'originalité de sa technique en utilisant des plaques non irradiées qui pourraient détecter des anticorps différents, dirigés contre la protéine native, mais il ne confirme pas son hypothèse. De plus, d'autres auteurs ont testé l'utilisation de plaques non irradiées sans mettre en évidence d'autres anticorps anti-β2GPI, alors que leur prévalence en utilisant des plaques irradiées est d'environ 30 % [24, 308, 214, 215]. D'autre part, les études qui recherchent les anticorps anti-β2GPI de type IgG uniquement, hormis l'étude d'Alarcon Segovia, ne rapportent aucun anticorps anti-β2GPI isolé. Cette observation est en accord avec l'hypothèse de Arvieux [21]. Les anticorps anti-β2GPI isolés seraient des anticorps spécifiques de type IgM le plus souvent, ce qui est le cas dans notre étude.

La valeur diagnostique des anticorps anti- $\beta$ 2GPI IgM est peu étudiée, même chez les patients avec anticorps antiphospholipides conventionnels. De plus la description dans certains cas de manifestations cliniques en présence de ces anticorps isolés ne signifie pas qu'il existe une association significative entre les deux. Dans la série de Bruce, 20.7% des malades avec anticorps anti- $\beta$ 2GPI isolés présentent au moins une manifestation clinique du SAPL. Les auteurs concluent de leur utilité diagnostic<sup>[249, 287]</sup>.

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI sont exceptionnellement isolés au cours du SAPL, soit 10% dans notre série. La question de la signification de ces anticorps isolés en présence d'une manifestation clinique du SAPL est loin d'être élucidée.

Un seul patient dans notre série, présentait des anticorps anti- $\beta$ 2GPI de type IgG isolés avec une thrombophlébite récidivante du membre inférieur, compatible avec le SAPL.

#### *En conclusion*

*La présence d'anticorps anti- $\beta$ 2GPI isolé au cours du SAPL est rare. La signification de sa présence chez un patient lupique ou au cours d'un événement thrombotique est incertaine.*

### **Sensibilité des tests diagnostiques du SAPL**

#### **Valeurs diagnostiques des anti-phospholipides conventionnels (aPA et LA)**

L'évaluation d'un examen diagnostique se fait pour une maladie donnée définie par des critères cliniques et/ou para cliniques **indépendants** de l'examen étudié. Dans le cas du SAPL, les anti-phospholipides ont une sensibilité élevée par **définition**.

L'examen évalué dans ce cas n'est pas indépendant des critères qui définissent la maladie.

#### **Sensibilité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour le SAPL**

Notre étude, montre que la sensibilité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour le SAPL défini selon les nouveaux critères est bonne.

## *Sensibilité, spécificité des anticorps anti-β2GPI et interprétation des résultats*

Les anticorps antiβ2GPI IgG ont une bonne spécificité et une meilleure valeur prédictive positive (94%) pour le SAPL que les autres anticorps ; leur spécificité est de 97% et une sensibilité de 75%. Ces chiffres sont comparables à ceux de la littérature ; sur 16 études citées 50% (8) <sup>[319, 118, 272, 125, 24, 70,308, 294,182]</sup> (**annexe 5-6**) rapportent une spécificité pour le SAPL >90%, seulement 19% (3 études) rapportent une spécificité inférieure à 80% <sup>[43, 308]</sup> (**annexe5**). Sur 13 études qui établissent une sensibilité, 62% (8 études) rapportent des chiffres <60% <sup>[143, 319, 118, 203, 24,294]</sup> (**annexe5-6**).

Ces résultats doivent néanmoins être interprétés avec prudence du fait des limites méthodologiques diverses.

-La plupart des études sont rétrospectives

-Ces spécificités et valeurs prédictives positives sont calculées dans des groupes de patients sélectionnés, or ceux-ci sont rarement représentatifs des situations cliniques dans lesquelles les cliniciens seraient susceptibles d'utiliser l'anticorps.

-L'évaluation d'un test diagnostique (APA) pour une maladie définie par des critères paracliniques non indépendants de ces tests (définition du SAPL) fausse (améliore) les résultats en terme de sensibilité. Cette observation soulève la question du groupe de patients dans lequel doivent être calculés les anticorps anti-β2GPI.

La littérature sur les anticorps anti-β2GPI, comme sur tous les aspects du SAPL, est très riche, Le clinicien doit néanmoins interpréter les résultats en fonction de la méthodologie utilisée, qui varie souvent d'une étude à une autre, et rend la synthèse et l'estimation de la valeur diagnostique de ces anticorps difficile.

Comme pour les anticorps anti-phospholipides, la majorité des études de la valeur diagnostique des anticorps anti-β2GPI pour le SAPL, sont des études rétrospectives ou transversales. En cas d'association des anticorps avec la thrombose, il est impossible, dans ce type d'étude, de déterminer la responsabilité des anticorps qui peuvent seulement être secondaires au phénomène thrombotique.

Quelques études rétrospectives longitudinales mettent en évidence la présence d'anticorps anti-β2GPI avant la survenue de l'évènement thrombotique.

Deux études prospectives seulement sont rapportées ;la première réalisée chez 71 patients consécutifs non lupiques présentant des anticorps anti-phospholipides découverts lors d'une première thrombose, examine le risque de récurrence en présence d'anticorps anti- $\beta$ 2GPI [319].

La seconde réalisée chez 82 patients consécutifs avec les anticorps anti-phospholipides qui présentent une manifestation clinique du SAPL selon les critères d'Alarcon Segovia, étudie le risque de récurrence d'un deuxième événement en fonction du tableau clinique, du profil biologique et du traitement en cours [293].

Globalement la littérature sur la valeur diagnostique des anticorps anti- $\beta$ 2GPI est riche, mais difficile à interpréter. Des études prospectives à grande échelle sont nécessaires pour déterminer la valeur pronostique de ces anticorps pour les manifestations cliniques du SAPL.

Les valeurs de sensibilité et spécificité sont toujours dépendantes des groupes de patients chez qui elle sont établies. Beaucoup d'auteurs ne considèrent pas assez les situations cliniques où elles sont utiles pour le clinicien.

L'objectif de l'évaluation d'un examen diagnostique consiste à fournir aux praticiens une information précise sur la sensibilité et la spécificité de cet examen dans les situations cliniques où ils seront susceptibles de l'utiliser.

La spécificité, pourcentage de sujets non affectés de la maladie avec un résultat normal, peut être établie dans une population mal limitée ou mal définie (sujets non affectés par la maladie), mais la spécificité utile aux cliniciens doit être établie dans une population comparable à celle utilisée pour le calcul de la sensibilité (âge, sexe, facteurs de risque et surtout présentation clinique évocatrice de la maladie susceptible de conduire à la réalisation de l'examen).

### **L'interprétation des résultats doit tenir compte du groupe contrôle**

3 des 16 études (19%) citées qui rapportent des spécificités ou valeurs prédictives positives des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour le SAPL ou ses manifestations cliniques utilisent comme contrôles des sujets infectés (syphilis, HIV, Hépatite) [203,271,125] (**annexe 6**). La spécificité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI chez ces patients n'est pas utile au clinicien.

En pratique, la situation qui conduit à la réalisation de cet examen chez des sujets non symptomatiques du SAPL est un allongement du TCA et non la survenue d'une infection (même si l'allongement des temps de coagulation peut se voir au cours d'une infection).

2 des 13 études comparent un groupe de patients, SAPL primaire et secondaire à des témoins lupiques <sup>[24,83]</sup> (**annexe6**). Leurs résultats se rapprochent de notre étude où l'on compare un groupe de patients atteints de SAPL secondaire aux autres patients (LES sans SAPL). Les spécificités des anti- $\beta$ 2GPI IgG et IgM ont été estimées à 97 % et 87% respectivement.

Ces spécificités sont difficilement interprétables du fait que la comparaison a été faite par rapport à des patients lupiques, dont les facteurs de risque autres que les anti-phospholipides sont nombreux (corticothérapie, alitement, homocystéine ...) or, d'après des études prospectives, le risque de récurrence en présence d'antiphospholipides conventionnels serait d'environ de 2 à 5% par an <sup>[107]</sup>. Le risque de récurrence à 5 ans, en posant l'hypothèse d'un risque annuel stable sur une période de 5 années, serait de 50% : donc la valeur prédictive est faible.

C'est dans ce contexte que l'étude des valeurs, prédictive positive et spécificité des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour le risque de récurrence de thromboses chez les patients lupiques ou non, est intéressante.

Le design des études d'évaluation des anticorps anti- $\beta$ 2GPI doit prendre en compte les questions du clinicien en pratique courante par exemple :

-Quelle est la valeur prédictive positive pour le SAPL de l'anticorps anti- $\beta$ 2GPI découvert devant l'allongement isolé du TCA chez des patients asymptomatiques à long terme ?

-Quelle est la valeur prédictive positive à long terme pour le SAPL de l'anticorps anti- $\beta$ 2GPI chez les patients lupiques non symptomatiques ?

-Quelle est la valeur prédictive positive des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour les pathologies obstétricales chez les patients lupiques ou non ?

- ... (la valeur de l'anticorps anti- $\beta$ 2GPI intéresse désormais le clinicien pour toutes les manifestations cliniques décrites au cours de celui-ci).

### *Présence des anticorps anti-β2GPI chez les patients lupiques*

Bruce publie en 2000 une revue de la littérature sur la prévalence des anticorps anti-β2GPI chez les patients lupiques et leur association avec le SAPL ou ses manifestations cliniques.

Douze études sont rapportées pour un total de 1342 patients <sup>[43]</sup>. 32% présentent des anticorps anti-cardiolipine et 18 % des anticorps anti-β2GPI de type IgG.

Certaines études examinent la valeur diagnostique des anticorps anti-β2GPI pour le SAPL. Par définition, les patients malades ont des anti-phospholipides conventionnels.

D'autres études examinent l'association et la valeur diagnostique des anticorps anti-β2GPI avec les manifestations cliniques du SAPL, Dans celle-ci, les patients et les contrôles ne présentent pas systématiquement des anti-phospholipides conventionnels (aPA ou LA).

Cinq études examinent l'association des anticorps anti-β2GPI de type IgG avec le SAPL au cours du lupus érythémateux systémique <sup>[24, 70, 83]</sup> et une l'infirme <sup>[205]</sup>.

L'interprétation des résultats doit prendre en compte la diversité des groupes contrôle.

### *Données issues de la littérature*

Les études de Cabiedes <sup>[70]</sup>, Amengual <sup>[24]</sup> et Sanfilippo <sup>[268]</sup> rapportent des spécificités des anticorps anti-β2GPI pour le SAPL respectivement de 96%, 96% et 88% (**annexe6**).

Les valeurs prédictives positives sont respectivement de 90%, non déterminées, et de 82%. Ces chiffres sont difficilement comparables entre eux et avec notre étude, du fait de groupes contrôle différents,

- Dans l'étude de Cabiedes <sup>[70]</sup>, le groupe contrôle est constitué de 55 patients lupiques dont 40% possèdent des "anti-phospholipides conventionnels".

- Dans l'étude d'Amengual <sup>[24]</sup>, il est constitué de 49 patients lupiques dont 24% possèdent des anticorps anti-cardiolipine (la fréquence des LA n'est pas rapportée).

- Dans l'étude de Sanfilippo <sup>[268]</sup>, il est constitué de 36 patients lupiques avec anticorps anti-cardiolipine (fréquence des LA non rapportée) (**annexe6**).

## Interprétation des données

Les résultats de notre étude se rapprochent de celle de Cabiedes mais la classification retenue est celle d'Alarcon Segovia ce qui n'est pas le cas dans notre étude.

En pratique courante, le clinicien n'a pas besoin de connaître la valeur prédictive positive des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour le SAPL chez des patients lupiques dont 20 ou 40% présentent des " anti-phospholipides conventionnels ".

Il s'intéresse d'une part à la valeur prédictive des  $\beta$ 2GPI pour le SAPL chez les patients lupiques avec " anti-phospholipides conventionnels", et d'autre part à la valeur prédictive positive des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour les manifestations cliniques du SAPL en absence d'anti-phospholipides conventionnels.

Nous avons comparé les résultats de notre étude aux données de la littérature en calculant les sensibilité, spécificité, et valeurs prédictives des anticorps anti- $\beta$ 2GPI pour le SAPL.

La prévalence du SAPL était de 33 %. Les sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative des anti- $\beta$ 2GPI IgG ou IgM étaient respectivement de 85%, 84%, 81% et 91%.

<b>Auteur</b>	<b>Année</b>	<b>Nombre de patients</b>	<b>Prévalence du SAPL</b>	<b>Sensibilité</b>	<b>Spécificité</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>
Cabiedes <sup>[70]</sup>	1995	43	49%	90%	<b>91%</b>	<b>90%</b>	91%
Amengual <sup>[24]</sup>	1996	34	65%	77%	<b>83%</b>	<b>89%</b>	67%
Sanfilippo <sup>[268]</sup>	1998	65	45%	62%	<b>89%</b>	<b>82%</b>	74%
<b>Notre étude</b>	<b>2003</b>	<b>60</b>	<b>33%</b>	<b>85%</b>	<b>84%</b>	<b>81%</b>	<b>91%</b>

**Tableau 31 :** Valeurs diagnostiques des anticorps anti-B2GPI pour le SAPL chez des patients lupiques qui présentent des anticorps anti-phospholipides, comparaison de nos résultats avec la littérature

Les résultats des études publiées de Cabiedes, Sanfilippo et Amengual sont intéressants. Les spécificités et les valeurs prédictives positives sont supérieures à 80% dans toutes les séries mais les effectifs sont faibles.

*Les anticorps anti-β2GPI semblent avoir une bonne valeur diagnostique pour le syndrome des anti-phospholipides chez les patients lupiques qui possèdent des anticorps anti-phospholipides. Ces résultats doivent être confirmés par des études prospectives à grande échelle.*

### **Place et signification des anticorps anti-β2GPI au sein des anti-phospholipides.**

L'analyse de la littérature montre que les anticorps anti-β2GPI pourraient être des marqueurs utiles pour le SAPL chez les patients lupiques ou présentant une thrombose, Mais peu d'auteurs examine leur valeur en tant que facteur de risque indépendant.

Mais leur bonne spécificité ou valeur prédictive positive de récurrence thrombotique pourrait être la conséquence d'une forte association avec les lupus anticoagulants.

Il est important pour le clinicien de savoir si la présence d'un anticorps anti-β2GPI renforce la valeur diagnostique d'un anticoagulant circulant, ou si sa bonne spécificité est secondaire à l'association d'un anticoagulant circulant.

Rares sont les études qui examinent la valeur des anticorps anti-β2GPI comme facteur de risque indépendant de thrombose. 2 études le confirment [85, 106].

Martinuzzo et ses collaborateurs [203] rapportent qu'au cours du LES avec anti-β2GPI, seuls 30% ont une histoire de thromboses veineuses contre 11% sans anticorps anti-phospholipides.

L'analyse multivariée dans notre étude fait de la présence de LA et des anti-β2GPI les facteurs de risque majeurs de thromboses artérielle et veineuse.

10 études ont inclus l'analyse multivariée ; 2 d'entre elles confirment que les anticorps anti-β2GPI sont des facteurs de risque indépendants de la thrombose veineuse [225, 114, 115].

Nos résultats sont similaires à ceux de la littérature [319, 118, 203, 111, 274, 24, 83, 70, 43, 268] (**annexe 5-6**), Il existe une corrélation significative entre les anticorps anti-phospholipides de type IgG et IgM et les anticorps anti-β2GPI au cours du SAPL ( $p < 0.05$ ). Cette corrélation n'est pas retrouvée chez les patients sans SAPL pour les IgM. Les anticorps anti-β2GPI de type IgG ont une bonne spécificité et une meilleure valeur prédictive positive pour le SAPL.

Monica Galli rapporte de bonnes corrélations des anticorps anti-phospholipides et anti- $\beta$ 2GPI au cours des maladies auto-immunes et du syndrome des anti-phospholipides , propose même de remplacer les anti-phospholipides par les anti-  $\beta$ 2GPI <sup>[111]</sup>.

Le choix des anticorps a $\beta$ 2GPI en tant que critère biologique supplémentaire du SAPL est clairement établi, Certaines observations peuvent être soulevées

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI isolés sont-ils spécifiques du SAPL ?

Autrement dit quelle est la véritable sensibilité des antiphospholipides et des LA pour le SAPL, existe-t-il et avec quelle prévalence des patients avec SAPL typique sans les autres anticorps.

Parmi les 9 associations biologiques des anti phospholipides observées dans notre série, seule une était significativement associée au risque thrombotique veineux ou artériel notamment : aPA IgG+/ $\beta$ 2GPIIgG+/LA+. Cette triple positivité augmenterait le risque thrombotique (OD 6.36).

14 associations statistiquement associées aux thromboses vasculaires sont rapportées par Monica Galli <sup>[112]</sup> dont celle observée dans notre groupe de malades (OD 2.3), cela s'expliquerait par le nombre restreint de thromboses vasculaires considérées dans notre série.

En conclusion, la littérature sur les anticorps anti- $\beta$ 2GPI, quoi que riche, apporte des informations d'intérêt limité aux cliniciens. Il est possible qu'ils aient une bonne spécificité pour le SAPL chez les patients lupiques, mais les effectifs des études sont faibles. La réalisation d'études prospectives multicentriques devrait mieux définir le rôle des anticorps anti- $\beta$ 2GPI dans la survenue de récives thrombotiques.

### *Anticorps et difficultés de standardisation*

Dans une étude multicentrique dans le cadre du forum européen des anti-phospholipides, de grandes disparités persistent entre participants malgré l'adoption d'unités de mesure communes pour fixer les seuils de positivité.

Les problèmes sont identiques pour les antiphospholipides, il est toujours nécessaire d'interpréter les résultats en fonction des manifestations cliniques du patient. La discordance de la littérature serait de la même façon expliquée par ces difficultés de standardisation [292].

L'utilisation de standards de références (les anticorps monoclonaux) et le suivi des recommandations internationales devraient permettre la comparaison et l'harmonisation des résultats obtenus avec différents systèmes de dosage.

En somme, les valeurs de spécificité et valeur prédictive des anti- $\beta$ 2GPI et des anti-phospholipides sont le plus souvent élevés dans la littérature. Notre étude montre même de bons résultats. Des études multicentriques prospectives doivent être réalisées.

La difficulté majeure aujourd'hui est la standardisation des méthodes de détection des anti-phospholipides qui est l'objectif primordial avant d'entreprendre des études à grande échelle.

## CONCLUSION

Le syndrome des anti-phospholipides se définit par l'association d'au moins une thrombose et/ou d'une pathologie obstétricale, à la présence d'anticorps antiphospholipides ou de lupus anticoagulants ou d'anticorps anti- $\beta$ 2glycoprotéine I.

Ces marqueurs biologiques sont découverts fortuitement dans les années 1950, devant la fréquence de la fausse sérologie syphilitique chez les patients, la mise en évidence dans les années 1980 de leur association, à priori paradoxale, à la survenue d'événements thrombotiques suscite un grand intérêt à l'origine de la formation d'un groupe de travail pour améliorer la détection des lupus anticoagulants et du développement d'un test immuno-enzymatique utilisant la cardiolipine.

Les années 1990 sont marquées par la survenue de « cofacteurs » notamment la  $\beta$ 2glycoprotéine I et autres protéines associées (en particulier la prothrombine), qui constituent en fait la véritable cible des anticorps rencontrés dans les maladies auto-immunes.

Nous avons réalisé une étude visant à déterminer la prévalence du syndrome des anti-phospholipides dans une population définie lupique de l'ouest d'Algérie et l'analyse des différents profils biologiques des anti phospholipides détectés au laboratoire d'hémobiologie du centre hospitalier et universitaire de Tlemcen entre septembre 2003 à décembre 2005.

Sur 60 patients inclus, 32% présentaient des anticorps anti-phospholipides dépendants de la  $\beta$ 2GPI, 38% des anticorps anti- $\beta$ 2GPI et 23% des lupus anticoagulants. 20 patients présentaient un SAPL (33%) selon les critères actuels. Les thromboses artérielles sont les plus fréquentes des manifestations cliniques, et les anticorps antiphospholipide de type IgG sont les plus fréquents et souvent associés aux anticorps anti- $\beta$ 2GPI. Nos résultats sont comparables à la littérature.

L'hétérogénéité des aPL et la variabilité des situations cliniques où ils sont rencontrés posent la question cruciale de leur appartenance véritable à un SAPL.

Il en ressort de cette étude que, le profil biologique conditionne le risque thrombotique, ainsi dans cette population atteinte, le caractère potentiellement pathogène des aPL est suspecté sur les éléments suivants ; l'isotype IgG et le titre élevé des aPA, leur association à la présence de LA et les a $\beta$ 2GPI, les arguments en faveur du désordre autoimmunitaire et la persistance de ces anticorps à des déterminations séquentielles.

Les investigations des anticorps anti-phospholipides doivent se poursuivre, mais les points suivants sont d'ores et déjà acquis :

La présence d'anticorps anti- $\beta$ 2GPI est statistiquement associée à celle des anticorps anti-phospholipides et des lupus anticoagulants, lorsque l'on s'adresse à une population de patients auto-immuns (lupus érythémateux systémique), les a $\beta$ 2GPI s'avèrent être un marqueur biologique de choix pour le diagnostic de SAPL. Leur bonne spécificité semble valider leur utilité diagnostique chez les patients atteints de SAPL.

La présence isolée des anticorps anti- $\beta$ 2GPI, en l'absence d'autres anti-phospholipides détectables dans les tests conventionnels, peut se rencontrer dans le cadre de SAPL secondaire au LES. Les divergences dans la littérature sont probablement dues à des problèmes méthodologiques persistants. Leur fréquence reste à déterminer sur une plus grande série.

Les critères biologiques actualisés dans la recherche des LA, établis par l'ISTH ont permis d'améliorer la standardisation des LA. Par ailleurs, de grandes variabilités existent dans le test  $\beta$ 2GPI-ELISA. L'étude menée par le forum européen sur les anticorps antiphospholipides a montré que la cause principale serait la qualité de préparation de la  $\beta$ 2GPI, modifiant l'expression des épitopes.

Une question essentielle du clinicien reste sans réponse à l'heure actuelle : au-dessus de quelles valeurs les anticorps ont-ils une forte valeur prédictive de récurrence thrombotique, La non reproductibilité des résultats empêche de réaliser une analyse de sensibilité à grande échelle pour déterminer une valeur seuil discriminante entre les anticorps pathogènes et ceux qui ne seraient qu'un épiphénomène sans signification pathologique.

### ***EN PRATIQUE***

Les techniques actualisées du diagnostic des aPL, sont bien implantées dans notre laboratoire, il serait intéressant d'utiliser le dRVVT qui serait plus spécifique et moins modifié que le TTD par la diminution des facteurs de la coagulation.

Le nombre de spécificités anticorps associés au SAPL s'accroît régulièrement obligeant biologistes et cliniciens à effectuer des choix.

La figure (55) illustre l'approche schématique pour l'exploration biologique du SAPL avec une stratégie d'examen en cascades.

Devant une symptomatologie clinique évocatrice, en particulier les thromboses ou les complications obstétricales ou le lupus systémique, aux côtés de la recherche des LA et du dosage des aPA, le dosage des anticorps anti- $\beta$ 2GPI humaine en ELISA devrait être prescrit en première intention pour optimiser le diagnostic biologique du SAPL.

La fréquence de ces anticorps est élevée au cours du LES et du SAPL, ces derniers sont statistiquement associés aux thromboses vasculaires, et de bonnes corrélations ont été retrouvées avec les anticorps anti phospholipides en particulier l'isotype IgG.

Les situations imposent la recherche d'anti-phospholipides, elles doivent être consensuelles et tenir compte des impératifs économiques.

## ***PERSPECTIVES***

L'analyse de notre étude justifie clairement la recherche de ces anticorps au cours du lupus érythémateux systémique. Il serait intéressant de la poursuivre sur un plus grand échantillon et dans le cadre des autres pathologies auto-immunes.

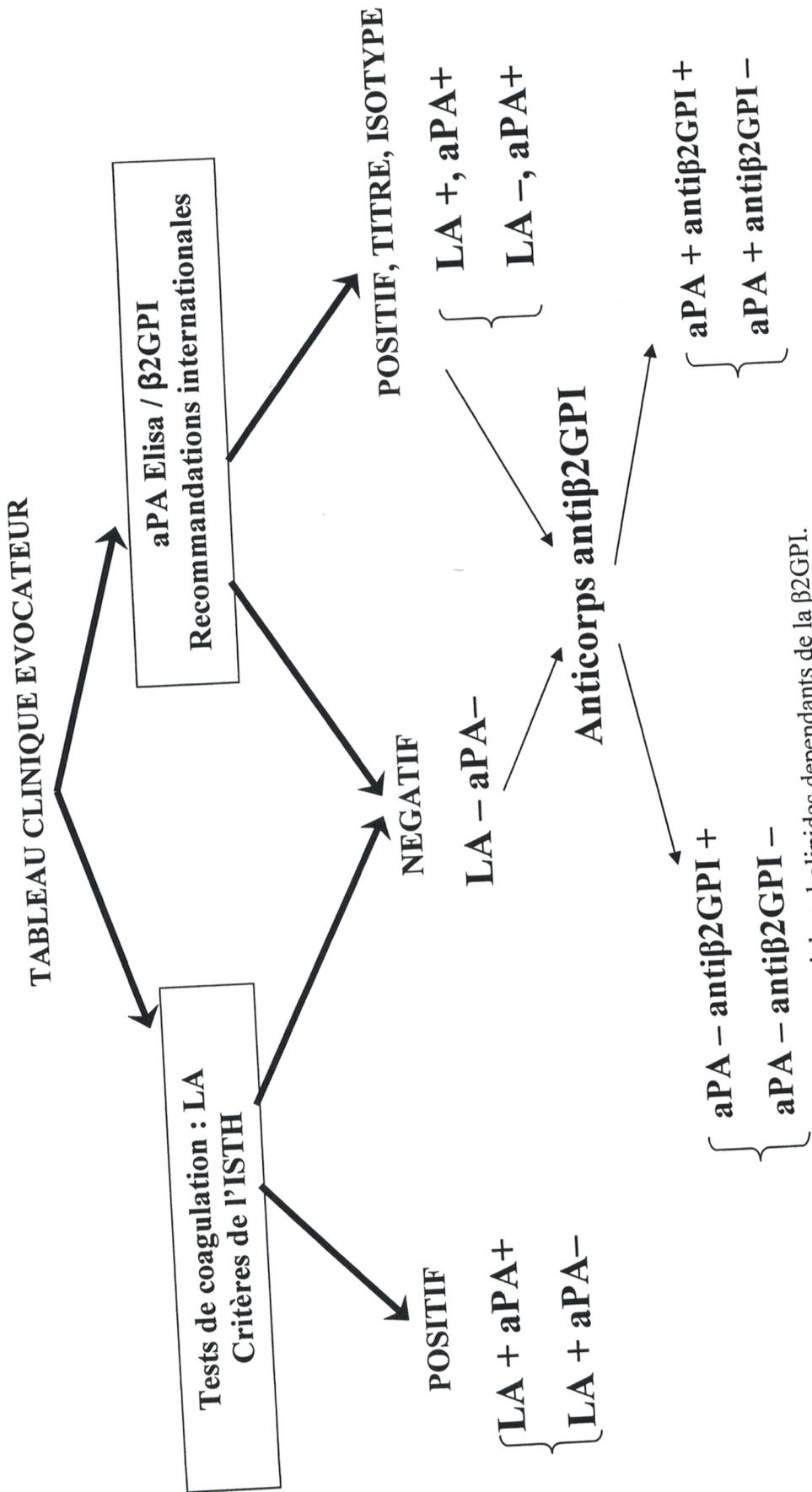
Le SAPL est à présent mieux connu, ses traitements plus codifiés, ses implications pronostics et thérapeutiques motivent un diagnostic précoce suivi d'une prise en charge pluridisciplinaire.

L'implantation de ces techniques et une large diffusion des tests ELISA reposant sur l'immobilisation directe des protéines cibles des APA en particulier la  $\beta$ 2GPI devrait se faire dans la plupart des laboratoires de diagnostic.

Des progrès sont encore à réaliser afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique notamment, des études prospectives et des analyses de sensibilité à grande échelle, pour déterminer les valeurs seuils discriminantes de ces anticorps et la valeur pronostique de ces anticorps pour les manifestations cliniques du SAPL.

La recherche de nouveaux facteurs prédictifs de thrombose en particulier les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine serait intéressante en particulier chez les patients qui ont des manifestations cliniques sans que l'on puisse déceler aucun facteur de risque connu.

**Fig. 55 : Approche schématique de l'exploration biologique du SAPL**  
*D'après Hachulla, 2001.*



LA : Lupus anti-coagulants, aPA : anticorps antiphospholipides dependants de la β2GPI.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **ARNOUT J.** Risk for thrombosis linked to the target antigen of a lupus anticoagulant? *J Thromb Haemost* 2004; 2:697-699.
- [2] **ANDREWS RK ET BERNDT MC.** Platelet physiology and thrombosis. *Thrombosis research* 2004; 114, 447-453.
- [3] **ATSUMI T, AMENGUAL O, YASUDA S ET KOIKE T.** Antiprothrombin antibodies - are they worth assaying?. *Thrombosis research* 2004; 114,533-538.
- [4] **AHMAD SS, LONDON FS, WALSH PN.** The assembly of the factor X-activating complex on activated human platelets. *J. Thrombosis and haemostasis* 2003; 1, 48-59.
- [5] **AMOURA Z ET PIETTE JC.** Rôle du nucléosome dans la physiopathologie du lupus systémique. *Ann Med.Interne*, 2003, 154, n° 1, pp.25-32.
- [6] **ARNOUT J ET VERMYLEN J.** Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2003;1,931-942.
- [7] **ARNOUT J.** Thrombosis: fundamental and clinical aspects. *Leuven university press* 2003.chap21
- [8] **AUBRIET-FRANCOIS S.** Anticorps anti- $\beta_2$ -glycoprotéine I, marqueurs du syndrome des antiphospholipides ? A propos de 81 patients présentant des anticorps anti-cardiolipine et/ou un anticoagulant circulant. *Thèse de doctorat en sciences médicales (université CLAUDE BERNARD Lyon I)* 2002,1-103.
- [9] **ARVIEUX J ET SANMARCO M.** Biologie du syndrome des anti-phospholipides:les tests immunologiques. *Cahier de formation - Syndrome des antiphospholipides* 2001 :53-76.
- [10] **ARNOUT J.** Antiphospholipid syndrome: Diagnostic aspects of lupus anticoagulants *Thrombosis Haemostasis* 2001; 86:83-91.
- [11] **ARNOUT J.** Mechanism of action of lupus anticoagulants. *Homostaseologie*2/2001;44-48.
- [12] **ARNOUX D.** Les anticoagulants anti-phospholipides détectés par les tests de coagulation: les anticoagulants lupiques .*Cahier de formation - Syndrome des antiphospholipides* 2001 :33-52.
- [13] **ALVING BM.** Diagnosis and management of patients with the anti-phospholipid Syndrome. *J of Thromb and thrombolys* 2001; 12:89-93.
- [14] **ARNOUX D, BOUTIERE B ET SANMARCO M.** Antiphospholipid antibodies: clinical significance and biological diagnos. *Ann Biol Clin (Paris)*. Sep-Oct 2000; 58(5):557-74.
- [15] **AMOURA Z, PIETTE JC.** Le lupus érythémateux systémique: Aspects cliniques *Médecine thérapeutique* 2000 ; 6(7) ; 547-53.
- [16] **ATSUMI T, TEKOK M, BERTOLACCINI ML, ICHIKAWA K, TSUTSUMI A, MATSUURA E, KOIKE T.** 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 :1982-93.
- [17] **ARNOUT J.** Lupus anticoagulant testing in Europe : An analysis of results from the first European concerted action on thrombophilie (ECAT)Survey using plasmas spiked with monoclonal antibodies against human  $\beta_2$  glycoprotein I .*Thromb haemost* 1999;S65 (Abstract).

- [18] **ARNOUT J, WITTEVRONGEL C, VANRUSSELT M, HOYLAERTS M ET VERMYLEN J.**  $\beta_2$ GPI-dependent Lupus Anticoagulants form stable bivalent Antibody Beta-2-Glycoprotein I Complexes on Phospholipid Surfaces. *Thromb Haemost* 1998; 79:79-86.
- [19] **ARNOUT J, VANRUSSELT M, WITTEVRONGEL C ET VERMYLEN J.** Monoclonal antibodies against beta-2-Glycoprotein I: use as reference Materiel for Lupus Anticoagulant tests. *Thromb Haemost* 1998; 79:955-958.
- [20] **ASHERSON RA, CERVERA R, INGELMO M.** Catastrophic antiphospholipid syndrome. Clinical and laboratory features of 50 patients. *Medicine*, 1998; 77:195-207.
- [21] **ARVIEUX J, ROUSSEL B ET Bensa JC.** Le point sur les anticorps anti- $\beta_2$  glycoprotéine I. *Revue française des laboratoires*, mai 1997, 293 :51-55.
- [22] **AMIRAL J, ADAM M, CLUZEAU D, VISSAC AM, GRIMAUX M ET MAILLET T.** Anticorps phospholipides dépendants : données actuelles et développement de trousse de dosage optimisées. *Revue française des laboratoires*, novembre 1997, 297 :25-34.
- [23] **ASHERSON RA ET PIETTE JC.** The catastrophic antiphospholipid syndrome 1996:acute multi-organ failure associated with antiphospholipid antibodies:a review of 31 patients *Lupus* 1996; 5, 414-417.
- [24] **AMENGUAL O, ATSUMI T, KAMASHATA A, KOIKE T, HUGHES GRV.** Specificity of ELISA for antibody to  $\beta_2$ -Glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome. *R J Rheumatol* 1996; 35:1239-43.
- [25] **ABUAF N, RAJOELY B, BARTHET C, DESCHAMPS A, BOUCHET MC, ROUQUETTE AM ET VAYSSAIRAT M.** Prevalence of anti- $\beta_2$ -glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in 2174 patients and 107 healthy controls. *Nouv Rev Fr Hematol* 1995; 37[Suppl II]: S53-S56.
- [26] **AMIRAL J, GROSLEY M, BOYER-NEUMANN C, MERFAING-KOKA A, PEYNAUD-DEBAYLE E, WOLF M, MEYER D.** " new direct assay of free protein s antigen using two distinct monoclonal antibodies specific for the free form ". *Blood coag.fibrinolysis*, 5, 179-186, 1994.
- [27] **ARVIEUX J, ROUSSEL B ET COLOMB MG.** Anticorps antiphospholipides et anti- $\beta_2$ glycoprotéine I. *Ann Biol Clin* 1994 ; 52,381-385.
- [28] **ABUAF N, MEYER O, LAPERCHÉ S, PIERRON D, LAROCHE P, RAJOELY B ET ROUQUETTE AM .** Conclusions du 1<sup>er</sup> atelier français de standardisation du dosage des anticorps anticardiopline associés à la pathologie auto-immune. *Ann BiolClin* 1994; 52,365-373.
- [29] **AIACH M, ALHENC -GELAS M, BORG J Y, BROSEL C, CONTANT G, DELAHOUSE B, DERLON A, LE QUERREC A, FISHER AM, DAUTZENBERG MD, HOUBOUYAN L, VAGUE.JUHAN I, AILLAUD MF, DE MOERLOOSE P, REBER G, POLAK B, POUZOL P, DE PROST D ET SAMPOL J .** Etude sur les lupus anticoagulants (commission "hémostasé"). : *Option /BIO N°104*, 1993, ISB N°17:17-20
- [30] **ALARCON SEGOVIA D, PEREZ-VASQUEZ ME, VILLA AR, DRENKARD C ET CABIEDES J.** Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus .*Semin Arthritis Rheum*.1992; 21:275-286.
- [31] **ABUAF N, MEYER O, LAPERCHÉ S, PIERRON D, LAROCHE P, RAJOELY B ET ROUQUETTE AM :** Vers une standardisation du dosage des anticorps anticardiopline. *Sang thrombose Vaisseaux* 1993; 5:663-71.
- [32] **ASHERSON RA.** Antiphospholipid antibodies: Clinical complications reported in medical literature. *Advances in immunology* 1991, Chapitre 25, 387-402.
- [33] **ALVING BM, BARR CF ET TANG DB.** Correlation between lupus anticoagulants and anticardiopline antibodies in patients with prolonged activated partial thromboplastin times. *The American journal of medicine* February 1990, vol 88:112-116.

- [34] **ALARCON –SEGOVIA D, DELEZE M , ORIA C, GUERRERO-SANCHEZ V, PACHECO - GOMEZ L, CABIEDES J, FERNANDEZ L ET PONCE DE LEON S.** Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus a prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine* 1989; vol 68, 6,353-65.
- [35] **ASHERSON RA.** A “Primary antiphospholipid syndrome”*J.Rheumatol.*1988 15:1742-1746.
- [36] **BREY RL.**Management of the neurological manifestations of APS-what do the trials tell us *Thrombosis research* 2004; 114,489-499
- [37] **BRANCH DW.** Antiphospholipid antibodies and fetal compromise. *Thrombosis Research* (2004) 114,415-418.
- [38] **BROUWER JL P, BIJL M, VEEGER NJGM, KLUIN-NELEMANS HC ET DERMEER JV.** The contribution of inherited and acquired thrombophilic defects, alone or combined with Antiphospholipid antibodies, to venous and arterial thromboembolism in patients with systemic lupus erythematosus. *Blood*, 1 July 2004.vol 104, 1; 143-48.
- [39] **BLANK M, SHANI A, GOLDBERG I, KOPOLOVIC J, AMIGO MC, MAGRINI L ET SHOENFELD Y.** Libman-Sacks endocarditis associated with antiphospholipid syndrome and infection. *Thrombosis research* 2004; 114,589-592.
- [40] **BEZEAUD A ET GUILLIN MC.** Exploration de la coagulation. *Encyclopédie medico- chirurgicale, hématologie* 2001, 13-019-A-25 ,3 p
- [41] **BEZEAUD A ET GUILLIN MC.** Physiologie de la coagulation. *Encyclopédie medico- chirurgicale, hématologie* 2001, 13-019-A-20, 7 p
- [42] **BOUTIERE-ALBANES B, ARNOUX D ET SAMPOL J.** Rôle du laboratoire d’hémostase dans le diagnostic du syndrome des antiphospholipides. *Feuillets de biologie*, 2001, vol .XXXII, 243:5-8.
- [43] **BRUCE NN, SOLONINKA CA, SPITZER KA, GLADMAN DD, UROWITZ UB, LASKIN CA.** Prevalence of antibodies to  $\beta$ 2glycoprotéine I in systemic lupus erythematosus and their association with antiphospholipid antibody syndrom criteria: A single center study and litterature review. *J Rheumatol* 2000;27:2833-7.
- [44] **BOUTIERE B ET ARNOUX D.** Diagnostic biologique des Lupus anticoagulants. *Spectra Biologie*, juin juillet 1999, vol.18, 103 :18-20.
- [45] **BERTOLACCINI M L, ROCH B, AMENGUAL O, ATSUMI T, KHAMASHTA MA ET HUGHES GRV .**Multiple antiphospholipid tests do not increase the diagnostic yield in antiphospholipid syndrome.*British Journal of Rheumatology* 1998.37:1229-1232.
- [46] **BOUTIERE B, ARNOUX D ET SANMARCO M.** Auto-immunité et thrombose : le syndrome des antiphospholipides. *Revue française des laboratoires*, Mai1997, N°293.
- [47] **BOUANICHE M, GUEDON C, BORG JY, ZALAR A, DUCROTTE P ET LEREBOURS E.** Thrombose portale révélant un syndrome des antiphospholipides Deux cas. *Gastroentéro Clin Biol.*, 1996, 20,897-900.
- [48] **BRIGHTON TA, HOGG PJ, DAI YP, MURRAY BH, CHONG BH ET CHESTERMAN CN.** Beta2-glycoprotein I in thrombosis: evidence for a role as a natural anticoagulant. *British journal of haematology*,1996,93,185-194
- [49] **BIOUSSE V, ET PIETTE JC.** Genetic aspects of the primary antiphospholipid syndrome *Nouv Rev Fr Hematol* 1995, 37[Suppl II]: S65-S67
- [50] **BOFFA MC ET PIETTE JC.** Anticorps anti-phospholipides:Recommandations Paris 1995 *Nouv Rev Fr Hematol* 1995, 37[Suppl II]: S117-120

- [51] **BRANDT JT, BARNA LK ET TRIPLETT DA.** Laboratory Identification of Lupus Anticoagulants: Results of the second international workshop for identification of lupus anticoagulants. On behalf of the subcommittee on lupus anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the scientific and standardization Committee of the ISTH. *Thrombosis and haemostasis* 1995 ; 74(6) ,1597-603.
- [52] **BORG JY ET ANDRIEU J.** Intérêt du temps de thromboplastine diluée dans le dépistage du syndrome des antiphospholipides .un exemple insolite : les surdités brutales. *Nouv Rev Fr Hematol* 1995, 37[Suppl II]: S109-S111.
- [53] **BRANDT JT, TRIPLETT DA, ALVING B ET SCHARRER I.** Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants:An uptade On behalf of the subcommittee on lupus Anticoagulant / Antiphospholipid Antibody of the scientific and standardization Committee of the ISTH. *Thrombosis and haemostasis* 1995; 74(4),1185-90 .
- [54] **BIRON C, DUPUY-FONS C, QUERE I, MARTINEZ PA, JANBON C ET SCHVED JF.** The Montpellier antiphospholipid (MAP) study: Prevalence and clinical significance of antiphospholipid antibodies in an internal medicine department. *Nouv Rev Fr Hematol* 1995; 37[Suppl II]: S73-S77.
- [55] **BOFFA MC.** Antiphospholipid antibodies in 1995.*Nouv Rev Fr Hematol* 1995; 37 [Suppl II]:S41-S42
- [56] **BERNINI JC, BUCHANAN GR ET ASHCRAFT J.**Hypoprothrombinemia and severe hemorrhage associated with a lupus anticoagulant. *J Pediatr* 1993; 123; 937-9
- [57] **BAJOCHI G, SANDRI G, TROTTA F:** .Anticardiolipin antibodies in klinefelter's syndrome (letter). *J.Rhumatol* 1994; 21.
- [58] **BICK RL:** The Antiphospholipid-thrombosis Syndromes Fact, fiction, confusion and controversy. *American Journal Of Clinical Pathology*, novembre 1993,vol 100,5:477-480
- [59] **BRANDT JT, TRIPLETT DA, ROCK WA, BOVILL EG ET ARKIN CF.**Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time.Results of the college of american pathologists survey program. *Arch pathol lab Med*, february 1991- vol 115,109-14
- [60] **BRANDT JT, TRIPLETT DA.** The effect of phospholipid on the detection of lupus antioaagulants by the dilute russell viper venom time.Arch pathol lab med december 1989, vol 113:1376-78.
- [61] **BRANDT JT ET TRIPLETT DA.** The Effect of Phospholipids on the detection of lupus anticoagulants by the Dilute Russell Viper Venom Time.*Arch Pathol Lab Med*, December 1989-vol 113.
- [62] **BOWIE EJW, THOMPSON JH, PASCUZZICA OCA.** Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Clin Invest*, 1963, 62, 416
- [63] **CROWTHER MA ET WISLOFF F.** Evidence based treatment of the antiphospholipid Syndrome II.Optimal anticoagulant therapy for thrombosis. *Thrombosis research* 2005; 115, 3-8
- [64] **COOK MC.** B cell biology, apoptosis, and autoantibodies to phospholipids. *Thrombosis research* 2004; 114,307-319
- [65] **CROWTHER MA.** Anticoagulant therapy for the thrombotic complications of the antiphospholipid antibody syndrome. *Thrombosis research* 2004; 114,443-446
- [66] **CERVERA R.** Coronary and valvular syndromes and antiphospholipid antibodies. *Thrombosis research* 2004; 114,501-507.
- [67] **CUGNO M, CABBIBE M, GALLI M, MERONI PL, CACCIA S, RUSSO R,BOTTASSO B, MANUCCI PM.** Antibodies to tissue-type plasminogen activator (tPA) in patients with antiphospholipid syndrome: evidence of interaction between the antibodies an the catalytic domain of tPA in 2 patients. *Blood* 2004; 103:2121-6.
- [68] **CHIBANE A.** Etude des manifestations cardiaques au cours du lupus érythémateux systémique. *Thèse de doctorat en sciences médicales (INESSM d'Alger)* 2002,1-192

- [69] **CUMMING AM, SHIACH CR.** The investigation and management of inherited thrombophilia. *Clinical Laboratory of Haematology*, 21, 77-92, 1999.
- [70] **CABIEDES J, CABRAL AR, ALARCON-SEGOVIA D.** Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus associate more strongly with anti- $\beta$ 2 glycoproteine I than with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1995;22:1899-906.
- [71] **CECCALDI M, HARLE J R, SANGLA I, PONCET M.** Encéphalopathie progressive du syndrome des anticorps antiphospholipides. *La presse médicale*, 25 septembre 1993,22, 28 :1313-1316.
- [72] **CERVERA R, KHAMASHTA MA, FONT J.** Systemic lupus erythematosus: Clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)* 1993; 72:113-24.
- [73] **CERVERA R, FONT J, LOPEZ SOTO A, CASALS F, PALLARES L, BOVE A, INGELMO M ET URBANO-MARQUEZ A.** Isotype distribution of anticardiolipin antibodies in systémic lupus erythematosus : prospective analysis of a series of 100 patients. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1990; 49:109-113.
- [74] **CLAUSS A.** Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur bestimmung des fibrinogens” *Acta Haematol* 1957; 17:237-247.
- [75] **CONLEY CL, HARTMANN RC.** An Hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J.clin invest* 1952; 31:621-2.
- [76] **DARNIGE L.** Syndrome des Antiphospholipides: Diagnostic biologique et physiopathologie *Supplément au N° 379, Revue francophone des laboratoires, février 2006,20-25.*
- [77] **DE GROOT PG ET DERKSEN RHW.** Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome: *Journal of thrombosis and heamostasis, aout 2005, vol 3, 8:1854-60.*
- [78] **DE LAAT B, DERKSEN RH, URBANUS RT, DE GROOT PG.** IgG antibodies that recognise epitope Gly40-Arg43 in Domain I of beta2-glycoprotein I cause LAC and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood* 2005; 105:954-60.
- [79] **DE MOERLOOSE P ET REBER G.** Antiphospholipid antibodies :do we still need to perform Anticardiolipin ELISA assays. *Journal of thrombosis and haemostasis* 2004, 2:1071-3.
- [80] **DERKSEN RHW ET DE GROOT PG.** Tests for lupus anticoagulant revisited. *Thrombosis research* 2004; 114,521-526.
- [81] **DUNOYER-GEINDRE S , KRUTHOF EKO, GALVE-DE ROCHEMONTIX B, ROSNOBLET C, GRUENBERG J, REBER G, DE MOERLOOSE P.** Localization of  $\beta$ 2-Glycoprotein 1 in late endosomes of human endothelial cells *Thromb Haemost* 2001;85:903-7.
- [82] **DIZ –KUÇUKKAYA R, HACIHANEFIOGLU A, YENEREL M, TURGUT M, KESKIN H, NALCACI M ET INANC M.** Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients presenting with immune thrombocytopenic purpura: a prospective cohort study. *Blood*, 15 september 2001. volume 98, n°6.
- [83] **DETKOVA D, GIL-ANGUADO A, LAVILLA P, CUESTA MV, FONTAN G, PASUAL S** antibodies to  $\beta$ 2glycoproteinI contribute to better characterisation of the antiphospholipid syndrome? *Lupus* 1999;8:430-438.
- [84] **DE GROOT PG, HORBACH DA, SIMMELINK MJA, VAN OORT E ET DERKSEN RHW.** Anti-prothrombin antibodies and their relation with thrombosis and lupus anticoagulant. *Lupus* 1998; 7, suppl 2, S32-S36.
- [85] **DAY HM, THIARAJAN P, AHN C, RHVEILLE JD.** Autoantibodies to  $\beta$ 2-glycoprotein I in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome: Clinical correlations in comparaison with other antiphospholipid antibody test. *J Rheumatol* 1998; 25:667-674.

- [86] **DEVINE DV, BRIDGEN ML.** The antiphospholipid syndrome when does the presence of antiphospholipid antibodies require therapy. *Postgraduate Medicine* .June1996; Vol 99, 6:105-122.
- [87] **DENIS-MAGDELAINE A, FLAHAULT A ET VERDY E.** Sensitivity of Sixteen APTT reagents for the presence of lupus anticoagulants. *Haemostasis* 1995; 25; 98-105.
- [88] **DARNIGE L ET ARVIEUX J.** Antiphospholipid and antiprothrombin antibodies. *Nouv Rev Fr Hematol* (1995), 37[Suppl II]:S103-S112.
- [89] **DARNIGE L ET ARVIEUX J.**  $\beta$ 2-glycoprotéine I (apolipoprotéine H) et anticorps antiphospholipides. *STV décembre 1994; vol.6, 10:687-692.*
- [90] **DE MOERLOOSE P ET REBER G.** Standardisation du dosage des anticorps anticardiolipine : nécessité et limites. *STV décembre 1993 ; vol.5, 10 :719-721.*
- [91] **EKDAHL KN, BENGTSSON A, ANDERSSON J, ELGUE G, RONNBLOM L, STURFELT G ET NILSSON BO.** Thrombotic disease in systemic lupus erythematosus is associated with a maintained systemic platelet activation. *British journal of haematology* 2004, 125,74-78.
- [92] **ERKAN D, LOCKCHIN MD .** How much warfarin is enough in APS related thrombosis. *Thrombosis research* 2004 114,435-442.
- [93] **ENGELMANN B, LUTHER T, MULLER I .** Intravascular tissue factor pathway-a model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel. *Thromb Haemost* 2003; 89(1), 3-8.
- [94] **ERMAKOVA NA, ALEKBEROVA ZS, KOSHELEVA NM, RESHETNIT N.** Characteristics of retinal vascular involvement in systemic lupus erythematosus. *Vestn oftalmol* 2001;117 (2) 21 – 24.
- [95] **ESMON NL, SMIRNOV M D ET ESMON CT.** Lupus anticoagulants and thrombosis: *The role of phospholipids.* *Haematologica* 1997; 82:474-477.
- [96] **ESMON NL, SMIRNOV MD ET ESMON CT.** Thrombogenic mechanisms of antiphospholipid antibodies. *Thromb and haemostasis* 1997; 78(1):79-82.
- [97] **ESCHWÈGE V, SEDDIKI S ET ROBERT A.** The tissue thromboplastin inhibition test in the detection of lupus anticoagulants: importance of a correction factor eliminating the influence of fibrinogen level. *Thrombosis and haemostasis* 1996; 76(1):65-8.
- [98] **EXNER T, TRIPLETT D.** Lupus anticoagulants: characteristics, Methods of laboratory detection and some clinical associations. *Advances in immunology* 1991; chapitre8:141-158.
- [99] **EXNER T, TRIPLETT D, TABERNER D ET MACHIN SJ .** Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. *Thrombosis and haemostasis* 1991; .65(3)320-322.
- [100] **EXNER T AND MCREA J:** Studies on the relationship between “antiphospholipid” antibodies and the lupus anticoagulant. *Blood coagulation and fibrinolysis* 1990, 1:17-21.
- [101] **EXNER T, TRIPLETT DA, TABERNER DA, HOWARD MA, HARRIS EN.** Comparison of test methods for the lupus anticoagulant: International survey on lupus anticoagulants-I (ISLA-1). *Thromb haemost* 1990, 64, 3,478-484.
- [102] **FREITAS MVC, DA SILVA LA, DEGHAIDE NHS, DONADI EA, LOUZADA-JUNIOR P.** Is HLA Class II susceptibility to primary antiphospholipid syndrome different from susceptibility to secondary antiphospholipid syndrome? *Lupus* 2004; 13:125-31.
- [103] **FRANCES C, BARETE S, AYOUB N ET PIETTE JC.** Classification des lésions dermatologiques du lupus : *Ann.Med.Interne.*2003, 154, n°1, pp.33-44.
- [104] **FONT J, JIMENEZ S, CERVERA R .** Splenectomy for Evan ‘syndrome associated with antiphospholipid antibodies. *Ann.Rheum.Dis* 2000; 59:920-923.
- [105] **FABRIZI F, SANGIORGIO R, PONTORIERO G, CORTI M, TENTORI F, TROINA E, LOCATELLI .F.** Antiphospholipid (aPL) antibodies in end-stage renal disease. *J Nephrol.*1999 Mar-Apr; 12(2):89-94.

- [106] FORASTIERO RR, MARTINUZZO ME, CERRATO GS, KORDISH LC ET CARRERAS LO. Relation ship of antiB2-glycoprotein I and antiprothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 1997;78:1008-14.
- [107] FINAZZI G, BRANCACCIO V, MOIA M, CIAVARELL AN, MAZZUCCONI G, SHINCO P, RUGGERI M, POGLIANI E, GAMBDA G, ROSSI E, BAUDO F, MANOTTI C, D'ANGELO A, PALARETI G, DE STEPHANO V, BERRETTINI M ET BARBUI T. Natural history and risk factors for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies : A four year prospective study from the italian registry. *Am J Med* 1996;100:530-536.
- [108] FABBRINI N, MESSMORE H, BRACE L, HEMPHIL S, BALBALE S, LAY M, PANZA L, CROSBY T, DILLON R, GODWIN G ET CHEITE CG. Comparison of the performance characteristics of fourteen commercial partial thromboplastin reagents. XVTH Congress of the ISTH Jerusalem, israel, 11-16 june 1995. *Thromb. haemostasis* 1995; vol. 73, 6, 1291-1301.
- [109] FORASTIERO RR, CERRATO GS ET CARRERAS LO. Evaluation of recently described tests for detection of the lupus anticoagulant: *Thrombosis and haemostasis* 1994; 72 (5):728-33.
- [110] FEINSTEIN D ET RAPAPORT S. Acquired inhibitors of blood coagulation. *Prog. hemostasis Thromb.* 1972; 1: 75-95.
- [111] GALLI M. IgG A $\beta$ 2GPI is useful in patients suspected of suffering from APS and raise the possibility that they may replace aCL in the diagnosis of APS. *Abstract XXth congress of the international society on thrombosis and haemostasis, Sydney, Australia 6-12 aout 2005*
- [112] GALLI M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: do test patterns identify the patients risk?. *Thrombosis research* 2004; 114, 597-601
- [113] GATENBY PA. Controversies in the antiphospholipid syndrome and stroke. *Thrombosis and research* (2004) 114, 483-488.
- [114] GALLI M, LUCIANI D, BERTOLINI G ET BARBUI T. Anti- $\beta$ 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood, october 2003; vol 102, 15, 8:2717-23.*
- [115] GALLI M ET BARBUI T. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: Srength of association *Hematol J, 2003; 4(3):180-6.*
- [116] GALLI M ET BARBUI T. Antiphospholipid syndrome: definition and treatment. *Semin Throm Hemost.* 2003 Apr; 29(2):195-204.
- [117] GALLI M, LUCIANI D, BERTOLINI G ET BARBUI T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the litterature. *Blood* 2003 Mars 1; 101(5):1827-32.
- [118] GRIS JC, QUERE I, SANMARCO M, BOUTIERE B, MERCIER E, AMIRAL J, HUBERT AM, RIPART-NEVEU S, HOFFET M, TAILLAND ML, ROUSSEAU O, MONPEYROUX F, DAUZAT M, SAMPOL J, DAURES JP, BERLAN J ET MARES P. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. *Thrombosis and haemostasis* 2000; 84:228-36.
- [119] GREAVES M, COHEN H, MACHIN SJ ET MACHIE J. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *British journal of haematology* 2000, 109, 704-715.
- [120] GALLI M, DLOTT J, NORBIS F, RUGGERI L, CLER L, TRIPLETT DA ET BARBUI T. Lupus anticoagulants and thrombosis: Clinical association of different coagulation and immunologic tests. *Thrombosis and haemostasis* 2000. 84. 1012-6.
- [121] GREAVES M. Antiphospholipid syndrome: State of the art with emphasis on laboratory investigation. *Haemostasis* 2000; 30 (suppl 2); 16-25.
- [122] GALLI M ET BARBUI T. Antiprothrombin antibodies: Detection and clinical Significance in the antiphospholipid syndrome. *Blood, April 1 1999, vol 93, 7:2149-2157.*

- [123] **GALLI M, FINAZZI G, NORBIS F, MARZIALI S, MARCHIOLI R ET BARBUI T.** The risk of thrombosis in patients with lupus anticoagulants is predicted by their specific Coagulation profile. *Thromb Haemost* 1999; 81:695-700.
- [124] **GALLI M ET BARBUI T.** Prothrombin as cofactor for antiphospholipides. *Lupus* 1998; 7, suppl. 2, S37-S40.
- [125] **GUERIN C, FEIGHERY C, SIM RC, JACKSON J.** Antibodies to  $\beta$ 2-glycoprotein I-A specific marker for the antiphospholipid syndrome: *Clin.Exp.Immuno.* 1997; 109:304-309.
- [126] **GALLI M, FINAZZI G ET BARBUI T.** Antiphospholipid antibodies: predictive value of laboratory tests. *Thrombosis and haemostasis* 1997. 78(1):75-78.
- [127] **GOUEMAND J, CARON C, DE PROST D, DERLON A, BORG JG, SAMPOLJ ET SIE P.** Evaluation of sensitivity and specificity of a standardized procedure using different reagents for the detection of lupus anticoagulants. *Thrombosis and haemostasis* 1997; 77(2):336-421.
- [128] **GALLI M, FINAZZI G, BARBUI T.** Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *British journal of haematology*, 1996, 93, 1-5.
- [129] **GINSBERG JS, WELLS PS, BRILL-EDWARDS P, DONOVAN D, MOFFAT K, JOHNSTON M, STEVENS P ET HIRSH J.** Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood*, November 15 1995; Vol 86,10: 3685-3691.
- [130] **GALLI M, FINAZZI G, BEVERS EM ET BARBUI T.** Kaolin clotting time and Dilute Russell's viper venom time distinguish between prothrombin-dependent and  $\beta$ 2-glycoprotein I-Dependent antiphospholipid antibodies. *Blood*, July 15 1995, vol 86, 2: 617-623.
- [131] **GALLI M, BEVERS EM ET BARBUI T.** Lupus anticoagulants and antiphospholipid antibodies. *European School of Haematology, Paris May 1995; 13-15, :1-8.*
- [132] **GALLI M, BEVERS EM ET BARBUI T.** Interactions between antiphospholipid antibodies and blood cells. *Nouv Rev Fr Hematol* 1995; 37[Suppl II]: S43-S48.
- [133] **GAILLARD-CHATELARD I.** Evaluation de nouvelles techniques pour le diagnostic des anticorps antiphospholipides de type anticoagulant du lupus. *Mémoire du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale (université CLAUDE BERNARD –Lyon I)* 1993 :1-141.
- [134] **GHARAVI AE, SAMMARITANOL R, EL KONK B.** Induction of antiphospholipid autoantibodies by immunization with  $\beta$ 2glycoprotein I (Apolipoprotein): *J.Clin.invest.* 1992, 90 :1109.
- [135] **GHARAVI AE, GARAVIS EN, ASHERSON RA ET HUGHES GRV.** Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Annals of the rheumatic diseases*, 1987; 46, 1-6.
- [136] **GASTINEAU DA, KAZMIER FJ, NICHOLS WL ET WALTER BOWIE EJ.** Lupus anticoagulant: an analysis of the clinical and laboratory features of 219 cases. *American journal of hematology* 1985; 19:265-275.
- [137] **HUNTINGTON JA.** Molecular recognition mechanisms of thrombin: *Journal of thrombosis and haemostasis*, 2005; 3:1861-1872.
- [138] **HARRIS EN ET PIERANGELI SS:** Primary, secondary, catastrophic antiphospholipid syndrome: is there a difference?. *Thrombosis and research* 2004; 114, 357-361.
- [139] **HACHULLA E ET ARVIEUX J.** Syndrome des antiphospholipides. *Encyclopédie medico - chirurgicale, Hématologie* 2001; 13-022-C-10,12p.
- [140] **HACHULLA E, PIETTE AM, HATRON PY ET BLETRY O.** Aspirine et syndrome des antiphospholipides. *Rev.Med.Interne*, 2000 ; 21(suppl.1) :83-88.
- [141] **HOFFMAN M, MONROE DM.** A cell –based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001; 85(6), 958-65.

- [142] **HAHN BH.** *Antibodies to DNA. New England J Med* 1998; 338-1359.
- [143] **HORBACH DA, OORT EV, DONDEERS RCJM, DERCKSEN RHW ET DE GROOT PG.** Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Thrombosis and haemostasis* 1996; 76(6),916-24.
- [144] **HARRIS EN ET PIERANGELI SS.** A more specific ELISA Assay for the detection of antiphospholipid antibodies. *Clinical immunology newsletter* 1995; 15.
- [145] **HARRIS EN, EXNER T, GRAHAM R, HUGHES V, ASHERSON RA.** Phospholipid binding antibodies. *The antiphospholipid syndrome –an introduction* 1995 chap 23,373-376.
- [146] **HARRIS EN, PIERANGELI S AND BIRCH D.** Anticardiolipin Wet workshop report .fifth international symposium on antiphospholipid antibodies. *Am.J. Clin .Pathol* 1994, 101:616-624.
- [147] **HARRIS EN ET PHIL M.** The second international anti-cardiolipine standardization workshop/the kingston anti-phospholipid antibody study (KAPS) Group. *Am .J. Clin.pathol* 1990;94:476-484.
- [148] **HARRIS EN, BAGULEY E, ASHERSON RA, HUGHES GRV.** Clinical and serological features of the "antiphospholipid syndrome". *Br.J.Rheumatol* 1987; 26 (Suppl.2):19.
- [149] **HARRIS EN.** Syndrom of the black swan. *Br.j.rheumatol* 1987;26:324-326
- [150] **HUGUES GRV.** The anticardiolipin syndrome. *Clin .Exp.Rheumatol.* 1985;3:285-286
- [151] **HARRIS EN, GHARAVI AEM ET BOEY ML.** Anticardiolipin antibodies:detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; 2:1211-4.
- [152] **JANKOWSKI M, VREYS I, WITTEVRONGEL C, BOON D, VERMYLEN J, HOYLAERTS MF ET ARNOU J.** Thrombogenicity of  $\beta$ 2-glycoprotein I-dependent antiphospholipid antibodies in a photochemically induced thrombosis model in the hamster. *Blood*, 1 january 2003, volume 101,1:157-62.
- [153] **JANEL N, LEROY C, LAUDE I, TOTI F, FRESSINAUD E, MEYER D, FREYSSIN ET KERBIRIOU-NABIAS D.** IgA antiphospholipid antibodies. *Thromb haemost* 1999; 81:319-20.
- [154] **JENNINGS I, KITCHEN S, WOODS TAL, PRESTON FE ET GREAVES M.** Potentially clinically important inaccuracies in testing for the lupus anticoagulant: an analysis of results from three surveys of the UK National external quality assessment scheme (NEQAS) for blood coagulation. *Thrombosis and haemostasis* 1997; 77(5):934-7.
- [155] **KUWANA M.**  $\beta$ 2-glycoprotein I: antiphospholipid syndrome and T-cell reactivity. *Thrombosis and research* 2004; 114, 347-355.
- [156] **KUHN A, RONDINONE R, DORIA A ET SHOENFELD Y.** 1 ST International Conference on Cutaneous lupus erythematosus. *Autoimmunity Review* 2004, 266, 1-13.
- [157] **KOLDE HJ.** Haemostasis: physiology, pathology, diagnostics. 2<sup>nd</sup> edition, 2004, 1-55.
- [158] **KAHN MF.** Maladies et syndromes systémiques. 4<sup>ème</sup> édition 2000 :132-133
- [159] **KANDIAH DA ET KRILIS SA.** Anti- $\beta$ 2-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in patients with the 'antiphospholipid' syndrome: Immunological specificity and clotting profiles. *Lupus* 1998; 7,323-332.
- [160] **KABURAKI J, KUWANA M, YAMAMOTO M, KAWAI S ET IKEDA Y.** Clinical significance of anti-annexin V antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *American journal of haematology* 1997; 54:209-213.
- [161] **KAPLAN SD, CHARTASH EK, PIZZARELLO RA ET FURIE RA.** Cardiac manifestations of the antiphospholipid syndrome. *American heart journal* November 1992, vol 124, 5:1331-38.

- [162] **KACZOR DA ET BICKFORDN M.** An attempt for standardization in Lupus Anticoagulant Diagnosis using a new Sensitive APTT Reagent. Fifth International Symposium on Antiphospholipid antibodies. September 9-12, 1992, San Antonio, Texas.
- [163] **KEELING DM , CAMPBELL SJ, MACKIE IJ, MACHIN SJ ET ISENBERG DA.** The fibrinolytic response to venous occlusion and the natural anticoagulants in patients with antiphospholipid antibodies both with and without systemic lupus erythematosus. *British journal of haematology*, 1991, 77,354-359.
- [164] **KAPIOTIS S, SPEISER W, PABINGER-FASHING I, KYRLE PA ET LECHNER K.** Anticardiolipin antibodies in patients with venous thrombosis. *Haemostasis* 1991; 21:19-24.
- [165] **KALUNIAN KC, PETER JAMES B, MIDDLEKAUFFHR, SAYRE J, ANDO.DG, MANGOTICH M ET HAHN BH.** Clinical significance of a single test for anti-cardiolipin antibodies in patients with systemic Lupus erythematosus. *The American journal of Medicine* November 1988 volume 85.
- [166] **KANDIAH DA ET KRILIS SA.** Heterogeneity of lupus anticoagulant (LA) Antibodies: LA Activity in Dilute Russell's viper venom time and dilute kaolin clotting time detect different populations of antibodies in patients with the "antiphospholipid" syndrome. *Thrombosis and haemostasis* 1998, 80:250-7.
- [167] **KARMOCHKINE M, CACOUB P, LAROCHE P, DORENT R, PIETTE JC ET BOFFA MC.** Prévalence élevée des anticorps antiphospholipides au cours de l' hypertension artérielle pulmonaire. *Nouv Rev Fr Hematol* (1995), 37[Suppl II]:S106-S107.
- [168] **KALUNIAN KC, PETER J B, MIDDLEKAUFF HR, SAYRE J, ANDO DG, MANGOTICH M ET HAHN BH.** Clinical significance of a single test for anti-cardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *The American journal of medicine*, novembre 1988, vol85.602-608.
- [169] **KITCHENS CS.** Prolonged activated thromboplastin time of unknown etiology: A prospective study of 100 consecutive cases referred for consultation: *Am J.Hematol.*1988; 27:38-45.
- [170] **LEVINE SR, BREY RL, TILLEY BC, THOMPSON JLP, SACCO RL, SCIACCA RR, MURPHY A, LU Y ET COSTIGAN TM, RHINE C, LEVIN B, TRIPLETT DA ET MOHR P.** Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with ischemic stroke. *Journal of american Medial Association*, fevrier 4, 2004, vol 291, 5:576-584.
- [171] **LEVY RA, DE MEIS E ET PIERANGELI S .** And adapted ELISA method for differentiating pathogenic from non pathogenic Apl by a beta 2 glycoprotein I dependency anticardiolipin assay. *Thrombosis research* 2004; 114,573-577.
- [172] **LASSERE M ET EMPSON M.** Treatment of antiphospholipid syndrome in pregnancy-a systematic review of randomized therapeutic trials. *Thrombosis research* (2004) 114,419-426.
- [173] **LOCKSHIN MD ET ERKAN D.** Treatment of the antiphospholipid syndrome. *The new England journal of Medicine* ,september 18,2003;. volume 349,12,1177-1179.
- [174] **LEVINE JS, BRANCH WD ET RAUCH J.** The antiphospholipid syndrome *The new England journal of Medicine*, Mars 2002, vol 346, 10: 752-753.
- [175] **LAWRIE AS, MACKIE IJ, PURDY G, MACHIN SJ.** The sensitivity and specificity of commercial reagents for the detection of the LA Show marked differences in performance between photo-optical and mechanical coagulometers, *thromb.haemost.*1999;81:758-762.
- [176] **LANE DA, BAYSTON T, OLDS R J, FITCHES AC, COOPER DN, MILLAR DS, JOCHMANS K, PERRY DJ, OKAJIMA K, THEIN S L ET EMMERICH J.** Antithrombin mutation database: 2<sup>nd</sup> update. *Thrombosis and Haemostasis*, 77, 197-211, 1997.
- [177] **LOVE PE ET SANTORO SA.** Antiphospholipid antibodies .anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non -SLE disorders: prevalence and clinical significance. *Ann Intern Med* 1990; 112.682-98.

- [178] **LE TONQUESE M, SALOZHIN KV, DUEYMES M, NASSONOV EL, FRANCES C, PIETTE JC ET YOUINOU P.** Antiphospholipid antibodies partly account for anti-endothelial cell reactivity. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1995, 37[Suppl II]: S61-S64.
- [179] **LAROCHE P, ROUQUETTE AM, BERARD M, PIERRON D ET BOFFA MC.** Intérêt de l'utilisation d'un panel de phospholipides pour la détection des anticorps antiphospholipides. *Nouv Rev Fr Hematol (1995), 37[Suppl II]:S108-S109.*
- [180] **LOIZOU S, COFINER C, WEETMAN AP ET WALPORT MJ .** Immunoglobulin class and IgG subclass distribution of anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and associated disorders. *Clin .exp.Immunol.* 1992,90,434-439.
- [181] **LEGNANI C, PALARETI G, BOGGIAN O, CAVALLARONI K, OCA GLO, MANTO G, ABATE C ET COCCHERI S.**An evaluation of several laboratory tests and test combinations in the detection of lupus anticoagulant. *J Clin Lab Res* 1992; 22:106-110.
- [182] **LOPEZ LR, SANTOS ME , ESPINOZA LR ET LA ROSA FG.** Clinical significance of Immunoglobulin A, Versus immunoglobulins G and M Anti-cardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus correlation with thrombosis, thrombocytopenia, and recurrent abortion. *American journal of clinical pathology , October 1992; vol.98, 4: 449-454*
- [183] **LONG AA, GINSBERG JS, BRILL-EDWARDS P, JOHNSTON M, TURNER C, DENBURG JA, BENSEN WG, CIVIDINO A, ANDREW M ET HIRSH J .** The relationship of antiphospholipid antibodies to thromboembolic disease in systemic lupus erythematosus: A cross-sectional study. *Thrombosis and haemostasis* 1991; 66(5):520-524.
- [184] **LARAKI R, BLETRY O, PIETTE JC ET GODEAU P .**Le syndrome des antiphospholipides. *Sang Thrombose vaisseaux* 1991; 3:363-9.
- [185] **LECHNER K ET PABINGER-FASNING I.** Lupus anticoagulants and thrombosis: a study of 25 cases and a review of the literature. *Haemostasis* 1984; 15:254-62.
- [186] **LARRIERE MJ ET WEILLAND C.** « Utilisation de la céphaline dans les test de coagulation » *Nouv.Rev.Fr.Hematol.* 12, 2, 199-210, 1957.
- [187] **LANGDELL RD, WAGNER RH ET BRINKHOUS KM.** « Effect of antihemophilic factor one stage clotting test ». *J.Lab.Clin.Invest.* 41, 637-647, 1953.
- [188] **MIYAKIS S, LOCKSHIN MD, ATSUMI T, BRANCH DW, BREY RL, CERVERA R, DERKSEN RHW, DEGROOT PG, KOIKE T, MERONI PL, REBER G, SHOENFELD Y, TINCANI A , LACHOYIANNOPOULOS PG ET KRILIS SA.** International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Journal of thrombosis and haemostasis* 2005, 3:1-12.
- [189] **MARTINUZZO M, ADAMCZUK Y, IGLESIAS VARELA ML, GONZALO P ET FORASTIERO R.**The activated Seven Lupus Anticoagulant (ASLA) test has comparable sensitivity to classical assays screening of lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 2005 ;93:1007-9.
- [190] **MONAGLE P.** Haemostasis and pediatrics reference ranges in children. *XXth Congres ISTH Sydney 6-12 aout 2005.*
- [191] **MACKWORTH-YOUNG CG.** Antiphospholipid syndrome: multiple mechanisms. *Clin Exp Immunol* 2004; 136:393-401.
- [192] **MIYAKIS S, GIANNAKOPOULOS B ET KRILIS TA.** Beta 2 glycoprotein I-function in health and disease. *Thrombosis and research* 2004, 114, 335-346.
- [193] **MACKWORTH-YOUNG CG.** Antiphospholipid syndrome: multiple mechanisms. *Clin Exp Immunol* 2004; 136:393-401.
- [194] **MITIC G.** Antiphospholipid syndrome accompanying systemic lupus erythematosus. *Med Preg* .2002 mar-Apr; 55(3-4): 89-96.

- [195] MEYER O ET PIETTE JC. Syndrome des antiphospholipides. .Maladies et syndromes systémiques. *Flammarion. Paris, 2000:370-396.*
- [196] MERONI PL, RASHI E, CAMERA M ET AL. Endothelial activation by APL: a potential pathogenetic mechanism for the clinical manifestations of the syndrome. *J Autoimmun 2000 ; 15 : 237-40.*
- [197] MICHEL M. Immunogénétique du lupus chez l'homme. *Médecine thérapeutique 2000 ; 6(7) ; 522-28*
- [198] MAGY N, DE WASIERES B, GIL H, VUITTON DA ET DUPOND JL. Physiopathologie des anticorps antiphospholipides : des anticorps à la maladie. *Sang thrombose vaisseaux, mars 1999, vol.11, 3 : 159-165.*
- [199] MARTINUZZO M, FORASTIERO R ET CARRERAS L . Diagnostic des anticoagulants circulants de type lupique. *Hématologie mai juin 96, vol.2, 3 : 211-216.*
- [200] MORI T, TAKEYA H, NISHIOKA J, GABAZZA EC ET SUZUKI K.  $\beta$ 2-Glycoprotein I Modulates the anticoagulant activity of activated protein C on the phospholipid surface. *Thrombosis and haemostasis 1996, 75(1):49-55.*
- [201] MAGDELAINE A ET VERDY E. Evaluation du réactif « IL Test LAC Screen /IL Test LAC Confirm » pour le diagnostic biologique des anticoagulants circulants de type lupique. *Ann Biol Clin 1996; 54:293-296.*
- [202] MARTIN M, CAUCHIE PH ET LEFEVRE A. Heparin monitoring difficulties: Assessment of different methods on a coagulation analyser. XVTH congress of the ISTH, Jerusalem, Israel, 11-16 June 1995. *Thromb. haemostasis , 1995, vol. 73, 6: 1241-48.*
- [203] MARTINUZZO ME, FORASTIERO RR, CARRERAS LO. Anti- $\beta$ 2glycoprotein I antibodies. Detection and association with thrombosis. *Br J Haematol 1995; 89:397-402.*
- [204] MIYAGAWA S, MATSUURA E, KITAMURA W. Systemic lupus erythematosus and aCl antibodies in klinefelter's syndrome . *Lupus 1995;4:236-238*
- [205] MATSUDA J, SAITOH N, GOHICHI K, TSUDAMOTO M. Prevalence of  $\beta$ 2-glycoprotein I antibody in systemic lupus erythematosus patients with  $\beta$ 2glycoprotein I dependent antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis 1995; 54:73-75.*
- [206] MILLES JA. Systemic lupus erythematosus. *New Engl J Med 1994; 330:1871.*
- [207] MACHIN SJ, GIDDINGS JC, GREAVES M, HUTTON RA, MACKIE IJ, MALIA RJ, TABERNER DA. Lupus anticoagulant working party on behalf of the BCSH haemostasis and thrombosis task force . Guidelines on testing for the lupus anticoagulant . *J Clin pathol 1991;44:885-889.*
- [208] MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K, KOIKE T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet 1990; 336:177-8.*
- [209] MCNEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN, KRILIS SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation:  $\beta$ 2glycoprotein I, *Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87:4120-4.*
- [210] MANY A, GITEL S ET PAUZNER R. The antiphospholipid syndrome. *Isr J Med Sci 1989; 25:674-677.*
- [211] NOJIMA J, KURATSUNE HO, SUEHISA E, KITANI T, IWATANI Y ET KANAKURA Y . Strong correlation between the prevalence of cerebral infarction and the presence of anticardiolipin/ $\beta$ 2glycoprotein I and anti-phosphatidylserine / prothrombin antibodies. *Thrombosis and haemostasis 2004; 91:967-76.*
- [212] NASH MJ, CAMILLERI RS, KUNKA S, MACKIE IJ, MACHIN SJ ET COHEN H. The anticardiolipin assay is required for sensitive screening for antiphospholipid antibodies *Journal of thrombosis and haemostasis 2004, 2:1077-1081.*

- [213] **NOCHY D, DAUGAS E, HILL G ET PIETTE JC.** La néphropathie liée aux anticorps antiphospholipides. *Ann .Med. Interne, 2003, 154,1 :51-58.*
- [214] **NOJIMA J, KURATSUNE H, SUEHISA E, FUTSUKAICHI Y, YAMANISHI H, MACHII T, KITANI T, IWATANI Y ET KANAKURA Y.** Antiprothrombin antibodies combined with lupus anticoagulant activity is an essential risk factor for venous thromboembolism in patients with systemic lupus erythematosus. *British journal of haematology 2001, 114,647-654.*
- [215] **NOJIMA J , KURATSUNE H, SUEHISA E, FUTSUKAWAI Y, YAMANISHII H, MACHII T IWATANI Y, KANAKURA Y.** Analyse between the prevalence of antibodies to  $\beta$ 2glycoproteineI, Prothrombin, protein C, Protein S, and Annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombocytopenic complications. *Clin Chem 2001;47:1008-1015.*
- [216] **NOJIMA J, SUEHISA E, KURATSUNE H, MACHII T, KOIKE T, KITANI T, KANAKURA Y, AMINO N.** Platelet activation induced by combined effects of anticardiolipin and lupus anticoagulant Ig G antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Thrombosis and haemostasis 1999; 81:436-41.*
- [217] **NOJIMA J, SUEHISA E, AKITA N, TOKU M, FUSHIMI R, TADA H, KURATSUNE H, MACHII T, KITANI T ET AMINO N.** Risk of arterial thrombosis in patients with anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant . *British journal of haematology, 1997, 96,447-450.*
- [218] **POLGAR J, MATUSKOVA J ET WAGNER DD.** The P-Selectin, tissue factor, coagulation triad. *Journal of thrombosis and haemostasis, aout 2005, vol3, 8:1590-1596.*
- [219] **PIERANGELI SS, VEGA-OSTERTAG M ET HARRIS NE.** Intracellular signaling triggered by antiphospholipid antibodies in platelets and endothelial cells: a pathway to targeted Therapies . *Thrombosis research 2004, 114,467-476.*
- [220] **PENGO V, BIASIOLO A, PEGORARO C, ILICETO S .** A two step -coagulation test to identify anti $\beta$ 2-glycoprotein I lupus anticoagulants. *J Thromb Haemost 2004; 2:702-7.*
- [221] **PETRI M.** The lupus anticoagulant is a risk factor for myocardial infarction (but not atherosclerosis): Hopkins Lupus Cohort. *Thrombosis research 2004; 114,593-595.*
- [222] **PASQUIER E, AMIRAL J, DE SAINT MARTIN L ET MOTTIER D.** A cross sectional study of antiphospholipid-protein antibodies in patients with venous thromboembolism. *Thrombosis and haemostasis 2001.86:538-42.*
- [223] **PIERANGELI S, GHARAVI AE, HARRIS N.** Testing for antiphospholipid antibodies: problems and solutions. *Clinical obstetrics and gynecology 2001; 44:48-57.*
- [224] **PETRI M.** Clinical and management aspects of the APS. In Duboi's lupus erythematosus. Daniel J Wallace. 6<sup>th</sup> edition. Nov 2001.
- [225] **PETRI M.** Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J. Autoimmun. 2000; 15:145-51.*
- [226] **PIERANGELI S.** Experimental thrombosis and antiphospholipid antibodies: News insights *J. Autoimm. 2000, 15, 241-247*
- [227] **PENGO V, BIASIOLO A, RAMPAZZO P ET BROCCO T.** DRVVT is more sensitive than KCT or TTI for detecting lupus anticoagulant activity of Anti- $\beta$ 2-glycoprotein I autoantibodies *Thrombosis and haemostasis 1999; 81:256-8.*
- [228] **PAPO T ET PIETTE JC.** Syndrome catastrophique des antiphospholipides. *Sang Thrombose Vaisseaux mars 1999, vol. 11,3 :150-154.*
- [229] **PIETTE JC, AMOURA Z, WECHSLER B ET FRANCES C.** Manifestations neurologiques du syndrome des antiphospholipides. *Rev Méd interne 1998 ; 19 suppl1 :39-45.*
- [230] **PIERANGELI .SS, STEWART .M, SILVA. LK, ET HARRIS EN.** An antiphospholipid wet workshop: 7<sup>th</sup> international symposium on antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol. 1998, 25:156-160.*

- [231] **PIERANGELI SS, GOLDSMITH GH, WARE BRANCH D ET HARRIS NE:** Antiphospholipid antibody: functional specificity for inhibition of prothombin activation by the prothrombinase complex. *British journal of haematology* 1997, 97,768-774.
- [232] **PENGO V, BIASIOLO A ET FIOR MG .**Autoimmune antiphospholipid antibodies are directed against a cryptic epitope expressed when  $\beta$ 2-glycoprotein I is bound to a suitable surface. *Thrombosis and haemostasis* 1995; 73(1):29-34.
- [233] **PIERANGELI SS, LIU XW, ANDERSON GH, BARKER JH, HARRIS EN .**Induction of thrombosis in a mouse model by IgG, IgM and IgA immunoglobulins from patients with the antiphospholipid syndrome. *Thromb haemost* 1995; 74:1361-7.
- [234] **PIETTE JC, PAPO T, KARMOCHKINE M, WESHSLER B.** Syndrome des antiphospholipides tous concernés guide pratique en 10 points. *Éditions techniques –EMC -Instantanés médicaux .février 1994 ; vol.65, 1 :1-6.*
- [235] **PIETTE JC, MOURAD AM, KARMOCHKINE JJ, DIDON M, GEPNER D, GRAVELEAU P, GRENET P, COUDERC D, CHAPMAN JA.** Antiphospholipid Syndrome -A Series of 20cases. *Presse médicale* 1994 ; 23(13) :607-612.
- [236] **PERMPIKUL P, VIJAYAMOHANRAO L ET RAPAPORT SI.** Functional and binding studies of the roles of prothrombin and  $\beta$ 2-glycoprotein I in the expression of lupus anticoagulant activity. *Blood*, may 15,1994,vol 83, 10, 2878-2892.
- [237] **PAOLUCCI F.** Risques cardiovasculaires : Détection des anticorps Antiphospholipides. *Sanofi recherche centre de Montpellier novembre1993 :1-18.*
- [238] **PIETTE JC, WESCHLER B, BLETRY O ET GODEAU P.** Quels critères pour le diagnostic de syndrome des anti-phospholipides ? *.Rev Méd Interne* 1993 ; 14 :799-803.
- [239] **PETRI M, WATSON R, WENKELSTEIN JA.** Clinical expression of systemic lupus erythematosus in patients with C4A deficiency. *Medecine* 1993; 72:236-244.
- [240] **PIETTE JC, WESHSLER B, FRANCES C ET GODEAU P.** Systemic Lupus Erythematosus And the antiphospholipid syndrome: Reflections about the relevance of ARA criteria. *J Rheumatol.*1992; 19:1835-37.
- [241] **PATRICK MCNEIL H, CHESTERMAN CN ET KRILIS SA.**A.Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Advances in immunology*, 1991, vol 49, 193-275.
- [242] **PATRICK MCNEIL H, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN ET KRILIS SA.** Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid binding inhibitor of coagulation:  $\beta$ 2 glycoprotein I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4120-4.
- [243] **POTRON G, NGUYEN P ET DROULLE C.** Les anticoagulants circulants. *ISB* 1990; 16,4.289-295
- [244] **PENGO V, THIAGARAJAN P, SHAPIRO SR ET HEINE MJ .**Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants. *Blood, july 1987, Vol 70, 1:69-76*
- [245] **RAND JH, ET WU XIAO-XUAN.** Antibody-mediated interference with annexins in the antiphospholipid syndrome. *Thrombosis research* 2004, 114:383-389
- [246] **REBER G ,TINCANI A, SANMARCO M, DE MOERLOOSE P ET BOFFA MC .** Proposals for the measurement of anti- $\beta$ 2glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European forum on antiphospholipid antibodies *.J Thromb haemost* 2004; 2:1860-2.
- [247] **ROBERT A ET ROUBEY C.** Antiphospholipid antibodies : immunological aspects *Clinical Immunology* 2004, 112:127-128.
- [248] **RAUCH J, D'AGNILLO P, SUBANG R ET LEVINE JS.** Anti-phospholipid antibodies (APL) and apoptosis: prothrombin-dependent APL as a paradigm for phospholipid-dependent interactions with apoptotic cells. *Thrombosis and research* 2004; 114: 371-382.

- [249] **REBER G ET DE MOERLOOSE P.** Anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies –when and how should they be measured ? *Thrombosis research* 2004, 114:527-531.
- [250] **ROBERT A.** Diagnostic biologique des anticoagulants lupiques. *Feuillets de biologie*, 1998 ; vol.XXXIX, 221 :19-21.
- [251] **REBER G, BOEHLEN F ET DE MOERLOOSE P.** Diagnostic biologique des anticorps dits anticardioline : peut on envisager une standardisation. *Revue française des laboratoires*, mai 1997, 293 :57-60.
- [252] **REVERTER JC, TASSIES D, FONT J, MONTEAGUDO J, ESCOLAR G, INGELMO M ET ORDINAS A.** Hypercoagulable state in patients with antiphospholipid syndrome is related to high induced tissues factor expression on monocytes and to low free protein S. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* November 1996.vol 16,11.1319-1326.
- [253] **ROUBEY RAS.** Immunology of the antiphospholipid syndrome: *Arthritis Rheum.*1996; 39:1444-1454.
- [254] **ROUSSI J ET GOGUEL A.** French national quality control survey:Biological detection of lupus anticoagulants .*Nouv Rev Fr Hematol* 1995, 37[Suppl II]: S87-S92
- [255] **REBER G, ARVIEW J, COMBY E, DEGENNE D, DE MOERLOOSE P, SANMARCO M ET POTRON G.** On behalf of the working group on methodologies in haemostasis from GEHT group, France. Multicenter evaluation of nine commercial kits for the quantitation of anticardioline antibodies.*Thrombosis and haemostasis* 1995, 73(3):444-452.
- [256] **ROBERT A.** Two different incubation times for the activated partial thromboplastin time (APTT): A new criterion for diagnosis of lupus anticoagulant.*Thrombosis and haemostasis* 1994, 71(2)220-224.
- [257] **ROBERT A ET ROUBEY S.** Autoantibodies to phospholipids-binding plasma proteins:A new view of lupus anticoagulants and other “antiphospholipid”autoantibodies. *Blood*, november 1 1994, vol84:2854-2867.
- [258] **RATNOFF O.** “Circulating anticoagulants:A study of 40 cases and a review of the literature”: *an Update. Classic In Medecine* 1993.199-205.
- [259] **ROBERT A, ROUBEY S, PRATT CW, BUYON J P ET WINFIELD JB.** Lupus anticoagulant activity of autoimmune antiphospholipid antibodies is dependent upon  $\beta$ 2-Glycoprotein I. *J.Clin.Invest*, Septembre 1992, vol 90 :1100-1104.
- [260] **ROSOVE MH ET BREWER PMC.** Antiphospholipid thrombosis: Clinical Course after the first thrombotic event in 70 patients. *Annals of internal medicine.*1992; 117:303-308.
- [261] **ROUBEY RAS, PRATT CW, BUYON JP AND WINFIELD JB.** Lupus anticoagulant activity of autoimmune antiphospholipid antibodies is dependent upon  $\beta$ 2-Glycoprotein I .*J.Clin.Invest*, volume 90, septembre 1992, 1100-1104.
- [262] **RUIZ-ARGUELLES GJ, RUIZ-ARGUELLES A, ALARCON-SEGOVIA D, DRENKARD C, VILLA A, CABIEDES J, PRESNO-BERNAL M, DELEZE M, ORTIZ-LOPEZ R ET VAZQUEZ-PRADO J.** Natural anticoagulants in systemic lupus erythematosus.Deficiency of protein S Bound to C4bp associates with recent history of venous thromboses,antiphospholipid antibodies,and the antiphospholipid syndrome. *The journal of rheumatology* 1991;18:4.:552-558
- [263] **RAUCH J, TANNENBUM M ET JANOFF AS.** “Distinguishing plasma lupus anticoagulants from antifactor antibodies using hexagonal (II) Phase Phospholipids” .*Thrombosis .haemosatasis* 62,3,892-890,1989.
- [264] **ROSNER E, PAUZNER R, LUSKY A, MODAN M, MANY A.** Detection and quantitative evaluation of lupus circulating anticoagulant activity .*Thromb and haemostasis* 1987;57:144-147.
- [265] **SOMERS E, MAGDER L S ET PETRI M.** Antiphospholipid antibodies and incidence of venous thrombosis in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *The journal of Rheumatology* 2002; 29,12:2531-36.

- [266] **SOMOGYI A ET BLETRY O.** Syndrome des anti-phospholipides : Aspects cliniques et Thérapeutiques. *Cahier de formation, syndrome des antiphospholipides 2001* :11-32.
- [267] **SIE P.** Exploration d'une thrombophilie, méthodes utilisées. *Feuillets de biologie*, vol XXXXI, n°234, 2000.
- [268] **SANFILIPPO SS, MUNTHER AK, ATSUMI T, AMENGUAL O, BERTOLACCINI ML, D'CRUZ D, AMFT N, SWANA GT AND HUGUES GRV .** Antibodies to  $\beta$ 2glycoprotein I.A potentiel marker for clinical features of antiphospholipid antibody syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumtol 1998;25:2131-4.*
- [269] **SWADZBA J, DE CLERCK LS, STEVENS WJ, BRIDTS CHRIS H, VAN COTTHEM KA, MUSIAL J, JANKOWSKI M ET SZCZEKLI K.** Anticardiolipin, anti- $\beta$ 2-Glycoprotein I, Antiprothrombin antibodies, and lupus anticoagulant in patients with systemic lupus erythematosus with a history of thrombosis. *The journal of rheumatology 1997.24/9.*
- [270] **SWADZBA J, DE CLERCK LS, STEVENS WJ, BRIDTS CH, VAN COTTHEM KA, MUSIAL J, JANKOWSKI M ET SZCZEKLIK A.** Anticardiolipin, anti- $\beta$ 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and lupus anticoagulant in patients with systemic lupus erythematosus with a history of thrombosis. *The journal of rheumatology 1997; 24:9:1710-1715.*
- [271] **SAMMARCO M.** Les "autres" anticorps antiphospholipides. *Revue française des laboratoires*, mai 1997, 293 :61-65.
- [272] **SANMARCO M, SOLER C, CHRISTIDIES C, RAOULT D, WEILLER PJ, GEROLAMI V ET BERNARD D.** Prevalence and clinical significance of IgG iso type anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome : A comparative study with anticardiolipin antibodies. *J.Lab Clin Med 1997 ; 129 :499-506.*
- [273] **SUGI T ET MCINTYRE JA.** Plasma proteins required for Antiphospholipid antibody detection *Nouv Rev Fr Hematol 1995, 37[Suppl II]: S49-S52.*
- [274] **SAMMARCO M ET SOLER C.** Heterogeneity of anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies *Nouv Rev Fr Hematol, 1995, 37[Suppl II]: S57-S60.*
- [275] **SIMANOV E, LASALA J.** Activation of cultured vascular endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *J.Clin. 1995,96,2211-2219.*
- [276] **SANTORO SA.** Antiphospholipid antibodies and thrombotic predisposition: underlying pathogenetic mechanisms. *The journal of the American society of haematology. May 1, 1994, vol 83, 9:2389-2391.*
- [277] **SHIBATA S, HARPEL PC, GHARAVI A, RAND J ET FILLIT H.** Autoantibodies to heparin from patients with antiphospholipid antibody syndrome inhibit formation of antithrombin III-Thrombin complexes. *Blood, (may1) 1994, vol 83:2532-2540.*
- [278] **SHIMIZU K, ITSURO K ET TAKASHIU C .**Familial, lupoid Thrombocytopenia. *American journal of haematology 1993, 44:9-11.*
- [279] **SAMPOL J ET SIE P.** Anticoagulants circulants, antiphospholipides et thrombose. *Rev .prat. (Paris) 1992, 42,5:601-605.*
- [280] **SLETNES KE, SMITH P, ABDELNOOR M, ARNESEN H ET WISLOFF F.** Antiphospholipid antibodies after myocardial infarction and their relation to mortality, reinfarction, and non-haemorrhagic stroke. *The lancet feb22, 1992, vol 339:451-53.*
- [281] **SIE P.** Anticoagulants circulants de type lupique : Intérêt clinique et mise en évidence au laboratoire. *Feuillets de biologie, 1992- vol.XXXIII-186 :11-13.*
- [282] **SCROBOHACI ML ET FREYSSINET JM.** Anticorps antiphospholipides Syndrome antiphospholipides, Cause ou conséquences de la thrombose. *Pathologie biologie septembre 1991, volume 39 ,7 :709-715.*

- [283] **SAXENA R, SARAYA AK, KOTTE VK, SINGH YN, PRASAD L ET MALVIYA A N.** Evaluation of four coagulation tests to detect plasma lupus anticoagulants. *Hematopathology and coagulation medicine A.J.C.P december 1991, vol.96.6:755-57.*
- [284] **STOCKER K, MEIER J.** "Thrombin-like snake venom enzymes".symposium on animal venoms and haemostasis, *San diego, july 20-21 1985.*
- [285] **SOULIER JP, BOFFA MC.** Avortements à répétition, thromboses et anticoagulant circulant anti-thromboplastine. Trois observations-*Nouv. Presse Med.1980 ; 9 :859-864.*
- [286] **TALEB A.** Introduction à la régression logistique et un exemple de son utilisation dans le domaine des risques professionnels. *Manuel 2005.université d'Oran et de Tlemcen.*
- [287] **TINCANI A, ALLEGRI F, BALESTRIERI G, REBER G, SANMARCO M, MERONI P, ET BOFFA MC.** Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European forum on antiphospholipid antibodies.*Thrombosis research 2004, 114,391-396.*
- [288] **TRIPODI A, CHANTARANGKUL V,CLERICI M ET MANNUCCI PM.** Laboratory diagnosis of lupus anticoagulants for patients on oral anticoagulant treatment. *Thrombosis and haemostasis 2002; 88; 583-586.*
- [289] **TINCANI A, ALLEGRI F, SANMARCO M, CINQUINI M, TAGLIETTI M, BALESTRIERI G, KOIKE T, ICHIKAWA K, MERONI P, BOFFA MC.** Anticardiolipin antibody assay:a methodological analysis for a better consensus in routine determinations .*Thrombosis and haemostasis 2001;86:575-83.*
- [290] **TINCANI A, BALSTRIERI G, ALLEGRI F, CINQUINI M, VIANELLI M, TAGLIETTI M, SANMARCO M, ICHIKAWA K, KOIKE T, MERONI P, BOFFA MC .** Overview on anticardiolipin ELISA Standardization *J Autoimmun 2000; 15:195-197.*
- [291] **TRIPODI A ET MANNUCCI M P.** Laboratory Investigation of Thrombophilia. *Clinical chemistry 47:9, 2001, 1597-1606.*
- [292] **TSUTSUMI A ,ICHIKAA K, MATSUURA E, SAWADA KI ET KOIKE T.** Heterogenous behaviour of anti-β2-glycoproteine I antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with β2-glycoproteine I. *J.Rheumatol.2000; 27:391-396 .*
- [293] **TEKTONIDOU MG, IOANNIDIS JPA, BOKI KA, VLACHOYIANNOPOUPOS PG , MOUTSOPOULOS HM.** Prognosis factors and clustering of serious clinical outcomes in antiphospholipid syndrome.*Q J Med 2000;93:523-530.*
- [294] **TSUTSUMI A, MATSUURA E, ICHIKAWA K,FUJISAK U,MUKAI M, KOBAYASHI S ET KOIKET.** Antibodies to β2-glycoprotein I and clinical manifestations in patients with systemic lupus erythematosus.*Arthrit.Rheum. 1996; 39:1466-1474.*
- [295] **TRIPLETT DA.** Antiphospholipid-protein antibodies.Laboratory diagnosis and clinical relevance. *Thromb Res 1995,78,1-3.*
- [296] **TOSHI V , MOTTA A, CASTELLI C, GIBELLI S, CIMMINIELLO C, MOLARO GL ET GIBELLI A .** Prevalence and clinical significance of antiphospholipid antibodies noncardiolipin antigens in systemic lupus erythematosus. *Haemostasis 1993, 23(5):275-283.*
- [297] **TRIPLETT DA, BARDA LK ET UNGER GA.** A hexagonal (II) phase phospholipid neutralization assay for lupus anticoagulant identification. *Thrombosis and haemostasis 1993 .70(5):787-793.*
- [298] **TRIPLETT DA, STOCKER KF, UNGER GA, BARNA LK.** The textarin/Ecarin ratio:a confirmatory test for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost 1993; 70:925-31.*
- [299] **TRIPLETT DA.** Screening for the lupus anticoagulant. *Res Clin.lab. 1989,19,379-389.*
- [300] **TOBLEM G, CARIOU R ET CAMEZ A .**The lupus anticoagulant and its role in thrombosis *Blood rev.1987; 1:21-4.*

- [301] **THIAGARAJAN P, PENG V, SHAPIRO SS.** The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of LA. *Blood* 1986; 68:195-97.
- [302] **TAYLOR N ET EXNER T.** Comparison of some Activated Partial Thromboplastin Test (APTT) Reagents. *Australian Journal of medical laboratory science. february 1985,vol6, 21-23.*
- [303] **TRIPLETT DA, BRANDT JT, KACSOR D ET SCHAEFFER J.** Laboratory diagnosis of lupus inhibitors: A comparison of the tissue thromboplastin inhibition procedure with a new platelet neutralization procedure. *Am.J.Clin.Pathol.*1983; 79:678-682.
- [304] **THIAGARAJAN P, SHAPIRO S ET DEMARCOL S.** Monoclonal immunoglobulin by Coagulation inhibitor with phospholipid specificity; mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980; 66:397-405.
- [305] **VLACHOYIANNOPOULOS PG ET SAMARKOS M.** Peripheral vascular disease in antiphospholipid syndrome. *Thrombosis research* 2004 ; 114:509-519.
- [306] **VAN HEERDE WL, DE GROOT PG ET REUTELINGSPERGER CPM .**  
The complexity of the phospholipids binding protein annexin V. *Thrombosis and haemostasis* 1995, 73(2):172-9.
- [307] **VILA P, HERNANDEZ MC, LOPEZ-FERNANDEZ MF, BATLE J.** Prevalence, follow -Up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects. *Thrombosis and haemostasis* 1994, 72(2)209-13.
- [308] **VIARD JP, AMOURA Z ET BACH JF.** Association of anti- $\beta$ 2 Glycoproteine I Antibodies with lupus- type circulating anticoagulant and thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1992 ;93:181-185.
- [309] **VAN ROOSBROECK A.** Anticorps anti- cardiolipine : "Quoi de neuf". *Biolab scientifit news, mai 1991, Vol.XII, 2 :1-6.*
- [310] **WOODHAMS B, CHRISTMENS P, QUIGNON V, MALARD Y, GRIMAUX M ET RODOLFO K.** Analytical evaluation of a new anti-phospholipid antibodies (APA) immunoassays with monoclonal antibody calibration, *11 th international congress on antiphospholipid antibodies sydney, australia, november 14-18 2004.*
- [311] **WAR BRANCH D.** Antiphospholipid antibodies and fetal compromise. *Thrombosis research* 2004, 114,415-418.
- [312] **WONG RCW.** On behalf of the australian aCL Working party. *Thrombosis research* 2004, 114,559-571.
- [313] **WOLBER GAA ET ROUBEY AS.** Mechanisms of autoantibody-induced monocyte tissue factor expression. *Thrombosis research* 2004, 114,391-396.
- [314] **WILSON WA, GHARACI AE, PATEL SP, PIETTE JC.** International classification criteria for antiphospholipid syndrome: Synopsis of a post-conference workshop held at the Ninth international (Tours) Apl Symposium. *Lupus* 2001; 10:457-460.
- [315] **WALKER I D, GREAVES M, PRESTON FE.** Guideline. Investigation and management of heritable thrombophilie. *British Journal of Haemostasis, 114, 512-528, 2001.*
- [316] **WEBER M, HAYEM G, DE BANDT M, PALAZZO E, ROUX S, KAHN M ET AL.**The family history of patients with primary or secondary antiphospholipid syndrome (APS). *Lupus* 2000 ;9 :258-63).
- [317] **WILSON WA, GHARAVI AE, KOIKE T, LOCKSHIN T, BRANCH DW , PIETTE JC, BREY R, DERKSEN R, HARRIS N, HUGHES GRV, TRIPLETT DA, KHAMASHTA MA.** International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis and rheumatism july1999, vol42, 7, 1309-1311.*

- [318] **WEIDMANN CE , WALLACE DJ, PETER J B, KNIGHTPJ, BEAR MB ET KLINBERG JR**  
Studies of IgG, IgM and IgA Antiphospholipid antibody isotypes in systemic lupus erythematosus. *The journal of rheumatology* 1988; 15:74-79.
- [319] **WAHL DG, DEMAISTRE E, GUILLEMIN F, REYNAULD V, PERRET GC, LECOMPTE T.**  
Antibodies against phospholipid and  $\beta$ 2GPI increase the risk of recurrent venous thromboembolism in patients without systemic lupus erythematosus. *QJ Med* 1998; 91:125-130.
- [320] **WILSON WA ET PERZ MC.** Complete C4B deficiency in black Americans with systemic lupus erythematosus. *J.Rhumatol* 1988; 15:1855-1858.
- [321] **YOUINOU P ET RENAUDINEAU Y.** The antiphospholipid syndrome as a model for B cell induced autoimmune diseases. *Thrombosis and research* 2004,114, 363-369.
- [322] **YASUDA S, ATSUMI T, LEKO M ET KOIKE T.**  $\beta$ 2-glycoprotein I, anti- $\beta$ 2-glycoprotein I, and fibrinolysis. *Thrombosis research* 2004 114,461-465.
- [323] **ZILLMANN A, LUTHER T, MULLER I, KOTZSCH M, SPANNAGL M, KAUKE T, OELSCHLAGEL U ET ENGELMANN B .** Platelet-associated tissue factor contributes to the collagen-triggered activation of blood coagulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 281(2), 603-9.
- [324] **ZOUBOULIS CC, GOLLNICK H, WEBER S, PETER HH ET ORFANOS CE.**  
Intravascular coagulation necrosis of the skin associated with cryofibrinogenemia, diabetes mellitus, and cardiolipin autoantibodies. *Journal of the American academy of dermatology*, November 1991, .vol 25, 5, part 2:882-888.

# **ANNEXES**

# **ANNEXE 1**

**CRITERES DIAGNOSTIQUES MINEURS DU SYNDROME DES ANTI-  
PHOSPHOLIPIDES, DIAGNOSTIC PROBABLE ET POSSIBLE SELON LA  
CLASSIFICATION DE WILSON [269]**

<b>Critères diagnostiques mineurs selon WILSON</b>
<p><u>Critères cliniques mineurs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Deux avortements spontanés consécutifs avant la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation (après exclusion des autres causes)</li> <li>▪ Accident ischémique transitoire</li> <li>▪ Thrombopénie</li> <li>▪ Anémie hémolytique auto-immune</li> <li>▪ Chorée</li> <li>▪ Myélite transverse</li> <li>▪ Anomalie valvulaire non rhumatismale (épaississement ou végétation)</li> <li>▪ Livédo</li> <li>▪ Ulcères de jambe</li> <li>▪ Hémorragie bilatérale des surrénales</li> <li>▪ Antécédents familiaux de lupus ou de syndrome des anti-phospholipides</li> <li>▪ ? Convulsion</li> <li>▪ ? Hypertension artérielle pulmonaire</li> <li>▪ ? Néphropathie ischémique</li> </ul>
<p><u>Critères biologiques mineurs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticorps anti-β2GPI</li> <li>• Anticorps anti-Cardiolipine IgA</li> <li>• VDRL</li> <li>• Anticorps anti-Mitochondrie (M5)</li> <li>• ? Anticorps anti-PE</li> <li>• ? Anticorps anti-prothrombine</li> <li>• ? Anticorps anti-LDL oxides</li> </ul>
<b>Diagnostic probable</b>
<p>Association de plus d'un critère clinique majeur avec plus d'un critère biologique mineur Association de deux critères cliniques mineurs avec plus d'un critère biologique majeur</p>
<b>Diagnostic possible</b>
<p>Association de plus d'un critère clinique mineur avec plus d'un critère biologique majeur</p>

# International consensus statement for definite antiphospholipid syndrome

D'après Miyakis et al 2005

Table: revised classification criteria for the antiphospholipid syndrome

---

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

## Clinical criteria

### Vascular thrombosis\*

One or more clinical episodes \*of arterial, venous, or small vessel thrombosis\* in any tissue or organ. Thrombosis must be confirmed by objective validated criteria (i.e. unequivocal findings of appropriate imaging studies or histopathology). For histopathologic confirmation, thrombosis should be present without significant evidence of inflammation in the vessel wall.

### Pregnancy morbidity

One or more unexplained deaths of a morphologically normal fetus at or beyond the 10<sup>th</sup> week of gestation, with normal fetal morphology documented by ultrasound or by directed examination of the fetus, or one or more premature births of a morphologically normal neonate before the 34<sup>th</sup> week of gestation because of (i) eclampsia or severe preeclampsia defined according to SD, or (ii) recognized features of placental insufficiency\*, or three or more unexplained consecutive spontaneous abortions before the 10<sup>th</sup> week of gestation, with maternal anatomic or hormonal abnormalities and paternal and maternal chromosomal causes excluded.

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

### Laboratory criteria \*\*

1. Lupus anticoagulant (LA) present in plasma, on two or more occasions at least 12 weeks apart, detected according to the guidelines of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Scientific Subcommittee on LAs/phospholipid-dependent antibodies)
2. Anticardiolipin (aCL) antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma, present in medium or high titer (i.e. >40 GPL or MPL, or >the 99<sup>th</sup> percentile), on two or more occasions, at least 12 weeks apart, measured by standardized ELISA.
3. Anti-b2 glycoprotein-I antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma (in titer >99<sup>th</sup> percentile), present on two or more occasions, at least 12 weeks apart, measured by standardized ELISA, according to recommended procedures.

---

\*Classification of APS should be avoided if <12 weeks or more than 5 years separate the positive aPL test and the clinical manifestation.

\*Coexisting inherited or acquired factors for thrombosis are not reason for excluding patients from APS trials. However, two subgroups of APS patients should be recognized, according to: (a) the presence, and (b) the absence of additional risk factors for thrombosis. Indicative (but not exhaustive) such cases include age (>55 in men, and >65 in women), and the presence of the established risk factors for cardiovascular disease (hypertension, diabetes mellitus, elevated LDL or low HDL Cholesterol, cigarette smoking, family history of premature cardiovascular disease, body mass index >30 kg m<sup>-2</sup>, microalbuminuria, estimated GFR <60 ml min<sup>-1</sup>), inherited thrombophilias, oral contraceptives, nephrotic syndrome, malignancy, immobilization, and surgery. Thus, patients who fulfil criteria should be stratified according to contributing causes of thrombosis. A thrombotic episode in the past could be considered as a clinical criterion, provided that thrombosis is proved by appropriate diagnostic means and that no alternative diagnosis of cause of thrombosis is found. \*Superficial venous thrombosis is not included in the clinical criteria \*Generally accepted features of placental insufficiency included (i) abnormal or non-reassuring fetal surveillance test(s), e.g. a non-reactive non-stress-test, suggestive of fetal hypoxemia, (ii) abnormal Doppler flow velocimetry waveform analysis suggestive of fetal hypoxemia, e.g. absent and diastolic flow in the umbilical artery, (iii) oligohydramnios, c.g. and amniotic fluid index of 5 cm or less, or (iv) a postnatal birth weight less than the 10<sup>th</sup> percentile of the gestational age \*\*Investigators are strongly advised to classify APS patients in studies into one of the following categories. I, more than one laboratory criteria present (any combination); IIa, LA present alone; IIb, aCL antibody present alone; IIc, anti-B2GPI antibody present alone.

**CLASSIFICATION DU SAPL**

**SELON WILSON** <sup>[269]</sup>

<b>PRIMAIRE</b>
<b>SECONDAIRE</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- Connectivite</li><li>LED</li><li>Sclérodermie, Gougerot-Sjogren, Polyarthrite rhumatoïde, Horton/ pseudopolyarthrite rhizomelique</li><li>- Traitement inducteur *<ul style="list-style-type: none"><li>Procainamide, phénothiazines, quinidine, hydralazine...</li></ul></li><li>- Hémopathies malignes, cancers solides</li><li>- Infections*<ul style="list-style-type: none"><li>VIH, viroses aiguës, syphilis, Lyme, tuberculose, paludisme....</li></ul></li><li>- Insuffisance rénale terminale</li></ul>
(*) la fréquence des anticorps anti-phospholipides doit être opposée à la rareté des thromboses (donc du SAPL) dans ces circonstances

**SITUATIONS ASSOCIEES A LA PRESENCE D'ANTICORPS ANTI-**

**PHOSPHOLIPIDES** <sup>[269]</sup>

<b>MALADIES AUTO-IMMUNES</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Lupus érythémateux systémique, lupus discoïde, connectivite mixte</li><li>✓ Polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjögren</li><li>✓ Sclérodermie, polychondrie atrophiante</li><li>✓ Thyroïdite auto-immune, diabète insulino-dépendant</li><li>✓ Myasthénie, sclérose en plaques</li><li>✓ Purpura thrombopénique immunologique</li></ul>
<b>AFFECTIONS MALIGNES</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Thymomes, cancers solides</li><li>✓ Syndromes myéloprolifératifs, leucémies</li><li>✓ Lymphomes, maladie de Waldenström</li></ul>
<b>MALADIES INFECTIEUSES</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Syphilis, maladie de Lyme, typhus, Fièvre Q, leptospirose</li><li>✓ Infections à mycoplasme et à chlamydia</li><li>✓ Infections à : staphylocoque doré, streptocoques, salmonelles, E. Coli</li><li>✓ Tuberculose, lèpre, endocardites bactériennes</li><li>✓ VIH, VHA, VHB, VHC, CMV, EBV, parvovirus B 19, adénovirus</li><li>✓ Rougeole, oreillons, rubéole, varicelle</li><li>✓ Paludisme, toxoplasmose</li></ul>
<b>AUTRES</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Maladies de Horton et de Takayasu, périartérite noueuse</li><li>✓ Spondyloarthropathies, maladies inflammatoires de l'intestin</li><li>✓ Cirrhose, insuffisance rénale terminale, hémodialyse</li><li>✓ Intoxication éthylique</li><li>✓ Médicaments<ul style="list-style-type: none"><li>- phénothiazines, hydantoïnes, éthosuximide</li><li>- pénicillines, streptomycine, quinine</li><li>- β bloquants hydralazine, quinidine, hydrochlorothiazide</li><li>- œstroprogestatifs</li><li>- interféron α</li><li>- procaïnamide</li></ul></li></ul>

**CRITERES D'EXCLUSION DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES**

**PRIMAIRE SELON WILSON** <sup>[269]</sup>

Arthrite franche

Eruption malaire

Lupus discoïde

Ulcération orale ou pharyngée

Pleurésie sans embolie pulmonaire ni insuffisance cardiaque

Péricardite sans infarctus du myocarde ni insuffisance rénale marquée

Protéinurie > 0,5 g/j par glomérulopathie par complexes immuns prouvée histologiquement

Lymphopénie inférieure à 1 000/mm<sup>3</sup>

Anticorps anti-nucléaires à titre supérieur à 1/320

Anticorps anti-ADN natif

Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Traitement connu comme inducteur :

- phénothiazines, hydantoïnes, éthosuximide
- pénicillines, streptomycine, quinine
- β bloquants hydralazine, quinidine, hydrochlorothiazide
- œstroprogestatifs
- interféron α
- procainamide

## **ANNEXE 2**

Fiche de données

**FICHE DE DONNEES GENERALES**

**PATIENT**

NOM : .....

DATE : /\_\_ /\_\_ /\_\_ /

PRENOM : .....

1<sup>ère</sup> hospitalisation

AGE : /\_\_ /\_\_ /

SERVICE : .....

ADRESSE : .....

N° dossier : /\_\_ /\_\_ /\_\_ /

**CRITERES ACR PRESENTS :**

1. Eruption malaire en aile de papillon
2. Lupus discoïde
3. Photosensibilité
4. Ulcérations buccales ou nasopharyngées
5. Polyarthrites non érosives
6. Pleurésie ou péricardite
7. Atteinte rénale (protéinurie)
8. Atteinte neurologique (convulsion, psychose)
9. Atteinte hématologique (anémie hémolytique, leucopénie, thrombopénie)
10. Désordres immunologiques (anti- DNA, anti-Sm, APA)
11. Présence de facteurs nucléaires

**MOTIF DE CONSULTATION OU D'HOSPITALISATION ACTUELLE**

**AUTRES SIGNES CLINIQUES PRESENTS**

Thromboses artérielles        /\_\_ /

Thromboses veineuses        /\_\_ /

Infarctus du myocarde        /\_\_ /

Livedo réticularis            /\_\_ /

Infarctus intestinal, hépatique, splénique, pancréatique    /\_\_ /

**BILAN INFLAMMATOIRE**

VS :

CRP :

FIBRINOGENE :

ELECTROPHORESE DES PROTEINES :

**Bilan biologique**

FNS :

FS :

TP :

TCA :

TS :

UREE SANGUINE :

CREATINEMIE :

GLYCEMIE :

CHOLESTEROL :

TRIGLYCERIDES :

**BILAN HEPATIQUE**

**CHIMIE DES URINES :**

Protéinurie :

**BILAN IMMUNOLOGIQUE**

COMPLEMENTEMIE :

AC ANTINUCLEAIRES :

AC ANTI-DNA :

COOMBS :

AC ANTIPHOSPHOLIPIDES :

**AUTRE :**

**ANATOMOPATHOLOGIE :**

*PBR :*

*BIOPSIE CUTANEE :*

**TRAITEMENT :**

*TYPE :*

*DATE DE DEBUT :*

*PROTOCOLE :*

**OBSERVATIONS :**

.....  
.....  
.....

Fiche de données

— FICHE DE DONNEES TEMOINS —

---

Nom : \_\_\_\_\_ Prénom: \_\_\_\_\_ Date : /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/  
Date de naissance : /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/ N°enregistrement: /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

---

**Donneur de sang**

- Oui
- Non

**Maladie veineuse thromboembolique**

- Oui
- Non

**Facteurs favorisant la thrombose**

❖ Traitement hormonal

- Non
- Oui :      CO :      Oui                  Non

❖ Tabac

- Non
- Oui

❖ Alcool

- Non
- Oui

❖ Surcharge pondérale

- Non
- Oui

❖ Dyslipidémie

- Non
- Oui

❖ Varices

- Non
- Oui

❖ Autres

## TRAITEMENT

- Non
- Oui

## ANTECEDENTS THROMBOTIQUES VEINEUX OU ARTERIELS FAMILIAUX

- Absence : /\_\_/
- Présence : /\_\_/
  - Combien d'apparentes atteint /\_\_/\_\_/
  - Quel est le niveau d'apparentes
    - ✓ I<sup>er</sup> degré /\_\_/
    - ✓ II<sup>ème</sup> degré /\_\_/

## ANTECEDENTS OBSTETRICAUX

- ❖ Grossesses normales
  - Non
  - Oui
- ❖ FCS
  - Non
  - Oui :

## ANOMALIES DE L'HEMOSTASE

- Négatif
- Déficit en inhibiteurs PC PS AT
- RPCA
- Anomalies de la veinostase
- Autres

## SEROLOGIE ANTI VIRALE

- Négatif
- Positif

**Critères de positivité**  
**des tests usuels de diagnostic**  
**des anticoagulants circulants**  
**de type Lupus Anticoagulants (LA)** <sup>[44]</sup>

Tests	Négatif	Douteux	Positif
<b>Tests de correction Du PTT LA*</b>	<12	12-15	≥ 15
<b>TTD**</b>	<1,10	1,1-1,2	≥ 1,2
<b>Tests de neutralisation Principe TCA*** Sta clot LA</b>	<8		>8sec

\*Interprétation du test de correction du TCA : *calcul de l'indice de Rosner* :  $[TCA \text{ Mélange-TCA témoin} / TCA \text{ témoin}] \times 100$ .

\*\*TTD (Temps de thromboplastine diluée) réalisé sur une dilution au 1/500<sup>e</sup> de la thromboplastine en chlorure de calcium 25mM.

Interprétation : temps mélange (M+T)/Temps témoin

Chez des patients recevant un traitement anticoagulant oral avec INR >3, le seuil de positivité peut être relevé à 1,3

\*\*\*Raccourcissement du temps de coagulation après ajout de phospholipides (en secondes)

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

## **ANNEXE 3**

## OBSERVATIONS PARTICULIERES

Les signes cliniques ou biologiques qui permettent le diagnostic de Lupus érythémateux systémique (LED) selon les critères de l'American College of Rheumatology (ACR) sont présentés en **caractères gras**.

- Les signes cliniques ou biologiques qui permettent le diagnostic de syndrome des anti-phospholipides sont indiqués en caractères soulignés.
- Les signes cliniques associés au SAPL, sont désignés *en caractères italiques*.

### **Observation 1/ M10 : Thrombose insolite**

Il s'agissait d'un homme né en 1966 marié, originaire de Tlemcen, suivi depuis 2003 (à l'âge de 34 ans) au service de médecine interne pour un LED.

Il se plaignait **de douleurs articulaires au niveau des grosses articulations**, il a présenté un **épanchement péricardique**, une **éruption faciale en aile de papillon**, et une **thrombopénie** (118 GIGA/l).

Ce patient a été hospitalisé en décembre 2003 pour des crises douloureuses abdominales associées à une hépato-splénomégalie stade III. La tomodensitométrie (IRM) a démontré la présence d'un foyer infarctoïde séquellaire avec une distension des anses grêles résultant d'iléus en rapport avec une thrombose de l'artère mésentérique.

*L'échographie cardiaque a montré une ischémie sous épocardique latérobasale*

Au niveau biologique, la sérologie immunologique (**anti DNA et FAN**) était positive, les anticorps anti-phospholipides dont les aPA déterminés par ELISA d'iso type IgG, (18GPL/ml), des anticorps anti-β2GPI de type IgG et des lupus anticoagulants, étaient présents à plusieurs prélèvements espacés de 8 mois. Le patient est sous corticoïdes à faibles doses.

### **Observation 2/M19 : SAPL obstétrical**

Il s'agissait d'une femme mariée âgée de 32 ans, originaire de Tlemcen, suivie depuis l'âge de 28 ans (1986) au service de médecine interne pour un LED découvert à l'occasion de **manifestations dermatologiques et rhumatologiques marquées**, une **atteinte rénale notamment une glomérulonéphrite proliférative stade V**.

La patiente avait présenté six grossesses dont aucune n'est arrivée à terme, les morts foetales apparaissant de plus en plus tôt au cours de l'âge gestationnel

La patiente présentait une **thrombopénie marquée** (30GIGA/l) d'origine périphérique, une anémie microcytaire hypochrome régénérative dont l'analyse de l'hémoglobine notamment l'électrophorèse de l'hémoglobine et les dosages des différentes fractions a révélée une augmentation de l'hémoglobine A2 rattachée à une  $\beta$  Thalassémie hétérozygote confirmée par l'enquête familiale (mère et sœur atteinte)

On notait dans ses antécédents un lupus familial chez la mère.

Au niveau biologique, la sérologie immunologique (**anti DNA**) étaient positifs, et les anti-phospholipides de type LA étaient positifs fortement et persistant à 9 mois d'intervalles, de même les anticorps anti- $\beta$ 2GPI de type IgM.

Le traitement était à base de corticoïdes et d'aspirine.

### **Observation 3 M25. SAPL catastrophique**

Il s'agissait d'une femme mariée âgée de 41 ans, originaire de Maghnia, suivie depuis L'âge de 37ans (2000) au service de dermatologie pour un LED et pour laquelle ,nous avons reçu des prélèvements suite à son hospitalisation au service des urgences cardio-vasculaires pour un **épanchement péricardique** de moyenne abondance associe à une poussée aigue de LES ; une altération de l'état général, **des douleurs articulaires** à type de polyarthrite des membres inférieurs. Son état clinique s'était rapidement détérioré par la survenue d'un épanchement péritonéal ,une ascite , une insuffisance rénale aigue puis transférée en neurologie suite à un accident vasculaire ischémique confirmé par le scanner et probablement une coagulation intra vasculaire disséminée non prouvée sur le plan biologique. La patiente était décédée à la suite de ce tableau de défaillance multi viscérale.

Au niveau biologique, la sérologie immunologique (**anti DNA**) était positive, et les anti-corps anti-phospholipides de type IgG étaient positifs à titre élevé (35 GPL/ml) persistant à 3 mois d'intervalles, de même les anticorps anti- $\beta$ 2GPI de type IgM.(16 GPL/ml)

Le traitement reçu était à base de corticoïdes. A fortes doses et de transfusions sanguines.

Cette patiente avait probablement un syndrome catastrophique de SAPL selon les définitions de ce syndrome notamment la sévérité des signes cliniques du SAPL.

#### **Observation 4 M30. SAPL et endocardite de Liebmann Sachs**

Il s'agissait d'une femme mariée âgée de 42 ans, originaire de Tlemcen, suivie depuis 1998 (à l'âge de 25ans) au service de médecine interne pour **un LED**

Dans ses antécédents, une seule grossesse était arrivé à terme et 9 avortements précoces et morts fœtales :

La patiente avait présenté deux thrombophlébites récidivantes du membre inférieur droit notamment en 1998 puis en 1999, traitée par des anticoagulants durant une période de 3 ans jusqu'à 2000. Après l'arrêt de celui-ci et suite à une suspicion de grossesse de 5 semaines d'aménorrhée, elle été hospitalisée aux urgences de cardiologie pour une dyspnée d'effort, des palpitations et un souffle systolique les investigations cardiovasculaires en particulier l'échographie a conclu à une thrombose intracardiaque et une endocardite de LIEBMANN SACHS avec un retentissement sur les cavités cardiaques .Les contrôles cardiovasculaires notaient la persistance d'une hypertension artérielle pulmonaire probablement suite à un embolie cardiaque.

Au niveau biologique, la sérologie immunologique (**anti DNA**) était positive, et les anti-phospholipides de type LA étaient fortement positifs et persistants à 6 mois d'intervalles, de même les anticorps anti-β2GPI de type IgG et IgM associés, les aPA IgG étaient positifs à taux élevé.

Le traitement était à base de plaquenil auquel était ajouté le traitement anticoagulant vu la sévérité des signes cliniques en particulier la récurrence des thromboses observées après l'arrêt du traitement.

#### **Observation 8 BII-17**

Il s'agissait d'une femme mariée, née en 1975, originaire de Tlemcen, suivie pour un LES depuis octobre 2004 au service de médecine interne, découvert à l'occasion d'une **pleurésie inflammatoire, des douleurs articulaires** au niveau des membres inférieurs et des genoux, **un érythème facial en vespertino** et une protéinurie et une atteinte hématologique (anémie *et thrombopénie*).La ponction biopsie rénale avait montré la présence d'une thrombose de l'artère rénale.

Au niveau biologique, la sérologie immunologique (**anti DNA FAN et anti-Sm**) était positive, et les anticorps anti-phospholipides déterminés par ELISA d'iso type IgG étaient retrouvés régulièrement positifs à chaque recherche, à titre moyen (21 GPL) à 3 mois d'intervalle de même des anticorps anti-β2GPI de type IgM et les anticorps de type lupus anticoagulants (LA).Le traitement était à base de corticoïdes.

**Caractéristiques biologiques des 20 Patients avec  
syndrome des anti-phospholipides**

Cas	aPA IgG	aPA IgM	$\beta$ 2GPIIgG	$\beta$ 2GPI IgM	LA	Date du 1 <sup>er</sup> prélèvement	Evolution
M1	40	3	26.66	8.88	N	15.03.2003	+ après 3mois
M7	65	0	14	45	P	18.10.2003	+ après 6mois
M8	25.2	2.5	12.33	6.66	P	07.02.2004	+ après 12mois
M10	18	6.8	11	7.06	P	30.11.2003	+ après 8mois
M13	0	1	30	6.36	N	14.12.2003	+ après 3mois
M15	29	16	4.91	18.68	P	11.07.2004	+ après 8mois
M16	41	6	7.99	11	N	10.02.2004	+ après 6mois
M17	21	4	2.45	15	P	18.02.2004	+ après 3mois
M19	7.5	2.2	7.05	13.42	P	11.07.2004	+ après 9mois
M25	35	0	12	16	N	03.08.2004	+ après 3mois
M27	53	0	27	3.84	P	20.09.2004	+ après 12mois
M30	42	0	21.04	18.75	P	16.08.2004	+ après 6mois
M36	2.1	0	0	6.29	P	12.09.2004	+ après 3mois
M38	15	8	11	7.6	P	16.10.2004	+ après 3mois
M46	0	55	7.89	53.78	N	16.03.2005	+ après 6mois
M47	1.4	4.4	2.66	3.18	P	11.04.2005	+ après 3mois
M48	64	8.32	32	15.67	N	17.04.2005	+ après 3mois
M51	45	3.1	7.89	6.36	P	15.05.2005	+ après 14mois
M52	33	26	12	32.87	P	01.07.2005	+ après 6mois
M57	55	55	30	34	N	28.06.2005	+ après 17sem
Seuil	>14.7	>9.5	>10	>10			

**REPARTITION DES ANTIPHOSPHOLIPIDES CHEZ LES 60 PATIENTS  
LUPIQUES APRES CONFIRMATION**

Malades	aPAIgG	aPAIgM	$\beta$ 2GPI IgG	$\beta$ 2GPI IgM	TTD	PTTLA	LA
1	<b>40</b>	3	<b>26.66</b>	8.88	0.99	1.14	N
2	6.75	6.35	5.89	7.4	0.9	0.98	N
3	2.8	0	5.33	9.39	1.03	1.08	N
4	4.05	2.5	5	4	0.8	0.74	N
5	2.07	0	6.33	6.89	1.03	0.78	N
6	11	<b>18</b>	2.03	<b>14.84</b>	1.14	1.05	N
7	<b>65</b>	0	<b>14</b>	<b>45</b>	<b>1.48</b>	<b>2.23</b>	Y
8	<b>25.2</b>	2.5	<b>12.33</b>	6.66	<b>1.34</b>	<b>1.2</b>	Y
9	3.24	2.5	2.29	7.09	0.97	0.74	N
10	<b>18</b>	6.8	<b>11</b>	7.06	1.96	1.35	Y
11	3.87	3.2	3.6	0.61	0.98	0.84	N
12	3.87	3.1	2.87	3.2	1.04	1	N
13	0	1	<b>30</b>	6.36	1.03	0.93	N
14	6.3	1.75	2.3	2.97	0.99	0.83	N
15	<b>29</b>	16	4.91	<b>18.68</b>	<b>1.77</b>	1.03	Y
16	<b>41</b>	6	7.99	11	1.04	1.25	N
17	<b>21</b>	4	2.45	<b>15</b>	1.44	0.78	Y
18	8	3.6	7	6.75	1.06	0.78	N
19	7.5	2.2	7.05	<b>13.42</b>	<b>1.46</b>	<b>1.45</b>	Y
20	7	<b>12.5</b>	0.74	<b>12.82</b>	1	1.04	N
21	6	0	4.54	6.89	<b>1.23</b>	1.05	N
22	0	1.5	1.35	<b>19.99</b>	1.05	0.93	N
23	0	1.5	1.35	<b>16.59</b>	0.77	1.42	N
24	3.33	2.5	3.99	6.66	1.07	1.05	N
25	<b>35</b>	0	<b>12</b>	<b>16</b>	0.9	0.84	N
26	<b>18</b>	3.2	<b>12.83</b>	6.66	0.98	0.91	N
27	<b>53</b>	0	<b>27</b>	3.84	<b>1.5</b>	0.14	Y
28	2.8	8.5	5	4.89	1.07	1.07	N
29	11	0	6.66	7.89	1.06	0.87	N
30	<b>42</b>	0	<b>21.04</b>	<b>18.75</b>	<b>2.22</b>	<b>2.03</b>	Y
31	5	1.8	5.33	4.89	0.8	0.88	N
32	3.4	0	5.87	6.33	0.9	0.75	N
33	3.4	2	0.327	1.54	1.01	1.35	N
34	2	2	1.31	1.54	0.82	0.89	N
35	4.8	0	5.57	6.08	1.3	1.05	N
36	2.1	0	0	6.29	1.44	1.12	Y
37	2	2.4	5.66	4.33	1.02	0.71	N
38	<b>15</b>	8	<b>11</b>	7.6	1.27	1.36	Y
39	3.8	3.1	5.33	<b>13.78</b>	0.78	0.95	N
40	7.5	7.5	5	4.78	0.98	1.03	N
41	0	0	1.33	6.76	0.86	0.07	N
42	0	0	5.33	7.2	1.13	1.03	N
43	0	3.2	6.66	6.66	1.01	1.05	N
44	3.4	0	6.57	3.18	1.04	0.8	N
45	0	2.2	5.33	6.75	1	1.04	N
46	0	<b>55</b>	7.89	<b>53.78</b>	0.82	1.09	N
47	1.4	4.4	2.66	3.18	1.74	1.03	Y
48	<b>64</b>	8.32	<b>32</b>	<b>15.67</b>	1.03	1.1	N
49	8.2	8.8	6.45	6.36	1.03	1.2	N
50	5	4	4.4	3.5	0.95	0.98	N
51	<b>45</b>	3.1	<b>7.89</b>	6.36	1.69	1.54	Y
52	<b>33</b>	26	<b>12</b>	32.87	1.69	1.11	Y
53	6.75	5	5.4	3.75	0.98	1.02	N
54	0	1	2.34	2.33	0.92	0.82	N
55	9.5	1.25	3.33	4.45	0.89	1.08	N
56	0	1	3.45	2.66	1.32	1.64	N
57	<b>55</b>	<b>55</b>	<b>30</b>	34	0.82	0.83	N
58	6	6.5	3.55	6.66	0.93	0.65	N
59	6.75	2	3.75	2.66	1.47	1.03	N
60	0	0	2.66	3.83	1.11	1.02	N
Valeur seuil	>14,7	>9.5	>10	>10	>1,2		

**RESULTATS DES TESTS CHRONOMETRIQUES CHEZ LES 20 PATIENTS  
ATTEINTS DE SAPL**

N°	DATES Prel	TP	TCAM/T	FG	II	V	VII	X	VIII	IX/XI	PTTLAM/T	PTTLAM/IR	Staclot LA	TTD M/T	TTD mel	LA
1	02.09.2003	100	30,8/35	3.08	107	106	141	106	70	98	1.29	45.15/2.21	-4.7	0.99	0.98	N
7	18.10.2003	86	37/27	5					70	80/85	2.12	76/40,57	36.8	1.48	1.42	P
8	07.10.2003	80	37,9/30	2.27							1.19	32/9.6	1.89	1.35	1.19	P
10	09.08.2004	84	40,7/33	3.89						80/75	1.35	52/20,76	58.7	1.96	1.44	P
13	20.02.2005	100	37,9/33	3.09							0.93		-3.1	1.03		N
15	29.08.2004	100	25,5/30	3.81							0.93		4	1.78	1.43	P
16	31.07.2004	80	47,5/30*	4.78					87	88	1.25	37/0,65	-6.1	1.04		N
17	03.02.2004	100	36/30	3.2							0.78		-1.5	1.44	1.15	P
19	22.08.2004	100	46,3/30	4.42					75	65/76	1.68	75/50	38.8	1.46	1.85	P
25	02.08.2004	94	36,9/30	3.9							0.84			0.9		N
27	02.09.2004	100	31,2/30	2.93							1.25	52/22	8	1.5	1.37	P
30	17.04.2005	76	69,1/30	4.02	66	69	116	94	64	123	2.03	82/72	42.5	2.22	1.57	P
36	26.11.2004	82	34/30	4	75	72	87	89			1.02		-10	1.45	1.32	P
38	10.12.2004	82	40/33	3.87							1.51	51/30	44	1.44	1.32	P
46	16.03.2005	100	32,2/34	4.11							1.09			0.82		N
47	12.06.2005	100	35,7/34	2.39							0.94			2.82	1.36	P
48	17.04.2005	100	36,4/34	3.55							1.1			1.03		N
51	15.05.2005	100	56,2/34	2.77					35*/65	115	2.36	74,1/47,16	8	1.69	1.43	P
52	15.05.2005	100	43,2/34	2.27	87	66	109	124	117	104	1.03			1.41	1.3	P
57	28.06.2005	100	31/30	3.64							0.83			0.82		N

## **ANNEXE 4**

### **Fréquence des aPL au cours du LES**

**Fréquence des anticorps anticardiolipine au cours du lupus systémique (par ordre de fréquences) comparaison de nos résultats avec les résultats des études publiées<sup>[94]</sup>**

Séries	Patients (n)	Fréquence (%)
Jones et al.	200	17
Cervera et al. (1993) <sup>[72]</sup>	1000	20
Golstein et al.	92	20
Hazeltine et al.	65	22
Danao-Camar et Clough :	47	23
McHugh et al.	98	24
Axtens et al.	127	24
Tubach et al.	102	24
Petri et al.	60	25
Kutteh et al.	125	25
Wilson et al.	44	27
McHug et al.	58	29
Bachanan et al.	117	30
Guerin et al.	20	30
<b>Shimada et al.</b>	<b>31</b>	<b>31</b>
<b>Cervera et al. (1990) <sup>[73]</sup></b>	<b>100</b>	<b>36</b>
Fanopoulos et al.	48	37
Lopex-Soto et al.	92	37
Toschi et al.		37
Worral et al.	100	38
Alarcon-Segovia et al. (1989) <sup>[34]</sup>	500	39
Ishikawa et al.	31	39
Meyer et al.	108	40
Fort et al.	30	40
Koike et al.	24	42
Kalunian et al.	85	42
Wilson et al.	48	42
<b>Notre série</b>	<b>60</b>	<b>33</b>

**Fréquences des anticorps anti  $\beta$ 2GPI au cours du lupus érythémateux systémique**

Séries	Patients (n)	Fréquence (%)
<b>Viard, (1992)</b> <sup>[311]</sup>	47	36(IgG)
Kaburati, 1995 <sup>[161]</sup>	140	15
Tsutsumi 1996 <sup>[297]</sup>	308	10(IgG) 5(IgM)
Puurperen 1996	139	49
Romero, 1998	118	17
Fanopoulos, 1998	48	58
Tubach, 2000	102	19
<b>Bruce (2000)</b> <sup>[43]</sup>	<b>133</b>	<b>37</b>
<b>Nojima 2001</b> <sup>[215]</sup>	<b>168</b>	<b>30(IgG)</b>
<b>Notre série</b>	<b>60</b>	<b>38</b> <b>22(IgG)</b> <b>27(IgM)</b>

**Fréquences des lupus anticoagulants au cours du lupus érythémateux systémique** <sup>[94]</sup>

Séries	Patients (n)	Tests utilisés	Fréquence (%)
Hasselaar et al.	74	PTT phospholipid dilution test, KCT	49
<b>Cervera et al.</b>	100	Prothrombin time, aPTT, KCT, dRVVT, tissue thromboplastin inhibitor	<b>30</b>
<b>Mchugh et al.</b>	58	Kaolin cephalin clottin time, dRVVT, Time thromboplastin inhibitor	<b>22</b>
Wong et al.	91	aPTT, RVVT platelet neutralization inhibition	11
Cervera et al.	1000	Multiple	9
Intraguentornchai et al.	91	PTT, KCT, TTI, PNP	18
Sohngen et al.	80	aPTT, KCT	19
<b>Golstein et al.</b>	92	aPTT, dilute Inhibition	<b>22</b>
<b>Notre série</b>	<b>60</b>	<b>PTTLA, TTD,</b>	<b>23</b>

**KPTT:** Kaolin partial thromboplastin time. **TCK:** temps de céphaline kaolin. **PTT:** partial thromboplastin time: temps de thromboplastine partielle. **KCT:** kaolin clotting time: temps de coagulation du Kaolin. **TTI:** tissue thromboplastin inhibition test ou **TTD** Temps de thromboplastine diluée.

## *Anticorps anti $\beta$ 2GPI isolés décrits dans la littérature*

<b>Auteur</b>	<b>Année</b>	<b>Nombre total de patients</b>	<b>Nombre et type d'<math>\alpha</math>2GPI</b>	<b>Nombre d' <math>\alpha</math>2GPI associé à une manifestation clinique</b>
Viard <sup>[311]</sup>	1992	47	0 IgG	0
Cabiedes <sup>[70]</sup>	1995	94	17 IgG	15
Matsuda <sup>[206]</sup>	1995	36	0 IgG	0
Balestrieri	1995	178	10 IgG ou IgM	6
Amengual <sup>[24]</sup>	1996	120	0 IgG	0
Sanmarco <sup>[274]</sup>	1997	200	0 IgG	0
Texeiro	1997	108	0 IgG ET 2 IgM	!
Eswedge <sup>[97]</sup>	1998	122	21 IgG, IgM ou IgA	-
Day <sup>[85]</sup>	1998	281	9 IgG ou IgM	7
Zanon	1999	227	0	0
<b>Notre série</b>	<b>2006</b>	<b>60</b>	<b>3 IgM et 1 IgG</b>	<b>1</b>

## **ANNEXE 5**

**Anticorps antiβ2GPI et manifestations cliniques du SAPL chez les patients lupiques**

Auteur	Type d'étude	Patients	Contrôles	
VIARD 1992 [310]	<u>Etude rétrospective</u> <b>47 patients lupiques</b>	9 thromboses 8 aβ2GPI 6 pertes foetales récurrentes 4 aβ2GPI	38 lupus sans thrombose 9 aβ2GPI	Prévalence aβ2GPI IgG 36% Association aβ2GPI thrombose (p<0.001) Se 89 Spe 70, VPP 47, VPN 97
TSUSTSUMI 1996 [296]	<u>Etude rétrospective</u> <b>308 lupus consécutifs</b>	37 thromboses 15 pertes foetales récurrentes	Patients restants	aβ2GPI et lupus Prévalence : IGG, 10% IGM, 5% aβ2GPI IgG et thrombose(p=0.0057) Se = 24% Spe = 92% VPP = 29% Pas d'association avec les pertes foetales récurrentes
HORBACH 1996 [143]	<u>Etude rétrospective</u> 175 lupus consécutifs, 23 SAPLP, 40 thromboses sans aCI ni ACC	44 thromboses lupiques : 14 aβ2GPI IgG 23 SAPLP : 15 aβ2GPI IgG	131 lupus sans thrombose 16 aβ2GPI IgG 40 thromboses sans aCI ni ACC 21 aβ2GPI	aβ2GPI et thrombose Se = 30% Spe = 85% VPP = 47% Corrélation aβ2GPI thrombose
PUURPUREN 1996	<u>Etude rétrospective</u> <b>139 patients lupiques</b>	Thrombose 18 patients	Patients sans thrombose 121 patients	Prévalence aβ2GPI lupus: 49% Association significative avec la thrombose (p=0,009) aβ2GPI. aCI et thrombose Se 67% 67% Spe 73% 55%
TEXEIDO 1997	<u>Etude rétrospective</u> 108 patients sélectionnés 79 lupus, dont 44 présentent des "anti- phospholipides conventionnels" 21 SAPLP 8 asymptomatiques avec "aPI conventionnels"	21 thromboses 141 lupus 25 pertes foetales 9 lupus 16 SAPLP	Patients restants 7 SAPLP	Prévalence aβ2GI lupus : IgG : 6,3% IgM : 18% Association aβ2GPI IgG et IgM thrombose chez les lupus (p<0.01 ) spécificité meilleure que les aPI
DAY 1998 [85]	<u>Etude rétrospective</u> 281 patients sélectionnés,	11 SAPL (critères non conformes) 48 SAPLP 63 APS secondaires à un lupus 19 APS et sjögren ou sclérodemie 19 lupus avec manifestations cliniques de SAPL sans aPI ou ACC	28 aPI et/ou ACC positifs sans APS 141 lupus aPI et/ou ACC+ 109 lupus sans aPI ou ACC	Prévalence aβ2GPI 13% IgG, 9% IgM, 6% IgG et IgM Association significative avec les manifestations d'APS (OR=5,4 ;p<0,0001) Manifestations cliniques d'APS. aβ2GPI aPI. ACC Se 42% 54% 61% Spe 84% 71% 72% VPP 61% 70% 71%
BRUCE, 2000 [43]	<u>Etude rétrospective</u> <b>133 patients lupiques</b> dont 13% présentent des aCI et 20% un ACC	SAPL selon la classification de HARRIS 44 SAPL 19 aβ2GPI	89 sans SAPL 30 aβ2GPI IgA	Prévalence aβ2GPI 37% 16% IgG, 23% IgM, 10% Manifestations cliniques d'APS, aβ2GPI aCI, ACC Se 61% 20% 36% Spe 66% 90% 88% VPP 39% 50% 60% Pas d'association significative avec les manifestations cliniques
NOJIMA 2001 [215]	<u>Etude rétrospective</u> <b>168 patients lupiques</b>	49 thromboses 30 thromboses artérielles 19 thromboses veineuses 14 pertes foetales	Patients restants	Prévalence aβ2GPI IgG :30% Association aβ2GPI IgG thrombose artérielle

**Valeurs prédictives positives et spécificités des anticorps anti- $\beta$ 2GPI chez les patients lupiques avec "anti-phospholipides conventionnels", comparaison de nos données à celles de la littérature**

ELISA- $\alpha\beta$ 2GPI IgG	Syndrome des anti-phospholipides		
	Oui	Non	
Positif	VP=17	FP=02	19
Négatif	FN=05	VN= 10	15
	22	12	34

**Tableau a:** Valeur diagnostique des anticorps  $\alpha\beta$ 2GPI de type IgG pour le syndrome des anti-phospholipides chez 34 patients lupiques avec anticorps anti-cardiolipine <sup>[24]</sup>

ELISA- $\alpha\beta$ 2GPI IgG	Syndrome des anti-phospholipides		
	Oui	Non	
Positif	VP=19	FP=02	21
Négatif	FN=02	VN= 20	22
	21	22	43

**Tableau b:** Valeur diagnostique des anticorps  $\alpha\beta$ 2GPI de type IgG pour le syndrome des anti-phospholipides chez 43 patients lupiques avec anti-phospholipides conventionnels <sup>[70]</sup>

ELISA- $\alpha\beta$ 2GPI IgG	Syndrome des anti-phospholipides		
	Oui	Non	
Positif	VP=18	FP=04	22
Négatif	FN=11	VN= 32	43
	29	36	65

**Tableau c:** Valeur diagnostique des anticorps  $\alpha\beta$ 2GPI de type IgG pour le syndrome des anti-phospholipides chez 65 patients lupiques avec anti-phospholipides anti-cardiolipine <sup>[270]</sup>

ELISA- $\alpha\beta$ 2GPI IgG	Syndrome des anti-phospholipides		
	Oui	Non	
Positif	VP=10	FP=02	12
Négatif	FN=08	VN= 15	23
	18	17	35

**Tableau d:** Valeur diagnostique des anticorps  $\alpha\beta$ 2GPI de type IgG pour le syndrome des anti-phospholipides chez 35 patients présentant un lupus ou "lupus like disease" avec "anti-phospholipides conventionnels

## **ANNEXE 6**

## ANTICORPS aβ2GPI et SAPL chez les patients lupiques

Nom auteur	Type d'étude	Patients étudiés	Groupe contrôle	Résultats
MARTINUZZO 1995 [204]	Etude rétrospective 218 patients sélectionnés 169 avec aCl ou ACC : 52 lupus dont 24 SAPS 9 connectivites 49 PAPS 51 autres : valvulopathies, HIV, thrombopénie, AHAI, hépatite, livedo 8 asymptomatiques 49 lupus sans aCl ni ACC	Patients avec manifestations cliniques du SAPL 38 Thromboses 35 Pertes fœtales récurrentes	Patients sélectionnés non symptomatiques du SAPL 49 lupus sans ACC ni aCl	Prévalence aβ2GPI Ig G 32% VPP pour la thrombose ACI : 22% aβ2GPI 30%
BALESTRIERI 1995	Etude rétrospective 178 patients sélectionnés, 84 lupus, 37 PAPS 57 syphilis	Patients avec manifestations cliniques du SAPL 40 Thromboses 24 morts fœtales ou avortements récurrents	57 syphilis: 17 aβ2GPI Patients sélectionnés non symptomatiques du SAPL	aβ2GPI IgG associés aux pertes fœtales (p=0,013) et IgM associés aux thromboses (p=0,046) alors que les aCl ne le sont pas.
FORASTIERO 1997 [106]	Etude rétrospective 349 patients sélectionnés 233 avec aCl ou ACC 77 lupus dont 28 SAPL 92 SAPLP 64 autres : cardiopathie, cancer, prise médicamenteuse, asymptomatiques 75 sans aCC ni aCl ; 25 lupus 25 thromboses 25 ATCD obstétricaux 41 patients infectés avec "anti-phospholipides conventionnels" 30 syphilis 11 HIV	Patients avec manifestations cliniques de l'APS 45 thromboses 44 pathologies obstétricales (plus de 2 avortements spontanés consécutifs précoces ou une mort fœtale)	75 patients sans ACC ni aCl 41 patients infectés ACC ou ACL Patients sélectionnés avec ACC ou aCl non symptomatiques du syndrome des anti-phospholipides.	Association significative aβ2GPI IgG thrombose , OR 3,2
SANMARCO 1997 [273]	Etude rétrospective 179 patients sélectionnés	26 SAPLP 13 SAPLS	22 lupus 2 aβ2GPI 10 syphilis 62HIV : 1 aβ2GPI 46 hépatite C	Valeur diagnostique pour le SAPL des aβ2GPI et aCl IgG Se 54% 98% Spe 98% 54% VPP 87% 35%
GUERIN 1997 [125]	Etude rétrospective 280 patients sélectionnés,	29 APS. selon les critères d'Alarcon-Segovia 17 certains 17 aβ2GPI 6 probables' 2 aβ2GPI 6 possibles 3 aβ2GPI	16 syphilitiques 24 VDRL+ 30 MNI 30 HIV 85 AVC 24 Sténoses carotidiennes 22 facteurs rhumatoïdes 19 lupus	SAPL certain et probable aβ2GPI et aCl IgG Se 83% 100% Spe 96% 50% VPP 68% 16% VPN 90% 100%
AMENGUAL 1996 [24]	Etude rétrospective 120 patients sélectionnés, 81 lupus, 39 SAPL	39 SAPLP 32 SAPLS	49 Iupus sans SAPL dont 12 aCl	Prévalence aβ2GPI IgG = 33% Prévalence aCl = 52% APS aβ2GPI et aCl IgG Se 53% 70% Spe 96% 75%
DETKOVA 2000 [83]	Etude rétrospective 74 patients consécutifs	SAPL selon la classification de HARRIS 27 SAPLP 15 SAPLS	32 lupus sans SAPL 11 aCl 6 aβ2GPI	Prévalence aβ2GPI IgG , 39% Spécificité des aβ2GPI et aCl IgG pour SAPL Spe: 91% 75%

## Anticorps anti- $\beta$ 2GPI et SAPL chez les patients lupiques

CABIEDES 1995 <small>(Cabiedes et al 1995)</small>	Etude rétrospective 94 patients lupiques Groupe 1 : 21 SAPL selon Alarcon-segovia Groupe 2 : 18 patients manifestations cliniques deSAPL sans aPI Groupe 3 : 22 aPI asymptomatiques Groupe 4 : 33 asymptomatiques sans aPI	Groupe 1, 21 SAPL 19 a $\beta$ 2GPI IgG Groupe 2, 18 patients 16 a $\beta$ 2GPI IgG	55 patients lupiques sans SAPL 2 a $\beta$ 2GPI IgG	Association a $\beta$ 2GPI IgG SAPL (p=0<0.0001) Se 90 Spe 96 VPP 90 VPN 96
MATSUDA 1995 <small>(Matsuda et al 1995)</small>	Etude rétrospective 36 patients lupiques	5 selon la classification de HARRIS 2 a $\beta$ 2GPI IgG	31 lupus sans SAPL 16 avec aPI 0 a $\beta$ 2GPI IgG	Pas d'association a $\beta$ 2GPI lupus
AMENGUAL 1996 <small>(Amengual et al 1996)</small>	Etude rétrospective 120 patients sélectionnés, 81 lupus, 39 SAPLP	APS selon classification de HARRIS 39 SAPLP 32 SAPLS	49 lupus sans APS 12 aCI	Prévalences : a $\beta$ 2GPI IgG = 33% aCI = 52%  Spécificité meilleure avec les a $\beta$ 2GPI IgG qu'avec les aCI (khi-deux 6,75 ; p=0.0094) Se 53% 70% Spe 96% 75%
SANFILIPPO 1998 <small>(Sanfilippo et al 1998)</small>	Etude rétrospective 65 patients lupiques(ARA), avec aCI	29 SAPLS selon les critères de HARRIS 18 a $\beta$ 2GPI	36 lupus sans SAPL avec aCI positifs 4 a $\beta$ 2GPI	Association APS et a $\beta$ 2GPI IgG (khi-deux 18,8 ; p=0,0001)
DETKOVA 2000 <small>(Detkova et al 2000)</small>	Etude rétrospective 74 patients consécutifs	SAPL selon la classification de HARRIS 27 SAPLP 15 SAPLS	32 lupus sans SAPL 11 aCI 6 a $\beta$ 2GPI IgG	Prévalence a $\beta$ 2GPI IgG : 39% Spécificité des et a $\beta$ 2GPI IgG et aCI IgG pour SAPL Spe : 91% 75%

API: anticorps anti-phospholipides

aCI: anticorps anticardiolipine

a $\beta$ 2GPI: anticorps anti- a $\beta$ 2GPI IgG

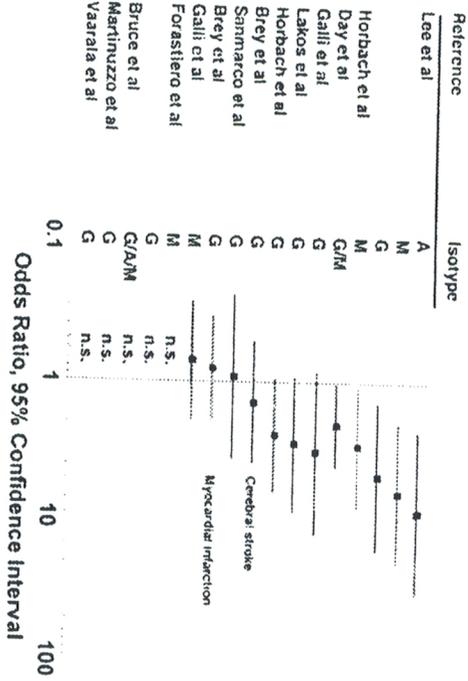
## **ANNEXE 7**

***Antiβ2-glycoprotéine I, et thrombose : principales caractéristiques 32 articles, 5102 patients et 1973 contrôles*** <sup>[117]</sup>

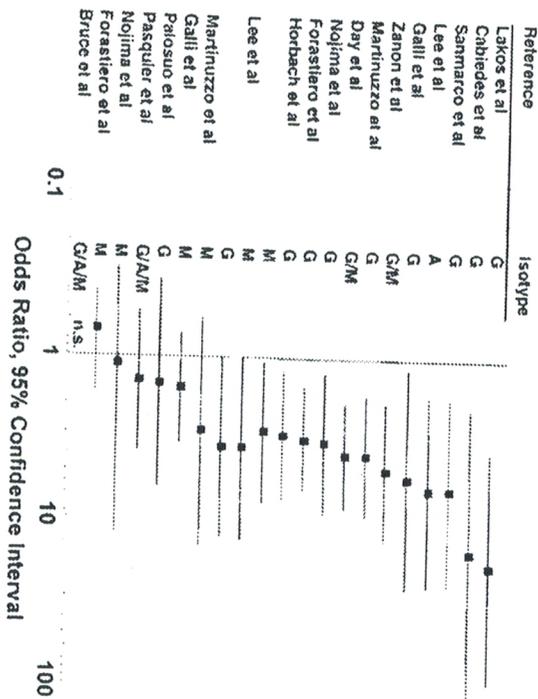
Auteurs et type d'étude	Nombre des patients	Critères de sélection	No. of controls	Anti-β2-glycoprotein I
<b>Transversale</b>				
Pasquier et al	241	Throm. Veineuse profonde	157	G/ A/M
<b>Cas-témoins</b>				
Vaarala et al	106	Infarctus du myocarde	106	G
Palosuo et al	265	Throm. Veineuse profonde	265	G
Previtali et al	79	Thromboses artérielle et veineuse	85	G/M
Brey et al	374/259	Infarctus du myocarde/AVC	1360	G
<b>Rétrospective</b>				
Viard et al	47	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G
Balestrieri et al	121	Syndrome des antiphospholipides	—	G/M
Cabiedes et al	94	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G
Cabral et al	15	Syndrome des antiphospholipides	—	G/M
Martinuzzo et al	169	Anticorps Antiphospholipides	—	G
Amenguai et al	120	Syndrome des antiphospholipides	—	G
Roubey et al	157	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G
Tsutsumi et al	308	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/M
Sanmarco et al	61	Maladies autoimmunes	—	G
Day et al	281	Syndrome des antiphospholipides	—	G/M
Fanopoulos et al	48	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/A/M
Zanon et al	227	Throm. Veineuse profonde	—	G/M
Bruce et al	133	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/A/M
Lee et al	270	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/A/M
Horbach et al	175	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/M
Pengo et al	22	Syndrome des antiphospholipides	—	G
Puurunen et al	139	Syndrome des antiphospholipides	—	G
Forastiero et al	233	Anticorps Antiphospholipides	—	G/M
Swadzba et al	127	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/M
Martinuzzo et al	54	Hypertension pulmonaire	—	G/M
Atsumi et al	265	Maladies auto-immunes	—	G/M
Galli et al	75	Anticorps Antiphospholipides	—	G/M
Lakos et al	70	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G
Nojima et al	124	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/M
Galli et al	59	Anticorps Antiphospholipides	—	G/M
Bertolaccini et al	207	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	G/M
Munoz-Rodriguez et al	177	Syndrome des antiphospholipides	—	G/M
<b>Notre étude</b>	<b>60</b>	<b>Lupus érythémateux systémique</b>	—	<b>G/M</b>

**A : Anti- $\beta$ 2GPI et thromboses artérielles**  
**B : Anti- $\beta$ 2GPI et thromboses veineuses**  
**C : Anti- $\beta$ 2GPI et thromboses vasculaires**

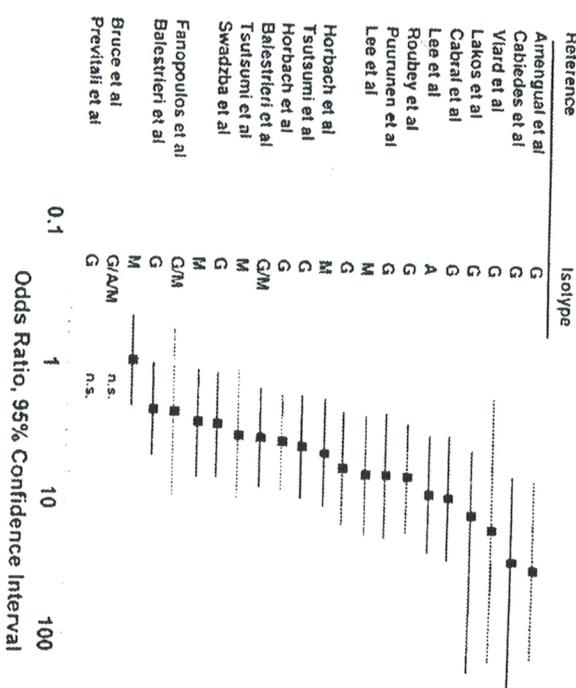
**A**



**B**



**C**



**TAOULI-DIB (KATIA).** Profils biologiques du syndrome des anticorps antiphospholipides au cours du lupus érythémateux systémique dans l'ouest Algérien.

Th.Med. : TLEMEN : 2006

**RESUME :**

Le syndrome des anti-phospholipides se définit par l'association d'au moins une thrombose et/ou d'une pathologie obstétricale, à la présence d'antiphospholipides. Des données récentes suggèrent fortement que des protéines liant les phospholipides représentent les véritables cibles des anticorps antiphospholipides, les mieux caractérisées parmi ces protéines cibles sont la  $\beta$ 2Glycoprotéine I.

**Objectifs :** évaluation de la prévalence du syndrome des antiphospholipides au cours du lupus érythémateux systémique et analyse des profils biologiques des antiphospholipides.

**Type d'étude :** étude transversale d'une population de l'ouest Algérien réalisée, entre septembre 2003 et décembre 2005 au laboratoire d'hémiobiologie du centre hospitalier de Tlemcen.

**Patients et méthodes :** Notre étude a porté sur 60 patients présentant le lupus érythémateux systémique : 51 (85%) femmes, 9 (15%) hommes et 62 donneurs de sang. Les aPA (IgG et IgM), les anticorps anti- $\beta$ 2GPI ont été dosés par ELISA et les lupus anticoagulants par les tests de coagulation selon les critères de L'ISTH, le syndrome des antiphospholipides a été défini par les critères révisés de Wilson.

**Resultats :** La présence des antiphospholipides, persistante à deux occasions espacées de 3 mois était détectée chez 40% des patients lupiques et 3.5% des donneurs de sang. L'analyse de la série montre la présence de LA dans 23 % des cas, des aPA dans 32 % et celle des  $\alpha\beta$ 2GPI dans 38% des cas. Les prévalences des aPA IgG et des anticorps anti- $\beta$ 2GPI comparativement à la population générale (donneurs de sang) sont augmentées chez les malades ayant un lupus érythémateux systémique ( $p < 0.001$ ).

La prévalence du syndrome des antiphospholipides est de 33% (20), notre étude montre la présence de LA dans 60 % des cas, les aPA dans 80 % avec une prédominance des aPA IgG (75%) et les  $\alpha\beta$ 2GPI dans 85%. On trouve chez ces patients fréquemment les  $\alpha\beta$ 2GPI associés aux aPA ( $p < 0.001$ ), la triple positivité (aPA IgG/LA/  $\alpha\beta$ 2GPI) est le profil biologique le plus souvent rencontré (55.5%). Les anticorps anti-  $\alpha\beta$ 2GPI de type IgG ont une bonne spécificité (80%) et une meilleure valeur prédictive positive (95%) que les "antiphospholipides conventionnels" pour le syndrome des antiphospholipides.

Dans l'analyse univariée, nous avons trouvé une association significative entre la présence des thromboses vasculaires et les anticorps antiphospholipides : aPA IgG,  $\alpha\beta$ 2GPI et LA, ( $p < 0.001$ ), aucune association significative n'a été retrouvée avec les aPA IgM ( $p = 0.8$ ). Seuls les lupus anticoagulants sont statistiquement associés aux complications obstétricales (OR 7.6 ;  $p < 0.05$ ) dans cette population. L'analyse multivariée montre que les  $\alpha\beta$ 2GPI sont des facteurs de risque indépendants de thrombose (OD 5.71) et que l'association LA/  $\alpha\beta$ 2GPI IgG/aPA IgG augmentent le risque thrombotique (OD 6.39).

**Conclusion :** Nos résultats sont similaires à ceux de la littérature. Le profil biologique conditionne le risque thrombotique, le caractère potentiellement pathogène des aPL est suspecté sur les éléments suivants ; l'isotype IgG et le titre élevé des aPA, leur association à la présence de LA et des  $\alpha\beta$ 2GPI. Ces derniers semblent être un bon marqueur biologique spécifique.

Des études prospectives multicentriques sont nécessaires pour déterminer les valeurs seuils discriminantes de ces anticorps et leur valeur pronostique pour les manifestations cliniques du SAPL et la récurrence thrombotique.

**MOTS CLES :** Anti-phospholipides-Anticorps anti- $\beta$ 2Glycoprotéine I- Thrombose  
Lupus anticoagulants -Syndrome des antiphospholipides- Lupus érythémateux systémique

**DATE DE SOUTENANCE :** 20 septembre 2006

**ADRESSE DE L'AUTEUR :** Laboratoire hémiobiologie CHU T.Damerdji Tlemcen  
ktaouli@hotmail.com