

Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : actualités

Antiphospholipid syndrome diagnosis: an update

Benoit Visseaux

Julien Masliah-Planchon

Anne-Marie Fischer

Luc Darnige

Service d'hématologie biologique,
Hôpital Européen Georges Pompidou,
AP-HP, Paris
< luc.darnige@egp.aphp.fr >

Résumé. Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) constitue une entité clinicobiologique caractérisée par des manifestations cliniques dominées par la survenue d'évènements thrombotiques veineux et/ou artériels et de complications obstétricales associées à la présence persistante d'autoanticorps de type antiphospholipide (aPL). Les aPL constituent une famille très hétérogène d'autoanticorps mis en évidence soit par des tests de coagulation pour les anticoagulants circulants de type lupique, ou lupus anticoagulant (LA), soit par des tests Elisa pour les anticorps anticardiolipine (aCL) et les anticorps anti-bêta-2-glycoprotéine I (anti-β2GPI). La dernière réactualisation des critères biologiques, datant de 2006, a introduit les anti-β2GPI comme critère biologique du SAPL à part entière et a insisté sur l'importance de la persistance des aPL au moins 12 semaines pour confirmer le diagnostic de SAPL. Pourtant, malgré l'actualisation régulière de ces critères diagnostiques, la mise en évidence d'un SAPL s'avère souvent délicate et cette mise au point propose d'aborder les dernières évolutions dans le diagnostic du SAPL.

Mots clés : *syndrome des antiphospholipides, lupus anticoagulant, anticorps anticardiolipine, anticorps anti-β2GPI, thromboses*

Abstract. The antiphospholipid syndrome (APS) is characterized by arterial and/or venous thrombosis and pregnancy morbidity in association with the persistent presence of autoantibodies called antiphospholipid antibodies (APAs). APAs are a heterogeneous group of circulating autoantibodies that can be detected either by phospholipid-dependent coagulation test for lupus anticoagulant (LA) or ELISA test for anticardiolipin and anti-β2GPI antibodies. In 2006, the revised criteria for the diagnosis of APS introduce the anti-β2GPI antibodies as a new biological criterion and highlight the necessity to increase the interval between two positive APA test from 6 to 12 weeks. However, despite these updated criteria, the diagnosis of APS remains challenging and we proposed here to make an overview of the latest evolution in the diagnosis of this syndrome.

Key words: *antiphospholipid syndrome, lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies, anti-β2GPI antibodies, thrombosis*

Article reçu le 10 janvier 2011,
accepté le 10 mars 2011

La présence d'un anticorps antiphospholipide (aPL) circulant est depuis longtemps connue comme pouvant induire des sérologies syphilitiques dissociées (VDRL+, TPHA-), des allongements isolés des tests de coagulation phospholipides dépendants et des manifestations cliniques telles

que des thromboses ou des complications obstétricales. Mais c'est en 1987 que la première définition formelle du syndrome des antiphospholipides (SAPL) comme entité clinicobiologique a été établie [1]. Depuis, l'ensemble des critères diagnostiques a été affiné en 1998 par les critères dits de Sapporo [2] puis réactualisé lors de la conférence de Sydney dont les recommandations ont été publiées en 2006 [3]. Plus récemment, les recommandations de la Société internationale d'hémostase et thrombose (ISTH) pour la

Tirés à part : L. Darnige

détection du lupus anticoagulant (LA) qui dataient de 1995 ont été également réactualisées [4]. La stratégie diagnostique actuelle pour affirmer la présence d'un SAPL repose sur la mise en évidence d'au moins un des critères cliniques caractéristiques du SAPL associé à au moins un critère biologique (*tableau 1*).

Critères cliniques du SAPL

Les aPL ne sont pas spécifiques du SAPL et peuvent être rencontrés au décours d'infections diverses (notamment l'infection par le VIH, les hépatites virales ou la syphilis), de certains traitements médicamenteux (chlorpromazine, quinidiniques, bêtabloquants et interféron principalement), de certaines néoplasies (hémopathies malignes et tumeurs solides) et même chez des individus sains. Ces aPL, non associés au SAPL, sont presque toujours transitoires et ne prédisposent pas à un risque thrombotique. Il faut toutefois noter que les aPL induits par un traitement médicamenteux disparaissent plutôt 6 à 12 mois après l'arrêt du médicament en cause et dans seulement la moitié des cas [5].

Thromboses vasculaires

La survenue de thrombose domine la symptomatologie associée au SAPL et en fait sa gravité. La thrombose veineuse profonde est la manifestation thrombotique la plus souvent rapportée [6], mais les événements thrombotiques peuvent survenir dans les vaisseaux de tous types, de tous calibres et de toutes localisations. La présence d'au moins un épisode clinique de thrombose artérielle,

veineuse ou de petits vaisseaux quel que soit le tissu ou l'organe, à l'exclusion des thromboses veineuses superficielles, est ainsi retenu comme un critère clinique du SAPL. La thrombose doit être confirmée par des critères objectifs validés : aspect sans équivoque à l'imagerie ou à l'examen histopathologique qui ne doit pas montrer de signes de vascularite.

Complications obstétricales

Trois grands types de complications obstétricales sont retenus comme critères cliniques du SAPL :

- au moins une mort fœtale inexplicée survenue au-delà de la 10^e semaine de gestation et sur un fœtus morphologiquement normal à l'échographie ou à l'examen anatomo-pathologique. Ce critère semble être le critère obstétrical le plus spécifique du SAPL ;
- au moins une naissance prématurée d'un nouveau-né morphologiquement normal né avant la 34^e semaine de gestation en raison d'une éclampsie, d'une pré-éclampsie sévère ou d'une insuffisance placentaire. Ce critère est plus complexe à apprécier à cause du manque de définition bien établie de l'insuffisance placentaire et de l'absence de lésion histologique pour la caractériser. Il faut donc prendre en compte plusieurs critères pour évoquer l'insuffisance placentaire comme des anomalies des tests de surveillance fœtale, une anomalie du doppler de l'artère utérine (aspect de « notch »), un oligohydramnios ou un poids de naissance < 10^e percentile ;
- au moins 3 fausses couches spontanées consécutives survenues avant la 10^e semaine de gestation, sans cause maternelle anatomique ou hormonale et sans anomalie caryotypique parentale. Ce troisième critère clinique est le

Tableau 1. Critères diagnostiques actuels du SAPL. Le diagnostic est retenu si au moins un critère clinique et un critère biologique sont présents.

Critères cliniques 1- <i>Thromboses vasculaires</i> Au moins un épisode clinique de thrombose artérielle, veineuse ou de petits vaisseaux quel que soit le tissu ou l'organe. 2- <i>Complications obstétricales</i> Au moins une mort fœtale inexplicée survenue au-delà de la 10 ^e semaine de gestation. Au moins une naissance prématurée avant la 34 ^e semaine de gestation en raison d'une éclampsie, d'une pré-éclampsie sévère ou d'une insuffisance placentaire. Au moins 3 fausses couches spontanées consécutives survenues avant la 10 ^e semaine de gestation.
Critères biologiques 1- <i>LA</i> Présence dans le plasma d'un LA détecté sur 2 prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle, selon les recommandations de l'ISTH [4]. 2- <i>aCL</i> Présence dans le sérum ou le plasma d'un aCL d'isotype IgG et/ou IgM, à des taux moyens à élevés (> 40 GPL ou MPL, ou > 99 ^e percentile) et détectés sur 2 prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle par un test Elisa standardisé selon les recommandations européennes [14]. 3- <i>anti-β2GPI</i> Présence dans le sérum ou le plasma d'un anti-β2GPI d'isotype IgG et/ou IgM, à des taux > 99 ^e percentile et détectés sur 2 prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle par un test Elisa standardisé selon les recommandations européennes [14].

plus sensible mais le moins spécifique du SAPL à cause de la très grande fréquence des fausses couches précoces chez des femmes indemnes de tout SAPL.

Autres manifestations cliniques associées au SAPL

Le SAPL peut également se présenter sous un grand nombre de formes différentes. Les manifestations cliniques dites associées au SAPL doivent être distinguées des véritables critères cliniques du SAPL. Elles sont donc trop peu spécifiques pour être retenues seules comme critère diagnostique mais doivent cependant être connues du clinicien car elles peuvent amener à suspecter ou à conforter le diagnostic de SAPL. Ces manifestations incluent des valvulopathies cardiaques (végétations et épaississement, insuffisances valvulaires), le livedo reticularis, des néphropathies (atteinte de la microcirculation rénale, ischémie chronique) ou des manifestations neurologiques diverses (migraine, chorée, convulsions, démence par exemple).

Les études validant les critères cliniques du SAPL sont peu nombreuses. Néanmoins, la sensibilité et la spécificité apparaissent satisfaisantes pour les populations où la prévalence du SAPL est élevée comme les patients avec un lupus érythémateux systémique (LES) ou une autre maladie auto-immune apparentée. À l'inverse, pour certaines populations à risque de développer des événements thrombotiques, comme les patients âgés ou hospitalisés, la présence des critères diagnostiques manque de sensibilité et de spécificité. Ainsi, 2 sous-groupes de patients doivent être distingués en fonction de la présence (type a) ou non (type b) de facteurs de risque additionnel de thrombose : l'âge (> 55 ans pour l'homme, > 65 ans pour la femme), des facteurs de risque cardiovasculaire (hypertension artérielle, diabète, cholestérol-LDL élevé, histoire familiale de maladie cardiovasculaire prématurée, IMC ≥ 30 kg/m², microalbuminurie, débit de filtration glomérulaire < 60 mL/min), une thrombophilie constitutionnelle (comme le facteur V Leiden ou la mutation G20210A de la prothrombine), une contraception orale, un syndrome néphrotique, une néoplasie, une immobilisation ou une chirurgie récente. La coexistence de ces facteurs de risques constitutionnels ou acquis ne justifie pas d'exclure le diagnostic de SAPL. Cependant, une attention toute particulière doit être portée à ces patients pour lesquels le diagnostic de SAPL s'avère encore plus délicat. En outre, l'ancienne distinction entre SAPL primaire et secondaire (à un LES ou à une autre maladie auto-immune) ne semble plus être pertinente en pratique courante. Néanmoins, l'association entre SAPL et LES est fréquente [7] et il est toujours nécessaire d'éliminer un LES chez tout patient présentant un SAPL et, inversement, de rechercher un SAPL chez les patients atteints de LES.

Critères biologiques du SAPL

La présence d'un LA et d'anticorps anticardiolipine (aCL) sont les deux critères biologiques les plus anciens introduits dans la définition du SAPL. Lors de la révision des critères biologiques publiée en 2006, les principaux points à noter sont l'introduction des anticorps anti- β 2GPI comme critère biologique plus spécifique du SAPL que les aCL, l'introduction d'un seuil de positivité fixé > 99^e percentile, ainsi que la nécessité d'attester la persistance des aPL pendant au moins 12 semaines. En effet, ce nouveau seuil de 12 semaines permet d'avoir une meilleure spécificité vis-à-vis du SAPL que l'ancien seuil de 6 semaines. Il n'est effectivement pas rare, d'après notre expérience, d'observer la persistance d'aPL jusqu'à 10 semaines au décours d'une infection. Dans la révision des critères, il est également précisé qu'il ne doit pas s'écouler plus de 5 ans entre la détection d'un aPL et la survenue d'événements cliniques pour considérer un SAPL. L'ensemble des critères biologiques est énoncé dans le *tableau 1* et le diagnostic de SAPL sera posé si au moins un critère biologique coexiste avec au moins un critère clinique. Du fait du manque de spécificité des critères biologiques, ils doivent être réservés aux patients chez qui le diagnostic de SAPL est évoqué cliniquement, ou à l'initiative du biologiste lors de l'exploration d'un allongement du TCA. Les experts recommandent de classer les patients en fonction du type et du nombre de critères biologiques présents. On distingue ainsi les aPL de type I lorsqu'au moins 2 critères biologiques sont présents et de type II lorsqu'un seul critère biologique est retrouvé de façon isolée. Au sein du type II, on distingue le type IIa, lorsque seul un LA est retrouvé, du type IIb lorsque seul un aCL est retrouvé et du type IIc lorsque seul un anti- β 2GPI est retrouvé (*tableau 2*). L'intérêt de cette classification repose sur la notion déjà bien établie que le risque de thrombose et de complications obstétricales dépend du type d'aPL mise en évidence et sera d'autant plus élevé s'il y a plus d'un critère biologique positif. Ainsi, les anticorps les plus pathogènes reconnaissent le domaine 1 de la β 2GPI et induisent une dimérisation de la protéine responsable de son activité LA *in vitro*. Ces anticorps sont détectés par les 3 tests biologiques (LA, aCL et anti- β 2GPI) et il n'est donc pas étonnant qu'une triple positivité soit associée à un très fort risque relatif de thromboses [8, 9] et de complications obstétricales [10].

Tableau 2. Classification des patients selon le type et le nombre d'aPL présents.

Type I : présence d'au moins deux critères biologiques
Type II : présence d'un seul critère biologique
Type IIa : présence d'un LA isolé
Type IIb : présence d'un aCL isolé
Type IIc : présence d'un anti- β 2GPI isolé

Le lupus anticoagulant (LA)

Le terme LA est porteur de plusieurs confusions. D'une part, il est appelé « lupus » en référence à son association fréquente avec le LES alors que cette association est inconstante et non spécifique. D'autre part, le qualificatif d'« anticoagulant » se rapporte à l'allongement des tests de coagulation qu'il provoque, alors qu'*in vivo*, il est paradoxalement responsable de phénomènes thrombotiques. L'activité LA est supportée par une famille d'anticorps très hétérogènes incluant des anticorps dirigés contre le β 2GPI, contre la prothrombine ou contre divers phospholipides. Devant cette grande hétérogénéité et les problèmes de standardisation qui en découlent, les recommandations pour la recherche de LA publiées en 1995 par l'ISTH ont été

récemment réactualisées [4]. Selon ces recommandations, et toujours dans un souci d'améliorer la standardisation, des contraintes pré-analytiques doivent être mises en œuvre avant la recherche du LA proprement dite qui doit se dérouler en 4 étapes successives (figure 1) :

- dépistage : allongement de tests de coagulation dépendant des phospholipides ;
- mise en évidence d'une activité inhibitrice : absence de correction des tests de dépistage qui permet d'affirmer la présence d'un inhibiteur de la coagulation ;
- confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur : correction de l'allongement du test de dépistage en présence d'un excès de phospholipides saturant l'aPL présent ;

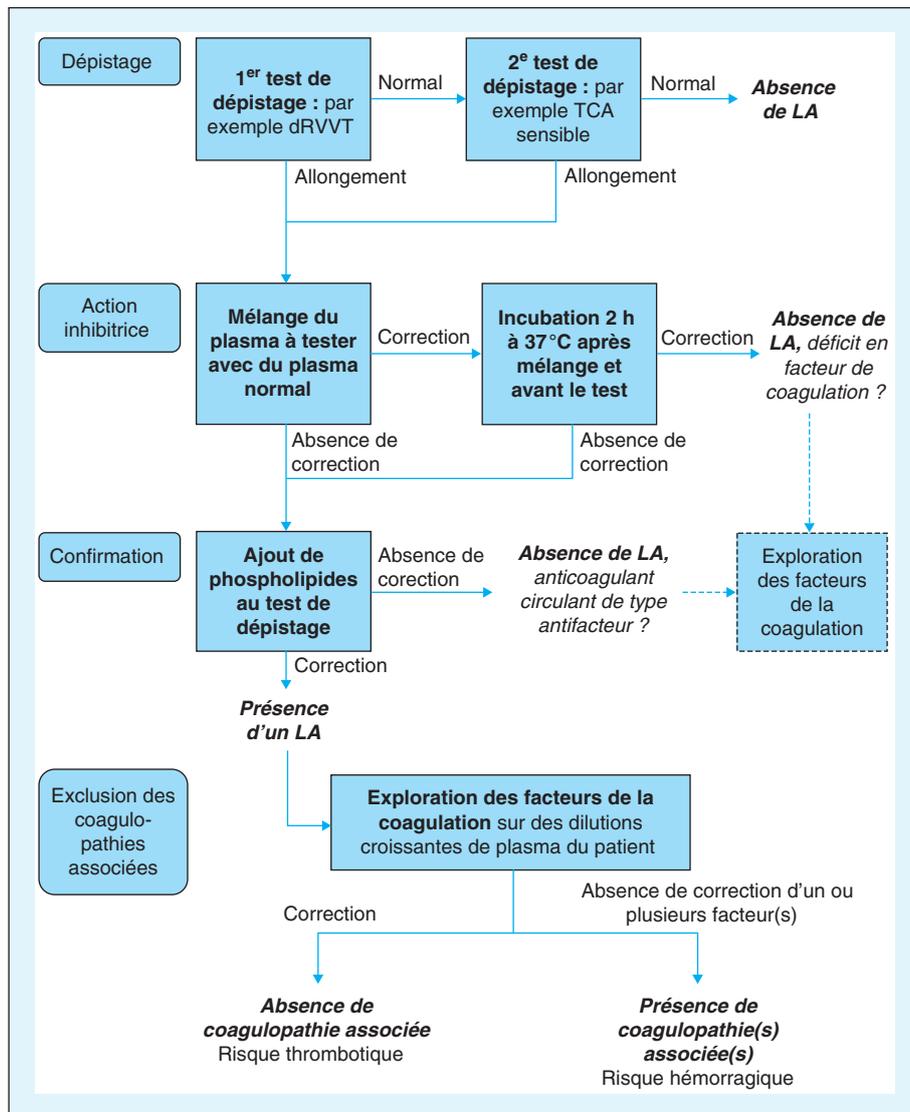


Figure 1. Algorithme décisionnel pour mettre en évidence un lupus anticoagulant.

– exclusion d'une anomalie associée : absence d'un déficit ou d'un inhibiteur spécifique d'un facteur de la coagulation masqué initialement par la présence de l'aPL.

Contraintes pré-analytiques

La qualité du prélèvement et des étapes pré-analytiques est déterminante. Le patient doit idéalement être prélevé avant toute mise sous anticoagulant. Certains anticoagulants, comme les antivitamines K (AVK) et les héparines, peuvent en effet interférer avec les différents tests. L'influence des nouveaux anticoagulants oraux, inhibiteurs directs du facteur Xa (rivaroxaban ou Xarelto®) ou de la thrombine (dabigatran ou Pradaxa®), n'est pas connue mais très probable compte tenu de leur retentissement sur les tests de routine de la coagulation [11]. Si le patient est sous AVK, le prélèvement doit être effectué une à deux semaines après leur arrêt ou dès que l'INR est inférieur à 1,5. Pendant la période d'interruption des AVK il est recommandé d'utiliser une héparine de bas poids moléculaire (HBPM) et d'effectuer le prélèvement au moins 12 heures après la dernière injection. Si l'arrêt des AVK n'est pas possible et que l'INR est compris entre 1,5 et 3,0 une dilution à parts égales du plasma du patient avec un pool de plasma normal peut être pratiquée. Le patient doit également être prélevé à distance d'un événement thrombotique afin d'éviter les interférences avec le traitement et avec le facteur VIII qui est parfois augmenté dans ces situations comme c'est également le cas pendant la grossesse. Le sang veineux doit être prélevé sur citrate de sodium 9:1. Il faut s'assurer d'avoir éliminé le maximum de plaquettes résiduelles possible du plasma ($< 10^7$ /mL) qui pourraient apporter des phospholipides et réduire considérablement la sensibilité des tests. Pour cela, il est donc conseillé de procéder à une double centrifugation : une première centrifugation de 15 minutes à 2 000 g et à 18 °C suivi d'une décantation en tube plastique et d'une seconde centrifugation à plus de 2 500 g et à 18 °C pendant 10 minutes. Si l'analyse n'est pas réalisée immédiatement, le plasma doit être congelé à une température inférieure ou égale à -70 °C. Avant l'analyse, le plasma sera décongelé au bain-marie, 5 minutes à 37 °C.

Choix des tests de dépistage

Aucun test n'est en mesure de détecter la totalité des LA. Il est donc indispensable de réaliser en parallèle deux tests de dépistage sensibles et explorant des segments différents de la cascade de la coagulation. Le dépistage du LA sera considéré comme positif si au moins un des deux tests est allongé. La réalisation de plus de deux tests est à proscrire car cela augmente sensiblement le nombre de faux positifs. Les deux tests actuellement recommandés sont le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) et un temps de céphaline avec activateur (TCA) utilisant un réactif sensible au LA.

Le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT)

Le venin de vipère à l'origine de ce test active le facteur X en présence de phospholipides. Il est insensible aux déficits en facteurs VIII et IX ou à la présence d'inhibiteurs de ces mêmes facteurs de la coagulation. Ce test est donc plus spécifique du LA que le TCA et de nombreux tests commerciaux contiennent un agent neutralisant l'héparine jusqu'à 1 UI/mL.

Le temps de céphaline avec activateur (TCA)

La sensibilité de ce test varie considérablement en fonction des réactifs employés. D'un fabricant à l'autre la composition et la teneur en phospholipides ainsi que le type d'activateur de la coagulation employé (silice, acide ellagique et kaolin par exemple) varient et influent sur la sensibilité du test. Les TCA les plus sensibles ont une faible concentration en phospholipides et utilisent la silice comme activateur.

Les autres tests de dépistage

Il existe plusieurs autres tests de dépistage des LA, mais leur utilisation n'est plus recommandée dans cette indication. Le *kaolin clotting time* ou KCT (à ne pas confondre avec le temps de céphaline kaolin ou TCK très peu sensible aux LA) apparaît sensible mais peu reproductible. Le temps de thromboplastine dilué ou TTD manque de spécificité. Les tests utilisant des venins comme l'écarine et la textarine, activateurs de la thrombine, n'ont pas été commercialisés en raison de difficultés de production industrielle.

Selon les dernières recommandations, il convient d'utiliser comme seuil de positivité de l'allongement des tests de dépistage le 99^e percentile établi pour chaque laboratoire et chaque réactif. Ces seuils de positivité, exprimés en ratio patient sur témoin, se situent généralement autour de 1,2. Lambert *et al.* ont montré que plus le ratio était élevé pour le dRVVT meilleure était la spécificité vis-à-vis du SAPL avec une valeur seuil de 1,61 établie par courbe ROC [12].

Mise en évidence d'une activité inhibitrice

Devant l'allongement d'au moins un des deux tests de dépistage, la présence d'une activité inhibitrice doit être recherchée par une épreuve de correction. Le plasma à tester est mélangé à un pool de plasmas normaux strictement déplaquetés par la même procédure que le plasma à tester. Des plasmas lyophilisés disponibles dans le commerce peuvent être utilisés sous réserve qu'ils aient été validés et certifiés pour la recherche de LA. Une absence de correction des tests de dépistage après le mélange signe la présence d'un inhibiteur, également appelé anticoagulant circulant, qui peut être un aPL ou un inhibiteur dirigé contre un facteur de la coagulation. Il est actuellement conseillé de réaliser

le test dans les 30 minutes suivant le mélange. Cependant, certains LA (environ 10 %) présentent une activité inhibitrice progressive et ne pourront être mis en évidence qu'après une incubation du mélange 2 heures à 37 °C. On peut interpréter le résultat du mélange par comparaison au 99^e percentile déterminé localement ou par le calcul de l'indice de Rosner selon la formule : $100 \times \frac{[TCA \text{ mélange} - TCA \text{ témoin}]}{TCA \text{ patient}}$. Une valeur de l'indice de Rosner supérieure ou égale à 15 signe habituellement la présence d'un anticoagulant circulant. En absence de correction, il est recommandé de procéder à un temps de thrombine pour détecter une éventuelle présence d'héparine. Le dRVVT s'inscrit habituellement dans un test intégré où le plasma est testé en parallèle sur deux réactifs, l'un contenant très peu (test de dépistage) et l'autre beaucoup (test de confirmation) de phospholipides. L'étape du mélange n'est alors plus indispensable et est donc peu réalisée en pratique.

Confirmation de la dépendance en antiphospholipides

Pour distinguer les LA des inhibiteurs dirigés contre un facteur de la coagulation, il faut refaire le ou les tests de dépistage allongés en présence d'un excès de phospholipides. Si l'inhibiteur présent est bien un LA, on observe une correction au moins partielle de l'allongement du test. Les phospholipides apportés doivent être en bicouches ou en phase hexagonale et l'utilisation d'extraits plaquettaires comme source de phospholipide est à proscrire car peu reproductible. Le résultat est exprimé en pourcentage de correction : $[(\text{dépistage} - \text{confirmation}) / \text{dépistage}] \times 100$ ou, plus simplement, en ratio (dépistage/confirmation). Dans tous les cas la valeur limite du test doit être déterminée localement par le calcul du 99^e percentile.

Exclusion d'une coagulopathie associée

Une fois la présence d'un LA affirmée, il est nécessaire d'éliminer une autre cause d'allongement des tests de dépistage possiblement présente et masquée par le LA. Devant un allongement très marqué du TCA ou du dRVVT il est donc nécessaire d'explorer respectivement les facteurs de la voie endogène (VIII, IX, XI et XII) ou les facteurs du complexe prothrombinique (II, V, VII et X). La présence d'un LA peut interférer avec les dosages chronométriques des facteurs explorés par le TCA entraînant un déficit apparent en un seul ou, plus fréquemment, en plusieurs facteurs. Ceci doit conduire à la réalisation de dosages des facteurs du TCA sur des dilutions croissantes du plasma testé en appliquant au résultat le facteur de correction lié à la dilution. Si l'abaissement du taux des facteurs est induit par le LA on observe alors une normalisation du taux des facteurs au fur et à mesure des dilutions. En cas de doute, notamment et surtout pour le dosage du facteur VIII pour lequel

cette méthode de dilution ne suffit pas toujours, le recours à des méthodes de dosage chromogéniques non influencées par le LA doit être envisagé [13].

Les aPL détectés par des tests Elisa

Le terme d'aPL a été initialement donné pour décrire la capacité de cette famille d'anticorps à reconnaître des antigènes phospholipidiques. En réalité plusieurs d'entre eux reconnaissent non pas des phospholipides mais des complexes phospholipides-cofacteurs protéiques voire même les cofacteurs protéiques seuls. Cette diversité, conjointement à la variabilité des réactifs utilisés, explique que les tests Elisa actuellement utilisés présentent de grandes difficultés de standardisation. Les 2 catégories d'aPL à rechercher par des tests immunologiques, car le plus souvent responsables de SAPL et faisant partie des critères biologiques, sont les aCL et les anti- β 2GPI. Les critères biologiques pour ces derniers anticorps incluent seulement les isotypes IgG et/ou IgM. Un titre élevé et l'isotype IgG (observé isolé ou associé à l'isotype IgM chez environ 90 % des patients avec SAPL) pour ces deux anticorps sont corrélés au risque thrombotique, mais la présence isolée d'anticorps d'isotype IgM peut s'observer dans les formes purement obstétricales du SAPL [14]. La présence d'aCL ou d'anti- β 2GPI d'isotype IgA s'observe plus fréquemment chez les patients lupiques de race noire et est rarement détectée en l'absence d'aCL ou d'anti- β 2GPI d'isotype IgG et/ou IgM chez les patients avec SAPL et n'a donc pas été retenue comme critère biologique du SAPL [3].

Les anticorps anticardiolipine (aCL)

Le terme français pour désigner ces anticorps est anticardiolipides, cependant il a été progressivement abandonné au profit du terme « français » d'anticardiolipine. La cardiolipine est un phospholipide anionique présent à la surface de la membrane interne des mitochondries, mais absent des membranes cellulaires et à l'état de traces au niveau plasmatique. Il existe de nombreuses trousse sur le marché et elles présentent de nombreuses discordances faute de standardisation efficace. Ces différences s'expliquent par les méthodes employées dans la préparation des mélanges antigéniques cardiolipine/cofacteurs protéiques, par l'emploi ou non de plaques irradiées (pour améliorer la fixation des antigènes) et par l'adjonction éventuelle de β 2GPI.

Les anticorps anti- β 2GPI

La β 2GPI est une protéine circulante, synthétisée par le foie et formée d'une unique chaîne polypeptidique de 326 acides aminés. L'antigène utilisé dans les Elisa est de la β 2GPI humaine purifiée. Il existe de nombreuses trousse différentes commercialisées avec, encore une fois, une grande variabilité des kits disponibles qu'ils soient commerciaux

ou « faits maison ». Cette variabilité est en grande partie expliquée par les différences de techniques de purification de la β 2GPI. Les anti- β 2GPI, contrairement aux aCL, présentent l'avantage d'être très rarement positifs en cas d'infection ce qui leur confère une meilleure spécificité vis-à-vis du SAPL.

Pour diminuer la variabilité inter-laboratoire des différents tests Elisa, les experts européens recommandent d'analyser chaque échantillon en double, de déterminer le seuil de positivité pour chaque laboratoire égal au 99^e percentile à partir d'au moins 50 échantillons normaux et d'inclure à chaque série un contrôle externe reproductible [15].

Autres anticorps apparentés

En marge des aCL et des anti- β 2GPI qui représentent les véritables critères diagnostiques du SAPL, plusieurs autres aPL ont également été décrits. Cependant, leur importance éventuelle en clinique est encore mal établie et leurs modalités pratiques de recherche peu standardisées. Ils ne sont donc pas recherchés en routine à l'heure actuelle.

Les antiphosphatidyléthanolamines (aPE), notamment, ont été détectés de manière isolée chez certains patients présentant des accidents thrombotiques ou des pertes fœtales à répétition [16].

Certains anticorps anti-prothrombine peuvent induire une augmentation de la clairance de la prothrombine et être ainsi responsables des rares cas (moins de 10 %) de LA associés à des hypoprothrombinémies. Ces anticorps font partie des aPL en raison de l'affinité de la prothrombine pour les phospholipides, ils peuvent être détectés par méthode Elisa [17], mais leur présence n'est pas corrélée au risque thrombotique.

D'autres anticorps, comme les anti-annexine V, les anti-protéine C ou bien encore les anti-protéine S, ont aussi été étudiés dans le contexte du SAPL mais avec trop peu d'études et des résultats parfois contradictoires.

Autres manifestations biologiques associées au SAPL

Une thrombopénie persistante de mécanisme auto-immun est retrouvée chez environ 30 % des patients. Elle est habituellement modérée et ne doit pas contre-indiquer l'utilisation des anticoagulants. Une anémie hémolytique, une neutropénie ou une lymphopénie peuvent également compléter le tableau clinicobiologique du SAPL [6]. Enfin, les auto-anticorps anti-mitochondries de type 5 sont rares mais très fortement associés aux SAPL [18].

Conclusion

Le SAPL doit être évoqué devant tout épisode de thromboses ou de complications obstétricales évocatrices, surtout

chez un sujet jeune. La recherche de LA, d'aCL et d'anti- β 2GPI est alors indispensable pour poser le diagnostic. La mise en évidence d'un aPL par ces tests biologiques devra, ensuite, impérativement être contrôlée sur un nouveau prélèvement séparé d'au moins 12 semaines. Les données récentes suggèrent que le SAPL serait la thrombophilie induisant le plus haut risque de récurrence thrombotique. Il est donc capital de pouvoir identifier correctement les patients porteurs d'un SAPL, car la mise en place du traitement anticoagulant permet de diminuer très nettement le risque de récurrence de thromboses ou de perte fœtale. A contrario, il est également important d'éviter les diagnostics par excès, liés principalement aux aPL non spécifiques, car la prise en charge thérapeutique repose actuellement sur la prescription au long cours d'AVK et s'accompagne d'un risque hémorragique à ne pas négliger. L'arrivée des nouveaux anticoagulants oraux (Xarelto[®] et Pradaxa[®]), même s'ils n'ont pas encore l'AMM dans cette indication, pourrait apporter un meilleur confort d'utilisation et améliorer la prévention de récurrence de thrombose chez les patients atteints de SAPL. Cependant, le principal enjeu actuellement pour améliorer la prise en charge, reste de mieux caractériser les différentes populations de patients et d'évaluer leur risque de récurrence thrombotique avec des marqueurs biologiques les plus spécifiques possible.

Conflits d'intérêts : aucun.

Luc Darnige a été invité comme conférencier par Diagnostic Stago à un meeting utilisateurs à Rabat, Maroc, le 16 juin 2011.

Références

- Harris E, Baguley E, Asherson R, Hughes G. Clinical and serological features of the "antiphospholipid syndrome". *Brit J Rheumatol* 1987 ; 26 : 19.
- Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, *et al.* International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome : report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999 ; 42 : 1309-11.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey R, Cervera R, *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006 ; 4 : 295-306.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, *et al.* Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibody of the scientific and standardisation committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2009 ; 7 : 1737-40.
- Darnige L. Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Rev Med Interne* 2006 ; 27 : 296-301.
- Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, *et al.* Antiphospholipid syndrome : clinical and immunologic

manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002 ; 46 : 1019-27.

7. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, *et al.* Systemic lupus erythematosus : clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine* 1993 ; 72 : 113-24.

8. Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Illiceto S. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 2005 ; 93 : 1147-52.

9. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gresele P, Barcellona D, Erba N, *et al.* Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2010 ; 8 : 237-42.

10. Ruffatti A, Tonello M, Cavazzana A, Bagatella P, Pengo V. Laboratory classification categories and pregnancy outcome in patients with primary antiphospholipid syndrome prescribed antithrombotic therapy. *Thromb Res* 2009 ; 123 : 482-7.

11. Lindahl TL, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, Gustafsson KM, Stigendal L, Sten-Linder M, *et al.* Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays. *Thromb Haemost* 2010 ; 105 : 371-8.

12. Lambert M, Ferrard-Sasson G, Dubucquoi S, Hachulla E, Prin L, Hatron P, *et al.* Diluted Russell viper-venom time improves identification of antiphospholipid syndrome in a lupus anticoagulant-positive patient population. *Thromb Haemost* 2009 ; 101 : 577-81.

13. de Maistre E, Wahl D, Perret-Guillaume C, Regnault V, Clarac S, Briquel ME, *et al.* A chromogenic assay allows reliable measurement of factor VIII levels in the presence of strong lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1998 ; 79 : 237-8.

14. Boffa MC, Boinot C, De Carolis S, Rovere-Querini P, Arousseau MH, Allegri F, *et al.* Laboratory criteria of the obstetrical antiphospholipid syndrome. Data from a multicentric prospective European women cohort. *Thromb Haemost* 2009 ; 102 : 25-8.

15. Tincani A, Allegri F, Balestrieri G, Reber G, Sanmarco M, Meroni P, *et al.* Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Res* 2004 ; 114 : 553-8.

16. Sanmarco M, Gayet S, Alessi M, Audrain M, de Maistre E, Gris JC, *et al.* Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. A multicenter study with the participation of the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 2007 ; 97 : 949-54.

17. Arvieux J, Darnige L, Caron C, Reber G, Bensa JC, Colomb MG. Development of an ELISA for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1995 ; 74 : 1120-5.

18. La Rosa L, Covini G, Galperin C, Catelli L, Del Papa N, Reina G, *et al.* Anti-mitochondrial M5 type antibody represents one of the serological markers for anti-phospholipid syndrome distinct from anti-cardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies. *Clin Exp Immunol* 1998 ; 112 : 144-51.