

République Algérienne Démocratique et Populaire.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB -BLIDA 1-



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

Influences des anticorps aPL incriminés dans le SAPL sur la mesure de l'INR.

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en pharmacie

Session : Septembre 2018

Présentée par :

-Bouderadji Zahia

-Kalem Samiha

Devant le jury :

- Présidente : Dr ZEDAM M.assistante en épidémiologie, CHU BLIDA.

- Examineur: Dr ZELTNI .M.L M.assistant en immunologie ,CHU BLIDA.

-Examinatrice: : Dr. AMMOUR .N ,M. assistante en hématologie, CHU BLIDA.

-Promotrice :Dr HAMMEL .H , M. assistante en hématologie, CHU BLIDA.

*DEDICACES**

A ma très chère mère

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur ,Tu es un monde qui m'embrasse

À l'esprit de mon père

Votre absence a toujours été douloureuse, Paix à ton âme jusqu'au jour du jugement

J'ai toujours besoin de toi Au présent absent bien-aimé Cher ' DJamale'

À mon cher frère Mohammed et mes adorées sœurs Dalila ,karima , Zoulikha, Fatima, Samah , Tout amour et gratitude

A mes grandes _parents, que m'a donné l' amour qui m'a toujours aidé et m' encourage

À l'enseignant primaire de six ans plein "Mazuzi Yassin" beaucoup des principes que j'ai appris de vous ;Je suis vraiment fier de ce que j'ai appris de toi

À mon oncle et à sa famille

À ma tante Salihah et Fatihah et leurs familles Sur ce que tu m'as donné de l'amour et du soin

Merci à Dieu premier et dernier

Moi, ô Dieu, je suis reconnaissant pour ce que tu m'as donné

Je t'ai trouvé quand tout le monde a abandonné

Merci pour l'amour de la sécurité pour la paix

Merci pour tout

À Mes aimer tout en son nom et son sanctuaire, Je vous aime tous

ZAHIA

Dédicaces

A ma mère : Qui ma donne la vie, l'amour, la tendresse et tout le soutien

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect et la reconnaissance que j'ai pour vous.

A mon père : Merci d'avoir été un père si tendre et si attentionné. J'espère que vous êtes heureux que je sois devenue pharmacienne comme vous le souhaitiez. Vous avoir comme modèle a été pour moi une vraie chance, votre présence sans faille à chaque instant est pour moi d'un grand réconfort.

A mon marié Qui ma donne l'encouragement , l'aide et tout le soutien pour terminer mes études. Merci énormément mon chéri, toute l'amour et le respect

A ma fille Takoua

A mes frères Housseem , Issame et à ma sœur Meriem

A ma belle-mère , mon beau père et ma belle-sœur zahra

Merci beaucoup pour votre aide et vos sacrifices

A tous mes sœur de la cité universitaire

Samaha

Remerciements

A notre promotrice Mme Hamel Hadjer

Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs.

Votre sérieux, votre compétence et votre sens de devoir nous ont énormément marqués.

Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

Nos profonds remerciements pour les membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

On adresse nos sincères remerciements à tous les résidents et biologistes du laboratoire des UMC de CHU Frantz Fanon, qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches. On remercie également toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce mémoire.

Table des matieres

Liste des Tableaux	VIII
Liste des Figures.....	VIII
Liste des Annexes.....	IX
Liste des Abréviations.....	X
Introduction	1
I. Rappel sur l'hémostase.....	2
I.1 Définition.....	3
I.2 Déférénts phases.....	4
I.2.1 L'hémostase primaire	4
I.2.2 La coagulation.....	4
I.2.3 La fibrinolyse.....	5
II. syndromes des antiphospholipides.....	7
II.1.Historique	7
II.2. Definition.....	8
II.3. Épidémiologie.....	9
II.4.Rappel sur les phospholipides.....	9
II.5. Les anticorps antiphospholipides	12
II.5.1.Deffinition.....	12
II.5.2.Types.....	12
II.5.3.Origines	14
II.6.Physiopathologie	16
II.6.1.Anticorps anti phospholipides et hémostase.....	17

II.6.2.Anticorps anti phospholipides et grossesse.....	22
II.7.Manifestation clinique.....	23
II.8. Diagnostic.....	27
II.9.Prise en charge.....	34
II.9.1.Prise en charge de thrombose.....	34
II.9.2.Prise en charge des complications obstétricales.....	35
II.9.3.Traitement du SAPL catastrophique.....	37
II.9.4.Surveillance biologique de traitement par les AVK.....	38
PARTIE PRATIQUE	41
I. cadre de l'étude.....	42
II. Matériels.....	42
II.1-Description de la population.....	42
II.2-Prélèvements.....	42
II.3-Réactifs.....	43
II.4.Automates.....	44
II.5-matériels complémentaires.....	45
III.Méthodes	46
III.1.Recueil des donnés.....	46
III.2.Réalisations des tests.....	46
III.2.1.Recueil et traitement de l'échantillon.....	46
III.2.2 .Dosage des anticorps antiphospholipides aPL	46
III.2.3 Determination de TQ,TP et INR.....	50
III.3. Traitement des resultats.....	53

IV.Résultats.....	55
IV.1.Carecteristiques de la population étudiée	55
IV.2. Interprétation des résultats statistiques.....	59
V.Discussion.....	62
VI.Conclusion.....	64
Références bibliographiques.....	65

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les phospholipides cibles des Apl.....	10
Tableau 2 : Critères diagnostiques actuels du SAPL	29
Tableau 3 : Classification des patients selon le type et le nombre d'Apl présents.....	30
Tableau 4 : les valeurs d'ISI des différents types de thromboplastines selon l'origine de la thromboplastine.....	40
Tableau 5 : les réactifs utilisé avec leur origine et leur ISI.....	43
Tableau 6 : Préparation et conservation des réactifs APA SCREEN.....	48
Tableau 7 : préparation et conservation des thromboplastines.....	51
Tableau 8 : moyenne d'âge des patients en fonction des groupes.....	54
Tableau 09 : moyennes est ecart types des INR selon les trois reactifs (Ra,Rb et Rc) avec le résultats de test de Friedman pour les patients avec SAPL.....	58
Tableau 10 : Résultats de test de wilcoxon pour les patients avec SAPL.....	58
Tableau 11 : moyennes est ecart types des INR selon les trois réactifs (Ra ,Rb et Rc) avec le résultats de test de Friedma pour les patient sans SAPL.....	59
Tableau 12 : Résultats de test de wilcoxon pour les patients sans SAPL.....	59
Tableau 13 : Résultats de statistique de Fiabilité pour les patients avec SAPL.....	60
Tableau 14 : Resultats de coefficient de variation selon chaque réactif pour les patients avec et sans SAPL.....	60

LISTE des Figures

Figure 1: Rappel des trois étapes de la physiologie de l'hémostase.....	06
Figure 2: origine des anticorps antiphospholipides.....	16
Figure 3: Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par les anti-2GPI.....	18
Figure 4: Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par les anti β 2GPI.....	20
Figure 5: Modèle d'activation des cellules endothéliales par les anti- β 2GPI... 21	
Figure 6: Modèle d'activation des monocytes par les anti- β 2GPI.....	22
Figure 7: Algorithme décisionnel pour mettre en évidence un lupus anticoagulant.	31
Figure 8: Dosage immunoenzymatique des APL IgG ou IgM par la méthode ELISA.....	47
Figure 9: Type de thrombose chez les patients avec SAPL.....	55
Figure 10: Type de SAPL chez les malades de groupe 1.....	56
Figure 11: Type des maladies chez Les patients sans SAPL.....	57

Liste des Annexes

Annexe I : caractéristiques des malades de groupe 01

Annexe II : caractéristiques des malades de groupe 02

Annexe III : Fiche de renseignement

Annexe IV : valeurs d'INR (groupe 01)

Annexe v : valeurs d'INR (groupe 02)

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : acide arachidonique

Ac : Anticorps

aCL : anticardioline

Ag : antigene

aPL : antiphospholipides

APC : proteine C activé

ApoER2 : récepteur 2_ de l'apolipoprotéine E

AT :Antithrombine

β2-GPI :Béta 2 glycoprotéine 1

C4bBP : C4b-binding protein

CHU :Centre hospitalo universitaire

CIVD : Coagulation intra vasculaire disséminé

EPCR : Endothelial protein C receptor

FC : Fausse couche

FCP : Fausses couches précoces

FCS : Fausses couches spontanées

FCSR : Fausses couches spontanées à répétition

FCT : Fausses couches tardives

FV : Facteur V

FvW : facteur von Willebrand

FT : facteur tissulaire

GPIb : glycoprotéine membranaire Ib

GPIIb/IIIa : complexe glycoprotéique membranaire IIb/IIIa

HBPM : héparines de bas poids moléculaire

HNF : héparine non fractionnée

HTA : Hypertension artérielle

ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1

IgG ,IgM : Immunoglobuline M,G

IMC : Indice de masse corporelle

IL : interleukine

INR : International Normalized ratio

LA : lupus anticoagulant

LB : lymphocyte

LED : Lupus érythémateux disséminé

MAC : *membrane attack complex* [complexe d'attaque terminal du complément]).

MyD88 : myeloid differentiation factor 88

NO : monoxyde d'azote

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAI-1 : inhibiteur de l'activateur du plasminogène

PC : protéine C

PCa : Protéine C activée

PCI : Protein C inhibitor

PDF : produits de dégradation de la fibrine

PL : phospholipides

PLA2 : phospholipase A2

PP2A : phosphatase protein phosphatase 2A

PS : protéine S

RPCa : Résistance à la protéine C Activée

SAPL : syndrome des antiphospholipides

T : Thrombine

TCA : temps de céphaline activateur

TFPI : tissue factor pathway inhibitor

TLR : récepteur Toll like

TM : Thrombomoduline

TP : Taux de prothrombine

tPA : activateur tissulaire du plasminogène

TQ : Temps de Quick

TXA2 : thromboxane A2

UK : urokinase

VCAM-1 : vascular-cell adhesion molecule-1

TNF : Tumor necrosis factor

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 patients atteints de syndrome de l'antiphospholipide et de thrombose sont traités avec les anti vitamine K pour prévenir la récurrence d'épisodes thrombotiques[6].

La surveillance de l'activité anticoagulante des AVK est indispensable du fait de leur faible marge thérapeutique et de la grande variabilité inter et intra individuelle de la posologie. Le contrôle s'effectue via un test biologique : le temps de quick (TQ) en secondes ou temps de prothrombine (TP) [38]. Les efforts de standardisation ont abouti à l'introduction de l'INR sous l'égide de l'OMS, c'est un système de calibration des réactifs de TP qui a été développé afin de diminuer les différences dans les résultats observés. L'INR tient compte de l'indice de sensibilité internationale (ISI) du réactif, du thromboplastine, et d'un TQ témoin[19].

Récemment, l'utilisation du test TP/INR pour surveiller l'anticoagulant oral chez les patients atteints de SAPL a été contestée à cause de l'interférence possible des antiphospholipides qui rendrait l'estimation de l'intensité de l'anticoagulation incertaine[2].

Pour cela, nous avons réalisés une étude comparative dont l'objectif principal était d'évaluer l'influence des antiphospholipides sur les résultats d'INR. Pour évaluer cela, nous avons recueillis les plasmas de deux groupes de patients, avec ou sans SAPL, et qui se traitent par les AVK. Pour ces deux groupes, nous avons calculés l'INR de chaque malade en utilisant trois réactifs différents par leur ISI et leur origine (deux d'origine animale et un d'origine humaine). Puis nous avons calculés les moyennes d'INR obtenues par chaque réactif, nous avons ensuite fait une comparaison de ces moyennes entre les deux groupes au sein de chaque groupe, en utilisant chaque fois des tests statistiques adéquats.

PARTIE THEORIQUE

I. Rappel sur l'hémostase

I.1 Définition

L'hémostase est le processus physiologique qui regroupe l'ensemble des phénomènes destinés à limiter les pertes sanguines au niveau d'une brèche vasculaire grâce à la formation rapide d'un caillot fait de plaquettes agrégées entre elles, enserrées dans un réseau de fibrine.

Lorsque le vaisseau est intact, le sang reste fluide car il est au contact de la monocouche de cellules endothéliales qui, par ses fonctions régulatrices, protège de la thrombose (effet antithrombotique). En rompant la continuité de la monocouche de cellules endothéliales, la brèche vasculaire expose les structures sous-endothéliales au contact du sang, entraînant **[5]** :

- Adhésion et activation des plaquettes au site de la lésion c'est l'hémostase primaire. **[27]**.
- L'activation locale de la coagulation qui conduit à la formation de fibrine : le thrombus fait de plaquettes agrégées et de fibrine comble la brèche vasculaire, et arrête le saignement. **[5,16 ,27]**.
- La fibrinolyse, le processus qui entraîne la dissolution progressive de la fibrine formée, elle fait intervenir la plasminogène précurseur de la plasmine.

C'est un phénomène localisé, rapide, grâce à une auto-amplification locale, et régulé négativement de façon à ne pas obstruer tout le vaisseau.

L'équilibre entre activation et limitation de l'hémostase est fondamental. La rupture a pour conséquence :

- Augmentation du risque hémorragique si les mécanismes d'activation font défaut.
- Une augmentation du risque de thrombose si l'inactivation fonctionne mal.

I.2 Différentes phases [10,16, 27, 28].

L'hémostase a pour fonction de préserver l'intégrité vasculaire, et comporte 3 phases : l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse [10].

I.2.1 L'hémostase primaire

La phase initiale de l'hémostase primaire débute par le recrutement des plaquettes sur le sous-endothélium exposé lors d'une brèche vasculaire ou d'une rupture de plaque d'athérome. Le FvW sert de pont entre son récepteur **GPIb** sur la plaquette et le collagène du sous-endothélium. Il en résulte une phase d'activation plaquettaire avec la synthèse de thromboxane A₂ qui vient amplifier cette activation [10].

La formation d'un agrégat plaquettaire dépend de l'interaction entre le fibrinogène et son récepteur plaquettaire GPIIb-IIIa.

L'exposition des phospholipides (PL) chargés négativement comme la phosphatidylserine à la surface des plaquettes activées constitue le support de l'activité procoagulante des plaquettes sur lequel vont s'activer les complexes enzymatiques de coagulation ; cette exposition permet le recrutement des facteurs de coagulation vitamine K-dépendant via leur résidu Gla en présence de calcium [28].

I.2.2 La coagulation

Elle consolide l'agrégat plaquettaire grâce à la génération de thrombine qui transforme le fibrinogène en fibrine [10].

Le facteur tissulaire (protéine membranaire) est l'élément déclenchant le processus de coagulation quand une lésion vasculaire l'amène au contact du sang. [07].

Le FT fixe à la fois le F VII et les traces de F VIIa du sang circulant, en présence du calcium, avec auto-activation immédiate du F VII. Le complexe FT-VIIa active ensuite simultanément les F IX et X fixés sur les surfaces membranaires, initiant ainsi la voie exogène de la coagulation (voie primordiale [07].)

Les F IXa et Xa activent leurs substrats respectifs (les F X et II) à la surface des membranes des plaquettes activées. Au terme de cet enchaînement de réactions, les premières molécules de thrombine sont formées [27]. Celles-ci amplifient la réaction en activant les plaquettes, le FV, le FVIII et le FXI. Le FIXa (en présence de FVIIIa, PL et Ca²⁺ = complexe tenase) et le FXa (en présence de

FVa, PL et Ca²⁺ = complexe prothrombinase) activent ensuite leurs substrats respectifs, les FX et FII. Le FII devient thrombine (IIa) pour transformer le fibrinogène en fibrine **[10]**.

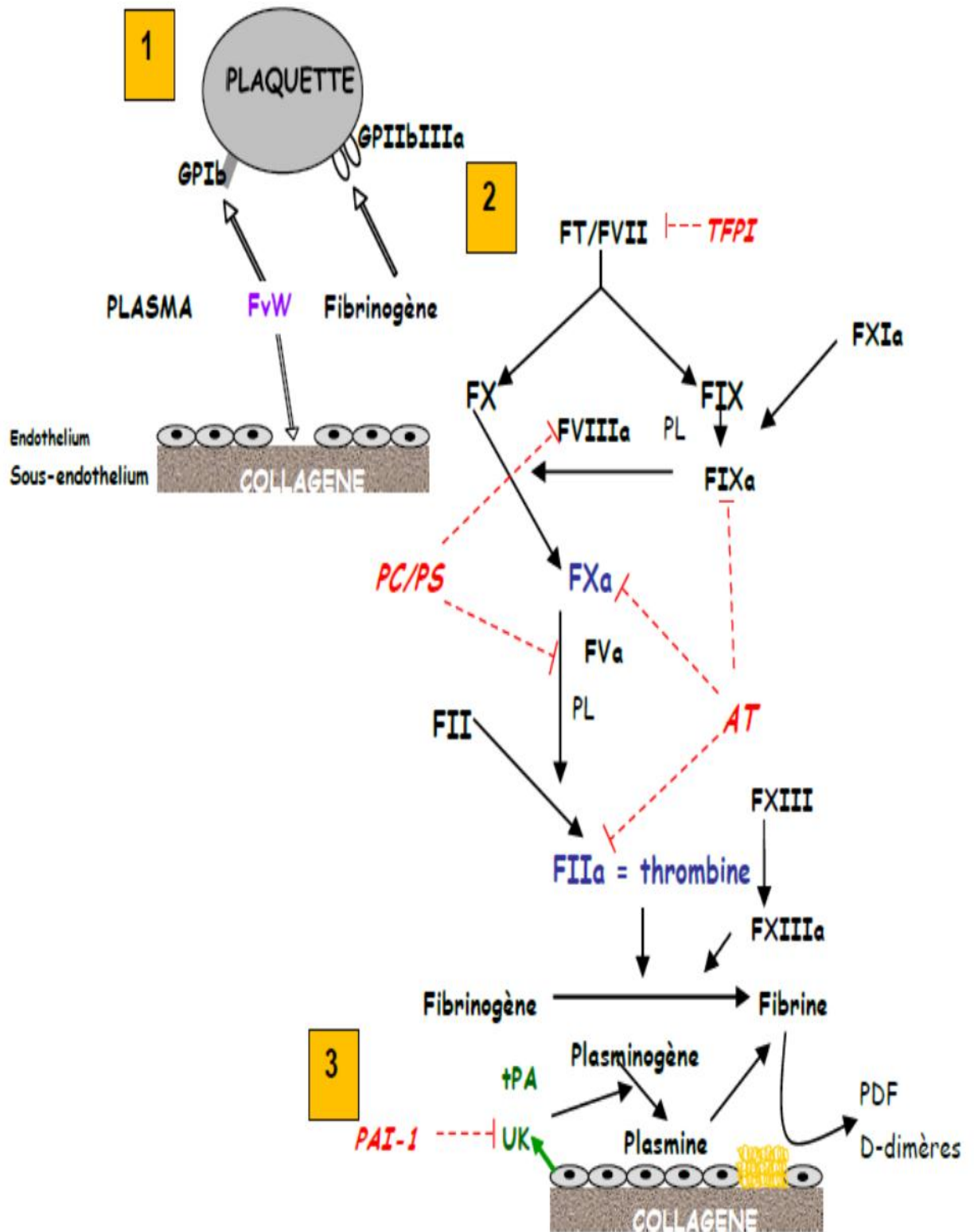
La fibrine, stabilisée par le F. XIIIa, (l'activation du F. XIII est réalisée par la thrombine et régulée par la présence de calcium et de fibrine qui sert de cofacteur) forme une solide enveloppe autour de l'agrégat de plaquettes pour réaliser le caillot **[07]**.

- Les principaux inhibiteurs de la coagulation :

- le système PC/PS : une fraction de la thrombine générée est capable de se lier à la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales pour activer la protéine C fixée à ce niveau par l'EPCR. La protéine C activée va ainsi interagir avec son cofacteur, la protéine S libre, et exercer son effet anticoagulant en inactivant les facteurs Va et VIIIa par clivage enzymatique **[26]**.
- le TFPI : Le facteur tissulaire est une protéine transmembranaire qui forme un complexe avec le facteur VII activé pour déclencher la cascade de la voie exogène de la coagulation. Le TFPI, synthétisé par les cellules endothéliales, est un inhibiteur de l'activité catalytique du complexe FT-FVIIa et diminue ainsi la génération de thrombine et la formation du caillot de fibrin **[26]**.
- L'AT : inhibe à la fois les FIXa, Xa, XIa, Iia.

I.2.3 La fibrinolyse

La fibrinolyse intervient de façon physiologique pour assurer la réperméabilisation d'un vaisseau, après formation d'un thrombus. La plasmine, issue de la protéolyse du plasminogène soit par le tPA soit par l'urokinase, va protéolyser la fibrine, mais aussi le fibrinogène et les FV et FVIII de la coagulation. Il en résulte la formation des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène (D-Dimères). Des inhibiteurs de la fibrinolyse tels que PAI-1 empêche la dissémination du phénomène, au-delà du thrombus **[10]**.



1 : Hémostase primaire, 2 : coagulation, 3 : fibrinolyse.

Figure 01 : Rappel des trois étapes de la physiologie de l'hémostase[10].

II. syndromes des antiphospholipides

II.1. Historique

Les anticorps antiphospholipides sont connus depuis longtemps comme marqueurs de la syphilis. Cependant, au cours du temps et des découvertes, leurs caractéristiques et leurs associations cliniques se sont considérablement diversifiées. C'est August Wasserman qui, en 1906 [45], est à l'origine de la découverte de ces anticorps avec un test diagnostique de la syphilis qui utilisait la réaction de fixation du complément développée par Jules Bordet, le fameux test de Bordet-Wasserman (BW). L'antigène utilisé dans le BW initial était un extrait de foies issus de fœtus avec syphilis congénitale appelé « réagine ». Il fut remplacé par un extrait de tissus sains grâce aux travaux de Landsteiner, et la méthode de détection évolua du test de fixation du complément au test de floculation sur lame.

En 1941, Marie Pangborn démontrait que la réagine était un phospholipide anionique dénommé par la suite « cardiolipine » parce qu'il était isolé à partir de muscle cardiaque [39]. C'est ainsi que, durant plusieurs décennies, un extrait alcoolique de cœur de bœuf fut utilisé comme antigène dans le test de dépistage de la syphilis connu sous le terme de Venereal Disease Research Laboratory (VDRL). L'utilisation à grande échelle du VDRL dans le cadre des campagnes de dépistage de la syphilis allait permettre la mise en évidence d'un syndrome, jusque-là ignoré : le syndrome des antiphospholipides. En effet, ces campagnes ont révélé un nombre important d'individus avec une sérologie de la syphilis dite « faussement positive », car ils ne présentaient aucun symptôme clinique de la syphilis et le test d'immobilisation du tréponème était négatif. La plupart d'entre eux étaient des femmes.

En 1952, Moore et Mohr ont été les premiers à décrire une telle « fausse sérologie » [35]. Lorsqu'elle était transitoire, elle se retrouvait au cours de maladies infectieuses autres que la syphilis ; et lorsqu'elle était persistante, elle était le plus souvent associée à une maladie auto-immune, essentiellement le lupus érythémateux aigu disséminé (LEAD). C'est ainsi que le « faux BW » était devenu un des critères biologiques de diagnostic du LEAD établis par l'American Rheumatism Association (ARA).

En 1952, la présence d'un temps prolongé de coagulation in vitro chez deux patients lupiques a permis l'introduction du terme «anticoagulant circulant» [11], devenu, 20 ans plus tard, «anticoagulant lupique» «LA». Une association entre la présence de LA et des manifestations thrombotiques chez des patients lupiques a été décrite par certains auteurs, dont Soulier et Boffa qui, dès 1980, ont rapporté l'association d'avortements répétés et de thromboses avec la présence d'un anticoagulant circulant [43]. C'est à partir de 1983 que Harris a largement contribué à l'étude des associations cliniques, avec la présence des d'anticorps anticardiolipine (aCL). Avec ses collaborateurs, ils ont mis au point un test radioimmunologique pour la détection des aCL [22], remplacé deux ans plus tard par un test Elisa, ce qui en a facilité l'usage et a permis d'étudier la signification clinique de ces anticorps chez les patients lupiques. Une incidence élevée de thromboses et de morbidité foétale chez des patients lupiques positifs pour ces anticorps a été observée, et c'est ainsi qu'une nouvelle entité, à la fois clinique et biologique, a émergé. Elle fut, dans un premier temps, appelée «syndrome des anticardiolipine» [23, 32], puis SAPL parce que les anticorps reconnaissaient des phospholipides autres que la cardiolipine [21].

Depuis 1990, plusieurs équipes ont montré que les anticorps les plus pathogènes n'étaient pas dirigés uniquement contre les phospholipides anioniques mais contre les protéines plasmatiques liant ces phospholipides appelés cofacteurs protidiques: la bêta2 glycoprotéine I (β 2-GPI) et la prothrombine, principalement.

D'autres cofacteurs protidiques, comme les protéines C et S, l'annexine V et le kininogène de haut poids moléculaire peuvent être plus rarement impliqués. L'ensemble des critères diagnostiques a été affiné en 1998 par les critères dits de Sapporo, puis réactualisé lors de la conférence de Sydney dont les recommandations ont été publiées en 2006 [12].

II.2. Définition

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune, caractérisée par la survenue de manifestations thromboemboliques (formation de caillots de sang dans les vaisseaux, veines ou artères) et/ou la survenue de complications de la grossesse aussi appelées complications obstétricales (il s'agit de fausses couches répétées et/ou de complications plus tardives de la grossesse), et la présence d'anticorps appelés anticorps antiphospholipides.

Il se caractérise par une persistance pendant au moins 12 semaines de ces anticorps, tels que les anticorps anti-bêta-2-GP1, anti-cardiolipine (aCL), anticoagulant de type lupique (LA)

On parle de « SAPL primaire » voire de « syndrome de Hughes » lorsque le SAPL est isolé, c'est à dire sans autre maladie auto-immune ou anomalies cliniques et biologiques particulières. Le SAPL est sinon « secondaire » à une autre maladie auto-immune, et, le plus souvent, il s'agit d'un lupus systémique

Dans le cadre du syndrome des antiphospholipides, ces auto-anticorps sont dirigés contre les phospholipides qui sont des constituants normaux des membranes de nos cellules. En interagissant avec les membranes de certaines de nos cellules. [3].

II.3.Épidémiologie

La prévalence du syndrome des anticorps antiphospholipides dans la population générale est faible. Ce syndrome affecterait 0,5 % de la population [09]. (en dehors du lupus systémique), Cependant, elle peut atteindre 40 % des patients au sein d'une population de lupiques . Dans les 2 types de situations, la fréquence des thromboses est la plus élevée lorsque l'anticorps antiphospholipide est un anticoagulant circulant [46].

Il se trouve surtout chez la femme d'âge fertile. Il est plus rare chez l'enfant, avec une proportion équivalente de filles et de garçons.[04].

En effet, les études épidémiologiques ont montré que la prévalence des aPL au cours d'une grossesse normale était inférieure à 2 %.

Il ne faut pas confondre la fréquence des anticorps antiphospholipides décrits dans différentes populations et celle du syndrome des antiphospholipides. Les anticorps antiphospholipides sont retrouvés chez 5 % de la population générale

sans provoquer de symptômes [38].. Leur production peut être associée à des maladies auto-immunes (dont le lupus érythémateux disséminé et le syndrome de Sjögren), des infections (syphilis, HCV, HIV, malaria, fièvre Q, etc.) et la prise de certains médicaments (dont la chlorpromazine, divers traitements antimalariques, l'amoxicilline, la phénytoïne, le propylthiouracile, les diurétiques thiazidiques, des agents anti-TNF α etc.).

II.4. Rappel sur les Phospholipides [24, 34, 42].

- Structure et localisation

Les phospholipides incriminés dans le SAPL sont des constituants normaux des membranes biologiques, organisés en bicouches et classés selon leur charge nette à pH neutre :

- Les phospholipides anioniques sont la cardiolipine (ou diphosphatidylglycérol), la phosphatidylsérine, l'acide phosphatidique, le phosphatidylglycérol et le phosphatidylinositol.
- les phospholipides neutres sont la phosphatidyléthanolamine, la sphingomyéline et la phosphatidylcholine.

Tableau 01 : Les phospholipides cibles des aPL

Anioniques	Neutres
Cardiolipine	
Phosphatidylsérine	Phosphatidyléthanolamine
Acide phosphatidique	Sphingomyéline
Phosphatidylinositol	Phosphatidylcholine
Phosphatidylglycérol	

La cardiolipine est absente de la surface cellulaire, elle est un constituant de la membrane interne des mitochondries. Sa présence dans le plasma a été établie, associée à des lipoprotéines et à la surface de cellules apoptotiques.

La phosphatidylsérine et la phosphatidyléthanolamine sont séquestrées dans le feuillet interne de la membrane plasmique : elles sont exposées à la surface de la cellule et des microparticules qui s'en détachent après stimulation appropriée, phénomène à l'origine de l'assemblage des complexes enzymatiques de la coagulation.

La phosphatidyléthanolamine (PE) est un composant majeur de la membrane cellulaire dont la présence est indispensable à l'activité anticoagulante de la protéine C activée.

- Role des phospholipides dans la coagulation :

Le rôle central des phospholipides dans la cascade de la coagulation est bien établi depuis de nombreuses années (Mann et al, 1990). L'exposition des phospholipides (PL) chargés négativement comme la phosphatidylsérine à la surface des plaquettes activées constitue le support de l'activité procoagulante des plaquettes sur lequel vont s'activer les complexes enzymatiques de coagulation.

Les charges négatives sur les phospholipides sont reconnues comme étant nécessaires pour la liaison des enzymes dépendantes de la vitamine K et du substrat à travers leurs domaines Gla N-terminaux. Au cours du traitement post-traductionnel, ces protéines subissent une γ-carboxylation des résidus d'acide glutamique (Glu) à leur extrémité N-terminale, par une carboxylase dépendante de la vitamine K. Ce processus est requis pour les protéines biologiquement actives et conduit à la présence unique et caractéristique de neuf à treize résidus γ-carboxyglutamiques (Gla) constitués du domaine Gla (Freedman et al, 1995.)

Le domaine Gla est essentiel pour établir une forte association avec Ca^{2+} , ce qui est crucial à la fois pour l'interaction des protéines contenant du Gla avec les phospholipides chargés négativement et pour leur repliement structural correct. Les interactions intra-chaîne entre les résidus Ca^{2+} et Gla induisent une transition structurale du domaine Gla, la transformant d'une unité non dépliée et non fonctionnelle en un domaine étroitement plié et essentiellement fonctionnel. Le repliement du domaine Gla expose également un patch hydrophobe de trois résidus dans le domaine Gla, appelé «boucle», qui permet une interaction avec les membranes cellulaires. Des résidus de Gla liés au Ca^{2+} chargés positivement forment des ponts ioniques avec les groupes

de phospholipides chargés négativement, facilitant la localisation des protéines dépendantes de la vitamine K à la surface des membranes cellulaires où l'assemblage des complexes procoagulant et anticoagulant a lieu. Bien que les domaines Gla de toutes les protéines dépendantes de la vitamine K soient hautement conservés, leurs affinités et leurs taux de liaison pour les membranes varient considérablement entre les différents membres de la famille. Par exemple, la protéine S présente l'une des plus fortes affinités pour les phospholipides chargés négativement (constante de dissociation (KD) ~ 10 nM), alors que la protéine C présente une affinité plus faible d'environ 100 fois (KD ~ 1 µM) (Nelsestuen et al, 1978 ; Sun et al, 2003).

II.5. Les anticorps antiphospholipides

II.5.1. Définition

Les anticorps antiphospholipides sont une famille d'auto-anticorps ayant des spécificités et des affinités diverses ; **ils sont dirigés contre les phospholipides, contre les protéines liant les phospholipides (aussi appelées cofacteurs) ou contre les deux** ; ils peuvent avoir un effet pathogène en interférant avec les phospholipides membranaires des cellules endothéliales et des plaquettes ou avec les phospholipides impliqués dans la cascade de la coagulation [15]. .

II.5.2. Types

Les anticorps antiphospholipides **les plus importants en clinique sont l'anticoagulant lupique, les anticorps anticardiopiline et les anticorps anti-β2-GPI [15]. .**

- *Anticoagulant lupique :*

Ou encore appelé anticoagulant circulant (du fait de son effet in vitro sur le TCA bien qu'il ait un effet **thrombogène** in vivo). Il s'agit d'un auto-anticorps le plus souvent une spécificité anti-prothrombinase.

Il entraîne un allongement spontané du TCA ; cet allongement n'est pas corrigé par l'adjonction d'un plasma normal ce qui permet d'écarter un déficit en facteur de la coagulation et de conclure à la présence d'un anticorps inhibiteur. [15].

- *Anticorps anticardiolipine :*

Il s'agit d'auto-anticorps dirigés contre la cardiolipine. Ces anticorps sont dans la majorité des cas d'isotype IgG au cours du SAPL. Les IgM aCL sont plus rares et presque toujours associées aux IgG. Alors que la présence d'IgM aCL isolées EST le plus souvent transitoire et associée à une infection ou à la prise de certains médicaments (antiépileptiques). IL existe néanmoins d'authentiques SAPL ayant pour seul marqueur les IgM aCL. Les IgA sont rares et toujours associées aux IgG, leur recherche présente donc peu d'intérêt et n'a pas été retenue comme critère biologique du SAPL.

Le cofacteur principal des aCL est la β 2GPI, mais d'autres cofacteurs ont été décrits ces dernières années: la prothrombine, la thrombomoduline, l'annexine V, la protéine C, la protéine S. Mais, en plus du rôle de cofacteur pour la liaison des anti-phospholipides (aPL), certaines de ces protéines sont la cible directe des aPL, et sont aussi associées aux manifestations du SAPL, comme les anti-prothrombine et anti-annexine V. [42].

- *Anticorps anti- β 2GPI :*

Il s'agit d'auto-anticorps dirigés contre la β 2GPI, protéine ayant une grande affinité pour les phospholipides chargés négativement. [15]. C'est une protéine cationique à faible activité anticoagulante qui intervient au cours de l'hémostase en inhibant la phase contact de la coagulation. Cette molécule immunogène possède 5 domaines acides aminés répétitifs. Le domaine V constitue le site de fixation majeur aux PL anioniques et le domaine I contient une portion hydrophile hautement immunogène. Suite à la fixation de la β 2GPI aux PL anioniques, les 2 molécules subissent un changement de leur conformation qui entraîne l'exposition d'épitopes cryptiques de la β 2GPI et amplifie la fixation des Ac anti- β 2GPI [20]. Les anticorps anti- β 2GPI, notamment de type IgG, sont potentiellement thrombogènes.

Les modalités de reconnaissance de la β 2-glycoprotéine I par son anticorps demeurent controversées, les principales hypothèses sont [36]. :

- une reconnaissance antigène/anticorps directe : la liaison concerne la protéine seule et peut s'effectuer en l'absence de phospholipides. Cette hypothèse est retenue par Matsuura *et al.* , qui concluent à l'induction d'un état d'hypercoagulabilité par une inhibition directe de la β 2-glycoprotéine I (protéine responsable *in vivo* d'une diminution de l'hypercoagulabilité sanguine

- la cible antigénique est le complexe β 2-glycoprotéine I/phospholipide anionique : Wagenknecht *et al.* Suspectent, en 1993, l'apparition d'un changement conformationnel de la β 2-glycoprotéine I lors de sa fixation au phospholipide. Roubey *et al.* montrent que cette fixation est majorée par l'augmentation de la densité des molécules de β 2-glycoprotéine I à la surface des phospholipides ou des plaques ELISA activées. *In vivo*, l'accroissement de la densité des molécules de β 2-glycoprotéine I est observé lors des réactions hémostatiques se déroulant à la surface des plaquettes activées et des cellules endothéliales.

Ces anticorps sont dosés par ELISA.

II.5.3.Origines [20, 28].

Les aPL sont produits soit suite à des syndromes infectieux, soit qu'ils peuvent témoigner d'un dérèglement du système immunitaire et entrer dans le cadre des pathologies autoimmunes.

- Anticorps aPL et syndromes infectieux:

De nombreux états infectieux sont susceptibles de s'accompagner d'une production importante d'aPL. Les mécanismes précis de cette production transitoire restent à déterminer, mais ils peuvent faire intervenir:

-l'activation polyclonale non spécifique (expliquant l'apparition de nombreux autoanticorps pendant la phase infectieuse .)

-la stimulation spécifique des lymphocytes B produisant des aPL par la présentation brutale de nombreuses cellules apoptotiques dans des sites privilégiés lors de l'infection .

-un phénomène de mimétisme antigénique avec l'agent infectieux souvent évoqué, rarement démontré .

Quoi qu'il en soit, cette production d'aPL accompagne l'état infectieux et disparaît avec lui justifie l'augmentation de prudence affichée dans les derniers critères diagnostiques du SAPL où les aPL devraient être détectés au moins à 2 reprises à 12 semaines d'intervalle.

Cependant, ces Ac peuvent provoquer des manifestations cliniques du SaPL, en particulier le SaPL catastrophique . En effet, l'existence d'une homologie

de structure entre la β 2GPI et certains bactéries ou virus et que ces derniers constituent les ligands naturels des récepteurs Toll like (TLR) laisse supposer que la β 2GPI seule ou associée à son récepteur au niveau de la cellule endothéliale pourrait interagir avec ces TLR. La fixation ultérieure des Ac anti- β 2GPI sur le complexe « TLR/ β 2GPI » ou « α TLR/ β 2GPI / récepteur de la β 2GPI » peut déclencher ainsi la cascade d'activation de la coagulation

- Anticorps aPL et dérèglement immunitaire:

L'exposition ainsi des phospholipides anioniques à la surface membranaire par apoptose physiologique ou favorisée par certains désordres auto-immuns soient à l'origine :

-de la fixation de certaines protéines les PL et de présenter au système immunitaire une conformation néo-antigénique .

-à la stimulation de lymphocytes B autoréactifs qui vont produire des aPL

Ces autoanticorps ne peuvent être produits que si les lymphocytes B susceptibles de les synthétiser dépassent les barrières mises en place par le système immunitaire. Il a été suggéré qu'au cours du SaPL, un défaut de clearance ou un excès de production des cellules apoptotiques favoriseraient la formation d'auto Ac aPL . Les lymphocytes T autoréactifs sont activés par l'un des composants à part, ce qui implique la formation d'un épitope cryptique reconnu par ces lymphocytes. L'interleukine-6 et l'interaction CD40CD40L jouent aussi un rôle important dans la production des aPL par les lymphocytes B autoréactifs. Une hypothèse selon laquelle les complexes «PL /aPL» où les PL oxydée joueraient le rôle d'adjuvant immunologique en fournissant un signal de co-stimulation via leurs capacités à ponter les TLR-4 présents à la surface des cellules dendritiques et des lymphocytes B autoréactifs, a été émise suite à des expérimentations in vitro

- Anticorps aPL et prédispositions génétiques:

Les études concernant ce sujet sont divergentes, néanmoins une prédisposition génétique suggérée par certaines études familiales semble exister. Certains allèles HLA de classe II semblent intervenir, des associations entre les Ac aPL et de multiples Ag HLA DR ou DQ ont été décrites (HLA DR7 et susceptibilité de production des aCL). Des études génétiques ont déterminées que le génotype vv (valine/ valine) en position 247 du gène de

la β 2GPI constituait un facteur de risque génétique pour la production d'Ac anti- β 2GPI et la survenue de thrombose au cours du du SaPL primaire. De plus, les sujets ayant un déficit en β 2GPI ne font pas de thromboses, par contre, les sujets atteints du SaPL possèdent des taux normaux, voir élevés De β 2GPI2.

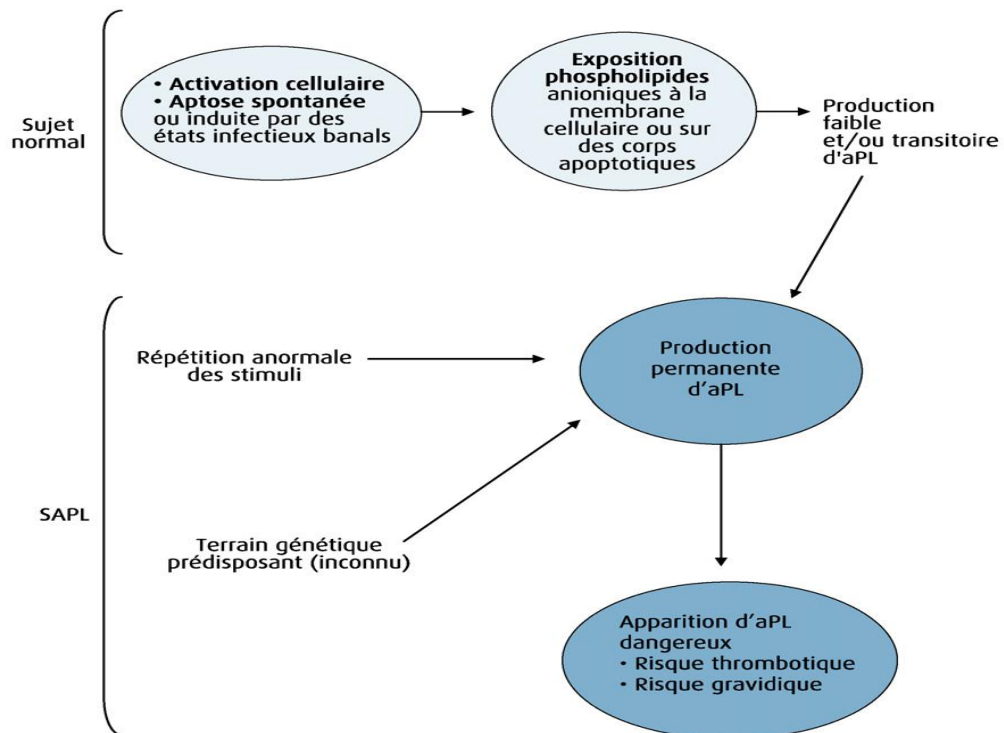


Figure 02 : origine des anticorps antiphospholipides[28].

II.6. Physiopathologie

La clé de la physiopathologie du SAPL est la liaison antigène/anticorps. Il est à présent certain que les principales cibles antigéniques des anticorps antiphospholipides ne sont pas les phospholipides mais les protéines plasmatiques liant les phospholipides (β 2-glycoprotéine I, pro-thrombine, annexine V, kininogène...). Les interprétations des effets des anticorps antiphospholipides sont parfois ambiguës, dans la mesure où les propriétés anticoagulantes constatées *in vitro* se traduisent *in vivo* par l'existence d'un état prothrombotique. [41].

La pathogénicité réelle est supportée par plusieurs observations d'ordre général :

- plusieurs cibles antigéniques des anticorps antiphospholipides sont naturellement impliquées dans la thrombose et l'hémostase ;
- les anticorps antiphospholipides ont facilement accès à leur cible antigénique et à la surface des cellules vasculaires par le biais de la circulation sanguine ;
- les taux d'anticorps sont corrélés au risque clinique.

II.6.1. Anticorps anti phospholipides et hémostase [26].

Diminution de l'activité des inhibiteurs physiologiques de l'hémostase

- Inhibition du système protéine C–protéine S

De nombreuses études ont montré que les aPL étaient capables d'interférer avec la voie de la protéine C et plusieurs mécanismes d'inhibition ont été proposés. Les études initiales suggéraient que les aPL empêchaient l'activation de la protéine C alors que d'autres études ont ensuite montré que les aPL, comme les anti- β 2GPI, perturbaient plutôt la formation du complexe entre protéine C activée et facteurs Va et VIIIa (figure 03) étant ainsi à l'origine d'une résistance acquise à la protéine C activée. Les anti- β 2GPI seraient également capables d'induire un déficit fonctionnel en protéine S en empêchant la 2GPI de déplacer la liaison entre la protéine S et son inhibiteur plasmatique, la C4bBP, et en diminuant ainsi le taux de protéine S libre . Il a également été

décrit dans le SAPL des anticorps dirigés contre l'EPCR détectés par Elisa et significativement corrélés à la survenue de thrombose .

Bien que les mécanismes par lesquels les aPL interfèrent avec la voie de la protéine C ne soient pas encore complètement élucidés, l'effet procoagulant qui en résulte permet en partie d'expliquer la survenue d'événements thromboemboliques veineux chez les patients atteints de SAPL.

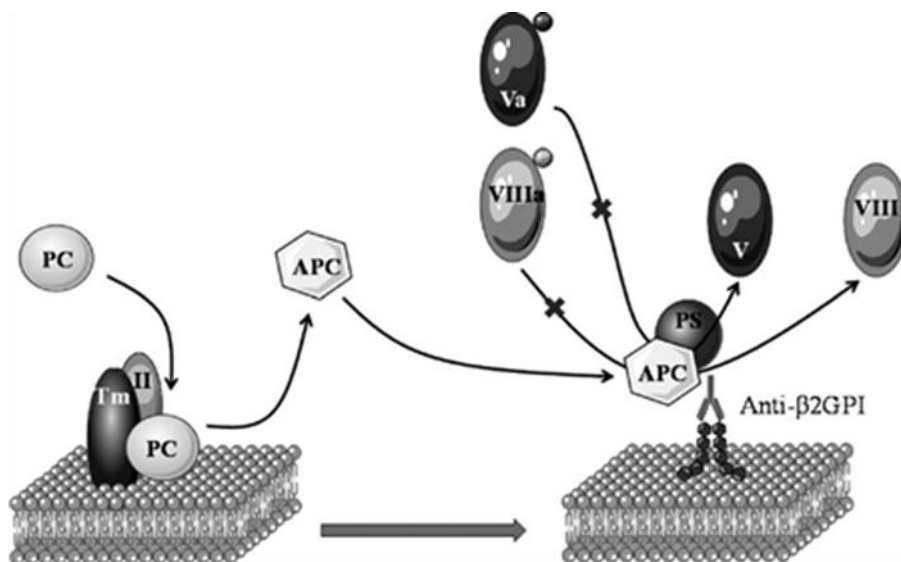


Figure 03: .Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par les anti- 2GPI [26]. .

- Inhibition de l'effet anticoagulant de l'annexine A5

L'annexine A5 est une protéine capable de venir recouvrir les phosphatidylsérines au cours de l'activation plaquettaire pour former un bouclier protecteur qui va diminuer la disponibilité des PL chargés négativement pour les enzymes de la coagulation et exercer ainsi une action anticoagulante . La dimérisation de la β 2GPI par les anticorps reconnaissant le domaine I de la 2GPI augmente son affinité pour ces PL empêchant ainsi la mise en place du bouclier protecteur d'annexine A5 inhibant alors ses propriétés anticoagulantes . Ce blocage de l'annexine A5 par les aPL serait corrélé à des manifestations thrombotiques.

- Inhibition du tissu factor pathway inhibitor type I TFPI

De nombreuses études ont rapporté une diminution de l'activité du TFPI corrélée à une augmentation de la génération de thrombine chez les patients atteints de SAPL. Cet effet serait lié à la présence d'anticorps dirigés

directement contre le TFPI ou bien à une activité inhibitrice des anti- 2GPI sur le TFPI.

- Inhibition de la fibrinolyse [37].

L'inhibition du système fibrinolytique peut se produire au niveau des activateurs du plasminogène par des inhibiteurs spécifiques de l'activateur du plasminogène (PAI-1 et PAI-2) ou aux taux de plasmine par le 2-antiplasmine. Les cellules endothéliales, lorsqu'elles sont activées, sécrètent le PAI-1 pour réguler la fibrinolyse en bloquant l'activité du tPA.

Plusieurs études ont permis de montrer que la présence de certains anticorps chez les patients atteints de SAPL contribuerait à inhiber le système fibrinolytique. Des anticorps dirigés contre la plasmine ont été décrits même si le rôle précis de ces anticorps dans le risque thrombotique reste encore méconnu.

Les patients atteints de maladies du tissu conjonctif, y compris le SAPL, peuvent présenter une condition hypofibrinolytique liée à des taux élevés de PAI-1 . Ames et al. ont montré une régulation à la hausse de PAI-I chez les femmes présentant une APS primaire. Ils ont également montré une réduction de la libération de tPA par stimulation des cellules endothéliales, suggérant que l'équilibre tPA / PAI-1 était décisif pour développer une thrombose chez certains patients atteints de SAPL. Les aCL monoclonaux semblent inhiber la fibrinolyse par une augmentation de l'activité PAI-1 dépendante de β 2GPI. Des anticorps dirigés contre le domaine catalytique du tPA ont été détectés chez des patients atteints d'APS et pourraient représenter une cause d'hypofibrinolyse.

Activation cellulaire

- Activation des plaquettes

Une thrombopénie est observée chez environ 30 % des patients avec SAPL . Le mécanisme de cette thrombopénie est soit auto-immun due à la présence d'anticorps anti-GPIIb/IIIa ou anti-GPIb-IX comme dans le purpura thrombopénique immunologique (PTI) soit d'une consommation intravasculaire de plaquettes accompagnant une coagulopathie liée au SAPL [18]. . .

Au cours du SAPL, l'activation des plaquettes aboutit surtout à un effet prothrombotique principalement dû à l'interaction du complexe β 2GPI/anti- β 2GPI avec deux récepteurs présents à la surface des plaquettes, le récepteur ApoER2 et la glycoprotéine Ib (GPIb) (Fig. 4). Le récepteur ApoER2 fait partie de la famille des récepteurs des lipoprotéines et la GPIb est l'un des membres du complexe GPIb-IX-V qui lie entre autres le FvW. Les événements intracellulaires impliqués ensuite dans l'activation plaquettaire ne sont pas complètement élucidés, mais il semble que la stimulation de ces deux récepteurs partageraient des effecteurs intracellulaires communs qui aboutissent à l'activation de la p38MAPK. Cette kinase est capable de phosphoryler de nombreux substrats dont la PLA2 qui conduit à la libération d'acide arachidonique, puis de TXA2. Il a d'ailleurs été montré que les patients avec SAPL avaient une excrétion urinaire des métabolites du TXA2 plus importante que des individus sains.

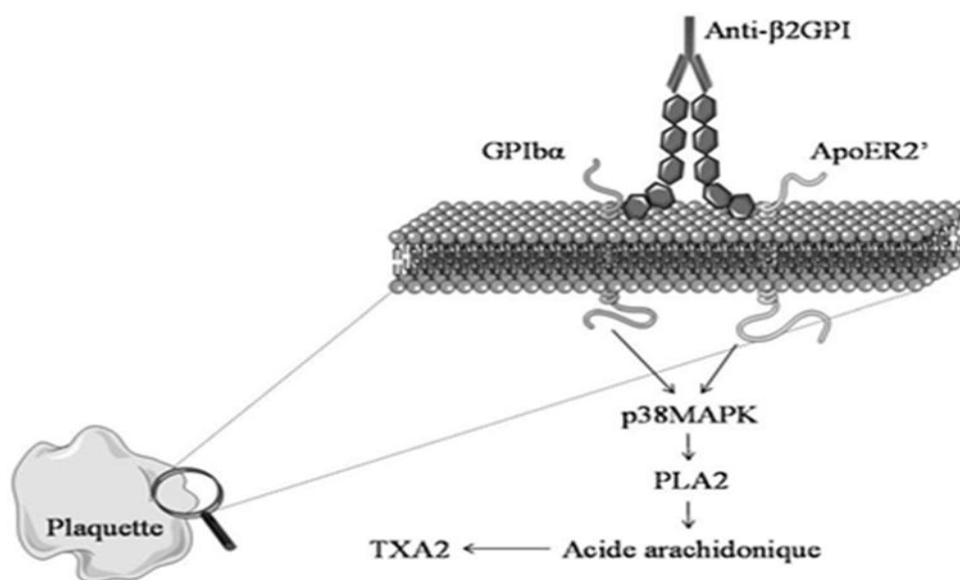


Figure 04 :. Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par les anti- β 2GPI [26].

- Activation des cellules endothéliales

Physiologiquement, les cellules endothéliales ont des propriétés anticoagulantes empêchant la formation inappropriée d'un caillot dans la lumière vasculaire. Plusieurs études ont montré que les aPL étaient capables d'abolir cet effet anticoagulant en activant les cellules endothéliales pour leur conférer un phénotype procoagulant en l'absence de toute brèche vasculaire. Les anti- β 2GPI peuvent, en effet, induire une surexpression de FT et de

molécules d'adhésion par les cellules endothéliales. Comme pour les plaquettes, l'ensemble des effecteurs cellulaires en jeu dans l'activation des cellules endothéliales n'est pas identifié. Il a, cependant, été montré que le complexe trivalent anti- β 2GPI/dimère de β 2GPI interagissait avec l'annexine A2 au niveau de la membrane des cellules endothéliales. D'autres effecteurs semblent également intervenir, à ce niveau, comme les récepteurs TLR2 et TLR4 ;récepteurs des endotoxines bactériennes de la famille des TLR, et le MyD88 [38] qui est une molécule adaptatrice des TLR. La cascade de signalisation se poursuit par l'activation de la p38MAPK qui va phosphoryler de nombreux substrats aboutissant à l'augmentation de l'expression de FT et de molécules d'adhésion, dont ICAM-1, VCAM-1 et la sélectine E (Figure 05). Il a récemment été proposé que le complexe anti- β 2GPI/ β 2GPI inhiberait également la production de NO par les cellules endothéliales. La réduction de la libération de NO s'accompagne d'un dysfonctionnement majeur de l'endothélium en altérant ses interactions avec les leucocytes et en favorisant ainsi la formation de thromboses.

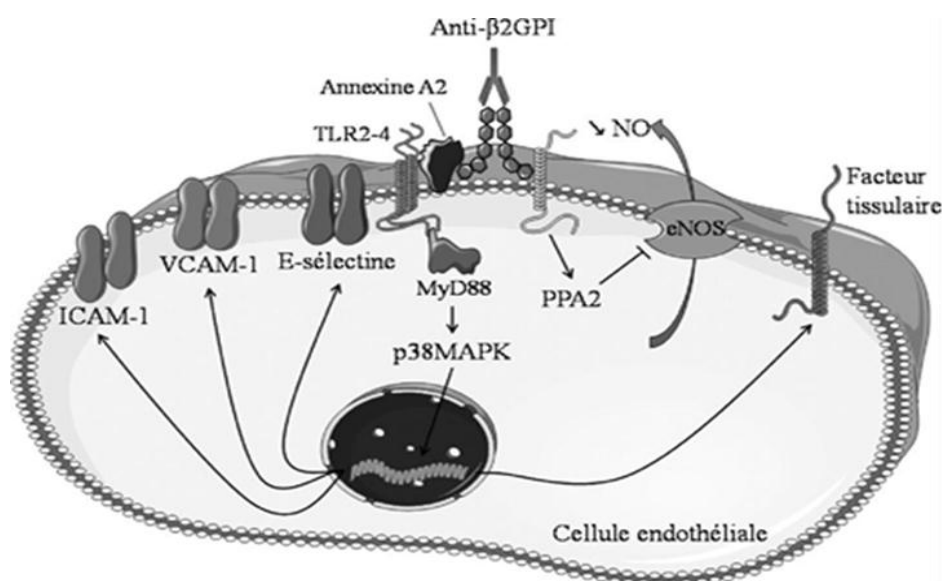


Figure 05 : Modèle d'activation des cellules endothéliales par les anti- β 2GPI [26].

- Activation des monocytes

Au niveau des monocytes, l'activation cellulaire induite par les aPL s'accompagne d'une surexpression de FT et de cytokines pro-inflammatoires dont le $\text{TNF}\alpha$. Cette tendance procoagulante et pro-inflammatoire des monocytes participe activement à la formation de thromboses retrouvées dans le SAPL. Les voies de signalisation impliquées dans l'activation des monocytes

et des cellules endothéliales par les aPL partagent de nombreux effecteurs communs. Ainsi, les complexes anti- β 2GPI/ β 2GPI qui se fixent à la surface des monocytes vont activer le complexe TLR2-4/annexine A2 et la transduction du signal va se poursuivre par l'activation de la p38MAPK, puis par l'expression de FT et de TNF.

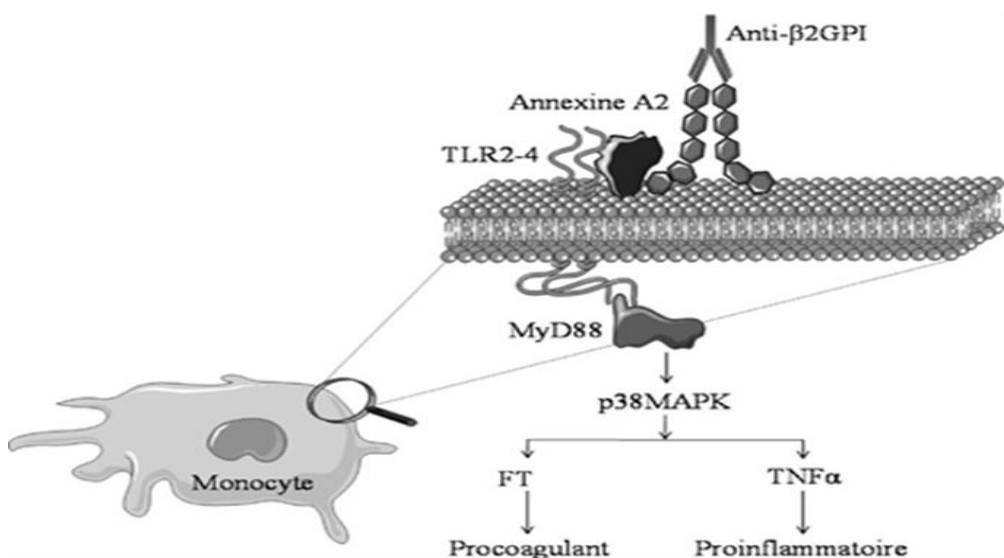


Figure 06. Modèle d'activation des monocytes par les anti- β 2GPI [26].

II.6.2. Anticorps antiphospholipides et grossesse [31].

La pathogénie du SAPL obstétrical est mal connue. Le rôle des cellules endothéliales, des plaquettes, des monocytes et du système du complément dans la survenue de la vasculopathie placentaire a été largement souligné. La séquence pathologique actuellement proposée fait intervenir l'activation des monocytes et des cellules endothéliales par les aPL, via différents récepteurs (TLR4, TLR8 annexine A2) et les facteurs de transcription *nuclear factor κ B* (NF κ B) et *p38 mitogen-activated protein kinase* (p38 MAPK) :

- Activation de la coagulation : Les cellules endothéliales activées libèrent le facteur tissulaire qui après fixation au facteur VII activé active ainsi la coagulation. Parallèlement, l'interaction des aPL avec différentes protéines de la coagulation tels que la protéine C, la protéine S, le facteur X, le facteur II et plus particulièrement l'annexine V, majore l'état procoagulant. En effet, l'annexine V (exprimée par les trophoblastes et abonde à la surface des microvillosités des syncytiotrophoblastes) est une protéine dotée d'une puissante activité anticoagulante par sa haute affinité pour les phospholipides anioniques (PF3 plaquettaire) et sa capacité à déplacer les

facteurs de la coagulation des surfaces phospholipidiques. Son expression est considérablement diminuée au cours du SAPL du fait de la haute affinité des aPL pour le PF3 ou les complexes protéine–phospholipides empêcheraient l'annexine V de former une barrière protectrice vis-à-vis des facteurs de la coagulation. Enfin, il existe un déséquilibre de la balance pro- et antifibrinolytique, qui majore l'état procoagulant et conduit à la vasculopathie placentaire.

- Activation de l'hémostase primaire : Les plaquettes activées via les récepteur APO-E2 et GP1b , puis par la voie de la p38 MAPK, expriment la glycoprotéine GPIIb/IIIa impliquée dans les phénomènes d'agrégation plaquettaire via le fibrinogène et libèrent du thromboxane A2, puissant agent proagrégant et vasoconstricteur. De plus, les anti- β 2GP1 seraient susceptibles de neutraliser l'interaction inhibitrice naturelle qui existe entre la β 2GP1 et le facteur Willebrand, majorant ainsi l'adhésion plaquettaire . Expérimentalement, les aPL de classe IgG diminuent la quantité d'annexine V présente sur le trophoblaste et les cellules endothéliales, et accélèrent les phénomènes de coagulation.
- Implication du système du complément : Plusieurs études montrent qu'il existe, sous l'influence des aPL :
 - ✓ une la libération des anaphylatoxines C3a et C5a entraînant ou amplifiant l'activation des cellules endothéliales, des plaquettes et des monocytes circulants.
 - ✓ Une diminution de l'expression du *decay accelerating factor* (DAF), une protéine de régulation du complément, dans le tissu endométrial.

II.7. Manifestation clinique [46].

Les principales manifestations sont : la formation de thrombose à répétition, un risque élevé de fausses couches chez la femme enceinte, une thrombocytopénie, et éventuellement la présence de symptômes variés (neurologiques, cutanés,...).

Les manifestations sont pour la plupart liées aux thromboses, Ces thromboses peuvent siéger dans n'importe quelle artère, veine ou même dans une cavité du coeur, et elles entraînent des troubles à répétition. En empêchant le sang d'irriguer correctement les organes et donc de leur apporter suffisamment de nutriments et d'oxygène, ces thromboses peuvent entraîner l'ischémie de certains organes ou parties d'organes.

Les manifestations du SAPL sont donc variées puisqu'elles dépendent directement, de l'endroit du corps où surviennent les thromboses.

Les thromboses des jambes

Les thromboses veineuses, qui sont plus fréquentes que les thromboses artérielles, concernent surtout les veines profondes des jambes. Si le caillot reste sur place et obstrue la veine, on parle de phlébite. Le mollet rougit, gonfle, devient dur et douloureux au toucher et à la marche.

Les manifestations neurologiques

Les thromboses artérielles (moins fréquentes que les thromboses veineuses) siègent le plus souvent dans le cerveau (35% des cas). Elles peuvent être responsables d'accidents vasculaires cérébraux (« attaques »). Dans certains cas rares, ces thromboses cérébrales à répétition sont responsables de troubles psychologiques ou de démence.

D'autres troubles neurologiques peuvent aussi se produire, comme des crises d'épilepsie, ou plus rarement des mouvements anormaux comme une chorée,

qui se traduit par des mouvements involontaires de grande amplitude, imprévisibles, irréguliers et brefs.

Les manifestations cardiaques

Des atteintes des valves cardiaques peuvent survenir. Ces valvulopathies sont assez fréquentes dans le SAPL. Elles passent le plus souvent inaperçues, mais elles peuvent aussi provoquer un essoufflement, ou très rarement un oedème du poumon. Plus rarement, l'atteinte des artères coronaires peut être responsable d'infarctus du myocarde.

Les manifestations cutanées

La manifestation cutanée la plus fréquente est le livedo, Le livedo apparaît souvent sous l'action du froid ou d'une compression, et on le retrouve essentiellement sur le tronc, les jambes et les avant-bras. Il est dû à la dilatation des veines. Certaines personnes développeront plutôt un purpura.. D'autres manifestations cutanées surviennent parfois, parmi lesquelles des ulcérations ou encore un « phénomène de Raynaud », il est provoqué par le froid ou le stress, avec une pâleur initiale qui vire au bleu, puis parfois au rouge, accompagné parfois d'une douleur importante.

L'apparition de taches sous les ongles correspondant à des petites hémorragies « en flammèche » est également une manifestation typique du SAPL.

Les complications respiratoires ou embolies pulmonaires

Parfois, les caillots formés dans les veines des jambes se détachent de la paroi de la veine, circulent dans les vaisseaux, et risquent d'atteindre l'artère pulmonaire ou ses branches en provoquant une embolie pulmonaire ou un infarctus pulmonaire.

L'embolie pulmonaire est la complication la plus dangereuse de la phlébite. Elle se traduit par une douleur dans la poitrine de type « point de côté », une sensation de manque d'air, une toux, et parfois des troubles du rythme cardiaque.

L'atteinte rénale

L'atteinte rénale est possible, suite aux thromboses qui peuvent atteindre tous les vaisseaux qui irriguent le rein. L'atteinte peut être manifestée par des

symptômes très variables et parfois même asymptomatique . L'atteinte rénale n'est souvent détectable que par des analyses d'urine, l'anomalie la plus fréquente étant une protéinurie. Dans d'autres cas, l'atteinte rénale peut provoquer une hypertension artérielle. Dans les formes graves, cette atteinte des reins peut entraîner une insuffisance rénale.

Les manifestations hématologiques

Le SAPL peut se traduire dès le début par une thrombopénie, elle peut être due à la destruction des plaquettes par les anticorps nocifs. Le risque d'hémorragie lié à la thrombopénie est cependant très faible.

Par ailleurs, une anémie peut survenir chez certains malades.

Les manifestations digestives et hépatiques

Elles sont assez rares mais peuvent être sévères, responsables d'une hypertension de la veine porte, et d'une splénomégalie.

Dans de rares cas, des thromboses intestinales peuvent être responsables de troubles du transit.

Les manifestations oculaires

L'obstruction de l'artère qui irrigue la rétine peut entraîner une baisse brutale de la vision et même une cécité irréversible, mais cette complication est rare.

Le syndrome « catastrophique » des anti-phospholipides

Il existe une forme extrêmement rare du SAPL, qui se manifeste par l'apparition simultanée et brutale de thromboses sévères dans plusieurs organes (au moins trois). En raison de sa sévérité, on appelle cette forme potentiellement mortelle le syndrome « catastrophique » des anti-phospholipides.

L'atteinte des différents organes se fait en cascade, en quelques jours ou semaines, et nécessite une hospitalisation en service de soins intensifs. En effet, les caillots provoquent l'asphyxie de plusieurs organes (dont les reins) et une détresse respiratoire brutale. Cette forme du syndrome peut être une complication de la forme « classique » du SAPL, mais peut également survenir sans antécédent de SAPL connu. Le SAPL catastrophique peut être déclenché

par une infection ou une intervention chirurgicale et par un arrêt soudain du traitement anticoagulant.

II.8. Diagnostic [06].

Les critères diagnostiques du SAPL ont été définis à Sapporo et publiés en 1999. Ces critères ont été actualisés par des experts internationaux lors du congrès sur le SAPL de 2004 à Sydney, et publiés en 2006.

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

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, qui 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
– 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 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.)

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. 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 2.

Tableau 2. Critères diagnostiques actuels du SAPL

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

Les experts recommandent de classer les patients en fonction du type et du nombre de critères biologiques présents. On distingue ainsi : (tableau 3).

- les aPL de type I lorsqu'au moins 2 critères biologiques sont présents.
- Le 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

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 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- 2GPI) et il n'est donc pas étonnant qu'une triple positivité soit associée à un très fort risque relatif de thromboses et de complications obstétricales .

Tableau 3. Classification des patients selon le type et le nombre d'aPL présents.

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

Le lupus anticoagulant (LA)

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 7)

- 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 ; –
- 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.

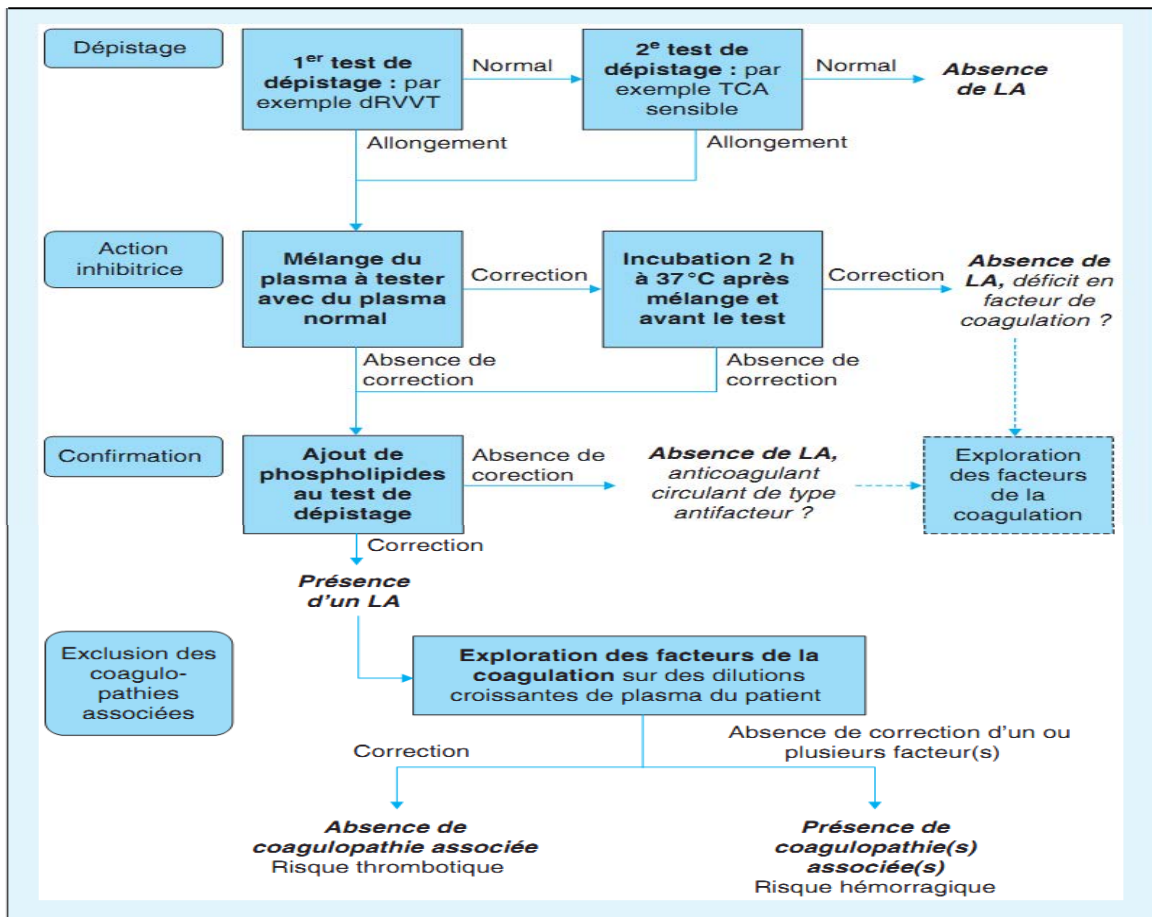


Figure 07 : Algorithme décisionnel pour mettre en évidence un lupus anticoagulant. [06].

- 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

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.

Vers de nouveaux marqueurs biologiques prédictifs [26].

- . Résistance à la protéine C activée

La résistance à la protéine C activée représente une anomalie biologique qui reflète un facteur de risque de thrombose. Or l'étude de la génération de thrombine en présence de concentrations croissantes de protéine C activée

chez des patients porteurs de LA a montré que ces LA étaient capables d'induire une résistance acquise à la protéine C activée . L'étude de la génération de thrombine en présence de protéine C activée est difficilement interprétable chez les patients recevant un traitement anticoagulant mais devrait mieux refléter le risque de thromboses chez les patients atteints de SAPL que les tests actuellement utilisés pour le diagnostic biologique.

- *Résistance à l'annexine A5*

La même équipe qui a montré que les aPL inhibaient l'action anticoagulante de l'annexine A5 a décrit un test fonctionnel plasmatique de résistance à l'annexine A5 . Les résultats, exprimés sous la forme d'un ratio de temps de coagulation en présence et en l'absence d'annexine A5 permettent de mettre en évidence s'il existe, ou non, une résistance à l'annexine A5.

Toujours d'après cette même équipe, les anti- β_2 GPI les plus pathogènes (reconnaissant le domaine I de la β_2 GPI, avec une activité LA et à l'origine d'une dimérisation de la protéine) sont ceux qui induisent le plus de résistance à l'annexine A5 . Ce nouveau test pourrait ainsi permettre d'individualiser les patients particulièrement à risque de thromboses ou de complications obstétricales mais ses performances techniques (reproductibilité), sa facilité de mise en œuvre et sa standardisation restent encore à étudier.

II.9.Prise en charge [30].

Aucune méthode ne permettant actuellement de faire disparaître durablement les aPL, le traitement se résume pour l'essentiel au choix des modalités du traitement anti thrombotique. L'évolution du cadre nosologique a permis de mieux stratifier le risque thrombotique et de proposer des indications thérapeutiques mieux définies , même si le niveau de preuves de certaines d'entre elles est toutefois insuffisant.

II.9.1.Prise en charge de thrombose

Prévention Primaire

Le traitement prolongé par aspirine de patients porteurs d'aPL asymptomatiques n'était pas Supérieur au placebo, en termes de survenue d'événements thrombotiques. Cependant, La puissance de l'étude semble avoir été insuffisante pour pouvoir détecter un éventuel effet protecteur de l'aspirine.

Au contraire, plusieurs études observationnelles suggèrent un effet protecteur de l'aspirine chez les patients lupiques porteurs d'aPL asymptomatiques, ainsi qu'au cours du SAPL obstétrical.

Il paraît donc raisonnable de proposer une prophylaxie primaire de la thrombose chez les patients lupiques porteurs d'un aPL asymptomatique, de même qu'au cours du SAPL obstétrical, mais pas devant la découverte fortuite d'un aPL dans la population générale, d'autant qu'il existe un risque de complications hémorragiques graves ($\approx 1\%$ par an) sous aspirine au long cours.

Prophylaxie secondaire de la thrombose

La prévention de la récurrence thrombotique est l'objectif essentiel du traitement du SAPL. Les modalités thérapeutiques [INR cible, durée du traitement) sont discutées. Deux éléments nouveaux semblent intervenir dans le choix du niveau de l'anticoagulation : le caractère « veineux » ou « artériel » du SAPL et le profile immunologique des patients.

Les patients avec un SAPL définie avec un premier évènement thrombotique artériel étaient à risque accru de récurrence lorsqu'ils recevaient une anticoagulation avec un INR cible compris entre 2 et 3. A contrario, ces récurrences étaient très rares chez les patients ayant réellement reçue, une anticoagulation avec un INR cible compris entre 3 et 4, ce qui suggère l'intérêt de cette cible chez les patients avec un profile « artériel ».

Des études montrent qu'une stratégie d'anticoagulation modérée (INR entre 2 et 3), était équivalente à une anticoagulation forte (INR entre 3 et 4) et semblait entraîner un risque hémorragique moindre. Cependant ces études comportaient de nombreux biais méthodologiques – inclusion de patients

ayant majoritairement un SAPL « veineux », exclusion des patients avec accidents vasculaires cérébraux, cible d'anticoagulation souvent non atteinte dans le bras avec stratégie d'anticoagulation forte et récurrence thrombotique avec un INR inférieur à 3 – qui affaiblissaient leurs conclusions.

La durée optimale du traitement anticoagulant est actuellement incertaine. Les patients avec aPL avaient un risque accru de récurrence thrombotique lorsqu'ils n'étaient traités que 3 mois, comparativement aux patients sans anticoagulant circulant. Cela suggère logiquement qu'il existe un bénéfice à traiter la maladie thromboembolique veineuse plus de 3 mois au cours du SAPL, mais la durée exacte n'est pas connue. La plupart des auteurs s'accordent cependant pour traiter de manière très prolongée, et peut-être indéfinie les SAPL « veineux » et « artériels ».

Les profils immunologiques pourraient être utilisés pour stratifier de manière plus fine le risque thrombotique et identifier la stratégie d'anticoagulation la plus appropriée chez un patient donné, en fonction de son profil aPL.

II.9.2. Prise en charge des complications obstétricales

► Planifier la grossesse

La décision de débuter une grossesse doit être prise de commun accord entre l'interniste et la patiente. Il est nécessaire de préparer les femmes de longue date à cette éventualité, afin d'éviter une grossesse non programmée.

Une consultation spécialisée préconceptionnelle permet de dépister les rares contre-indications, de préciser les indications thérapeutiques et d'informer le couple sur les risques gravidiques. Les contre-indications à la grossesse au cours du SAPL doivent être évaluées de manière individuelle en fonction des antécédents obstétricaux : poussée lupiques évolutive ou datant de moins de six mois en cas de SAPL secondaire, insuffisance rénale sévère (créatinine > 140 µmol/l), HTA sévère et non contrôlée, hypertension artérielle pulmonaire et valvulopathie mal tolérée. En dehors de ces situations, la grossesse peut être entreprise mais doit être programmée. Cette consultation préconceptionnelle permet de remettre l'ordonnance du traitement à la patiente. Celui-ci sera débuté dès la grossesse connue.

► **Prévention des complications obstétricales du syndrome des anticorps antiphospholipides**

La prévention des complications obstétricales du SAPL repose sur la mise en œuvre d'un traitement anticoagulant et antiagrégant adapté. Il est alors important de faire le distingué entre les patientes avec SAPL purement obstétrical – et dans ce cas de distinguer les fausses couches des morts foetales in utero – et la survenue d'une grossesse chez les patientes avec SAPL antérieurement défini par un évènement thrombotique.

Sur la base des essais réalisés dans le SAPL avec fausses couches récidivantes, l'attitude consensuelle est alors de proposer l'association aspirine et HNF/HBPM à dose prophylactique ou intermédiaire.

Chez les patientes avec SAPL obstétrical et fausses couches récidivantes, deux essais prospectifs ont souligné que l'association HNF et aspirine améliorerait considérablement le pronostic foetal par rapport à l'aspirine seule. De plus, une méta-analyse a montré que l'association héparine non fractionnée (HNF) et aspirine était très largement supérieure à l'aspirine seule, pour la prévention des pertes foétales chez les patients SAPL.

L'intérêt des héparines de bas poids moléculaire (HBPM) par rapport à l'HNF est contradictoire, certaines études indiquent que l'association HBPM et aspirine n'est pas supérieure à l'aspirine seule, alors que d'autres montrent que l'association HBPM et aspirine est équivalente à l'association HNF et aspirine. Cependant, l'utilisation de l'HNF étant beaucoup plus contraignante que celle des HBPM, nous avons tendance à privilégier ces dernières au cours de la grossesse. L'attitude à tenir vis-à-vis du SAPL obstétrical avec morts foétales in utero récidivantes est beaucoup moins claire, aucun essai n'ayant été réalisé dans ce contexte précis

En l'absence d'essai dédié, l'attitude proposée devant la survenue d'une grossesse chez les patientes avec SAPL défini ni par un évènement thrombotique, est de remplacer les AVK, qui sont tératogènes, par de l'HNF ou une HBPM à dose efficace et d'y adjoindre de l'aspirine. Les corticoïdes n'ont pas d'intérêt obstétrical au cours du SAPL et ne sont généralement pas prescrits en l'absence de lupus associé.

Plusieurs essais randomisés n'ont pas montré de bénéfice à l'utilisation d'immunoglobulines intraveineuses.

En France, l'aspirine est interrompue à la fin du huitième Mois pour permettre l'analgésie péridurale. Une anticoagulation préventive doit être maintenue pendant le post-partum.

Lorsque la prise en charge thérapeutique est adéquate, plus de 70 % des patientes avec SAPL donneront naissance à un enfant vivant . Nous recommandons un suivi bimensuel, multidisciplinaire associant le médecin interniste, néphrologue ou rhumatologue et un obstétricien, qui doit être parfaitement au fait du SAPL et de ses complications.

II.9.3.Traitement du SAPL catastrophique

Il convient de réserver une place à part au traitement du syndrome catastrophique des antiphospholipides (SAPLC). Le traitement du SAPLC est largement empirique et repose avant tout sur l'anticoagulation à dose efficace, débutée le plus précocement possible, quelle que soit l'importance de la thrombopénie associée .

La grande fréquence des complications infectieuses doit faire envisager l'introduction d'une antibiothérapie probabiliste systématique chez ces patients. Une corticothérapie à forte posologie est fréquemment prescrite (78 % des cas). Même si le bénéfice de cette attitude n'est pas formellement démontré, l'usage et la prudence incitent à sa mise en œuvre systématique dans un tel contexte. Les autres traitements (cyclophosphamide, plasmaphèreses, Immunoglobulines intraveineuses, rituximab, eculizumab) associés aux anticoagulants et corticoïdes n'ont pas formellement démontré leur efficacité, et leur utilisation reste empirique .

II.9.4.Surveillance biologique de traitement par les AVK.

Principe :

La surveillance de l'activité anticoagulante des AVK est indispensable du fait de leur faible marge thérapeutique et de la grande variabilité inter et intra individuelle de la posologie. Le contrôle s'effectue via un test biologique,

sensible au déficit de 3 des 4 facteurs vitamine K dépendants (facteurs II, VII et X): **le temps de Quick (TQ)** en seconde ou **taux de prothrombine (TP)** en %. [36].

Vu la diversité des thromboplastines présentes sur le marché et leurs différences (origine de l'espèce, extraites ou recombinantes, composition des phospholipides, force ionique, etc.), les thromboplastines présentent des sensibilités différentes aux déficiences factorielles et aux facteurs partiellement décarboxylés induits par l'ingestion d'antivitamine K, un Indice de Sensibilité International (ISI) a été obtenu pour chaque thromboplastine commerciale. Cet ISI permet de calculer un International Normalized Ratio (INR) calculé à partir du temps de coagulation du patient, de celui du plasma de référence et de l'ISI]2[.cependant, d'autres études récentes ont montré des discordances considérables entre les valeurs de l'INR mesurées chez les mêmes patients ayant un SAPL en utilisant des thromboplastines différentes. [19].

Méthodes de surveillance :

- Définition de l'INR_

L'**INR** est une abréviation du terme anglais (International Normalized Ratio), c'est à dire « rapport normalisé international », c'est le mode d'expression standardisé du temps de Quick destinée à remédier aux variations dues aux différentes thromboplastines utilisées par les laboratoires d'analyse. [17].

Ce mode d'expression doit permettre théoriquement l'obtention de résultats similaires quelle que soit la thromboplastine utilisée, et devrait permettre un suivi thérapeutique plus précis des patients .

L'INR est définie par la formule suivante : $INR = \left(\frac{TQ \text{ patient traité}}{TQ \text{ patient témoin}} \right)^{ISI}$ [14,44].

L'**ISI** est un index de calibration du réactif utilisé pour le test, par rapport à un standard international de thromboplastine.

- **Choix de la thromboplastine :**

qui est constituée de facteur tissulaire et de phospholipides. Elle est extraite principalement de cerveau (lapin, bœuf) ou de placenta humain et elle est ensuite enrichie en phospholipides et en calcium. Le facteur tissulaire est également disponible sous forme de protéine recombinante (humaine ou animale).

Les fabricants de thromboplastine donnent une détermination rigoureuse de l'ISI et de l'adaptation de cette valeur à différents appareils de mesure. La valeur de l'ISI peut varier en fonction de l'appareillage de mesure utilisé et l'origine du thromboplastine et est d'autant plus élevé que la thromboplastine est moins sensible.

Il existe deux types de thromboplastine selon l'origine du facteur tissulaire :

- Les plus anciennes sont préparées à partir de tissus animaux ou humains (cerveaux de lapins, placenta humain essentiellement).
- Les plus modernes sont des thromboplastines recombinantes obtenues par génie génétique, mieux définies puisqu'elles utilisent le facteur tissulaire physiologique obtenu par synthèse.

La valeur de l'ISI est inversement proportionnelle à la sensibilité de la thromboplastine aux déficits en facteurs de coagulation (particulièrement les facteurs VII et X). De plus pour un même lot de thromboplastine l'ISI peut varier d'un type d'appareil à un autre. **[33]**.

Pour toutes ces raisons, chaque fabricants de thromboplastine doit donner une détermination rigoureuse de la valeur de l'ISI et de l'adaptation de cette valeur à différents appareils de mesure. L'utilisation d'un ISI incorrect est une source d'erreur non négligeable, surtout pour les thromboplastines à ISI élevé.

Le tableau ci-dessous présente la variabilité de la valeurs d'ISI selon l'origine du thromboplastine [19, 33] :

Réactif	Source	ISI _{AVK}
Recombiplastin*	Humaine, recombinante	0,87
Recombiplastin**	Humaine, recombinante	0,83
Thrombotest*	Bovine, cerveau	0,88
Innovin*	Humaine, recombinante	0,94
Thromborel S*	Humaine, placenta	0,98
Thromborel S**	Humaine, placenta	1,11
Simplastin Excel S**	Lapin, cerveau	1,05
Neoplastin plus*	Lapin, cerveau	1,30
PT HS*	Lapin, cerveau	1,46
Simplastin Excel**	Lapin, cerveau	1,54
Neoplastin CI**	Lapin, cerveau	1,67
Simplastin Excel*	Lapin, cerveau	1,77

Tableau 04 : les valeurs d'ISI des différents types de thromboplastines selon l'origine du thromboplastine.

PARTIE

PRATIQUE

I. Cadre de l'étude

C'est une étude descriptive transversale en comparant entre les résultats d'INR chez des patients avec et sans SAPL en utilisant déférents réactifs, durant la période allant de janvier 2018 à juillet 2018 dans la région de Blida.

II. Matériels

II.1-Description de la population

Notre étude comprend deux groupes :

Groupe 01 : groupe des patients avec SAPL qui contient 8 malades.

Critères d'inclusion :

- les malades atteints de syndromes des antiphospholipides et possèdent un traitement par les AVK.
- Quel que soit leurs âges et leurs sexes.
- Quel que soit la date d'instauration de leurs traitements.

Critères d'exclusion :

- Les malades avec le SAPL qui sont traité avec les autres anticoagulants.
- Echantillon de prelevement insuffisant.
- SAPL non confirmé.

Ces patients ont été suivis au sein de service de médecine interne de CHU FRANTZ FANON Blida ou d'EPH Boufarik et adressés au laboratoire des UMC pour faire les prélèvements durant la période allant de janvier 2018 à juin 2018.

Groupe 02 : groupe des patients sans SAPL et qui sont traités par les AVK , contient 14 malades.

Ces malades sont adressés ou laboratoires centrales de CHU FRANTZ FANON Blida pour faire leur test TP/INR de routine durant le mois de juillet 2018

II.2-Prélèvements

Le prélèvement se fait au niveau de laboratoire des UMC de CHU FRANTZ FANON Blida pour le groupe 01 et au niveau de laboratoire central pour le groupe 02.

- Un prélèvement de sang totale dans un tube citrate en respectant le rapport 1/9(un volume de citrate pour 9 volumes de sang) pour faire les tests biologiques (TP/ INR)
- Un prélèvement sur tube sec pour faire les tests immunologiques (aPL)

II.3-Réactifs

1-THROMBOPLASTINE :

Nous avons travaillé avec trois types de réactifs, qui sont identifiés selon la valeur de leur ISI et de leur origine suivant le tableau ci-dessous :

Tableau 05: les réactifs utilisés avec leur origine et leur ISI

Réactifs	ISI	Origine
Ra	0.98	Placenta humain
Rb	1.34	Tissu cérébrale de lapin
Rc	1.65	Tissu cérébrale de lapin

2-APA SCREEN :

Réactif 1 : barrette de 96 puits, recouverte d'un mélange de cardiolipine, de phosphatidylsérine et d'acide phosphatidique.

Réactif 2 : anticorps monoclonaux de souris anti-IgG, IgA et IgM humaines couplés à la peroxydase, lyophilisés.

Réactif 3 : flacon de 8 ml de tétra-méthyl benzidine (TMB < 1%), prêt à l'emploi.

Réactif 4 : flacon de 50 ml de tampon phosphate, prêt à l'emploi.

Réactif 5 : flacon de 50 ml de solution de lavage, 20 fois concentré.

Réactif 6 : flacon contenant des anticorps anti- β 2GPI lyophilisés, utilisé comme références dans le test.

Réactif 7a : plasma humain normal lyophilisé, utilisé comme contrôle négatif.

Réactif 7b : flacon contenant des anticorps anti- β 2GPI utilisé comme contrôle positif.

II.4. Automates

- **Automate de coagulation**

Nous avons utilisé un automate dont le principe de fonctionnement suit le système optique.

Principe :

La mesure optique de la réaction utilise le principe de la loi de Beert-Lambert, ou l'absorbance est le logarithme de la transmittance (énergie transmise). La transmittance est l'énergie lumineuse transmise après passage d'un faisceau incident à travers une solution contenant des molécules absorbants l'énergie lumineuse, le faisceau résultant correspondant à l'énergie lumineuse « restante » et captée par le récepteur.

L'émission est située à 180° par rapport à la réception. En d'autres termes, plus une solution absorbe l'énergie lumineuse, plus la transmittance diminue.

Pour un tel test, la lecture se fait à 671nm : la source lumineuse se compose d'une diode électroluminescente.

Ce principe de mesure donne une courbe Absorbance = f (temps).

Le temps de coagulation obtenu est déterminé à partir de cette courbe.

- **Automate ELISA (spectrophotomètre)**

Principe :

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert.

La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

II.5-matériels complémentaires

- matériel de lavage.
- eau distillé.
- pipettes multicanaux.
- plasma de contrôle normal et pathologique.
- papier millimétré.
- Pipette gradué du 0.05 ml.
- Pipette gradué du 0.1 ml.
- Les embouts.
- Les tubes secs.
- Les tubes citratés.
- Les tubes EDTA.
- Les portoirs.

III. Méthodes

III.1.Recueil des données

Les informations ont été recueillies à partir du dossier transmis de la consultation et de l'interrogatoire (Annexe I et II).

- **Fiche de renseignement (annexe III)**

En se basant sur les dossiers médicaux des patients, nous avons collecté les données suivantes:

- Nom, prénom et âge du malade.
- Accidents thrombotiques (type, date de diagnostic, traitement et complication).
- Maladies et traitements associés.
- bilan biologique .

Parce que les malades concernés sont des externes et leurs rendez-vous sont plus loin on était obligée d'assister aux consultations et faire le prélèvement le jour même.

III.2.Réalisations des tests biologiques:

III.2.1.Recueil et traitement de l'échantillon

Le prélèvement doit être conforme aux recommandations pour les examens d'hémostase.

- Un Prélèvement sur citrate tri sodique 0,109 M : 1 volume de citrate pour
09 volumes de sang
- Un prélèvement sur tube sec.
- Centrifugation : 15 minutes à 2500 g.
- Conservation de plasma et de sérum : 4h à 20 ± 5 °C
Sup à 6H – **20 °C**

Et avant réalisation des tests l'échantillon est placé à 37 °C pendant 5 minutes.

III.2.2 .Dosage des anticorps antiphospholipides aPL

Pour confirmer la présence des apl dans le sérum des malades de groupe 01.

a-Principe :

Un support plastique recouvert de phospholipides (Réactif 1) fixe les anticorps anti-phospholipides éventuellement contenus dans l'échantillon à tester . Les

anticorps anti-phospholipides fixés sont révélés à l'aide d'un immuno-conjugué (anti-IgG , IgA et IgM humaines) couplé à la peroxydase (réactif 2) qui se fixe sur les déterminants antigéniques libres .

Le taux de peroxydase liée et mesuré par son activité sur le substrat TMB (Réactif3) pendant une durée définie.

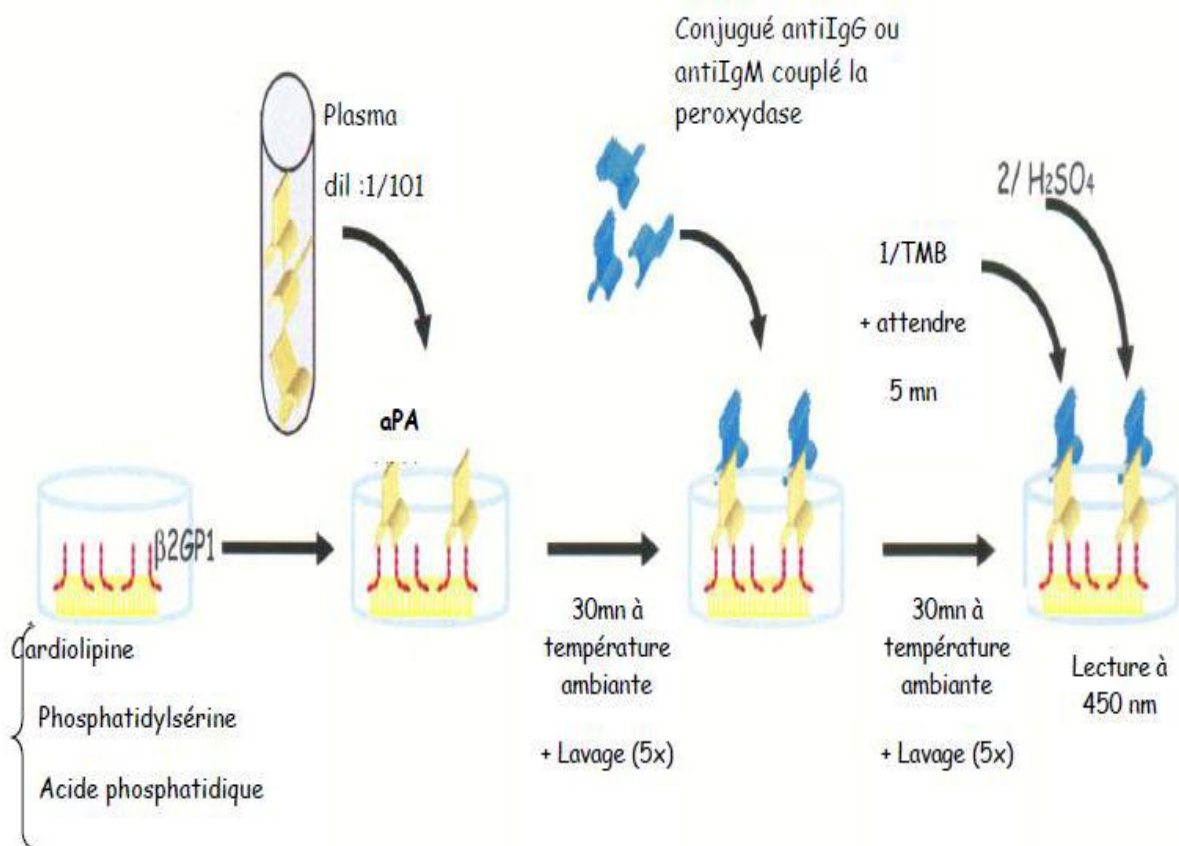


Figure 08 : Dosage immunoenzymatique des APL IgG ou IgM par la méthode ELISA

b- Préparation et conservation des réactifs

Tableau 06 : Préparation et conservation des réactifs APA SCREEN.

réactif	Préparation	Stabilité et conservation		
R1	Avant ouverture de l’emballage, laisser le R1 à T° ambiante pendant 30 mn. Commencer le test sitôt les barrettes sorties de leur emballage.	Conservé à 2-8 °C Sous leur état d’origine. Les réactifs sont stables jusqu’à la date de péremption indiquée.	après	
R2	Reconstituer chaque flacon par 8 ml de R4. Laisser la solution se stabiliser pendant 30 mn à T° ambiante. puis homogénéiser.			4 heures à 20 ± 5 °C
R3	Laisser le R3 à T° ambiante pendant 30mn. Puis utiliser extemporanément.			
R4	Laisse le R4 à T° ambiante pendant 30mn avant utilisation.			15 jours à 2-8 °C
R5	Le diluer au 1/20 en eau distillée.			15 jours à 2-8 °C
R6, 7a et 7b	Reconstituer chaque flacon par très exactement 2ml de R4.Laisser la solution se stabiliser pendant 30 mn à T° ambiante, puis homogénéiser avant l’emploi.			reconstitution

C-Mode opératoire :

- Après reconstitution, le Réactif 6 (R6) est prêt à l’emploi.
- Les plasmas sont dilués dans des tubes en plastique au 1/101 en Réactif 4 (10 µl de plasma + 1 ml de Réactif 4)
- Les sérums sont dilués dans des tubes en plastique au 1/121 en Réactif 4 (10 µl de sérum + 1,2 ml Réactif 4)
- Le contrôle de qualité est réalisé à l’aide des Réactifs 7a (R7a) et 7b (R7b). Ces réactif reconstitués sont testés purs.

- **Protocole**

Sitôt les barrettes sorties de leur emballage, distribuer :

- En double les plasmas/sérums dilués à tester (dans les 2 heures suivant leur préparation)
- Le réactif 4 (blanc réactif) et la référence en double ainsi que les contrôles.

Pour une série de tests, la durée totale des dépôts sur la plaque ne doit pas dépasser 5 minutes.

Déposer dans le puits :		
FIXATION DES APA	Echantillon	200µl
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25 °c)	
Laver 5 fois en Réactif 5, puis ajouter immédiatement:		
FIXATION DE L'IMMUNOCONJUQUE	Réactif 2	200µl
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25 °c)	
Laver 5 fois en Réactif 5, puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre :		
COLORATION	TMB (Réactif 3)	200µl
	Attendre très exactement 5 minutes à 18-25 °c pour chaque échantillon, puis ajouter :	
	H2SO4 1M	50µl
Après avoir distribué l'acide dans tous les puits, agiter la plaque.		
15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction, mesurer l'absorbance à 450 mn (ajuster le 0 sur le blanc réactif)		

III.2.3 Détermination de TQ,TP et INR

Pour chaque prélèvement, on mesure le TQ , TP et l'INR en changeant chaque fois le réactif utilisé.

a- Principe de dosage :

le Temps de Quick est un test chronométrique exprimé en secondes puis converti en pourcentage (TP) ,correspondant à un temps de coagulation d'un plasma citraté, déplaqué, chauffé à 37°C et recalcifié en présence d'un excès de thromboplastine (phospholipides et protéine capable de déclencher la voie extrinsèque).

Dans le cadre de la surveillance de traitement par AVK les résultats sont donnés sous forme d'INR .

- *INR* : correspond au rapport du TQ du malade à celui de témoin, corrigé en fonction de l'indice de sensibilité (ISI) propre au réactif. Ce rapport normalisé est sans unité.

b Préparation et conservation des réactifs (voir le tableau 07)

Tableau 07 : préparation et conservation des thromboplastines

Réactifs	Préparation	Stabilité et conservation
Ra	-reconstituer le réactif avec la quantité d'eau distillée indiquée sur l'étiquette du flacon et bien mélanger en retournant le flacon 8 à 10 fois, puis chauffer le réactif à +37°C avant utilisation.	Non ouvert , le réactif se conserve à +2/+8°C jusqu'à la date indiqué sur l'étiquette. reconstituer :à +37° C 8 h (flacons ouvert) à +15/+25°C 2 j (flacon ouvert) à +2/+8°C 5 j (flacon fermé)
Rb	Transvaser le contenu d'un flacon de Réactif 2 (solvant) dans un flacon de Réactif 1 (thromboplastine) inclus dans le même coffret. laisser la solution stabiliser pendant 30 minutes à température ambiante (18-25 °C).puis agiter doucement pour obtenir une suspension homogène.	Lyophilisé : à 2-8 °C , jusqu'à la date de péremption. Reconstitué : 8h à 37 °C. 48h à 20±5 °C. 8J à 2-8 °C.
Rc	Ajouter sans délai du flacon R1 de thromboplastine la quantité de tampon de reconstitution (flacon R2) indiquée sur l'étiquette. mélanger doucement jusqu'à dissolution complète.	Stocker à 2-8 °C dans le flacon d'origine bien rebouché. Avant ouverture : stables jusqu'à la date de péremption. Reconstituer : 8h à température ambiante. 5j de 2 à 8 °C.

C Mode opératoire

- **Courbe d'étalonnage :**

-Pour les réactifs Ra et Rb : la courbe est tracé à l'aide d'une gamme d'étalonnage suivant ces étapes :

- préparation d'un pool de plasma de calibration dont la valeur de TP est 100%. A partir de la solution mère, nous avons préparé des dilutions au 1/2 ,1/4 et au 1/8.
- Pour chaque valeur du TP nous avons mesurés un TQ sur l'automate, en utilisant le réactifs correspondant

-Pour le réactif Rc : la courbe d'étalonnage est introduit dans l'automate par les techniciens du laboratoire selon le prospectus présent dans le coffret de chaque lot de réactif.

- **Contrôle normale/pathologique :**

- Dans un premier temps : pour valider chaque courbe d'étalonnage.
- Dans un deuxième temps : avant la réalisation des tests, pour confirmer la fiabilité des réactifs.

Pour les résultats des contrôles, on doit les retrouver dans la fourchette indiquée.

- **Etapes de la réalisation du test**

- Avant l'analyse, les prélèvements sont décongelées dans un bain marie chauffé à 37 °C pendant 5 minutes.
- Pré incuber les réactifs au moins 15 minutes à 37°C.
- Introduction de 0.05 ml du plasma dans la cuve de l'automate.
- incubation pendant 60 secondes.
- Homogénéiser le réactif avant pipetage.
- Déclenchement de la coagulation par 0.1 ml de réactif.

III.3.Traitement des résultats :

Nous avons travaillé sur logiciel SPSS version 22 en utilisant des tests statistiques spécifiques et adéquats choisis selon le type de variable (qualitatif ou quantitatif) et le nombre de modalité.

Choix du test statistique :

- a. Pour évaluer la signification statistique de la différence des moyennes de l'INR : variables quantitatifs . c'est pour cela nous avons choisis :

Test de Friedman : pour évaluer la différence entre les trois réactifs

Hypothèse nulle :

Les moyennes des INR ne diffèrent pas significativement entre les trois réactifs utilisés.

Seuil de signification :

$\alpha=0.05$ (si $p < 0.05$, l'hypothèse nulle sera rejeté ; si $p > 0.05$, l'hypothèse nulle sera retenue)

Test de wilcoxon : pour comparer les résultats donné par chaque deux réactif (deux à deux).

Hypothèse nulle :

Les moyennes des INR ne diffèrent pas significativement entre les deux réactifs utilisés.

Seuil de signification :

$\alpha=0.05$ (si $p < 0.05$, l'hypothèse nulle sera rejeté ; si $p > 0.05$, l'hypothèse nulle sera retenue)

- b. Pour évaluer la signification clinique :

- Nous avons réparti les résultats de l'INR selon les intervalles thérapeutiques.
- Utilisation du **Coefficient Alpha de Cronbach** : est considérée comme *acceptable* à partir de 0,7. Cependant, pour une meilleure appréciation clinique une valeur supérieure à 0,9 est souhaitable [25].

et Coefficient de Corrélation Intra-Classe (ICC) dont les valeurs varie :

ICC > 0.75 : très bonne reproductibilité.

0.4 < ICC < 0.75 : reproductibilité moyenne à bonne.

- c. Pour évaluer la sensibilité de chaque réactif vis-à-vis les aPL nous avons :
- Calculé le **Coefficient de variation (CV)** des INR pour les deux groupes.
 - Comparé ces valeurs pour le même réactifs entres les deux groupes
 - Si CV similaire : absence d'influence des aPL

IV. Résultats

IV.1. Caractéristiques de la population étudiée :

A-Age :

Tableau 08: moyenne d'âge des patients en fonction des groupes

Groupes	Moyenne d'âge
Groupe 01	de 40 ,37 ans \pm 12,09 ans (28 à 56 ans).
Groupe 02	55.28 ans \pm 18.5 ans (46 à 83 ans).

B-Sexe :

Groupe 01 : Tous nos patients sont des femmes.

Groupe 02 : 35.7 % (05) des hommes et 64.3 % (09) des femmes.

c-Types de thrombose:

Le TVP est majoritaire chez les malades de groupe 01 avec un pourcentage de 75%

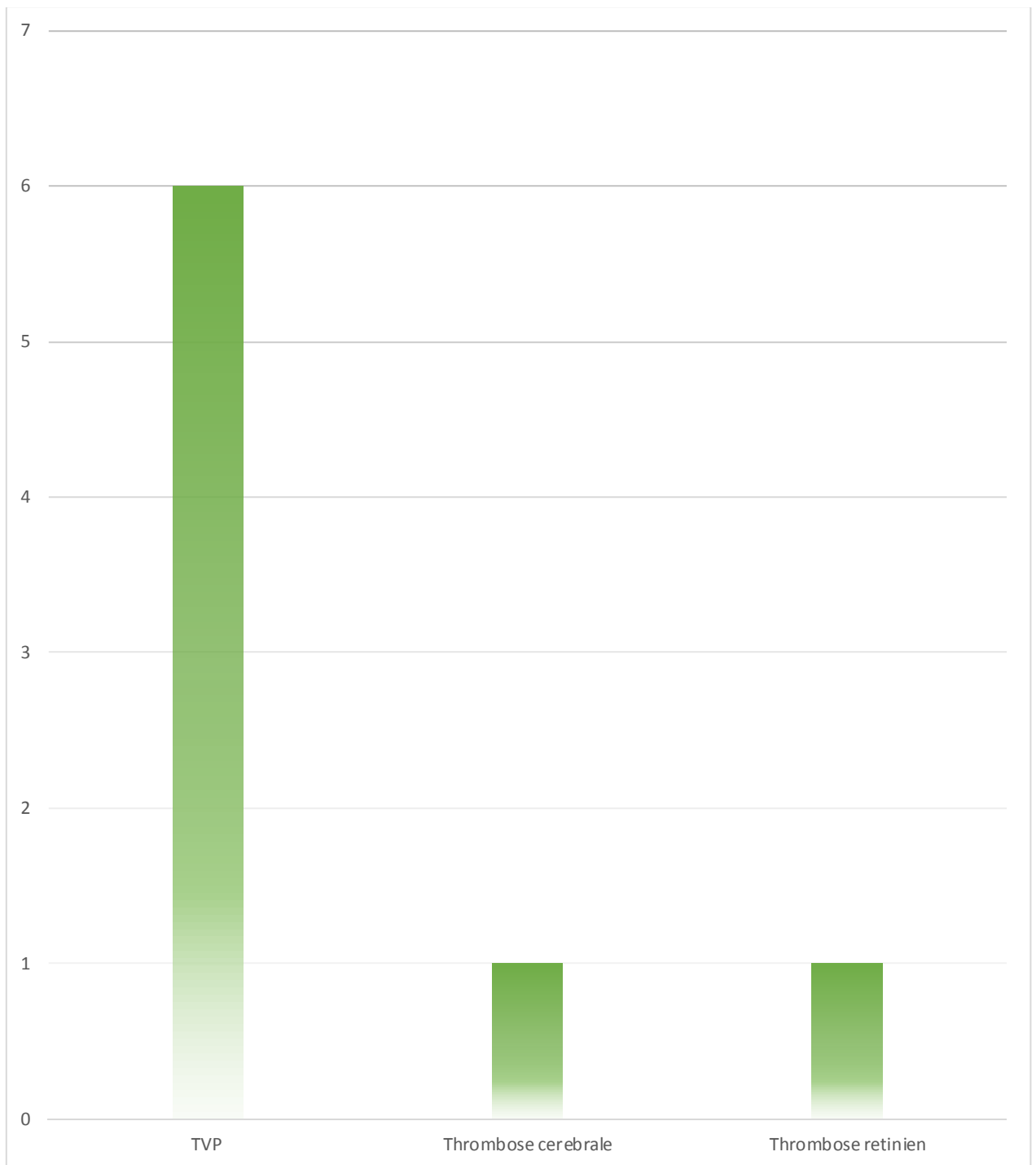


Figure 09: types de thrombose chez les patients avec SAPL.

d-Type de SAPL :

62.5 % des malades de groupe 01 ont un SAPL primaire alors que **37.5 %** ont un SAPL secondaire.

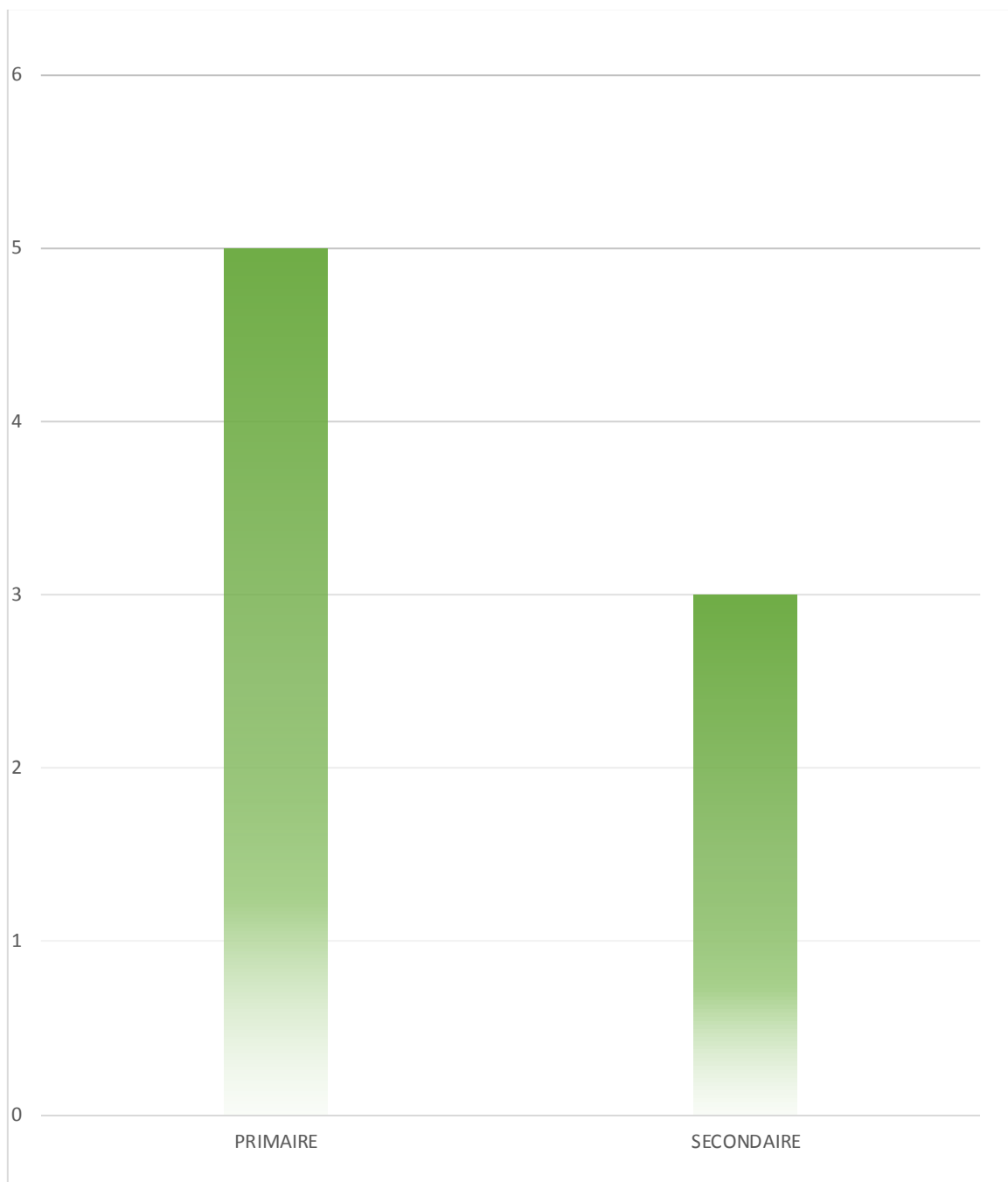


Figure 10 : type de SAPL chez les malade de groupe 01

e-type des maladies (groupe 02)

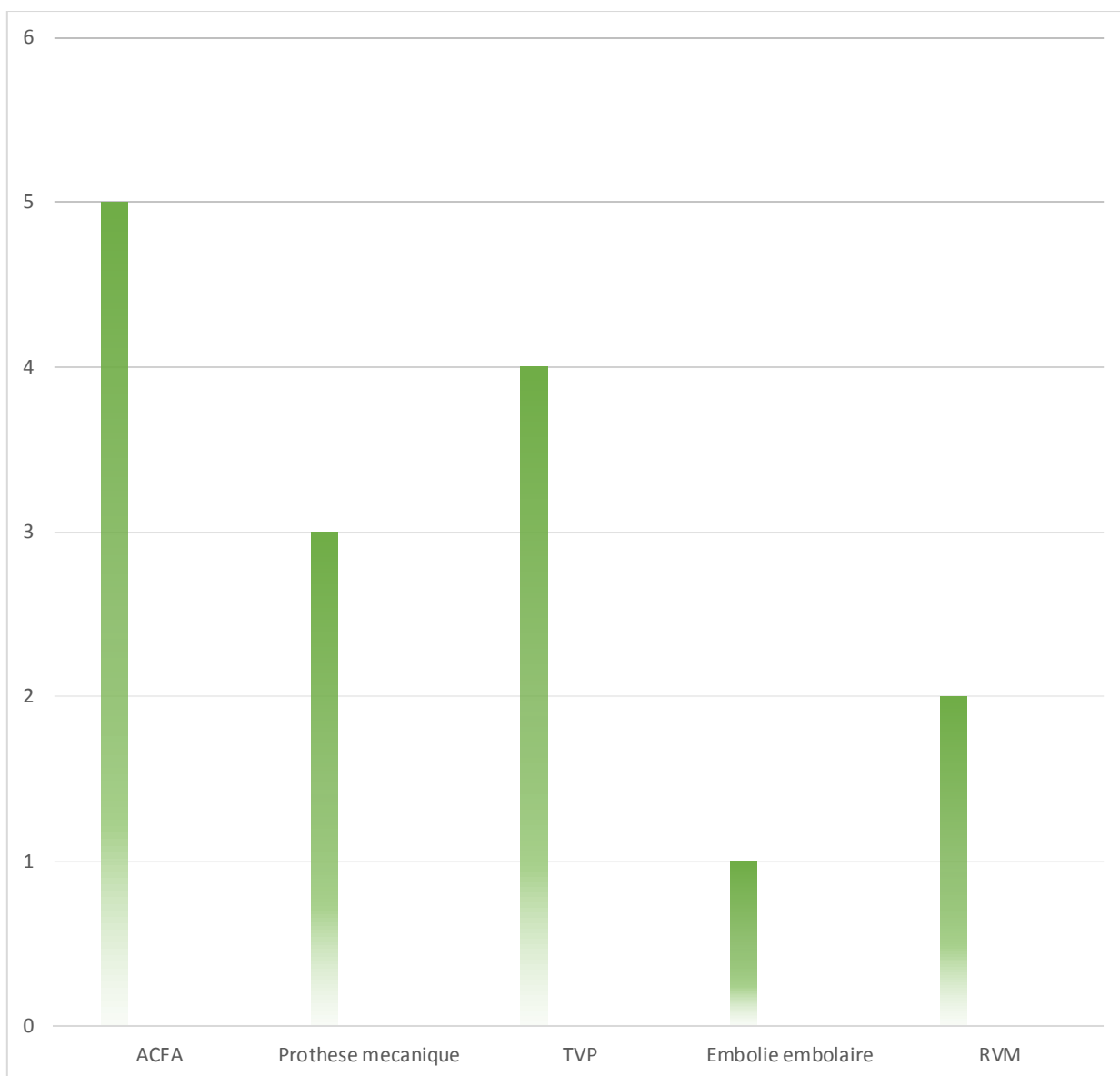


Figure 11 : type des maladies chez les patients sans SAPL.

IV.2. Interprétation des résultats statistiques

IV.2.1 : Pour évaluer la signification statistique de la différence des moyennes de l'INR :

Groupe 01 :

Tableau 09 : moyennes et écart types des INR selon les trois réactifs (Ra,Rb et Rc) avec le résultats de test de Friedman des patient avec SAPL.

Reactifs	Moyenne	Ecart type	Signification
Ra	2,5	1,16	P=0,009
Rb	3,08	2,01	
Rc	3,38	2,5	

la comparaison statistique des moyennes des INR entre les trois réactifs utilisées (Ra,Rb et Rc) donne un p-value < 0.05 , donc on doit rejeter l'hypothèse nulle ;c'est-à-dire la différence entre les moyennes d'INR selon les réactifs utilisés est statistiquement significative.

Tableau 10 : Résultats de test de wilcoxon pour les patients avec SAPL.

Réactifs comparés	Signification
Ra-Rb	0,035
Ra-Rc	0,018
Rb-Rc	0,05

Pour la comparaison la statistique entre les moyennes d'INR , on a trouvé :

- Pour Ra-Rb et Ra-Rc : un p value < 0.05 , donc on doit rejeter l'hypothèse nulle ;c'est-à-dire la différence entre les moyennes d'INR selon les réactifs utilisés est statistiquement significative.
- Pour Rb-Rc : un p value = 0.05 , donc on doit rejeter l'hypothèse nulle ; c'est-à-dire la différence entre les moyennes d'INR selon les réactifs utilisés est à la limite de signification statistique.

Groupe 02 :

Tableau 11: moyennes et écart types des INR selon les trois réactifs (Ra,Rb et Rc) avec le résultats de test de Friedman pour les patients sans SAPL.

Réactif	Moyenne	Ecart type	Signification
INRa	2,27	1,17	P=0.111
INRb	2,3	0,87	
INRc	2,01	0,72	

la comparaison statistique des moyennes des INR entre les trois réactifs utilisées (Ra,Rb et Rc) donne un p-value > 0.05 donc on doit retenir l'hypothèse nulle c'est-à-dire la différence entre les moyennes d'INR n'est pas statistiquement significative.

Tableau 12 : Résultats de test de wilcoxon pour les patients sans SAPL.

Réactifs comparés	Signification(p)
Ra-Rb	0,18
Ra-Rc	0,12
Rb -Rc	0,41

Pour la comparaison la statistique entre les moyennes d'INR, on a trouvé:

- Entre Ra et Rb, Entre Ra et Rc et entre Rb et Rc : un p value > 0.05 , donc on doit retenir l'hypothèse nulle ;c'est-à-dire la différence entre les moyennes d'INR selon les réactifs utilisés n'est pas statistiquement significative.

IV.2.2 Pour évaluer la signification clinique :

Tableau 13 : résultats de statistique de fiabilité pour les patients avec SAPL.

Réactifs	Coefficient Alpha a de Cronbach	Matrice de corrélation inter items
Ra_Rb	0,66	0 ,497
Ra_Rc	0,66	0 ,497
Rb_R C	1	1

Selon les résultats de coefficient α de cronbach et l'ICC , on remarque qu'il y a une très faible équivalence entre les Rb-Rc / Ra, Par contre elle est très bonne entre Rb-Rc..

IV.2.3 Coefficient de variation :

Tableau 14: résultats de coefficient variation selon chaque réactif pour les patients avec et sans SAPL.

Réactifs	Cv témoins (%)	Cv malades (%)
Ra	51 .5	46.4
Rb	37.8	65.25
Rc	35.8	73.96

La comparaison des coefficients de variation entre le groupe 01 et le groupe 02 montre que :

- Pour le réactif Ra : il y à une différence minime.
- Pour les deux réactifs Rb et Rc : Il y à une différence considérable.

V. Discussion

Dans la population du groupe de patients avec SAPL nous remarquons que la totalité de malades sont de sexes féminin .Ceci est concordant avec la littérature. En effet, la prévalence du SAPL chez les femmes est 4 à 5 fois plus élevée que les hommes pour le SAPL primaire, et 9 fois pour le SAPL secondaire .

Dans notre étude, nous avons traité deux groupes de population regroupés comme suit :

- Groupe 1 (population malades) : ce groupe est constitué de 8 malades qui sont atteints de SAPL et traitent avec les AVK.
- Groupe 2 (population témoins) : ce groupe est constitué de 14 malades qui sont traitent avec les AVK mais n'ont pas de SAPL.

Pour ces deux groupes, dans un premier temps, nous avons calculés l'INR de chaque malade en utilisant trois réactifs différents par leurs ISI et leurs origines (deux d'origine animale et un d'origine humain).

D'après ce que nous avons obtenus comme résultats :

- Pour la comparaison des moyenne d'INR au sein de chaque groupe, nous avons remarqué que :

Dans la première groupe Il y a une différence statistiquement significative « $P=0.035$ et $p=0.018$ » et cliniquement significative « $\alpha=0.66$ » considérable entre les moyennes d'INR obtenus par la thromboplastine d'origines animales d'une part et ceux obtenus par la thromboplastine humaines d'autres part.

Alors que si nous comparons les valeurs de l'INR données par les deux thromboplastines animales nous ne trouverons pas de différence statistiquement ou cliniquement significative.

Alors que dans la deuxième groupe il n'y a pas de différence entre ces moyenne selon les réactifs utilisés de façon générale

- pour la comparaison entre les deux groupes d'échantillons, nous avons remarqué que :

La valeur du CV de la thromboplastine humaine est la plus proche entre le groupe1 et 2, contrairement aux ceux obtenues par les deux autres réactifs d'origine animales toujours dans les deux groupes.

Et par conséquence, vue la diversité des thromboplastines qui a été maîtrisé par l'introduction de l'ISI, une telle discordance pourrait être secondaire à l'influence des antiphospholipides.

Ceci a été rapporté par plusieurs études, (Della Valle et al, 1996; Ortel, 1997) ainsi que les études de US, de Moll et Ortel, qui ont montré des écarts considérables dans l'INR mesurée avec différentes thromboplastines et ont mis en doute la validité du système INR dans la surveillance de l'anticoagulation orale chez les patients anticoagulants lupiques. **[38]**. Néanmoins, l'absence de norme d'or pour évaluer une telle influence, les preuves accumulées ont été basées principalement sur les indications indirectes.

Cependant, il faut se rendre compte que les écarts dans l'INR mesuré avec les différents réactifs peut également être dû à d'autres variables telles que l'influence des facteurs de coagulation non-vitamine K-dépendants(présence de taux réduits) , la stabilité de la thérapie, une mauvaise affectation de l'ISI aux systèmes de mesure et un calcul incorrect d'INR peuvent jouer un rôle crucial dans la comparaison entre les réactifs (Comité d'experts de l'OMS sur les Standardisation, 1999). **[2]**.

Pour ceci, d'autres travaux, tel que : Lawrie et al. ont observé une équivalence des déterminations de l'INR obtenues avec 8 thromboplastines chez les patients avec et sans SAPL après calibration locale de l' ISI avec l'utilisation des plasmas calibrés .

VI. Conclusion

En conclusion, nos données indiquent que l'interférence des antiphospholipides sur le TP± INR mesurée avec la majorité des thromboplastines commerciales n'est pas suffisante pour susciter des inquiétudes. Les thromboplastines insensibles aux apl et qui sont correctement calibrées pour leur attribuer une ISI spécifique à l'instrument, peuvent être utilisées pour surveiller un traitement anticoagulant oral chez les patients présentant un SAPL. . De plus , les thromboplastine sensibles aux aPL doivent être identifiés et éliminés.

D'autres approches pourraient consister à recourir à des tests alternatifs tels que les tests de temps de prothrombine-proconvertissement (P & P), qui utilisent des thromboplastines tissulaires (cerveau de lapin ou de bœuf) additionnées de fibrinogène et de facteur V (également appelées thromboplastines combinées). (Owren & Aas, 1951)

Une autre approche pourrait consister à utiliser une prescription de dose basée sur l'activité amidolytique de FX, connue pour ne pas être affectée par les antiphospholipides.

Cependant, l'incertitude de la gamme thérapeutique appropriée et le coût relativement élevé rendent ces approches plutôt discutables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Alessandri C, Conti F, Pendolino M, Mancini R, Valesini G, **New autoantigens in the antiphospholipid syndrome [archive]**, Autoimmun Rev, 2011;10:609–616
- [2]. Armando Tripodi,¹ Veena Chantarangkul,¹ Marigrazia Clerici,¹ Barbara Negri,¹ Monica Galli² and Pier Mannuccio Mannucci¹. **Laboratory control of oral anticoagulant treatment by the INR system in patients with the antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulant. Results of a collaborative study involving nine commercial thromboplastins** ¹The Angelo Bianchi Bonomi Haemophilia and Thrombosis Centre, Department of Internal Medicine, University and IRCCS Maggiore Hospital, Milano, and ²Haematology Division, Ospedali Riuniti, Bergamo, Italy Received 12 May 2001, accepted 6 July 2001.
- [3]. Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue française. **Item 117 : Les anticorps antiphospholipides dans le Syndrome des AntiPhosphoLipides (SAPL) et autres pathologies.** 2010-2011.
- [4]. Avcin T, Cimaz R, Silverman ED, Cervera R, Gattorno M, Garay S, et als. **Pediatric antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic features of 121 patients in an international registry [archive]**, Pediatrics, 2008;122:e1100-7.
- [5]. Bellucci.S : **Physiologie de l'hémostase primaire.** Ecycl Méd chir (EditionsScientifiques et médicales ELSEVIER MASSON SAS, Paris, tous droits réservés), Hématologie, 13-019-A-05, 2002, 9 p.
- [6]. Benoit Visseaux Julien Masliah-Planchon Anne-Marie Fischer Luc Darnige **Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : actualités** Service d'hématologie biologique, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris Ann Biol Clin 2011 ; 69 (4) : 411-8

[7]. Bezeaud A et Guilin MC :**Physiologie de la coagulation** .Encycle Méd Chir (Edition Scientifique et Médicale Elsevier SAS,Paris ,tous droits réservés) ,Hématologie ,13_019_A_20,2001 ;7p.

[8]. Bon.Ch(2005).**Controle hémostase** .ProBioQual.BP4016 69615 VILLEURBANNE Cedex Association régie par la loi du 01/07/1901.

[9]. Cohen D, Berger SP, Steup-Beekman GM, Bloemenkamp KWM, Bajema IM, **Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome** [archive], BMJ, 2010;340:c2541.

[10]. Comité des Médicaments de la COMEDIMS APHP. **Bon usage des antithrombotiques**. Octobre 2014.

[11]. Conley MR, Hartman RC. **A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus**. J Lab Clin Invest 1952; 31: 621-2.

[12] Darnige L. **Anticorps antiphospholipides: aspects analytiques et physiopathologiques**. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée 2001; 16: 359-367.

[13]. Denis Massignon.**Les limites du bilan standard d'hémostase** ;Elsevier SAS ;Revue Française des laboratoires ;N° 370 ;p33_40.[EMC]. février 2005

[14]. Denis Wahl^{1,2}, Leilah Saadi¹, Christine Perret-Guillaume³, Aurélie Membre², Muriel Frederic⁴, Jean Devignes⁵, Alain Blum⁶, Olivier Thiebaugeorges⁷, Véronique Regnault², Thomas Lecompte^{2,5}.**Syndrome des anti phospholipides. Classification actuelle et indications thérapeutiques**. 1 Médecine interne, thromboses, maladies vasculaires, CHU de Nancy, rue du Morvan, 54511 Vandoeuvre-Les-Nancy. 2 Inserm U 734, Faculté de médecine de Nancy, 54500 Vandoeuvre-Les-Nancy. 3 Centre de gériatrie, CHU de Nancy, rue du Morvan, 54511 Vandoeuvre-Les-Nancy. 4 Médecine interne, CHU de Nancy, rue du Morvan, 54511 Vandoeuvre-Les-Nancy 5 Hématologie biologique, CHU de Nancy, rue du Morvan, 54511 Vandoeuvre-Les-Nancy. 6 Imagerie Guilloz, CHU de Nancy, rue du Morvan, 54511 Vandoeuvre-Les-Nancy. 7 Maternité régionale, rue du Doyen Heydenreich, 54000 Nancy. mt, vol. 13, n° 2, mars-avril 2007.

[15]. Docteur Françoise SARROT-REYNAULD **Syndrome des antiphospholipides (117b)** Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble. *Novembre 2005*

[16]. Elalamy.I et Samama.MM : **physiologie de l'hémostase**. Encycl Méd chir (Editions Scientifiques et médicales ELSEVIER MASSON SAS, Paris, tous droits réservés), Angéiologie, 19-0100, 2001 , 6p.

[17]. François jobin .**l'hémostase** .Edition MALOIN

[18]. Gérard Espinosa , Ricard Cervera *, Josep Font , Yehuda Shoenfeld a a, a b **Antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms**. a :Department of Autoimmune Diseases, Institut Clinic d'Infeccions i Immunologia, Hospital Clinic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Catalonia, Spain.b : Department of Medicine 'B' and Center of Autoimmune Diseases, Sheba Medical Center, Tel-Hashomer, and Sackler Faculty of Medicine, Tel-Aviv University, Tel-Aviv, Israel Received 13 November 2002; accepted 12 December 2002

[19]. Guido Reber ;Françoise Boehlen..**Le tempes de prothrombine revisité 70 ans après** .Rev Med Suisse,4 :350-3. Drs Unité d'hémostase Service d'angiologie et hémostase ;HUG ;1211 Genève. 2008

[20]. H. KSOURI 1*, F. MELLOULI 2 ET M. BEJAOUI 2 **LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : PHYSIOPATHOLOGIE ET ASPECTS CLINICO-BIOLOGIQUES** . *Archs. I n s t . Pasteur Tunis*, 2008, 85

1.Service des Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse 2, Rue Jebel Lakdhar, 1006 TUNIS, TUNISIE

2.Unité Immuno-Hématologie, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse 2, TUNIS, TUNISIE.

[21]. Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the "antiphospholipid syndrome". *Br J Rheumatol* 1987; 26 (2): 19.

[22]. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; 2: 1211-4.

[23]. Hughes GR. The anticardiolipin syndrome.*ClinExpRheumatol* 1985; 3: 285-6.

[24]. Humbel RL, Sibilia J, San Marco M. **Syndrome des antiphospholipides. Hématologie** 2006 ; 12/2 : 101-110.

[25]. J Martin Bland, Douglas G Altman **Cronbach's alpha** statistics notes 12 décembre 1996.

[26]. J. Masliah-Planchon , L. Darnige* **Antiphospholipid antibodies and haemostasis** , Service d'hématologie biologique, hôpital européen Georges-Pompidou, AP-HP, 20, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France. La Revue de médecine interne 33 (2012) 181–188

[27].J_PLEVY,B.VARET ;J_P.CLAUVEL ;F.LEFRERE ;A.BEZEAUD,2PLEVY,B.VARET ;J_P.CLAUVEL ;F.LEFRERE ;A.BEZEAUD,M_C.GUILLIN:Hémobiologie et transfusion,2^e édition 2001.Edition ELSEVIER MASSON).P:525 ,526,444,446,456.

[28]. Jean-Louis Pasquali, Vincent Poindron, Anne-Sophie Korganow, Thierry Martin. **Physiopathologie du syndrome des antiphospholipides**. Service de médecine interne et immunologie clinique, Hôpitaux universitaires,Strasbourg. Presse Med. 2007; 36: 667–73 © 2006 Elsevier Masson SAS .

[29]. Julien Masliah-Planchon Anne-Marie Fischer Luc Darnige. **Antiphospholipid syndrome diagnosis: an update** Benoit Visseaux Service d'hématologie biologique, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris*Ann Biol Clin* 2011 ; 69 (4) : 411-8.

[30]. L. ARNAUD* et Z. AMOURA***PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE DU SAPL : MISE AU POINT** * Service de médecine interne 2, Centre National de Référence Lupus Systémique et Syndrome desAnticorps anti-phospholipides, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, INSERM UMR-S 945, Paris. UPMC Université Paris 06. MÉDECINE SCIENCES PUBLICATIONS/LAVOISIER – ACTUALITÉS NÉPHROLOGIQUES 2011.

[31]. L. Arnaud ^{a, b}, A. Mathian ^{a, b, c}, D. Le Thi Huong ^a, N. Costedoat-Chalumeau ^{a, c}, Z. Amoura ^{a, b, c} **Syndrome des antiphospholipides et**

grossesse. ^a Service de médecine interne 2, centre national de référence lupus systémique et syndrome des anticorps antiphospholipides, hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP 47-83, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris cedex 13, France. ^b Inserm UMR-S 945, Institut national de la santé et de la recherche médicale, 75013 Paris, France. ^c Université Pierre-et-Marie-Curie, UPMC, université Paris 06, 75013 Paris, France.

[32]. Loizou S, McCrea JD, Rudge AC, Reynolds R, Boyle CC, Harris EN. **Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results.** ClinExpImmunol 1985; 62: 738-45.

[33]. Lorraine Baumann. **éducation du patient sous antivitamin K.** Thèse Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Le 24 juin 2004

[34]. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. **Anticorps anti-phospholipides.** GEAI L'Info 2001 ; No 4 : 1-23.

[35] Moore JE, Mohr CF. Biologically false-positive tests for syphilis. JAMA 1952; 150: 463-73.

[36]. Nadine Magy, Benoît de Wazières, Helder Gil, Dominique-Angèle Vuitton, Jean-Louis Dupond, **Physiopathologie des anticorps antiphospholipides : des anticorps à la maladie.** Volume 11, numéro 3, Mars 1999.

[37]. Olga Amengual, Tatsuya Atsumi* and Takao Koike **Pathophysiology of Thrombosis and Potential Targeted Therapies in Antiphospholipid Syndrome** Department of Medicine II, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan. Current Vascular Pharmacology, 2011, 9, 606-618

[38]. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ,Comité OMS de la standardisation biologique.33ème rapport, série de rapport techniques n°687, Genève : 1983

[39]. Pangborn MC. A new serologically active phospholipid from beef heart.ProcSocExpBiol Med 1941; 48: 484-6.

[40]. PATRIZIA DELLA VALLE, LUCIANO CRIPPA, ANNA MARIA GARLANDO, ELISABETTA PATTARINI, OMIDSAFA,* SILVANA VIGANÒ D'ANGELO, ARMANDO D'ANGELO **Interference of lupus anticoagulants in prothrombin time**

assays:implications for selection of adequate methods to optimize the management of thrombosis in antiphospholipid-antibody syndrome. Coagulation Service and Thrombosis Research Unit, Scientific Institute H S. Raffaele, Milan, Italy. Haematologica 1999; 84:1065-1074

[41]. Pétri M, **Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome** [archive], J Autoimmun, 2000;15:145-51.

[42]. Sanmarco M, Alessi MC, Harle JR, Sapin C, Aillaud MF, Gentile S, Juhan-Vague I, Weiller PJ. **International consensus statement on an update of the classification criter for definite antiphospholipid syndrome (APS).** J Thromb Haemost 2006 ; 4 : 295-306

[43]. Soulier JP, Boffa MC. **Avortements à répétition, thromboses, anticoagulant circulant anti-thromboplastine.** Trois observations. Nouv Presse Med 1980; 9: 859- 65.

[44]. VergnesC..**Surveillance des antithrombotique ;N°272.p.89_99.**[EMC]. janvier 1995

[45]. Wasserman A, Neisser A, Bruck C. **Eineserodiagnostischereaktionbei syphilis.** Deutsche Med Wochenschr 1906; 32:745-6.

[46] www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Antiphospholipides-FRfrPub5517v01.pdf | Juillet 2008.Avec la collaboration de : Professeur Zahir Amoura, Centre de référence lupus et syndrome des anticorps anti-phospholipides CHU Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

Résumé :

I) Introduction: Le syndrome des anti phospholipides (SAPL) est définie par des manifestations thrombotiques et/ou de complications obstétricales associées à la présence des anti phospholipide (aPL). Les patients atteints de syndrome sont traités avec les anti vitamine K. Récemment, l'utilisation du test TP/INR chez ces patients a été contestée à cause de l'interférence possible des antiphospholipides. Pour cela, nous avons réalisé une étude comparative dont l'objectif principal était d'évaluer l'influence des antiphospholipides sur les résultats d'INR.

II) Matériels et méthodes: a) **population:** nous avons partagé notre population en deux groupes de patients, avec ou sans SAPL, et qui se traitent par les AVK.

b) **méthodologie:** Pour ces deux groupes, nous avons:

- Calculé l'INR de chaque malade en utilisant trois réactifs différents
 - Comparé les moyenne d'INR obtenues, par chaque réactif, entre les deux groupes en utilisant les tests statistiques adéquats.
- III) Résultats et Discussion:** Dans le premier groupe Il y a une différence statistiquement significative « $P=0.035$ et $p=0.018$ » et cliniquement significative « $\alpha=0.66$ » considérable entre les moyennes d'INR obtenus par la thromboplastine d'origines animales d'une part et ceux obtenus par la thromboplastine humaines d'autre part. Alors que pour le deuxième groupe on ne trouve pas de différence statistiquement ou cliniquement significative.

Une telle discordance pourrait être secondaire à l'influence des antiphospholipides. Ceci a mis en doute la validité du système INR dans la surveillance de l'anticoagulation orale chez les patients lupiques.

Cependant, ces écarts peuvent également être dû à d'autres variables c'est ce qu'a été rapporté par Lawrie et al.

VI) conclusion : la mesure de l'INR chez ces patients nécessite une calibration de l'ISI spécifique à l'instrument ainsi que les thromboplastine sensibles aux aPL doivent être identifiés et éliminés

Mots Clés: SAPL , INR, interference, AVK , thrombose

summary:

I) Introduction: The syndrome of antiphospholipids (SAPL) is defined by thrombotic manifestations and / or obstetrical complications associated with the presence of antiphospholipid (aPL). Patients with the syndrome are treated with anti-vitamin K. Recently, the use of the TP / INR test for those patients has been questioned because of the possible interference of antiphospholipids. Thus, we carried out a comparative study whose main objective was to evaluate the influence of antiphospholipids on the results of INR.

II) Materials and methods: a) Population: we have divided our population into two groups of patients, with or without SAPL, which are treated by the AVK.

b) methodology: For these two groups, we have:

- Calculated the INR of each patient using three different reagents
- Compared the average of INR obtained by each reagent between the two groups using the appropriate statistical tests.

III) Results and Discussion: In the first group There is a statistically significant difference " $P = 0.035$ and $p = 0.018$ " and clinically significant " $\alpha = 0.66$ " between the INR averages obtained by thromboplastin of animal origins on one hand, and those obtained by human thromboplastin on the other hand. While for the second group there is no difference statistically or clinically significant. Such discordance may be secondary to the influence of antiphospholipids, this questioned the validity of the INR system in monitoring oral anticoagulation in lupus patients.

However, these differences may also be due to other variables, as reported by Lawrie et al.

VI) conclusion: measurement of INR in these patients requires instrument-specific ISI calibration and aPL-sensitive thromboplastin which should be identified and eliminated.

Key words: APS, INR, interference, AVK, thrombosis.