

## ANTICOAGULANT CIRCULANT ANTICOAGULANT LUPIQUE

### DEFINITION

Les anticoagulants circulants (ACC) sont des inhibiteurs acquis de la coagulation. Ils peuvent être divisés en deux groupes d'expression clinique distincte :

– Les anticorps dirigés spécifiquement contre un facteur de la coagulation (anticorps anti-facteur) exposent à des accidents hémorragiques (voir fiche correspondante).

– Les ACC non spécifiques, dirigés contre une phase de la coagulation. Les plus fréquents sont les anticoagulants lupiques (dénommés ainsi car découverts initialement chez des patients atteints de lupus érythémateux systémique) ; ils exposent à un risque thrombotique. Ces anticorps, de nature immunoglobulinique, appartiennent à la grande famille des anticorps antiphospholipides (APL). Les anticorps pathogènes sont persistants : ils sont mis en évidence dans le plasma des patients pendant plus de trois mois. Par ailleurs, il existe des ACC non spécifiques, transitoires, parfois retrouvés dans le plasma de patients de tous âges, porteurs d'une infection intercurrente. Ces ACC ne sont associés à aucun risque, ni thrombotique ni hémorragique.

**Synonymes** : anticoagulant circulant (ACC) de type lupique (ou de type lupus), lupus anticoagulant (LA), anticorps anti-prothrombinase (ancienne dénomination).

### BIOPATHOLOGIE

La famille des APL comprend un ensemble d'autoanticorps (Ac) hétérogènes regroupant les LA, détectés sur un allongement des tests de coagulation dépendant des phospholipides, et d'autres Ac, principalement les anticardiolipines ou ACL et les Ac anti- $\beta_2$  glycoprotéine I (anti- $\beta_2$  GPI), mis en évidence par technique immunologique (de type ELISA). Ils ont initialement été dénommés « anticorps antiphospholipides » (APL) car leurs cibles avaient été identifiées comme étant différents antigènes de nature phospholipidique chargés négativement : cardiolipine, phosphatidylsérine... En réalité, ces anticorps sont dirigés contre des protéines ayant une affinité pour les phospholipides anioniques, c'est-à-dire la  $\beta_2$  GPI, la prothrombine, l'annexine V. De nombreuses observations cliniques ainsi que des modèles animaux plaident en faveur d'une pathogénicité des APL.

Le SAPL est une maladie auto-immune caractérisée par la présence d'APL dans le plasma de patients ayant des thromboses vasculaires et/ou des complications obstétricales récurrentes. Les critères diagnostiques de

patients ayant un SAPL ont été formulés par consensus international à Sapporo en 1999 (Wilson WA, 1999), puis révisés à Sydney en 2005 (Miyakis S, 2006). Le SAPL est défini par l'association **d'au moins un critère clinique et au moins un critère biologique** parmi les suivants

#### Critères cliniques

##### 1. Thrombose vasculaire :

Au moins un épisode clinique de thrombose artérielle, veineuse ou des petits vaisseaux dans n'importe quel territoire.

La thrombose doit être confirmée par imagerie, écho-doppler ou histologie à l'exception des thromboses veineuses superficielles. En cas de confirmation histologique, la thrombose doit être présente en l'absence de signes significatifs d'inflammation de la paroi vasculaire

##### 2. Pathologie obstétricale:

**(a)** Au moins une mort fœtale inexplicée d'un fœtus morphologiquement normal à partir de la 10<sup>e</sup> semaine de grossesse (la morphologie normale du fœtus doit être confirmée à l'échographie ou par examen direct du fœtus) ou

**(b)** Au moins une naissance prématurée d'un nouveau-né morphologiquement normal à ou avant 34 semaines de grossesse en raison d'une pré-éclampsie sévère ou d'une éclampsie ou d'une insuffisance placentaire sévère ou

**(c)** Au moins trois fausses-couches spontanées avant la 10<sup>e</sup> semaine de grossesse sans anomalie anatomique ou hormonale maternelle et sans anomalie chromosomique maternelle ou paternelle.

#### Critères biologiques

**1.** Présence d'anticorps anti-cardiolipine ou anti- $\beta_2$  glycoprotéine I d'isotype IgG et/ou IgM à titre modéré ou élevé sur au moins deux prélèvements effectués à au moins 12 semaines d'intervalle, mesurés par une technique ELISA standardisée mettant en évidence les anticorps anti-cardiolipine  $\beta_2$ -GPI dépendants

**2.** Présence d'un anticoagulant circulant de type lupique retrouvé sur au moins deux prélèvements effectués à au moins six mois d'intervalle dans les conditions définies par la Société Internationale d'Hémostase et Thrombose (*cf. infra*)

*Consensus international de classification du SAPL d'après Wilson et al, (Arthritis Rheum 1999; 42: 1309-1311) révisé par Miyakis et al, (J. Thromb. Haemost. 2006;295-306.*

L'identification des APL est une étape essentielle du diagnostic de SAPL et repose sur trois tests différents :

- un test de coagulation phospholipides-dépendant, permettant d'identifier les anticoagulants lupiques ou LA,

- un test ELISA, identifiant les ACL,

- un test ELISA mettant en évidence les Ac anti- $\beta_2$ GPI.

Ces tests sont différents mais non-indépendants et ils n'ont pas la même signification clinique. Les ACL reconnaissent essentiellement la  $\beta_2$ GPI et les LA regroupent des Ac anti- $\beta_2$ GPI et des Ac anti-

prothrombine. Au plan clinique, de nombreux arguments plaident en faveur du caractère pathologique des anti- $\beta$ 2GPI et plusieurs études ont bien montré que le test de coagulation identifiant les LA est le test de choix pour identifier les APL cliniquement significatifs, en particulier le dRVVT. Ainsi, les patients LA+ et anti- $\beta$ 2GPI+ sont plus à risque de récurrence de thrombose que ceux LA+ ou anti- $\beta$ 2GPI+.

Outre le SAPL, les anticoagulants lupiques peuvent être détectés dans diverses circonstances cliniques : syndromes lymphoprolifératifs, cancers, maladies infectieuses (syphilis, VIH, viroses aiguës), prises médicamenteuses, voire chez des individus en dehors de tout contexte pathologique (notamment les sujets âgés et les jeunes enfants).

Leur présence peut être transitoire, en particulier au cours de syndromes infectieux (notamment chez l'enfant) et ils ne sont alors pas thrombogènes, ou permanente et ils sont alors significativement associés à un risque augmenté de thromboses et/ou de complications obstétricales.

## INDICATIONS DE LA RECHERCHE

La recherche de LA doit être pertinente *i.e.* se limiter aux patients ayant une probabilité significative d'avoir un SAPL :

- faible : thrombose veineuse (TV) ou artérielle (TA) du sujet âgé,
- modérée : découverte fortuite d'un allongement du TCA chez un sujet asymptomatique, thrombose veineuse provoquée du sujet jeune, fausse couche spontanée précoce < 10 semaines de grossesse,
- forte : TV ou TA inexplicée du sujet jeune (< 50 ans), thrombose de localisation inhabituelle, perte fœtale tardive (> 10 semaines de grossesse), toute thrombose ou complication obstétricale survenant dans un contexte de pathologie auto-immune.

En effet, en cas d'APL positifs, il existe un risque élevé de récurrence thrombotique ou obstétricale avec, comme conséquence, un traitement par antivitamines K (AVK) au long cours et donc une exposition à un risque hémorragique. Il faut donc faire attention aux diagnostics par excès.

## RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

### ■ PRELEVEMENT – CONSERVATION – TRANSPORT

Prélever si possible en l'absence de traitement anticoagulant, du plasma frais recueilli sur tube citraté (0,109 M ou 0,129 M). Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole) qui permet une meilleure conservation du prélèvement (à privilégier lorsque le délai d'acheminement du tube est supérieur à 2 heures et inférieur à 3-4 heures). Tout autre anticoagulant doit

être proscrit.

Les tests sur plasmas congelés-décongelés sont autorisés si une double centrifugation préalable est effectuée, afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes (PPP < 10 G/l plaquettes) c'est-à-dire après avoir effectué une 1<sup>o</sup> centrifugation du tube primaire 15 min à 2000 g à température ambiante, puis une 2<sup>o</sup> centrifugation du plasma décanté 10 min à plus de 2500 g, à température ambiante; puis avoir congelé rapidement à une température  $\leq$  à -70 °C et décongelé au bain-marie à 37 °C pendant 5 min maximum.

Il n'est pas conseillé de filtrer le plasma (filtres de 0,22  $\mu$ m) car cela peut entraîner une altération d'autres protéines de la coagulation (FVIII) et un allongement artificiel du TCA, ni de procéder à une ultracentrifugation, risquant de provoquer une fragmentation des plaquettes et l'exposition des PL neutralisant l'APL.

Le prélèvement n'est pas obligatoirement réalisé à jeun : une collation légère sans matière grasse est autorisée.

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions précises de prélèvement et conservation-transport.

### ■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Contexte clinique : antécédents de thrombose veineuse et/ou artérielle ou de pertes fœtales répétées ?

Prenez-vous un des médicaments suivants ?

- Héparine non fractionnée (Calciparine<sup>®</sup>, Héparine<sup>®</sup> Choay), héparines de bas poids moléculaire (Fraxiparine<sup>®</sup>Fraxodi<sup>®</sup>, Fragmine<sup>®</sup>, Lovenox<sup>®</sup>, Innohep<sup>®</sup>, Clivarine<sup>®</sup>), hirudine et ses dérivés (Revasc<sup>®</sup>, Refludan<sup>®</sup>), dabigatran (Pradaxa<sup>®</sup>), rivaroxaban (Xarelto<sup>®</sup>), apixaban (Eliquis<sup>®</sup>) (cf paragraphe « Interprétation »).

- Phénotiazines (Largactil<sup>®</sup>, Melleril<sup>®</sup>, Tercian<sup>®</sup>...), certains antibiotiques, interféron alpha (Introna<sup>®</sup>Pegasys<sup>®</sup>, Roféron-A<sup>®</sup>, Viraféron<sup>®</sup>, ViraféronPeg<sup>®</sup>) : la présence d'anticoagulant lupique a été décrite chez des sujets prenant ces traitements.

## RECHERCHE ET IDENTIFICATION DE LUPUS ANTICOAGULANTS

### ■ Critères du SSC/ISTH : recommandations de 2009 (Pengo V, *Thromb Haemost*)

#### 1- Tests de dépistage

Il est recommandé d'utiliser deux tests (pas moins, pas plus), fondés sur des principes différents.

- Test au venin de vipère Russell (dRVVT) en 1<sup>o</sup> intention, pour sa spécificité vis-à-vis des LA  $\beta$ 2GPI1-dépendants. Par activation directe du FX, il court-circuite le FVII, les facteurs de la phase contact, le FVIII et le FIX ;

- TCA sensible, utilisant de la silice comme activateur et une faible concentration en phospholipides.

Ne sont pas (ou plus) conseillés les tests suivants : TCA avec comme activateur le kaolin ou l'acide ellagique (peu sensibles), le temps de thromboplastine dilué (variabilité entre thromboplastines), les tests utilisant des venins de serpents comme l'écarine ou la textrarine (absence de test commercial bien standardisé), le KCT (mauvaise reproductibilité).

## 2- Tests de mélange

L'objectif est de montrer l'absence de correction du temps de coagulation si l'allongement est dû à un inhibiteur, mais il faut rester prudent en cas de LA faible (faux négatifs par dilution).

Le test de mélange utilise un pool de plasmas normaux dont la préparation a été spécifiquement validée pour la recherche de LA : soit préparé au laboratoire (après double centrifugation), soit commercial, congelé ou lyophilisé. Dans ce dernier cas, il convient de vérifier les spécifications du fournisseur (taux normal des facteurs, exempt de plaquettes). Le mélange se fait volume à volume, sans pré-incubation (de faux positifs ont été décrits par augmentation du pH à 37 °C).

## 3- Test de confirmation

Il est effectué en augmentant la concentration en PL du test de dépistage anormal, ou en utilisant des PL en phase hexagonale.

### Place des tests « intégrés » en TCA ou en dRVVT

Ils comprennent la réalisation en parallèle d'un test de dépistage (faible concentration en PL) et d'un test de confirmation (forte concentration en PL) et ne nécessitent pas, en principe, de test de mélange. Ils sont de plus en plus souvent proposés par les industriels, mais leur utilisation reste débattue.

### Le test de mélange a-t-il encore un intérêt ?

Cette question est posée devant la possibilité d'utiliser des tests intégrés et devant le risque de non-dépistage de LA faibles. Le test de mélange reste intéressant quand le test de confirmation ne corrige pas le test de dépistage anormal, en particulier chez les patients sous AVK ou ayant un déficit en facteur ou un Ac anti-facteur ou bien, dans des cas particuliers de LA très puissants, non neutralisés par les phospholipides du test de confirmation.

## INTERPRETATION

### 1- Calcul des seuils de positivité (*cut-off*)

Ils doivent être définis à partir des résultats obtenus sur une population de sujets sains (au moins 40 sujets de moins de 50 ans), localement pour un couple réactif-automate (ne pas utiliser de seuils prédéfinis).

Ce seuil correspond au calcul du 99<sup>e</sup> percentile (c'est-à-dire que 1 % de la population « normale » aura un résultat supérieur au *cut-off*, plutôt que d'utiliser la moyenne  $\pm$  2 écarts-types (2,5 % de la population

normale auront des résultats  $>$  au *cut-off*), pour chacun des tests utilisés.

Pour le test de dépistage, il convient d'établir ce seuil sur le temps de coagulation du malade (M) ou sur le ratio M+T/T ; pour le test de mélange, sur le temps de coagulation M+T ou le ratio M+T/T ou calculer un index de correction (différent de l'index de Rosner) :  $[(T+M)-T]/M \times 100$ .

Concernant les tests de confirmation et les tests intégrés, il convient de calculer la moyenne des pourcentages de correction individuels calculée ainsi :

a-  $[(\text{temps de dépistage} - \text{temps de confirmation}) / \text{temps de dépistage}] \times 100$

b- Ratio temps de dépistage/temps de confirmation

c- Ratio normalisé (réduit la variabilité intersérie =  $(\text{temps dépistage M} / \text{temps dépistage plasma normal (PN)}) / (\text{temps de confirmation M} / \text{temps de confirmation PN})$ ).

Tout résultat positif doit être confirmé au moins 12 semaines après le premier test et interprété au regard du profil APL complet du patient (patients à risque élevé de SAPL si association LA et autre APL). Attention aux traitements anticoagulants en cours et aux bilans réalisés en phase aiguë d'un épisode thrombotique (influence de la CRP, risquant d'entraîner de faux positifs).

### Sensibilité aux traitements anti-coagulants

- Recherche de LA sous héparine non fractionnée : certains réactifs commerciaux pour le dRVVT ou le TCA contiennent un inhibiteur de l'héparine (polybrène ou héparinase) jusque 0,6 à 0,8 U/ml (vérifier la normalité du temps de thrombine).

- Sous héparine de bas poids moléculaire (HBPM) : la recherche de LA est préconisée au moins 12 h après la dernière administration (l'interférence dépend du ratio anti-IIa/anti-Xa de l'HBPM).

- Sous AVK, la recherche sera effectuée idéalement 1 à 2 semaines après l'arrêt des AVK. Elle n'est recommandée que si l'INR est  $<$  1,5. Pour un INR compris entre 1,5 et 3, la recherche de LA est acceptée, à condition de faire un test de mélange.

- Sous anti-IIa (dabigatran), il n'y a pas actuellement de réponse. Sous rivaroxaban, un article récent (Merriman 2011) montre que la recherche de LA chez un patient traité conduit à de nombreux faux positifs. La recherche de LA n'est donc pas recommandée sous rivaroxaban.

### Interférences

La présence d'anti-facteurs (anti-FVIII, anti-FV) peut entraîner un LA faussement positif (mais le contexte clinique est différent). Par ailleurs, un LA peut interférer dans les dosages par méthode chromométrique du FVIII (non parallélisme des droites malade et témoin) et donc sur le titrage en unités Bethesda. Dans ce cas, le recours à un dosage chromogénique du FVIII est préférable.

### Transmission des résultats

Il convient de rendre un rapport de résultats quantitatifs avec leur interprétation. Il n'est pas conseillé de rendre un résultat « douteux » ou « limite » ; il est préférable de demander un contrôle.

**Le risque de thrombose veineuse** associé à la présence d'un anticoagulant lupique (persistant au moins 2 mois) est multiplié par un facteur variant de 6 à 12 par rapport à la population générale, selon la situation clinique considérée. Seule la persistance d'un anticoagulant lupique, contrôlée 12 semaines plus tard, permet de confirmer le diagnostic de SAPL. Il existe actuellement un consensus pour traiter les patients ayant un SAPL par une antivitamine K en ciblant un INR à 2,5 (intervalle toléré 2 à 3).

---

### POUR EN SAVOIR PLUS

- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T. et al. *International consensus statement on an update of the classification criteria for definite anti-phospholipid syndrome (APS)*. J. Thromb. Haemost. 2006; 4: 295-306.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, De Groot PG; Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. J Thromb Haemost. 2009 Oct;7(10):1737-1740.
- Merriman E, Kaplan Z, Butler J, Malan E, Gan E, Tran H. Rivaroxaban and false positive lupus anticoagulant testing. *Thromb Haemost* 2011;105(2):385-386.
- Visseaux B, Masliah-Planchon J, Fischer AM, Darnige L. Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : Actualités. *Ann Biol Clin* 2011 ; 69 (4) :411-418.
- Samama MM, Guinet C, Le Flem L. Deux nouveaux anticoagulants disponibles en 2011 : Dabigatran et Rivaroxaban. Leur impact sur les examens de coagulation. *Biotribune* 2011 ; 38 :16-21.