

Les anticoagulants circulants

les ACC

Les anticoagulants circulants (ACC) ont été décrits pour la 1^{ère} fois en 1952, puis, en 1963, a été établie leur relation avec les thromboses et en 1975-80, avec la survenue d'avortements répétés. Depuis 1990, de nombreuses publications ont été consacrées à la recherche des mécanismes de la toxicité des ACC/antiphospholipides (APL) et à leurs relations avec la prédisposition aux thromboses veineuses, artérielles et capillaires.

Dans quelles circonstances rechercher un ACC ?

- En cas de découverte fortuite d'un allongement du TCA sans étiologie connue ;
- Chez un patient ayant souffert de thrombose artérielle ou veineuse avant 50 ans ;
- En cas de thrombose de localisation inhabituelle (mésentérique, cérébrale..) ou associée à une maladie auto-immune (lupus, arthrite rhumatoïde, thrombopénie ou anémie hémolytique auto-immune) ;
- Devant des complications obstétricales.

Définition des Ac antiphospholipides (aPL)

Les aPL sont un groupe hétérogène d'anticorps, reconnaissant des phospholipides (PL) anioniques (cardiolipine, phosphatidylsérine) ou neutres (phosphatidyléthanolamine) et/ou des protéines plasmatiques liant ces phospholipides (comme la β 2-glycoprotéine I ou la prothrombine).

Mise en évidence des APL

- Les ACC de type lupique (= lupus anticoagulant ou LA ou ACC de type antiprothrombinase) sont détectés par des tests de coagulation PL-dépendants ;
- Les anticorps anticardiolipine (aCL) et les anti- β 2-glycoprotéine 1 (anti- β 2GPI) sont mis en évidence par des tests ELISA.

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL)

Diagnostic du SAPL = au moins 1 critère clinique + au moins 1 critère biologique.

Critères cliniques de Sapporo

Thromboses vasculaires :

- un ou plusieurs épisodes de thromboses artérielles ou veineuses quel que soit l'organe et le tissu,

- confirmé par l'imagerie, le Doppler ou l'histopathologie qui ne doit pas montrer de vascularite.

Manifestations obstétricales :

- une ou plusieurs morts fœtales (>10 sem) inexpliquées (morphologie normale),
- un ou plus enfant prématuré (< 34 sem) due à une éclampsie ou à une insuffisance placentaire,
- trois ou plus avortements spontanés (< 10 sem) sans cause anatomique ou hormonale ni génétique.

Critères biologiques

(Critères Sapporo révisés : *S Miyakis et al, J.Thromb Haemost, 2006;4:295-306*)

Persistance > 12 semaines :

- d'un lupus Anticoagulant (recherché selon les recommandations de l'ISTH),
- ou d'aCL de titres élevés ou moyens : IgG et/ou IgM > 40 GPL/MPL (ou > 99^e percentile des contrôles) par ELISA standardisé,
- ou d'anti- β 2GPI IgG et/ou IgM, > 99^e percentile des contrôles (selon les recommandations du forum européen) par ELISA standardisé.

Le SAPL est exclu si plus de 5 ans ont passé entre les test aPL positifs et les manifestations cliniques.

SAPL : associations biologiques

Un sujet ayant un SAPL peut avoir un test de Coombs direct positif, une thrombopénie et une fraction C4 abaissée.

De nouveaux critères (amendements de Sydney 2005) distinguent différents sous-groupes de SAPL (*Miyakis et al. J Thromb Haemost, Février 2006*)

Suivant le type d'aPL identifié

- Type I : si combinaison d'aPL
- Type IIa : LA isolé
- Type IIb : aCL isolé
- Type IIc : anti- β 2GPI isolé

Suivant l'association à une maladie auto-immune (MAI)

- Primaire : sans MAI
- Secondaire : avec MAI

Suivant la forme évolutive

- Syndrome catastrophique des aPL (CAPS).

Recherche des ACC de type lupique par des tests de coagulation

International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. S Miyakis et al, J.Thromb Haemost,2006;4:295-306.

Recommandations de l'ISTH : 4 étapes

1. Dépistage

Aucun test ne détecte seul la totalité des LA. Actuellement, il est recommandé d'utiliser au moins deux tests, fondés de préférence sur des principes différents : le TCA (explorant la voie intrinsèque de la coagulation), avec un réactif sensible (ni kaolin, ni acide ellagique) et le temps de Venin de Vipère Russell Dilué (dRVVT) (explorant la voie commune). L'utilisation du Temps de Thromboplastine Diluée (TTD) n'est pas recommandée.

2. Mise en évidence d'une activité inhibitrice

C'est l'épreuve de correction ou mélange à parties égales des plasmas du malade et d'un témoin "M+T".

Le plasma témoin à utiliser doit être déplaqué par double centrifugation ou filtration. Idéalement, il faut utiliser un pool de plasma frais de sujets sains (n > 20), conservé à -80 °C (plusieurs mois) ou à -20 °C (quelques semaines), en aliquotes de 0,5 ml. Il est aussi possible d'utiliser des pools commerciaux, lyophilisés ou congelés, marqués CE.

Le test est positif en cas d'absence de correction ou de raccourcissement insuffisant de l'allongement du test de dépistage. Le TCA s'interprète par l'indice de Rosner (IR).

$$IR = [(M + T) - T / M] \times 100$$

< 13 % : absence d'ACC > 13 % : présence d'ACC.

Le résultat du dRVVT est exprimé en ratio R1 (M / T) pour le dépistage (≤ 1,20 : absence d'ACC ; > 1,20 : présence d'ACC, confirmation nécessaire).

3. Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur

Cette étape permet le diagnostic différentiel entre les LA et les inhibiteurs dirigés contre un facteur de la coagulation. L'augmentation de la concentration en PL dans le milieu neutralise l'effet du LA et raccourcit le temps de coagulation si l'allongement est dû à un LA. Dans le système TCA, il s'agit de calculer le Δt après ajout soit d'extraits plaquettaires (Triplet) : Staclot PNP®, soit de phospholipides : Staclot LA®, SCT®... Dans le système dRVVT est calculé un ratio normalisé : R1/R2 (> 1,20 : présence d'ACC de type lupique).

4. Exclusion d'une autre anomalie de la coagulation (inhibiteurs spécifiques)

Le fait de trouver un ACC n'exclut pas une anomalie de la coagulation qu'il convient donc d'éliminer en effectuant des dosages des facteurs VIII, IX, XI à différentes dilutions. Typiquement, en présence d'un LA, les taux de tous les facteurs remontent en poussant les dilutions jusqu'au 1/80^e.

Biologie du SAPL : tests immunologiques

1. Les anticorps anti-phospholipides par ELISA

Ils reconnaissent la cardiolipine et les PL anioniques. On distingue les aCL indépendants d'un cofacteur, retrouvés au cours d'infections, et les aCL dépendants d'un cofacteur, détectés au cours des maladies auto-immunes et associés aux thromboses. Les isotypes recherchés sont les IgG, les plus fortement associés à la pathogénie, et les IgM, rares au cours du SAPL, souvent transitoires (infections) ; les IgA sont peu informatives.

Les tests utilisés sont des ELISA aCL ; les résultats, quantitatifs, sont exprimés en unités GPL/MPL en fonction du standard universel "Harris". Il existe une corrélation entre un taux élevé

d'aCL et le risque de survenue d'un SAPL.

	Lupus anticoagulant	Anti-facteur voie intrinsèque	Déficit facteur voie intrinsèque
TP/TQ	Normal ou modérément diminué	Normal	Normal
TCA	Allongé	Allongé	Allongé
Indice de Rosner	> 15	> 15	< 12
dRVVT dépistage/confirmation	Positif	Négatif	Négatif
Facteurs voie intrinsèque	Normaux ou diminution de ++ facteurs correction avec dilutions du plasma	Diminution du facteur cible non corrigé par dilution du plasma	Diminution d'un facteur

2. Les autres anticorps anti-phospholipides par ELISA

Les Ac anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) sont moins bien documentés. Ils seraient retrouvés au cours de SAPL sans aPL. Leur intérêt diagnostique reste à démontrer par des études multicentriques.

3. Les anticorps anti-cofacteurs protéiques

- De nombreuses protéines plasmatiques ont un rôle de cofacteurs vis-à-vis des aPL, notamment la β2GPI ou apolipoprotéine H. Les anticorps anti-β2GPI d'isotypes IgG et IgM sont recherchés par ELISA utilisant comme antigène de la β2GPI humaine purifiée. En pratique, on peut trouver des sérums aCL positif / aβ2GPI négatif, correspondant le plus souvent à la présence d'aCL β2GPI indépendants dans le contexte d'infections ou de tumeurs, ou des aCL dirigés contre d'autres cofacteurs, voire ne reconnaissant que la β2GPI animale ; ou bien des sérums avec aCL négatif / aβ2GPI positif correspondant à des Ac ne reconnaissant que la β2GPI humaine, ou dépendant d'épitopes situés au niveau du site de liaison aux PL.
- Les anticorps anti-prothrombine (aPT) représentent une grande partie des LA chez les patients ayant un SAPL. Peu spécifiques, décrits dans des contextes cliniques très variés allant du lupus aux épisodes infectieux, leur recherche a peu d'intérêt à l'heure actuelle en routine.

Situations associées à la présence d'aPL (autres que SAPL)

- Maladies auto-immunes :** lupus érythémateux systémique, connectivite mixte, polyarthrite rhumatoïde, Sd de Gougerot-Sjogren, sclérodermie, DID, SEP, myasthénie, PTI ;
- Affections malignes :** thymomes, cancers solides, SMP, leucémies, lymphomes, macroglobulinémie de Waldenström ;
- Maladies infectieuses :** fièvre Q, syphilis, maladie de Lyme, infections à *Mycoplasma*, à *Chlamydia*, *S. aureus*, Streptocoques, HIV, HCV, HBV, CMV, EBV, rougeole, rubéole, oreillons, Parvo B19, paludisme, toxoplasmose... ;
- Autres :** médicaments inducteurs (phénothiazine, hydantoïne, pénicillines, oestroprogestatifs, procainamide, IFN alpha...), cirrhose, insuffisance rénale terminale, éthyliisme...

Carole Emile, d'après une communication de Léna Le Flem, Biomnis Paris.

