

2021 - 2022

Thèse

pour le

Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

**Étude des discordances
d'RVVT/Staclot-LA dans la recherche
d'un lupus anticoagulant :
Profils clinico-biologiques et
impact clinique**



VANDOMEL Anne-Cécile

Née le 23/11/1993 à La Garenne-Colombes (92)

Sous la direction de Mr le Docteur Alban GODON

Membres du jury

Monsieur le Professeur Matthieu EVEILLARD | Président

Monsieur le Docteur Alban GODON | Directeur

Madame le Docteur Marie TUFFIGO | Membre

Monsieur le Docteur Christian LAVIGNE | Membre

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée VANDOME Anne-Cécile déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiante le **17/09/2022**



DÉCLARATION D'ENGAGEMENT DE L'AUTEUR

"La Faculté de Santé déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation."

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr Frédéric Lagarce

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie	Médecine
ANNWEILER Cédric	Gériatrie et biologie du vieillissement	Médecine
ASFAR Pierre	Réanimation	Médecine
AUBE Christophe	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
AUGUSTO Jean-François	Néphrologie	Médecine
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BELLANGER William	Médecine Générale	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BIGOT Pierre	Urologie	Médecine
BONNEAU Dominique	Génétique	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie	Médecine
BOUET Pierre-Emmanuel	Gynécologie-obstétrique	Médecine
BOUVARD Béatrice	Rhumatologie	Médecine
BOURSIER Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
BRIET Marie	Pharmacologie	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CONNAN Laurent	Médecine générale	Médecine
COPIN Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine Générale	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
D'ESCATHA Alexis	Médecine et santé au travail	Médecine
DINOMAIS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUBEE Vincent	Maladies Infectieuses et Tropicales	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FAURE Sébastien	Pharmacologie physiologie	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie	Médecine
FURBER Alain	Cardiologie	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie	Médecine
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie
GUITTON Christophe	Médecine intensive-réanimation	Médecine
HAMY Antoine	Chirurgie générale	Médecine
HENNI Samir	Médecine Vasculaire	Médecine
HUNAULT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion	Médecine
IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion	Médecine
JEANNIN Pascale	Immunologie	Médecine
KEMPF Marie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine

LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie	Médecine
LAGARCE Frédéric	Biopharmacie	Pharmacie
LARCHER Gérald	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
LEGENDRE Guillaume	Gynécologie-obstétrique	Médecine
LEGRAND Erick	Rhumatologie	Médecine
LERMITE Emilie	Chirurgie générale	Médecine
LEROLLE Nicolas	Réanimation	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
MARCHAIS Véronique	Bactériologie-virologie	Pharmacie
MARTIN Ludovic	Dermato-vénérérologie	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et Santé au Travail	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et Biologie Moléculaire	Médecine
PRUNIER Fabrice	Cardiologie	Médecine
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
RICHOMME Pascal	Pharmacognosie	Pharmacie
RODIEN Patrice	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROY Pierre-Marie	Médecine d'urgence	Médecine
SAULNIER Patrick	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	Pneumologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	Pédiatrie	Médecine
VENARA Aurélien	Chirurgie viscérale et digestive	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANGOULVANT Cécile	Médecine Générale	Médecine
BAGLIN Isabelle	Chimie thérapeutique	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BEGUE Cyril	Médecine générale	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BEOLONCLE François	Réanimation	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie	Pharmacie
BESSAGUET Flavien	Physiologie Pharmacologie	Pharmacie
BIERE Loïc	Cardiologie	Médecine
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
BRIET Claire	Endocrinologie, Diabète et maladies métaboliques	Médecine
BRIS Céline	Biochimie et biologie moléculaire	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CASSEREAU Julien	Neurologie	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie / physiologie	Pharmacie
COLIN Estelle	Génétique	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie
DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
GUELFF Jessica	Médecine Générale	Médecine
HAMEL Jean-François	Biostatistiques, informatique médicale	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	Biotechnologie	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	Médecine générale	Médecine
KHIATI Salim	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie	Médecine
LACOEUILLE Franck	Radiopharmacie	Pharmacie
LANDREAU Anne	Botanique/ Mycologie	Pharmacie
LEBDAI Souhil	Urologie	Médecine
LEGEAY Samuel	Pharmacocinétique	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	Neurochirurgie	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Pharmacognosie	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
LUQUE PAZ Damien	Hématologie biologique	Médecine
MABILLEAU Guillaume	Histologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MIOT Charline	Immunologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAILHORIES Hélène	Bactériologie-virologie	Médecine
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine

PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
POIROUX Laurent	Sciences infirmières	Médecine
PY Thibaut	Médecine Générale	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	Médecine Générale	Médecine
RINEAU Emmanuel	Anesthésiologie réanimation	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistiques	Pharmacie
RIQUIN Elise	Pédopsychiatrie ; addictologie	Médecine
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SAVARY Camille	Pharmacologie-Toxicologie	Pharmacie
SCHMITT Françoise	Chirurgie infantile	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	Pharmacie Clinique et Education Thérapeutique	Pharmacie
TESSIER-CAZENEUVE Christine	Médecine Générale	Médecine
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	Médecine Générale	Médecine
VIAULT Guillaume	Chimie organique	Pharmacie

AUTRES ENSEIGNANTS

PRCE		
AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BARBEROUSSE Michel	Informatique	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine
PAST		
CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
DILÉ Nathalie	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Pharmacie clinique	Pharmacie
PAPIN-PUREN Claire	Officine	Pharmacie
SAVARY Dominique	Médecine d'urgence	Médecine
PLP		
CHIKH Yamina	Economie-gestion	Médecine

Monsieur le Professeur Matthieu EVEILLARD

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Merci pour votre enseignement au cours de mon semestre en bactériologie, j'en garde un très bon souvenir.

Monsieur le Docteur Alban GODON

Cher Alban, un grand merci pour m'avoir proposé ce sujet très intéressant. Je te suis reconnaissante pour la confiance que tu m'as accordée tout au long de l'année et pour tes conseils avisés qui ont été précieux dans l'élaboration de ce travail. J'ai été ravie de travailler à tes côtés, merci pour ta bienveillance.

Madame le Docteur Marie TUFFIGO

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse et d'avoir été disponible tout au long de mon internat pour répondre à mes questions. Merci d'avoir pris le temps de m'expliquer les bilans d'hémostase spécialisée au cours de ce semestre. J'ai beaucoup appris à tes côtés et t'en suis très reconnaissante.

Monsieur le Docteur Christian LAVIGNE

Je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse, et d'accepter de juger ce travail.

A l'ensemble de l'équipe du laboratoire d'hématologie

Madame le professeur Valérie UGO : merci de m'avoir soutenue dans le choix d'une maquette hématologie. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

A l'ensemble des biologistes (Dr Godon, Dr Tuffigo, Dr Lemoine, Dr Genevieve, Dr Luque-Paz, Dr Bouvier, Dr Cottin, Dr Wiber et Dr Bachelot) : merci à tous pour la qualité de votre formation. Merci à Aline et à tous les techniciens pour votre bonne humeur et votre soutien tout au long du semestre. Isabelle : merci de m'avoir aidé pour les extractions Glims et d'avoir contribué à ma formation en hémostase, je t'en suis très reconnaissante. Anne-France : ta gentillesse m'a beaucoup touchée, merci de m'avoir montré les différentes techniques, et d'avoir pris le temps de répondre à mes questions.

A l'ensemble des équipes des laboratoires de bactériologie, virologie, biochimie et immunologie

J'ai commencé mon internat parmi vous, et malgré la période bien particulière que nous avons vécu, j'en garde de très bons souvenirs. Merci à tous.

A l'ensemble de l'équipe du laboratoire LABOUEST

Aux biologistes de Tassigny : Gildas, Stéphanie, Philippe, Pauline, Alisson, Marie-Pierre, Julian et Etienne : ce fût un grand plaisir de travailler auprès de vous tous, j'ai beaucoup appris sur le métier de biologiste.

Merci pour votre formation et de la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ce stage.

Aux techniciens et secrétaires de Tassigny : de belles découvertes, merci pour votre accueil, votre humour et votre gentillesse.

REMERCIEMENTS

A Monsieur Paul Renaud,

Pour toutes les valeurs que tu m'as transmises, en particulier celle du travail. Merci d'avoir toujours cru en moi.

A Madame Nicole Vandomel,

Vous souhaitiez que je devienne pharmacien bien avant que je ne commence les études supérieures.

Le destin fait bien les choses et vous a donné raison.

A ma famille :

A mes parents Régine et Fabrice, ma grand-mère Chantal et mon frère Pierre-Alexandre : merci d'avoir fait de moi celle que je suis aujourd'hui. A ma marraine Isa : merci pour tous ces moments passés à Perros-Guirec, qui ont bercé mon enfance.

A mon parrain Philippe : merci pour toutes nos belles conversations passées et à venir, pour tous les fabuleux souvenirs que j'ai avec toi.

A Pascal : à tous nos échanges, aussi enrichissants qu'amusants. Bernard Buffet n'a plus de secret pour moi.

A Jean-Michel : à ton humour, en toute circonstance.

A ma famille angevine :

La coloc, le S : Émilie, Geoffrey, Clémentine, Uwe et Jean.

A nos confinements (pas vraiment confinés), à nos soirées

Top Chef/Koh-Lanta/Balnéo, à nos soirées tout court et à tout ce qui nous attend. Merci pour vos encouragements tout au long de mon internat, vous êtes des cœurs.

A mes amis :

Jeanne, Gladys, Marie-Aliénor, Flore, Isaure : merci pour votre soutien infaillible pendant toutes ces années. Vous êtes ces belles personnes que la vie offre aux plus chanceux.

Merci à tous mes amis de la faculté de pharmacie de Rennes : les « belles plantes » (Yahya, Guillaume, Juliette, Céline, Paul, Emeric, Clément, Mathilde, Léna, Victor, Roxane, Martin, Anne, Marion, Marine, Thomas). Margaux, Gaëtane, Anne-Sophie, François et Pauline : finalement l'externat, ça sert !

A mes co-internes :

Quitter la Bretagne n'était pas une chose facile mais ces années inoubliables le furent grâce à vous tous.

Anne, Thomas, Orianne, Steven : je garderai précieusement en mémoire les histoires/fous-rires/quiproquo qui ont eu lieu dans un bureau fort bien décoré.

A ma team hémato : de très belles découvertes. Audrey et Yaquine : on se verra au prochain GP ! Laura : pour tous nos bavardages...

Max : mon gars sûr, mon reuf, à jamais TMTC.

Xavier : merci pour tous nos échanges statistiquement significatifs.

A Joan :

9 années. Depuis les bancs de la P2 à aujourd'hui. Les études sont longues, mais avec toi à mes côtés, j'ai le sentiment que toutes ces années sont passées en un instant. Merci pour toutes tes paroles réconfortantes, ton calme et ta patience.

A ma mère :

Merci pour tes excellents conseils, ton énergie positive, ton écoute, à tout moment et depuis toujours. C'est grâce à toi si j'en suis là aujourd'hui et une vie entière ne suffirait pas à te remercier. Je te dois tout.

Table des Matières

LISTE DES ABREVIATIONS	X
GÉNÉRALITÉS.....	1
1. Le lupus anticoagulant.....	2
2. Diagnostic du SAPL	5
3. Les autres anticorps anti-phospholipides	7
3.1. Les anticorps anti-cardiolipines	7
3.2. Les anticorps anti- β 2GP1	8
3.3. Les anticorps anti-phospholipides non conventionnels	9
4. Exploration biologique du lupus anticoagulant	10
4.1. Tests de dépistage	11
4.2. Test du mélange : Rosner.....	12
4.3. Tests de confirmation	12
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	13
1. Population étudiée	13
1.1. Conditions pré-analytiques	14
1.2. Conditions analytiques	15
1.2.1. PTT-LA.....	15
1.2.2. Test du mélange : Rosner.....	16
1.2.3. dRVVT.....	16
1.2.4. Staclot-LA	18
1.3. Exploration biologique des autres anticorps anti-phospholipides	19
1.4. Choix des tests	20
1.5. Recueil de données.....	20
1.6. Méthode d'analyse	22
RESULTATS	23
1. Population étudiée	23
2. Profil biologique des discordances « dRVVT - /Staclot + »	25
2.1. Prévalence des discordances	25
2.2. Évolution des discordances	26
2.3. Association avec d'autres aPL	27
2.4. Contexte clinique et épisodes inflammatoires	28
3. Profil clinique des discordances « dRVVT - /Staclot + »	29
3.1. Âge et sexe	29
3.2. Évènements thrombotiques	30
3.3. Auto-immunité.....	32
DISCUSSION.....	34
BIBLIOGRAPHIE	40
TABLE DES FIGURES	42
TABLE DES TABLEAUX.....	42
ANNEXES.....	43

Liste des abréviations

AAN	Anticorps anti-nucléaires
a β 2GP1	Anticorps anti- β 2 glycoprotéine 1
aCL	Anticorps anti-cardiolipine
Anti-PE	Anticorps anti-phosphatidyléthanolamine
Anti-PS/PT	Anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine
Anti-PT	Anticorps anti-prothrombine
AOD	Anticoagulants oraux directs
aPL	Anticorps anti-phospholipides
AVK	Anti-vitamines K
β 2GP1	β 2 glycoprotéine 1
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CNIL	Commission nationale de l'informatique et des libertés
CRP	Protéine C réactive
dRVVT	Temps de venin de vipère Russel dilué
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GAPSS	Global Anti-Phospholipid Syndrome Score
Ig	Immunoglobulines
INR	Index normalized ratio
IR	Indice de Rosner
ISTH	International Society on Thrombosis and Haemostasis
LA	Lupus anticoagulant
PTT-LA	Temps de thromboplastine partielle-Lupus anticoagulant
SAPL	Syndrome des anti-phospholipides
TCA	Temps de Céphaline Activée
TCK	Temps de Céphaline Kaolin
THPA	Treponema Pallidum Hemagglutinations Assay
TP	Temps de prothrombine
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory

GÉNÉRALITÉS

Le lupus anticoagulant (LA) est un inhibiteur acquis de la coagulation, faisant partie de la famille hétérogène des auto-anticorps dirigés contre les phospholipides ou les protéines associées aux phospholipides.

Découvert sur un bilan d'hémostase, sa présence doit toujours faire l'objet d'un suivi biologique après 12 semaines, et dans un délai maximal de 5 ans (1). En effet, une présence transitoire dans le plasma est fréquemment rencontrée, sans être impliquée dans des événements thromboemboliques. A l'inverse, une présence persistante dans le temps peut aboutir à des thromboses vasculaires ou à des complications obstétricales.

La présence d'un lupus anticoagulant persistant, associé à certains critères cliniques, permet de poser le diagnostic du syndrome des anti-phospholipides (SAPL), une maladie auto-immune reconnue comme l'une des étiologies de thrombophilie acquise.

Le manque de standardisation de certains tests, la composition des différents réactifs commercialisés ainsi que l'hétérogénéité du LA, sont sources de difficultés pour sa recherche, amenant diverses instances scientifiques à émettre des recommandations pour homogénéiser les pratiques (2).

Les discordances biologiques pouvant être observées au cours des tests de détection du LA, ajoutent une complexité supplémentaire à l'interprétation du bilan.

Cette étude porte sur la description de deux types de discordances fréquemment rencontrées, impliquant le dRVVT (dilute Russel's Viper Venom Time) et le Staclot-LA, qui sont des tests chronométriques basés sur leur dépendance aux phospholipides.

L'objectif de cette étude consiste en l'établissement de profils clinico-biologiques des patients qui ont présenté un LA persistant et une discordance dRVVT/Staclot-LA, permettant ainsi d'apporter un éclaircissement sur l'implication clinique de ces discordances. Sont-elles des anomalies biologiques artéfactuelles ? Ou peuvent-elles correspondre à une entité clinico-biologique du SAPL ?

1. Le lupus anticoagulant

Le LA a été découvert en 1952, par Conley et Hartmann, chez deux patients lupiques, présentant des épisodes hémorragiques (3). L'appellation "lupus anticoagulant", à première vue appropriée lors de cette découverte, fait l'objet d'un paradoxe. En effet, une relation avec des évènements thrombotiques fut établie en 1963 (4), et un lien avec des complications obstétricales fut observé en 1980 (5). De plus, la présence du LA a été constatée dans d'autres situations cliniques, n'impliquant pas un lupus. Toutefois, l'appellation « lupus anticoagulant » a été gardée, le terme anticoagulant faisant référence à la capacité du LA à allonger certains tests de coagulation, dépendants des phospholipides.

Les phospholipides, provenant en partie de l'activation des plaquettes et des cellules vasculaires lésées, sont essentiels au processus de coagulation. En effet, les différents complexes enzymatiques de la coagulation (complexe facteur tissulaire - facteur VII activé de la voie extrinsèque, complexe ténase, et complexe prothrombinase) se font à la surface des phospholipides des plaquettes activées.

Les tests de coagulation ayant des réactifs pauvres en phospholipides, sont directement impactés par les LA, qui par interaction avec les phospholipides du test, allongent les temps de coagulation : c'est le principe des tests de dépistage du LA. A l'inverse, une grande concentration de phospholipides ne permet pas aux LA d'induire un phénomène anticoagulant : c'est le principe des tests de confirmation utilisés dans la détection du LA.

L'activité du LA réside dans la formation d'anticorps dirigés contre des phospholipides anioniques ou contre des protéines associées aux phospholipides, appelées "cofacteurs".

Malgré les connaissances acquises sur les anticorps anti-phospholipides (aPL) au cours des dernières années, les épitopes précis avec lesquels les LA réagissent sont encore mal connus, cependant, il semblerait que les cofacteurs, tels que la β 2GP1 (bêta 2 glycoprotéine 1) et la prothrombine, soient des cibles majeures des aPL, notamment de certains LA (6,7).

En effet, les LA dépendants de la β 2GP1 sont davantage associés à des événements thrombotiques, contrairement aux LA indépendants de la β 2GP1 (8). De plus, les rares manifestations hémorragiques observées dans

le cadre d'un SAPL concernent le plus souvent des patients présentant une thrombopénie sévère ou des patients porteurs d'un LA avec une activité anti-prothrombine, capable d'induire une augmentation de la clairance de la thrombine, provoquant une hypoprothrombinémie responsable du saignement (9,10).

Bien que l'implication de certaines cellules régulatrices de l'hémostase et de la réponse inflammatoire soit décrite dans la littérature (11,12), les mécanismes physiopathologiques du SAPL restent encore mal connus.

La recherche d'anticorps anti-phospholipides doit faire l'objet d'un suivi biologique espacé d'au moins 12 semaines après le premier prélèvement, et dans les 5 ans à la suite d'une manifestation clinique (1). En effet, la présence d'un LA non contrôlé selon les délais recommandés n'a aucune valeur diagnostique, car une présence transitoire d'un LA est souvent observée dans diverses situations réactionnelles (syndrome inflammatoire, certains médicaments, infection...), sans que cela implique un risque thrombotique et/ou de complications obstétricales.

Ainsi, la présence persistante d'un LA est un facteur décisif dans la prise en charge d'un patient : traiter à tort un patient avec des anticoagulants entraîne un risque hémorragique, alors qu'une abstention thérapeutique peut avoir comme conséquence, une augmentation du risque des récidives thrombotiques.

En raison de la diversité des aPL, l'ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis) recommande une exploration biologique complète des aPL reconnus comme pathogènes dans le SAPL : le LA, les aCL (anticorps anti-cardiolipine) et les a β 2GP1 (anticorps anti-bêta 2 glycoprotéine 1) (13).

De plus, certains profils biologiques sont plus à risque thrombotique que d'autres : une triple positivité des anticorps (LA +, aCL +, a β 2GP1 +) est associée à un risque thrombotique majeur, comparé à une simple positivité de l'un de ces trois aPL (14).

Compte tenu de l'hétérogénéité des méthodologies, des réactifs utilisés et de leurs performances, il est important de réaliser le dépistage et le suivi dans un même laboratoire expérimenté et avec les mêmes méthodologies (2). En effet, les tests disponibles ne sont pas toujours standardisés, ce qui a pour conséquence une variabilité inter-laboratoire au niveau des résultats.

2. Diagnostic du SAPL

Le SAPL se caractérise par des manifestations thrombotiques et/ou obstétricales, associées à des auto-anticorps persistants dirigés contre des phospholipides ou des protéines associées aux phospholipides.

Les critères diagnostiques du SAPL, dits de Sapporo, furent élaborés en 1998, au 8ème symposium international sur les aPL. Ils furent révisés à Sydney en 2004, puis publiés comme consensus en 2006, rappelés ci-dessous (1,15) :

Tableau 1 : Critères de Sapporo

A Critères cliniques

1 Thrombose vasculaire

Présence d'un ou plusieurs épisodes de thrombose veineuse, artérielle ou des petits vaisseaux dans n'importe quel tissu ou organe*. La thrombose doit être confirmée par un examen d'imagerie validé (dans le cadre d'une stratégie de diagnostic validée) et/ou histologique.

2 Critères obstétricaux

(a) au moins un décès inexplicable d'un fœtus morphologiquement normal à un terme de 10 semaines d'aménorrhée au moins, avec une morphologie fœtale normale en échographie ou à l'examen clinique du fœtus ;

Ou (b) Une ou plusieurs naissances prématurées d'un nouveau-né morphologiquement normal avant un terme de 34 semaines d'aménorrhée en raison : (i) d'une éclampsie ou d'une pré-éclampsie sévère ou (ii) d'une autre cause de signes reconnus d'insuffisance placentaire ;

Ou (c) Trois ou plus avortements spontanés successifs avant un terme de 10 semaines d'aménorrhée, après exclusion d'une anomalie anatomique ou hormonale maternelle, et d'une anomalie chromosomique maternelle ou paternelle.

B Critères biologiques à au moins deux reprises à 12 semaines d'intervalle

1 Présence d'un anticoagulant circulant de type lupique, détecté selon les recommandations de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (cf paragraphe 2.4) ;

2 Présence d'IgG ou d'IgM anti-cardiolipine (ACL) dans le sérum ou le plasma, à un titre modéré ou élevé (> 40 GPL ou MPL, ou $> 99^{\text{ème}}$ percentile), mesuré par un test ELISA standardisé ;

3 Présence d'IgG ou d'IgM anti- $\beta 2$ glycoprotéine 1 dans le sérum ou le plasma, à un titre $> 99^{\text{ème}}$ percentile, mesuré par un test ELISA standardisé.

* Chez l'adulte, la survenue d'une thrombose veineuse superficielle n'est cependant pas considérée comme un évènement permettant de définir un SAPL

Des nouveaux critères de classification ont été proposés par Barbhaiya et al., incluant de nouveaux critères cliniques et une réduction du délai du suivi biologique, à 3 ans au lieu de 5 ans (16).

Par ailleurs, des techniques immunologiques plus récentes, telles que la chimioluminescence, peuvent être utilisées dans le diagnostic biologique des aCL et des a $\beta 2$ GP1, toutefois, l'expression des valeurs n'est pas comparable aux tests ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) conventionnels (15).

Deux types de SAPL sont à distinguer : le SAPL primaire, qui survient chez les patients exempts de pathologie auto-immune, et le SAPL secondaire, associé à une pathologie auto-immune.

Le SAPL secondaire est rencontré chez environ 20% des patients lupiques et l'incidence de thrombose est plus élevée dans cette population (15).

3. Les autres anticorps anti-phospholipides

Hormis le LA, la détection des aPL s'effectue par des tests immunologiques.

On retrouve parmi les auto-anticorps dirigés contre les phospholipides anioniques : les anti-cardiolipines, les anti-phosphatidylinositol, les anti-acides phosphatidiques et les anti-phosphatidylsérine.

Les anti-phosphatidyléthanolamine font partie des auto-anticorps dirigés contre les phospholipides neutres.

Enfin, les protéines associées aux phospholipides constituent les cibles majeures des aPL, parmi lesquelles on retrouve la β 2GP1, et la prothrombine.

3.1. Les anticorps anti-cardiolipines

En 1952, Moore et al. ont décrit deux cas de jeunes patientes atteintes de pathologies auto-immunes et présentant une sérologie syphilitique dissociée : VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) positif, THPA (Treponema Pallidum Hemagglutinations Assay) négatif (17). Cette interférence analytique est imputable au réactif du VDRL, extrait du cœur de bœuf contenant de la cardiolipine, et a permis la découverte des aCL.

Les aCL reconnaissent les différents phospholipides anioniques (la cardiolipine, le phosphatidylinositol, les acides phosphatidiques et la phosphatidylsérine), ainsi que les protéines associées aux phospholipides, comme la β 2GP1.

Plusieurs types d'aCL peuvent être décrits, sans que les techniques actuelles ne puissent les distinguer (18) :

- Les aCL reconnaissant la cardiolipine, de façon indépendante à la β 2GP1, appelés les "vrais aCL" : ils ne sont pas considérés comme étant thrombogènes et sont présents de façon transitoire, notamment au cours d'épisodes infectieux.
- Les aCL reconnaissant le domaine I de la β 2GP1. Cette catégorie dépendante de la β 2GP1, expose à un risque thrombotique et peut être rencontrée chez les patients présentant des SAPL.

3.2. Les anticorps anti- β 2GP1

La β 2GP1 ou apolipoprotéine H est une glycoprotéine de la super-famille des protéines régulatrices du complément, synthétisée par le foie. Leur structure en chaîne polypeptidique est constituée de 5 domaines. Lors d'une stimulation cellulaire, la β 2GP1 passe d'une conformation circulaire de faible affinité aux phospholipides anioniques, à une conformation ouverte en forme hameçon. La liaison aux phospholipides anioniques s'effectue par le domaine V, et entraîne l'exposition d'un épitope cryptique du domaine I, cible des anticorps a β 2GP1 (19). Ces anticorps vont entraîner la dimérisation de la β 2GP1, permettant d'augmenter l'affinité pour les phospholipides anioniques. Ainsi, seuls les a β 2GP1 dirigés contre le

domaine I de la β 2GP1 seraient fortement associés à un risque thrombotique (18,20).

3.3. Les anticorps anti-phospholipides non conventionnels

Les aPL non conventionnels ne font pas partie des critères diagnostiques du SAPL, bien que plusieurs études fassent état d'une corrélation avec des manifestations cliniques du SAPL.

Parmi les aPL non conventionnels, on distingue : les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (anti-PE), les anticorps anti-prothrombine (anti-PT), les anticorps anti-phosphatidylsérine/anti-prothrombine (anti-PS/PT), et les anticorps anti-annexine V.

Les anti-PS/PT ont été reconnus comme étant corrélés à la présence d'un LA dans plusieurs études (21,22) et leur dosage immunologique n'étant pas influencé par la prise d'anticoagulants, ils apparaissent comme un marqueur biologique de substitution intéressant du LA (23). Par ailleurs, les anti-PS/PT sont mis en lumière dans un score prédictif du risque thrombotique, le « GAPSS score » (Global Anti-Phospholipid Syndrome Score), outil clinique mis en place en 2013, permettant de stratifier les patients selon leur risque thrombotique (24).

4. Exploration biologique du lupus anticoagulant

Le diagnostic biologique du SAPL est complexe car aucun test ne permet à lui seul de détecter tous les anticorps anti-phospholipides (25).

La recherche du LA se fait par l'intermédiaire de plusieurs tests de coagulation, dépendants des phospholipides, afin d'exploiter la caractéristique anticoagulante in-vitro des LA. En effet, il existe une compétition entre le LA et les facteurs de coagulation vitamino-K dépendants, au niveau du site de liaison des phospholipides anioniques, venant perturber certains tests de coagulation dépendants des phospholipides.

Selon les recommandations de l'ISTH, le diagnostic biologique doit reposer sur trois étapes essentielles (13):

- L'étape du dépistage, reposant sur l'utilisation de deux tests basés sur des techniques différentes, avec des réactifs contenant une faible concentration de phospholipides.
- L'étape du mélange, avec le calcul de l'indice de Rosner.
- L'étape de confirmation, réalisée uniquement en cas de dépistage positif et utilisant un test de même principe que celui qui a été positif au dépistage, avec des réactifs contenant une forte concentration de phospholipides.

Un seul test de dépistage suffit pour suggérer la présence d'un LA et un seul test de confirmation suffit pour l'affirmer.

4.1. Tests de dépistage

L'utilisation de deux tests reposant sur des principes différents est préconisée selon l'ISTH (13).

Afin de mettre en évidence un allongement des tests de coagulation dépendants des phospholipides, les réactifs utilisés dans le dépistage doivent comporter une faible concentration de phospholipides. Les deux tests à utiliser en priorité sont le dRVVT Screen, et un TCA (Temps de céphaline activée) sensible à la présence d'un LA tel que le PTT-LA (Temps de thromboplastine partielle-Lupus anticoagulant) (13).

Le dRVVT Screen est le premier test à être considéré dans le dépistage du LA, en raison de sa spécificité et de sa robustesse. En effet, c'est la méthode de dépistage la plus spécifique chez les patients à haut risque thrombotique (26). Toutefois, sa sensibilité est moindre par rapport au PTT-LA, notamment pour les LA de faible intensité (27).

La technique du dRVVT s'appuie sur la capacité d'une endopeptidase du venin de vipère Russel, à activer directement le facteur X et permet ainsi de s'affranchir de toute anomalie de la coagulation en amont de ce facteur (anomalies touchant la phase contact et les facteurs VIII, IX, XI et VII).

Ainsi, ce test évalue sélectivement le temps de conversion de la prothrombine en thrombine, par le facteur V activé et le facteur X activé.

4.2. Test du mélange : Rosner

Le test de Rosner, ou test du mélange, consiste à mélanger volume à volume, le plasma du patient avec un plasma normal. Le plasma normal est constitué d'un pool de plasmas humains normaux, fourni par le fabricant. Le calcul de l'indice de Rosner (IR), permet de mettre en évidence un effet inhibiteur en cas d'absence de correction du temps de coagulation.

4.3. Tests de confirmation

Les deux tests pouvant être utilisés sont le dRVVT Confirm, avec le calcul du ratio normalisé, et le Staclot-LA. Ces tests permettent de confirmer la nature anti-phospholipidique de l'inhibiteur. Pour mettre en évidence la nature anti-phospholipidique des LA, les réactifs utilisés dans ces tests de confirmation doivent comporter une forte concentration en phospholipides, permettant de saturer les auto-anticorps, et ainsi normaliser ou diminuer les temps de coagulation.

Le dRVVT Confirm est de même principe que le dRVVT Screen, avec pour seule différence, la concentration en phospholipides. Le calcul du ratio normalisé du dRVVT est essentiel pour affirmer la présence d'un LA.

La technique du Staclot-LA, décrite par Triplett en 1993, explore de la même façon que le PTT-LA, la voie du TCA. Rauch et al. ont suggéré que les LA interagissent à 37 °C avec les phospholipides ayant une conformation hexagonale (28). Cette caractéristique est exploitée par la technique du Staclot-LA qui utilise des phospholipides de type phosphatidyléthanolamine en phase hexagonale, reconnus par le LA.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique du centre hospitalier universitaire (CHU) d'Angers, France (n°2022-027), et enregistrée à la commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL) sous la référence ar22-0008 le 21/01/2022.

1. Population étudiée

L'étude menée est rétrospective, sur une période s'étendant du 1er janvier 2011 au 31 décembre 2021, soit onze années.

En dehors de la recherche des aPL non conventionnels, les analyses recueillies lors de cette étude ont été réalisées au laboratoire du CHU d'Angers.

Les dossiers sélectionnés devaient avoir un LA persistant, et présenter au moins une discordance dRVVT/Staclot-LA, décrites ci-dessous :

- La discordance ratio dRVVT normalisé $< 1,20$ et Staclot-LA ≥ 8 secondes.
- La discordance ratio dRVVT Screen $< 1,20$ et Staclot-LA ≥ 8 secondes.

Ont été exclus de l'étude :

- Les patients ayant présenté un LA transitoire,
- Les patients n'ayant pas fait l'objet d'un suivi biologique espacé d'un minimum de 12 semaines et dans un intervalle maximal de 5 ans,

- Les patients ayant reçu une thérapeutique antithrombotique non compatible avec les analyses réalisées : AOD (anticoagulants oraux directs), AVK (anti-vitamines K) avec INR (Index Normalized Ratio) > 3 et héparine avec activité anti-Xa > 0,8 UI/mL.

1.1. Conditions pré-analytiques

Les prélèvements de sang doivent se faire dans des tubes en plastique ou verre siliconé, sur solution de citrate trisodique 0,109 M : soit un volume de citrate pour 9 volumes de sang.

Une double centrifugation est recommandée afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes. En effet, si le plasma n'est pas suffisamment déplaquetté, les phospholipides apportés par les plaquettes sont susceptibles de neutraliser une partie des aPL de l'échantillon.

La première centrifugation se fait pendant 15 min à 2500 g, puis le surnageant plasmatique est prélevé et centrifugé 15 minutes à 2500g. Le nombre de plaquettes résiduelles doit être inférieur 10 000/mm³. Lorsque ces conditions sont respectées, le plasma peut être conservé 4h à 20 +/- 5°C, pendant 1 mois à - 20 °C, et 6 mois à - 70°C.

Le processus de décongélation doit se faire au bain-marie à 37°C pendant 5 minutes, puis le plasma doit être vortexé avant de lancer l'analyse.

Le transport de l'échantillon du site de prélèvement au laboratoire doit se faire à température ambiante.

1.2. Conditions analytiques

Les recherches de LA ont été effectuées au sein du laboratoire d'hémostase du CHU d'Angers, avec des méthodes de diagnostic identiques au cours de la période observée. Des contrôles de qualité interne sont réalisés à chaque série, et le laboratoire d'hémostase participe à un programme de contrôles de qualité externe.

Les analyses doivent se faire sur un plasma citraté frais ou congelé, et le délai d'analyse après préparation est de 4 heures.

Les seuils de positivité des tests dRVVT et Staclot-LA sont établis selon les normes fabricant et ceux du test PTT-LA sont établis à partir d'un pool de plasma humain témoin (Pool Norm®, Diagnostica Stago).

1.2.1. PTT-LA

L'automate utilisé pour la mesure du PTT-LA est le STAR Max et le coffret utilisé est le PTT-LA (Diagnostica Stago). Le plasma du patient est mélangé au réactif PTT-LA, contenant de la silice comme activateur.

Après une étape d'incubation de 4 minutes à 37°C, le CaCl₂ est ajouté afin de démarrer le test de coagulation.

Le résultat comporte trois paramètres :

- Le PTT-LA malade en secondes,
- Le PTT-LA témoin en secondes
- Le ratio PTT-LA

$$\text{Ratio PTT-LA} = \frac{\text{PTT-LA malade (secondes)}}{\text{PTT-LA témoin (secondes)}}$$

Un ratio PTT-LA < 1,30 n'est pas en faveur d'une présence d'un LA.

Le résultat doit toutefois être confronté à celui du dRVVT Screen.

Un ratio PTT-LA > 1,30 est en faveur d'une présence d'un LA.

1.2.2. Test du mélange : Rosner

Le test du mélange s'effectue selon le même principe que le test PTT-LA, à partir du plasma du patient à la dilution 1/2, dans un pool de plasma témoin, appelé Pool Norm® (Diagnostica Stago).

Le résultat comporte trois paramètres :

- Le Rosner Témoin (PTT-LA témoin en secondes),
- Le Rosner Malade + Témoin (PTT-LA mélange en secondes)
- Indice de Rosner (IR)

$$IR = \frac{PTT-LA \text{ mélange(secondes)} - PTT-LA \text{ Témoin (secondes)}}{PTT-LA \text{ malade (secondes)}} \times 100$$

Un IR < 13 % témoigne d'une correction du temps de coagulation et est en faveur d'un déficit en facteur de la coagulation.

Un IR ≥ à 13 % est le signe d'une absence de correction du temps de coagulation et est en faveur d'un inhibiteur de la coagulation. Toutefois, un résultat ≥ à 13 % n'est pas indispensable au diagnostic biologique du LA.

1.2.3. dRVVT

L'automate utilisé pour calculer les temps de venin vipère Russel dilué (dépistage et confirmation) est le STAR Max. Le coffret utilisé est le dRVVT Screen et Confirm (Diagnostica Stago).

Les réactifs contiennent du venin de vipère Russell, des phospholipides, du calcium, et un inhibiteur de l'héparine pouvant inhiber des taux d'anti-Xa héparine jusqu'à 0,8 UI/mL.

Le plasma du patient est incubé 4 minutes à 37°C avec le réactif dRVVT (Screen ou Confirm). Le test dRVVT Confirm s'effectue à la suite d'un résultat positif du dRVVT Screen et sur le même échantillon.

Les résultats comportent plusieurs paramètres :

- Le dRVVT Screen ou Confirm du témoin en secondes,
- Le dRVVT Screen ou Confirm du malade en secondes,
- Le ratio du dRVVT Screen
- Le ratio du dRVVT Confirm
- Le ratio Normalisé

$$\text{Ratio dRVVT Screen} = \frac{\text{dRVVT Screen malade (secondes)}}{\text{dRVVT Screen témoin (secondes)}}$$

$$\text{Ratio dRVVT Confirm} = \frac{\text{dRVVT Confirm malade (secondes)}}{\text{dRVVT Confirm témoin (secondes)}}$$

$$\text{Ratio dRVVT normalisé} = \frac{\text{Ratio dRVVT Screen}}{\text{Ratio dRVVT Confirm}}$$

En cas de ratio dRVVT normalisé $\geq 1,20$ avec un TP (temps de prothrombine) $< 60 \%$, l'analyse est relancée avec une dilution au 1/2, sauf en cas de facteurs II, V et X normaux.

Un ratio dRVVT Screen $< 1,20$ n'est pas en faveur d'une présence d'un LA.

Son résultat doit toutefois être confronté à celui du PTT-LA.

Un ratio dRVVT Screen \geq à 1,20 est en faveur d'une présence d'un LA. Les explorations doivent se poursuivre par le test de confirmation dRVVT Confirm.

Le calcul du ratio dRVVT normalisé est essentiel pour confirmer la nature anti-phospholipidique de l'anticoagulant circulant :

Un ratio normalisé \geq 1,20 affirme la présence d'un LA.

A l'inverse, un ratio normalisé $<$ 1,20 n'affirme pas la présence d'un LA. Si le test de dépistage PTT-LA était positif, un second test de confirmation peut être réalisé : le Staclot-LA.

1.2.4. Staclot-LA

L'automate utilisé pour calculer les temps de coagulation est le Star 4, suivant le programme Staclot-LA. Le coffret utilisé est le Staclot-LA (Diagnostica Stago).

L'analyse se fait au sein de deux cupules dans le Star 4, préalablement incubées à 37°C. Dans la première, on y mélange le plasma du patient avec une solution tampon. Dans la seconde, on y mélange le plasma du patient avec un réactif contenant des phospholipides de type phosphatidyléthanolamine, disposés en phase hexagonale.

Au cours de l'étape d'incubation à 37°C, un plasma humain normal et un inhibiteur de l'héparine sont mélangés dans les deux cupules.

A la fin de l'étape d'incubation, de la céphaline et un activateur particulaire (silice) sont mélangés dans les deux cupules.

Après une seconde incubation à 37°C, du CaCl₂ est mélangé dans les deux cupules afin de démarrer le test de coagulation. Un temps de coagulation de la deuxième cupule supérieur à la la première cupule n'a pas de signification particulière. En revanche, une diminution du temps de coagulation de la deuxième cupule ≥ 8 secondes, par rapport à celui de la première cupule, témoigne d'une neutralisation des anticorps anti-phospholipide de type lupique.

T1 – T2 ≥ 8 secondes : Staclot-LA positif.

1.3. Exploration biologique des autres anticorps anti-phospholipides

Les dosages des anticorps IgM et IgG aCL et a β 2GP1 ont été réalisés au CHU d'Angers, par une technique d'immunochimiluminescence (ACL AcuStar[®], Werfen) depuis le 05/09/2016, avec un seuil de positivité à 20,1 UI/mL. Avant cette date, une technique ELISA était utilisée, dont les seuils de positivités étaient fixés à 10 UI/mL.

Les dosages des anticorps non conventionnels ont été réalisés à l'hôpital Saint-Antoine de l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, par une technique d'immunoenzymologie.

Les seuils de positivité sont fixés à 31 UI/mL pour les anticorps anti-phosphatidylsérine/anticorps anti-prothrombine, > 18 UI/mL pour les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine et > 18 UI/mL pour les anticorps anti-annexine V.

1.4. Choix des tests

D'après l'arbre décisionnel utilisé au CHU d'Angers, l'algorithme de l'exploration biologique se fait de la manière suivante :

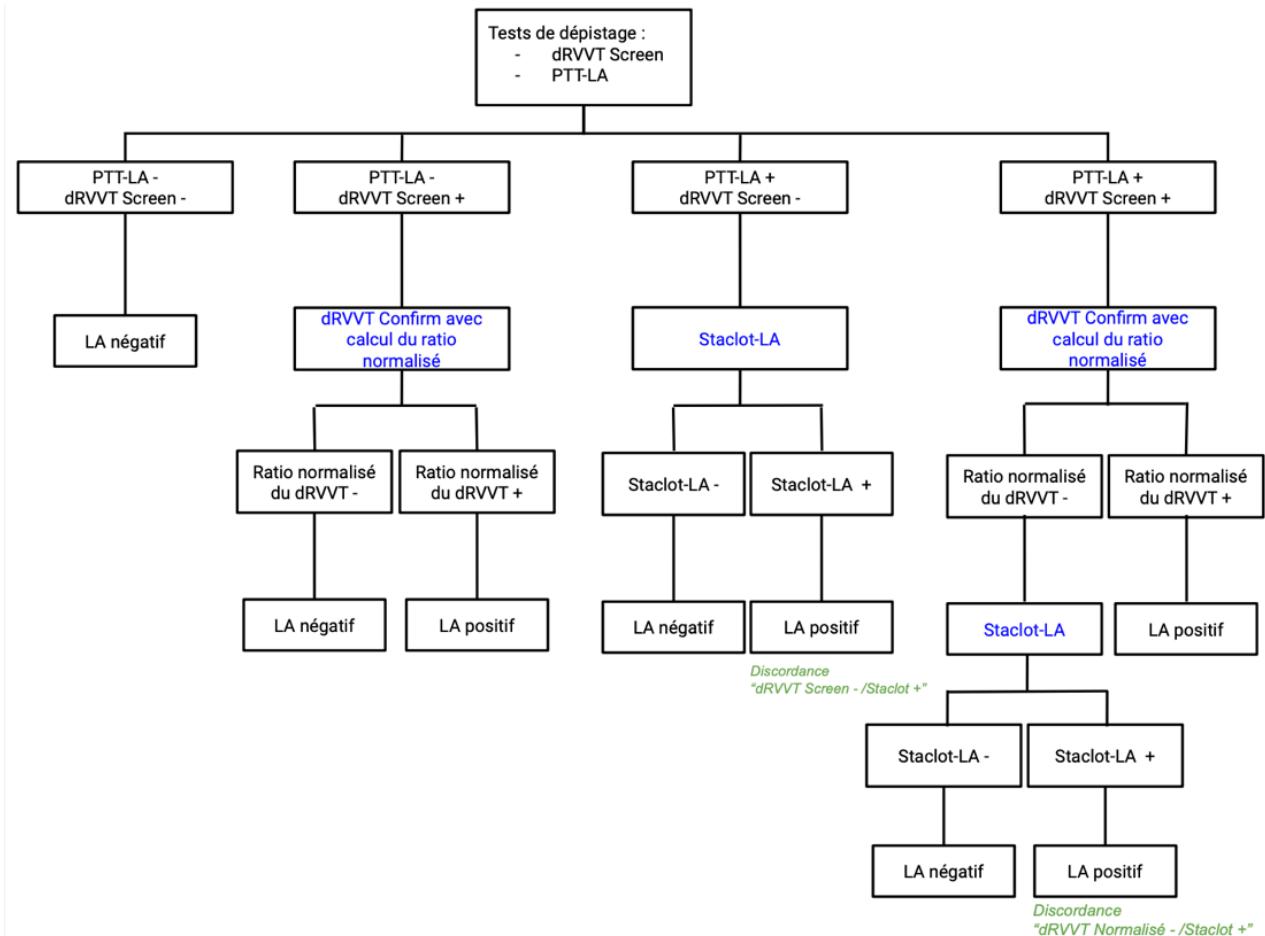


Figure 1 : Algorithme décisionnel des différents tests chronométriques du LA et leurs interprétations.

1.5. Recueil de données

Les données cliniques et thérapeutiques ont été collectées sur le logiciel LOGON®, le système d'information médicale et de soins utilisé au CHU d'Angers.

Les données recueillies concernaient :

- L'âge, le sexe,
- Les services prescripteurs,
- Les antécédents personnels du patient,
- La présence d'une pathologie ou de manifestations auto-immunes,
- La présence d'un épisode inflammatoire en cours (épisode thrombotique, épisode infectieux, chirurgie...),
- En cas d'évènement thrombotique : La localisation de la thrombose, le terrain (inhabituel ou non), le contexte (premier épisode ou récidive) et l'âge de survenue pour les thromboses artérielles (< 45 ans, notion de deux thromboses artérielles entre 45 et 65 ans),
- Les facteurs de risques cardio-vasculaires (antécédents personnels, immobilisation, fracture, sédentarité, vols longs courriers, grossesse, pilule oestro-progestative, consommation d'alcool, de tabac, de drogues, hypertension artérielle, diabète, indice de masse corporel > 30, diabète, débit de filtration glomérulaire < 60 mL/min, facteurs de risques biologiques de thrombophilie),
- Les traitements en cours.

Les données biologiques ont été collectées sur le logiciel GLIMS®, le système d'information de laboratoire utilisé au CHU d'Angers.

Les données recueillies concernaient :

- Les bilans d'hémostase :

- Pour la recherche du LA : PTT-LA, IR, dRVVT (Screen, Confirm, ratio normalisé), Staclot-LA, aCL et a β 2GP1 (taux et isotypes), aPL non conventionnels (taux et isotypes),
 - TP, TCA, TCK (temps de céphaline kaolin), facteurs de coagulation, fibrinogène, activité anti-Xa, INR.
 - Antithrombine, protéine C, protéine S, résistance à la protéine C activée, mutation du facteur V Leiden, mutation G20210A du facteur II, hyperhomocystéinémie, taux de facteur VIII.
- Les autres paramètres biologiques disponibles : hémoglobine, volume globulaire moyen, plaquettes, formule leucocytaire, CRP (protéine C réactive), haptoglobine, AAN (anticorps anti-nucléaires), bilan hépatique, bilan rénal et ionogramme.

1.6. Méthode d'analyse

L'analyse des données est rétrospective et descriptive. Les données qualitatives sont exprimées en pourcentage, et les données quantitatives sont exprimées en moyenne, médiane et étendues.

Les tests statistiques utilisés sont le test du Khi-2, le test exact de Fisher et le test de Student. Le seuil de probabilité pour déterminer une différence significative entre les variables est fixé à 0,05.

RESULTATS

1. Population étudiée

Durant la période des onze années d'études, du 1er janvier 2011 au 31 décembre 2021, le laboratoire d'hémostase du CHU d'Angers, a reçu 19 750 prescriptions de recherche de LA. Les principaux services prescripteurs étaient : la médecine interne, la néphrologie, la neurologie et les maladies du sang. La technique de confirmation du Staclot-LA a été réalisée pour 1580 patients (soit 8% des cas). La population de l'étude porte sur les patients ayant présenté un LA persistant (dont la présence est confirmée sur un prélèvement de contrôle ≥ 12 semaines et dans les 5 ans), avec une discordance « dRVVT - /Staclot + ».

Sur les 1580 patients :

- 670 patients (42%) ont présenté au moins une discordance « dRVVT - /Staclot + » décrite dans cette étude :
 - 385 patients (57,5%) avec la discordance impliquant les deux tests de confirmation : ratio dRVVT normalisé $< 1,20$ et Staclot-LA ≥ 8 secondes. Nous les appellerons les discordances « dRVVT Normalisé - /Staclot + ».
 - 285 patients (42,5%) avec la discordance impliquant le test de dépistage dRVVT Screen et le test de confirmation Staclot-LA : ratio dRVVT Screen $< 1,20$ et Staclot-LA ≥ 8 secondes. Nous les appellerons les discordances « dRVVT Screen - /Staclot + ».

- 910 patients (58%) ont présenté un test de confirmation Staclot-LA négatif, à la suite d'un résultat du dRVVT (Screen ou ratio normalisé) négatif. Une absence de LA a été conclue pour ces patients.

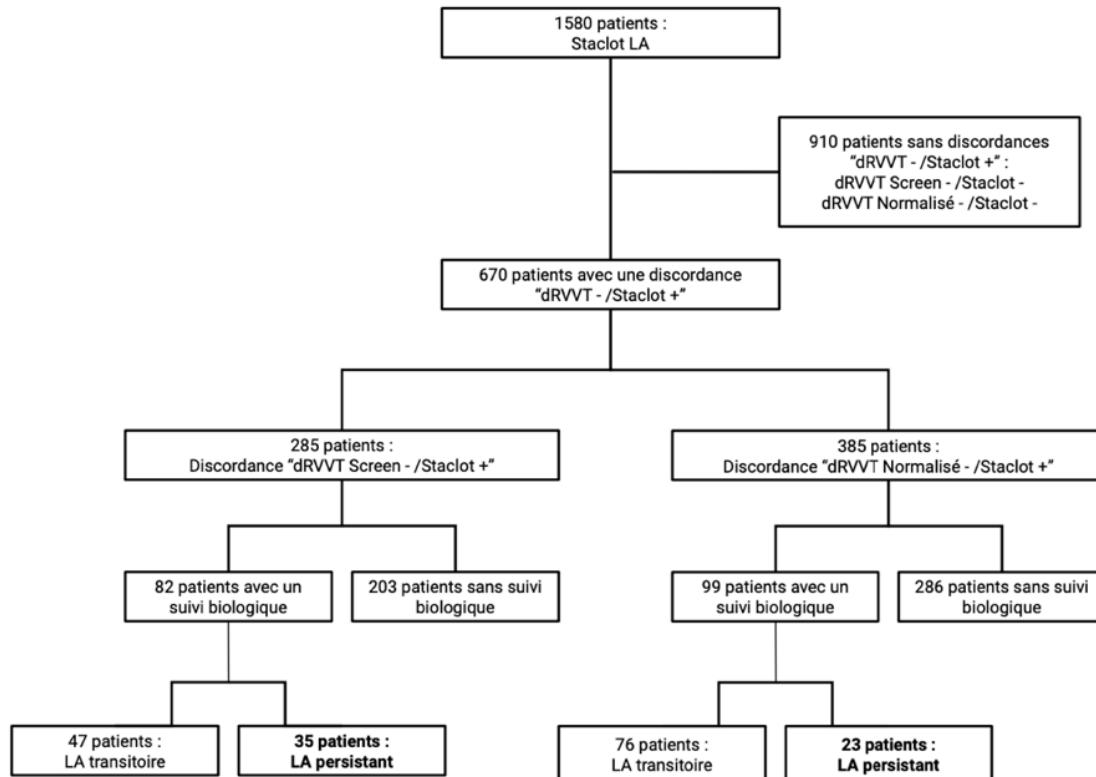


Figure 2 : Répartition de la population étudiée selon les résultats des tests biologiques.

Sur 385 patients avec une discordance « dRVVT Normalisé - / Staclot + », seuls 99 patients (26%) ont bénéficié d'un suivi biologique (après 12 semaines et dans les 5 ans). Le LA était persistant chez 23 patients sur 99 (23%), et transitoire chez 76 patients sur 99 (77%).

Sur 285 patients avec une discordance « dRVVT Screen - / Staclot + », seuls 82 patients (29%) ont bénéficié d'un suivi biologique (après 12 semaines et dans les 5 ans). Le LA était persistant chez 35 patients sur 82 (43%), et transitoire chez 47 patients sur 82 (57%).

2. Profil biologique des discordances

« dRVVT - /Staclot + »

2.1. Prévalence des discordances

Les discordances « dRVVT - /Staclot + » sont le plus souvent rencontrées dans le cadre d'un LA transitoire. En effet, 123 patients sur 181 (soit 68%) avaient un suivi biologique négatif, à la suite d'un résultat discordant (Cf. Figure 2).

Toutefois, 58 patients sur 181 (soit 32%) ont présenté un résultat discordant dans le cadre d'un LA persistant (Cf. Figure 2).

- Discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » :

Sur les 99 patients ayant bénéficié d'un suivi biologique, 23 patients ont présenté une persistance du LA (soit 23%).

- Discordance « dRVVT Screen - /Staclot + » :

Sur les 82 patients ayant bénéficié d'un suivi biologique, 35 patients ont présenté une persistance du LA (soit 43%).

La discordance « dRVVT Screen - /Staclot + » est plus fréquemment rencontrée que la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » dans le cadre d'un LA persistant, selon le test du Khi-2, au risque de 5% (43% vs. 23%) : p-value = 0,005.

2.2. Évolution des discordances

L'évolution dans le temps d'un résultat discordant n'a pu être observé que pour 50 des 58 patients de l'étude. En effet, 8 patients n'ont pas eu de prélèvement à la suite d'un résultat discordant. Pour ces 8 patients, le caractère persistant du LA s'est donc basé sur des résultats de LA positifs antérieurs à la discordance.

Parmi les 50 patients sont retrouvés :

- 20 patients sur 23 avec la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + »
- 30 patients sur 35 avec la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + »

Quatre situations ont pu être observées sur le prélèvement de contrôle réalisé à la suite d'un premier résultat discordant, résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Évolution des discordances « dRVVT - /Staclot + », sur un bilan de contrôle réalisé à au moins 12 semaines et dans les 5 ans.

	« dRVVT Normalisé -/Staclot + » n = 20	« dRVVT Screen -/Staclot + » n = 30	Total n = 50
Persistance de la discordance	25% (n = 5 patients)	53% (n = 16 patients)	42% (n = 21)
LA positif sans discordance	40% (n = 8 patients)	33% (n = 10 patients)	36% (n = 18)
LA négatif	20% (n = 4 patients)	10% (n = 3 patients)	14% (n = 7)
Changement de discordance *	15% (n = 3 patients)	3,3% (n = 1 patient)	8% (n = 4)

* Une discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » peut devenir au cours du temps « dRVVT Screen - /Staclot + » et inversement.

Selon le test du Khi-2, au risque de 5%, une différence significative a été observée entre les deux discordances « dRVVT - /Staclot + » étudiées concernant la persistance de la discordance dans le temps.

En effet, la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + » persiste davantage dans le temps que la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » (53% vs. 25%) : p-value = 0,047.

Quelle que soit la discordance « dRVVT - /Staclot + » observée, un résultat de LA positif sans discordance est plus fréquemment observé qu'une négativation du LA sur un bilan de contrôle réalisé à la suite d'un résultat discordant, selon le test de Khi-2 au risque de 5% (36% vs. 14%) : p-value = 0,001.

2.3. Association avec d'autres aPL

Sur les 58 patients de l'étude, 16 patients n'ont pas eu de dosages d'aCL et d'a β 2GP1 concomitant à la recherche du LA.

Ainsi, le profil de positivité n'a pu être établi que pour 42 patients :

- 18 patients sur 23 avec la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + ».
- 24 patients sur 35 avec la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + ».

Aucune différence significative n'a été observée entre les deux discordances « dRVVT - /Staclot + » étudiées, selon le exact de Fisher au risque de 5% : p-value = 0,41. Toutefois, quelle que soit la discordance observée, le profil simple positif est plus fréquemment rencontré qu'un profil double ou triple positif (83% vs. 17% pour la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » et 79% vs. 21% pour la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + »).

Tableau 3 : Profils de positivité en fonction des tests LA, aCL, aB2GP1 et aPL rares.

Total n = 42	«dRVVT Normalisé - /Staclot +» n = 18	«dRVVT Screen - /Staclot +» n = 24
Profil simple positif	83% (15 patients)	79% (19 patients)
aPL rares +	2 patients : IgM anti-annexine V faible à 24 UI/mL IgM anti-PS/PT fort à 93 UI/mL	2 patients : IgM anti-PS/PT fort à 101 UI/mL IgM anti-PE fort à 123 UI/mL et IgM anti-annexine V douteux à 18 UI/mL
Profil double positif	11% (2 patients)	21% (5 patients)
LA + aCL +	2 patients : IgM à 29,8 UI/mL IgM à 37,2 UI/mL	3 patients : IgG à 29 UI/mL IgM à 33 UI/mL et IgG à 23 UI/mL IgM à 32 UI/mL et IgG à 24 UI/mL
LA + aB2GP1 +		2 patients : IgM à 65 UI/mL IgG à 43,7 UI/mL
Profil triple positif	6% (1 patient) IgG aCL > 1000 UI/mL et IgG aB2GP1 à 38 UI/mL	

2.4. Contexte clinique et épisodes inflammatoires

Les épisodes inflammatoires au moment de la recherche du LA ont été recherchés pour chaque patient.

Le syndrome inflammatoire a été défini selon les recommandations fournisseur, par un dosage de fibrinogène > 4 g/L (STA[®]-Liquid Fib, Stago) et/ou de protéine C réactive (CRP) > 4 mg/L (Atellica[®] CH, Siemens).

Les principales situations cliniques, au moment de la recherche du LA sont représentées ci-dessous :

Tableau 4 : Les différentes situations cliniques au moment de la recherche du LA discordant.

	«dRVVT Normalisé - /Staclot +» n = 23	«dRVVT Screen - /Staclot +» n = 35
Absence de syndrome inflammatoire	22% (5 patients)	63% (22 patients)
Présence d'un syndrome inflammatoire	78% (18 patients)	37% (13 patients)
Épisode infectieux	5 patients	2 patients
Évènement thrombotique	5 patients	5 patients
Épisode infectieux + évènement thrombotique	1 patient	2 patients
Étiologies diverses (Obésité, pathologies inflammatoires, état de mal épileptique, rechute de cancer etc...)	7 patients	4 patients

La présence d'un épisode inflammatoire au moment de la recherche du LA est significativement plus importante pour la discordance

« dRVVT Normalisé – /Staclot + » selon la loi du Khi 2 au risque de 5 % :
p-value = 0,002.

3. Profil clinique des discordances

« dRVVT - /Staclot + »

3.1. Âge et sexe

Selon la loi de Khi-2 au risque de 5%, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux discordances « dRVVT - /Staclot + » étudiées, concernant le sexe : p-value = 0,06.

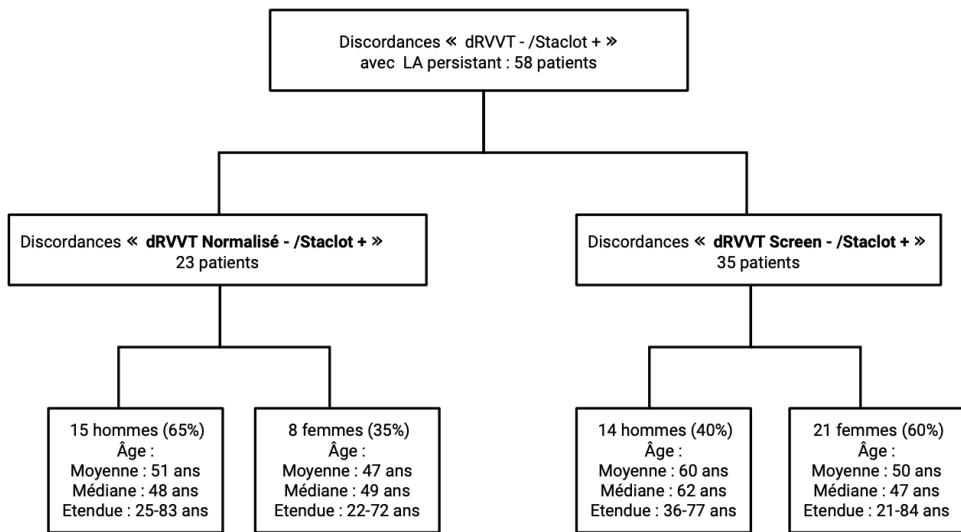


Figure 3 : Représentation des discordances « dRVVT - /Staclot + », selon l'âge et le sexe.

Selon le test de Student, au risque de 5%, les hommes présentant une discordance « dRVVT Screen – /Staclot + » sont significativement plus âgés que les femmes : p-value = 0,014.

De plus, ils sont significativement plus âgés que les hommes présentant une discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » : p-value = 0,024.

Par ailleurs, aucune différence significative de l'âge n'a été observée entre les hommes et les femmes présentant une discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot » : p-value = 0,64.

3.2. Évènements thrombotiques

Sur les 58 patients de l'étude, 13 d'entre eux (22%) ont présenté un épisode thrombotique à proximité d'un résultat de LA discordant (c'est-à-dire dans un intervalle de 4 semaines d'un résultat de LA discordant) :

- 6 patients sur 23 avec la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + ».
- 7 patients sur 35 avec la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + ».

Tableau 5 : Évènements thrombotiques à proximité d'un résultat discordant dans la population « dRVVT - /Staclot + » avec un LA persistant

Total n = 58	«dRVVT Normalisé - /Staclot +» n = 23	«dRVVT Screen - /Staclot +» n = 35
Absence d'évènement thrombotique à proximité du résultat discordant	74% (17 patients)	80% (28 patients)
Présence d'un évènement thrombotique à proximité du résultat discordant	26% (6 patients) :	20% (7 patients) :
Localisation	4/6 : thromboses artérielles 2/6 : thromboses veineuses	4/7 : thromboses artérielles 2/7 : thromboses veineuses 1/7 : thrombose capillaire
Facteurs de risques thrombotiques (hors LA)	6/6 : présence de facteurs de risques. Aucun SAPL de connu	5/7 : présence de facteurs de risques dont 2 SAPL de connus 2/7 sans facteurs de risques identifiés

L'apparition d'évènements thrombotiques à proximité d'un résultat discordant ne diffère pas significativement entre les deux discordances étudiées selon le test du Khi-2, au risque de 5% : p-value = 0,59.

Par ailleurs, aucune différence n'a été observée entre les deux discordances étudiées concernant les facteurs de risques thrombotiques associés, selon le test exact de Fisher, au risque de 5% : p-value = 0,46.

Concernant la localisation des évènements thrombotiques, elle ne diffère pas significativement entre les deux discordances étudiées, selon le test exact de Fisher, au risque de 5% : p-value = 1.

En effet, les évènements thrombotiques se répartissaient comme suit :

- Discordances « dRVVT Normalisé - /Staclot + » :
 - 4 thromboses artérielles (infarctus splénique, accident ischémique transitoire, embolie pulmonaire et infarctus du myocarde)
 - 2 thromboses veineuses (thrombose de la veine cave inférieure et thrombose de la veine jumelle externe).
- Discordance « dRVVT Screen – /Staclot + » :
 - 4 thromboses artérielles (accidents vasculaires cérébraux)
 - 2 thromboses veineuses (thrombose veineuse cérébrale et thrombose de la veine céphalique du coude)
 - 1 thrombose capillaire.

Parmi les 6 patients qui ont présenté un évènement thrombotique et une discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + », aucun patient n'était étiqueté avec un SAPL.

Parmi les 7 patients qui ont présenté un évènement thrombotique et une discordance « dRVVT Screen - /Staclot + », 2 patients étaient étiquetés avec un SAPL.

3.3. Auto-immunité

Sur les 58 patients de l'étude, nous disposions de données clinico-biologiques concernant l'auto-immunité pour 46 patients.

- 19 patients sur 23 avec la discordance « dRVVT Normalisé – /Staclot + ».
- 27 patients sur 35 avec la discordance « dRVVT Screen – /Staclot + ».

Tableau 6 : Auto-immunité dans la population « dRVVT - /Staclot + » avec un LA persistant

Total n = 46	«dRVVT Normalisé -/Staclot +» n = 19	«dRVVT Screen -/Staclot +» n = 27
Maladies auto-immunes ou Auto-immunité significative	63% (12 patients) 6 SAPL primaires, 1 SAPL secondaire à un lupus, 1 maladie auto-inflammatoire de signature interféron, 1 cholangite auto-immune, 1 entéropathie auto-immune, 2 auto-immunités significatives avec des taux d'AAN à 1/1280 et 1/8120.	74% (20 patients) 6 SAPL primaires, 4 SAPL secondaires à un lupus, 2 lupus, 2 Gougerot Sjögren, 1 sclérose en plaque, 1 maladie auto-inflammatoire de signature interféron, 1 vascularite ANCA, 1 connectivité indifférenciée, 2 auto-immunités significatives avec des taux d'AAN à 1/1280 et 1/2560.
Auto-immunité absente ou non significative	37% (7 patients) 4 patients AAN ≤ 1/200 3 patients AAN négatifs	26% (7 patients) AAN ≤ 1/200

* AAN : Anticorps anti-nucléaires

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux discordances concernant la présence d'une maladie auto-immune (63% vs. 74%), selon le test du Khi-2 au risque de 5% : p-value = 0,42.

Au total, 17 patients sur 46 étaient étiquetés avec un SAPL (37%), dont 12 SAPL primaires et 5 SAPL secondaires à un lupus.

De plus, la prévalence de SAPL était identique entre les deux types de discordances étudiées (7 patients sur 19 soit 37%, pour la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » vs. 10 patients sur 27 soit 37%, pour la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + »).

DISCUSSION

Cette étude rétrospective portant sur 1580 patients, nous permet de montrer l'existence d'authentiques SAPL, malgré des tests discordants impliquant les tests du dRVVT (test de dépistage/confirmation) et du Staclot-LA (test de confirmation), qui sont des tests de coagulation basés sur leur dépendance aux phospholipides.

En raison de l'hétérogénéité des LA et de la composition des réactifs, la sensibilité des tests est susceptible de varier (2), pouvant conduire à des résultats discordants. Cependant, des résultats erronés peuvent se rencontrer dans plusieurs situations :

Des résultats faussement négatifs peuvent s'observer quels que soient les tests utilisés, en cas de mauvaise centrifugation des échantillons pouvant être responsable d'une présence résiduelle de plaquettes, de syndrome néphrotique (29), d'évènements thromboemboliques (30,31), au cours de la grossesse (25), de LA de faible intensité dont la détection peut être délicate (27) et au cours de traitements par corticostéroïdes (32) ou hydroxychloroquine (33).

Concernant les tests du dRVVT, des faux négatifs peuvent s'observer en cas de dilution du plasma chez certains patients sous AVK. 6 patients de notre étude ont été concernés par une dilution de leur échantillon.

A l'inverse, des résultats faussement positifs peuvent s'observer quels que soient les tests utilisés, en cas de traitements par anticoagulants oraux

direct (Apixaban, Rivaroxaban et Dabigatran) et par les inhibiteurs de la thrombine (Hirudine et Argatroban) (34).

Des faux positifs peuvent s'observer au cours des tests du dRVVT et du Staclot-LA lorsque l'activité anti-Xa Héparine dépasse respectivement 0,8 UI/mL et 1 UI/mL et lorsqu'il y a une présence dans le plasma d'antifacteurs spécifiques (35).

Nous montrons des cas de SAPL alors que les interférences décrites ci-dessus, ont été écartées.

Un suivi biologique au sein du même laboratoire n'a pas pu être réalisé chez tous nos patients pour les raisons suivantes : analyse réalisée dans un autre laboratoire, patients perdus de vue, délai de 12 semaines à 5 ans non respecté, oubli/méconnaissance du suivi biologique des anticorps anti-phospholipides, traitement antithrombotique interférant avec les techniques. En raison de l'absence de suivi biologique chez un nombre important de patients, il est possible que certains cas de SAPL aient pu échapper à notre étude, le caractère persistant ou transitoire du LA n'ayant pu être établi que pour 181 patients. Bien que majoritairement rencontrées dans le cadre de LA transitoires (123/181, 68%), nous montrons que les discordances « dRVVT - /Staclot + », dans un contexte de persistance du LA (58/181, 32%), sont une entité clinico-biologique à prendre en compte car elles peuvent révéler d'authentiques SAPL.

En effet, ces discordances peuvent être concomitantes avec une positivité d'autres anticorps anti-phospholipides (aCL, a β 2GP1 et/ou aPL non conventionnels) et d'autre part, avec des évènements thrombotiques.

De plus, 17 des 58 patients étaient étiquetés avec un SAPL, dont 12 SAPL primaires et 5 SAPL secondaires.

Ainsi, ces observations dans le cadre d'un LA persistant, nous orientent vers un « faux négatif » de la technique du dRVVT.

Par ailleurs, 18 patients ont présenté des résultats de Staclot-LA fortement positifs (de 16 à 33 secondes) malgré un ratio dRVVT Screen ou Normalisé négatif (Cf. Annexe 1). Parmi ces patients ont été identifiés : 4 SAPL connus et 3 patients ayant présenté des évènements thrombotiques compatibles avec un SAPL, à proximité du résultat de LA discordant (Cf. Annexe 2).

Cette discordance nette entre un test dRVVT négatif et un test Staclot-LA fortement positif, dans un contexte de LA persistant, peut suggérer la présence d'un lupus anticoagulant avec des épitopes insuffisamment reconnus par la technique du dRVVT, par hétérogénéité du LA.

A l'inverse, des Staclot-LA faiblement positifs entre 8 et 9 secondes (Cf. Annexe 1) ont été observés chez 3 patients avec des profils « double positifs » ou « triple positifs » et connus avec un SAPL (Cf. Annexe 2).

Pour ces patients, nous pouvons supposer la présence d'un LA de forte intensité qui dépasserait les capacités de saturation des phospholipides des tests de confirmation. En conséquence, les valeurs obtenues au cours de

l'étape de confirmation pourraient se situer en dessous du seuil de positivité de la technique (13).

Toutefois, ce profil discordant entre un test dRVVT négatif et un test Staclot-LA faiblement positif pourrait également se rencontrer avec un LA de faible intensité connu pour être difficilement détectable (27), ou lors d'une dilution de l'auto-anticorps chez certains patients traités par AVK. En effet, une dilution de l'échantillon a été réalisée pour 6 patients sur 58.

4 patients sur 58 ont présenté alternativement les deux types de discordances « dRVVT - /Staclot + » au cours de leurs suivis biologiques. Aucun d'entre eux n'étaient connus avec un SAPL. Un LA insuffisamment détecté par la technique dRVVT ou un faux positif de la technique du Staclot-LA peuvent être envisagés.

Concernant la discordance « dRVVT Screen - /Staclot + », nous montrons qu'elle est susceptible de persister dans le temps, parfois pendant plusieurs années. Cette particularité souligne une hétérogénéité du lupus anticoagulant, mis en évidence par des techniques explorant la voie du TCA, comme le PTT-LA, connu pour être plus sensible que la technique du dRVVT (13,27).

Nous supposons un rôle de l'inflammation dans les discordances « dRVVT - /Staclot + », en particulier pour la discordance touchant le ratio normalisé du dRVVT. En effet, une majorité de patients avec une discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » (18/23, 78%) présentaient

un syndrome inflammatoire au moment de la recherche du LA. Lors d'un épisode inflammatoire et devant une discordance « dRVVT - /Staclot + », un résultat faussement positif du Staclot-LA peut être envisagé.

En effet, une étude de Schouwers et al., utilisant un pool de plasma normal (sans la présence de LA), a décrit une interférence de la CRP avec la technique du Staclot-LA, sans interférence retrouvée entre la CRP et la technique du dRVVT (36).

Toutefois, bien qu'un syndrome inflammatoire fût présent de façon concomitante à certains de nos résultats discordants, certains patients étaient connus avec un SAPL, ou ont déclaré un épisode thrombotique compatible avec un SAPL.

Ainsi, plutôt qu'un faux positif de la technique du Staclot-LA, ces résultats suggèrent une possible susceptibilité de la technique du dRVVT face au syndrome inflammatoire, impactant l'étape de confirmation du dRVVT avec un résultat faussement négatif du ratio normalisé.

En effet, le syndrome inflammatoire est connu pour allonger les tests de coagulation de routine (Temps de Quick, Temps de céphaline activée), ainsi, il n'est pas surprenant qu'il puisse impacter les tests chronométriques du LA, comme le PTT-LA, le dRVVT et le Staclot-LA.

Les phospholipides font partie des ligands de la CRP, tels que la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine.

Lors de l'étape de confirmation du dRVVT, une grande concentration de phospholipides est utilisée pour saturer les sites de liaisons des anticorps.

En cas de syndrome inflammatoire, la CRP présente dans le plasma du

patient pourrait se complexer avec les phospholipides du test, limitant ainsi la saturation du LA. En résulterait une diminution insuffisante des temps de coagulation, impactant le ratio normalisé du dRVVT.

Les recommandations préconisent une diminution des facteurs de risques cardiovasculaires chez les patients atteints de SAPL, pour diminuer le risque de récidive. Les facteurs de risques cardiovasculaires ne sont pas un critère limitant du diagnostic du SAPL, bien qu'ils puissent être un facteur confondant. Ainsi, les patients de notre étude qui ont présenté un évènement thrombotique à proximité d'un résultat discordant (13/58, 22%) remplissent les critères diagnostic du SAPL, malgré la présence de facteurs de risques cardiovasculaires associés.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux types de discordances « dRVVT - /Staclot + » concernant le sexe, le profil de positivité des aPL, la prévalence des évènements thrombotiques et des maladies auto-immunes. Par ailleurs, aucune femme de l'étude n'était enceinte à proximité des résultats de LA discordants, de ce fait, aucune complication obstétricale n'a pu être observée.

Cette étude montre que l'utilisation du test Staclot-LA en cas de résultats de PTT-LA positif et de dRVVT négatif, permet une meilleure détection du LA. Ainsi, les discordances biologiques observées entre les tests du dRVVT et du Staclot-LA peuvent dans certains cas, correspondre à une entité clinico-biologique du SAPL.

Bibliographie

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost JTH*. févr 2006;4(2):295-306.
2. Haute Autorité de Santé. Biologie des anomalies de l'hémostase. Tome VI : Détection d'un anticoagulant de type lupique. HAS; 2011.
3. Conley L, Hartman R. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952. :31:621.
4. Bowie EJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, et al. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Lab Clin Med*. sept 1963;62:416-30.
5. Soulier J, Boffa M. Avortements à répétition, thromboses, anticoagulant circulant. *Nouv Presse Méd* 1980. 9(859-65).
6. Bevers EM, Galli M, Barbui T, et al. Lupus anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost*. 2 déc 1991;66(6):629-32.
7. Oosting JD, Derkzen RH, Entjes HT, et al. Lupus anticoagulant activity is frequently dependent on the presence of beta 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost*. 4 mai 1992;67(5):499-502.
8. de Laat HB, Derkzen RHWM, Urbanus RT, et al. Beta2-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 1 déc 2004;104(12):3598-602.
9. Lee MT, Nardi MA, Hadzi-Nesic J, et al. Transient hemorrhagic diathesis associated with an inhibitor of prothrombin with lupus anticoagulant in a 1 1/2-year-old girl: report of a case and review of the literature. *Am J Hematol*. avr 1996;51(4):307-14.
10. Bajaj SP, Rapaport SI, Fierer DS, et al. A mechanism for the hypoprothrombinemia of the acquired hypoprothrombinemia-lupus anticoagulant syndrome. *Blood*. avr 1983;61(4):684-92.
11. Levine JS, Rauch J. The Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med*. 2002;12.
12. Roubeix RAS. Mechanisms of autoantibody-mediated thrombosis. *Lupus*. févr 1998;7(2_suppl):114-9.
13. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost*. nov 2020;18(11):2828-39.
14. Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, et al. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost*. juin 2005;93(6):1147-52.
15. Amoura Z, Bader-Meunier B. PNDS : Syndrome des Anti-Phospholipides de l'adulte et de l'enfant; 2022.
16. Barhaiya M, Zuly S, Naden R, et al. The 2023 ACR/EULAR Antiphospholipid Syndrome Classification Criteria. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. oct 2023;75(10):1687-702.
17. Moore JE, Mohr CF. Biologically false positive serologic tests for syphilis; type, incidence, and cause. *J Am Med Assoc*. 4 oct 1952;150(5):467-73.
18. Joste V, Dragon-Durey MA, Darnige L. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : des critères à la pratique. *Rev Médecine Interne*. 1 janv 2018;39(1):34-41.

19. Agar C, van Os GMA, Mörgelin M, et al. Beta2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 26 août 2010;116(8):1336-43.
20. de Laat B, Derkzen RHWM, Urbanus RT, et al. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of beta 2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood*. 15 févr 2005;105(4):1540-5.
21. Crognier Marie. Etude de la corrélation entre les anticorps anti-phosphatidylsérine/prothrombine et la présence du lupus anticoagulant chez les patients suspects ou atteints de syndrome des antiphospholipides. [Thèse]. [UFR des Sciences de Santé de Dijon]: Bourgogne; 2021.
22. Litvinova E, Darnige L, Kirillovsky A, et al. Prevalence and Significance of Non-conventional Antiphospholipid Antibodies in Patients With Clinical APS Criteria. *Front Immunol*. 2018;9.
23. Gendron N, Melicene S, Mauge L, et al. Actualités à propos de l'intérêt diagnostique des anticorps antiphospholipides. *Rev Francoph Hémostase Thromb*; 2022.
24. Zuijly S, de Laat B, Mohamed S, et al. Validity of the global anti-phospholipid syndrome score to predict thrombosis: a prospective multicentre cohort study. *Rheumatol Oxf Engl*. nov 2015;54(11):2071-5.
25. Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost JTH*. oct 2009;7(10):1737-40.
26. Galli M, Finazzi G, Bevers E, et al. Kaolin clotting time and dilute Russell's viper venom time distinguish between prothrombin-dependent and beta 2-glycoprotein I-dependent antiphospholipid antibodies. *Blood*. 15 juill 1995;86(2):617-23.
27. Dembitzer FR, Ledford Kraemer MR, Meijer P, et al. Lupus anticoagulant testing: performance and practices by north american clinical laboratories. *Am J Clin Pathol*. nov 2010;134(5):764-73.
28. Rauch J, Tannenbaum M, Tannenbaum H, et al. Human hybridoma lupus anticoagulants distinguish between lamellar and hexagonal phase lipid systems. *J Biol Chem*. 25 juill 1986;261(21):9672-7.
29. Pérez-Vázquez ME, Cabiedes J, Cabral AR, et al. Decrease in serum antiphospholipid antibody levels upon development of nephrotic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: relationship to urinary loss of IgG and other factors. *Am J Med*. avr 1992;92(4):357-62.
30. Miret C, Cervera R, Reverter JC, et al. Antiphospholipid syndrome without antiphospholipid antibodies at the time of the thrombotic event: transient « seronegative » antiphospholipid syndrome? *Clin Exp Rheumatol*. oct 1997;15(5):541-4.
31. Drenkard C, Sánchez-Guerrero J, Alarcón-Segovia D. Fall in antiphospholipid antibody at time of thromboocclusive episodes in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. mai 1989;16(5):614-7.
32. Silveira LH, Jara LJ, Espinoza LR. Transient disappearance of serum antiphospholipid antibodies can also be due to prednisone therapy. *Clin Exp Rheumatol*. avr 1996;14(2):217-9.
33. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, et al. Hydroxychloroquine directly reduces the binding of antiphospholipid antibody-β2-glycoprotein I complexes to phospholipid bilayers. *Blood*. 1 sept 2008;112(5):1687-95.
34. Favaloro EJ, Lippi G. Interference of direct oral anticoagulants in haemostasis assays: high potential for diagnostic false positives and false negatives. *Blood Transfus*. nov 2017;15(6):491-4.
35. Brandt JT, Barna LK, Triplett DA. Laboratory identification of lupus anticoagulants: results of the Second International Workshop for Identification of Lupus Anticoagulants. On behalf

- of the Subcommittee on Lupus Anticoagulants/Antiphospholipid Antibodies of the ISTH. Thromb Haemost. déc 1995;74(6):1597-603.
36. Schouwers SME, Delanghe JR, Devreese KMJ. Lupus Anticoagulant (LAC) testing in patients with inflammatory status: does C-reactive protein interfere with LAC test results? Thromb Res. janv 2010;125(1):102-4.

Table des figures

Figure 1 : Algorithme décisionnel des différents tests chronométriques du LA et leurs interprétations.

Figure 2 : Répartition de la population étudiée selon les résultats des tests biologiques.

Figure 3 : Représentation des discordances « dRVVT - /Staclot + », selon l'âge et le sexe.

Table des tableaux

Tableau 1 : Critères de Sapporo

Tableau 2 : Évolution des discordances « dRVVT - /Staclot + », sur un bilan de contrôle réalisé à au moins 12 semaines et dans les 5 ans.

Tableau 3 : Profils de positivité en fonction des tests LA, aCL, aB2GP1 et aPL rares.

Tableau 4 : Les différentes situations cliniques au moment de la recherche du LA discordant.

Tableau 5 : Évènements thrombotiques à proximité d'un résultat discordant dans la population « dRVVT - /Staclot + » avec un LA persistant

Tableau 6 : Auto-immunité dans la population « dRVVT - /Staclot + » avec un LA persistant

Annexes

Annexe 1 : Moyennes des résultats des tests du dRVVT et du Staclot-LA et profils de positivité des anticorps associés.

	Ratio dRVVT normalisé < 1,20	Staclot-LA \geq 8 secondes
Discordances « dRVVT Normalisé - /Staclot + » <i>n = 23</i>	1,04	13
	1,09	12
	1,11	11
	1,11	15
	1,12	19
	1,12	21
	1,13	10
	1,14	12
	1,14	12
	1,14	15
	1,14	16
	1,15	8
	1,15	11
	1,15	12
	1,15	14
	1,16	9
	1,16	13
	1,16	19
	1,17	9
	1,17	9
	1,17	22
	1,18	17
	1,19	16
Discordances « dRVVT Screen - /Staclot + » <i>n = 35</i>	Ratio dRVVT Screen < 1,20	Staclot-LA \geq 8 secondes
	0,86	11
	0,93	12
	0,97	16
	1,02	8
	1,03	8
	1,03	19
	1,05	10
	1,05	22
	1,06	14
	1,06	14
	1,06	15
	1,08	14
	1,08	33
	1,09	10
	1,09	12
	1,09	20
	1,10	19
	1,11	9
	1,11	10
	1,11	13
	1,11	22
	1,12	9
	1,12	18
	1,13	8
	1,14	8
	1,14	10
	1,15	9
	1,16	8
	1,16	8
	1,17	15
	1,18	12
	1,18	19
	1,19	12
	1,19	20

Annexe 2 : Moyennes des résultats des tests du dRVVT et du Staclot-LA et profils cliniques associés (SAPL et thromboses à proximité d'un résultat discordant).

	Ratio dRVVT normalisé < 1,20	Staclot-LA ≥ 8 secondes
Discordances « dRVVT Normalisé - /Staclot + ».	1,11	11
	1,11	15
	1,12	19
	1,14	12
	1,14	15
	1,14	16
	1,15	8
	1,15	11
	1,15	14
	1,16	9
	1,17	9
	1,17	22
	1,18	17
Discordances « dRVVT Screen - /Staclot + »	Ratio dRVVT Screen < 1,20	Staclot-LA ≥ 8 secondes
	1,03	8
	1,03	19
	1,06	14
	1,06	15
	1,08	14
	1,09	10
	1,10	19
	1,11	10
	1,11	13
	1,12	9
	1,14	8
	1,14	10
	1,18	12
	1,19	12
	1,19	20

 SAPL connus
 Évènements thromboemboliques compatibles avec un SAPL

Gras : SAPL + Évènements thromboemboliques.

RÉSUMÉ

Buts de l'étude : Établir un profil clinico-biologique des patients présentant des LA persistant, avec une discordance « dRVVT - /Staclot + », et éclaircir l'impact clinique de ces discordances.

Matériel et Méthodes : Étude rétrospective monocentrique, portant sur 1580 patients du CHU d'Angers, sur une période de onze années (2011-2021). Deux types de discordances ont été analysées: l'une impliquant le test de dépistage dRVVT Screen, l'autre impliquant le test de confirmation dRVVT Confirm, avec le ratio normalisé du dRVVT.

Résultats : La discordance « dRVVT Screen - /Staclot + » est la plus fréquente dans le cadre de LA persistants, et tend à persister dans le temps, parfois pendant plusieurs années, contrairement à la discordance « dRVVT Normalisé - /Staclot + » qui s'observe essentiellement au cours d'épisodes inflammatoires. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux types de discordances « dRVVT - /Staclot + » concernant le sexe, le profil de positivité des aPL, la prévalence des événements thrombotiques et des maladies auto-immunes. Toutefois, il faut rester critique face à ces discordances lorsqu'elles sont rencontrées dans le cadre de LA persistants.

En effet, parmi les patients qui ont présenté un LA persistant avec une discordance « dRVVT - /Staclot + », 37% étaient étiquetés avec un SAPL, et 22% ont présenté à proximité d'un résultat discordant, un évènement thrombotique compatible avec un SAPL.

Discussion : Cette étude est en faveur de l'existence d'authentiques SAPL, malgré des résultats discordants.

Mots-clés : Discordances, Lupus anticoagulant, Syndrome des anti-phospholipides, Tests, dRVVT, Staclot-LA, évènements thrombotiques

Study of dRVVT/Staclot-LA discrepancies in the exploration of anticoagulant lupus: Clinico-biological profiles and clinical impact.**ABSTRACT**

Aims: To establish clinico-biological profiles of patients with persistent LA and a « dRVVT - /Staclot + » discrepancy, and to clarify the clinical impact of these discrepancies.

Material and Methods: Monocentric retrospective study, including 1580 patients from the University Hospital of Angers, over an eleven-year period (2011-2021). Two types of discrepancies were analyzed in this study: one involving the dRVVT Screen, the other involving the dRVVT Confirm and the normalized ratio.

Results: The « dRVVT Screen - /Staclot + » discrepancy is the most encountered in the context of persistent LA, and tends to persist over time, sometimes for several years, in contrast to the « dRVVT Normalized - /Staclot + » discrepancy, which is mainly observed during inflammatory episodes.

No significant difference was found between the two types of « dRVVT - /Staclot + » discrepancies considering gender, aPL positivity profile, prevalence of thromboembolic events and autoimmune diseases. However, we must remain critical with these discrepancies when encountered in persistent LA. Indeed, among the patients who presented a persistent LA with a « dRVVT - /Staclot + » discrepancy, 37% were known to have an APS, and 22% presented a thromboembolic event compatible with an APS near the discrepancy.

Discussion: This study supports the existence of authentic APS, despite discrepancies results.

Keywords: Discrepancies, Anticoagulant Lupus, Anti-phospholipid syndrome, Tests, dRVVT, Staclot-LA, persistent, thromboembolic events.