

UNIVERSITE MOHAMMED V - SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2013

THESE N°: 21

**DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
DES ANTICOAGULANTS CIRCULANTS**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Francesca Caresse NDJEMBI MPOLO
Née le 03 Février 1987 à Franceville (Gabon)
De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Anticoagulants circulants – Antiphospholipides – Antifacteurs.

JURY

| | | |
|---|---|-------------------|
| Mr. M. ZOUHDI Professeur de Microbiologie | | PRESIDENT |
| Mme. M. NAZIH Professeur Agrégé d'Hématologie | | RAPPORTEUR |
| Mme. S. TELLAL Professeur de Biochimie | } | JUGES |
| Mr. A. MASRAR Professeur d'Hématologie Biologique | | |



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur AbdelmajidBELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur NajiaHAJJAJ - HASSOUNI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Mars, Avril et Septembre 1980

1. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie

Mai et Octobre 1981

2. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
3. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
4. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

5. Pr. ABROUQ Ali* Oto-Rhino-Laryngologie
6. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire
7. Pr. BENSOUDA Mohamed Anatomie
8. Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique
9. Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI Physiologie

Novembre 1983

10. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir* Pneumo-phtisiologie
11. Pr. BELLAKHDAR Fouad Neurochirurgie
12. Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI Rhumatologie

Décembre 1984

- | | | |
|-----|----------------------------------|-------------------------|
| 13. | Pr. BOUCETTA Mohamed* | Neurochirurgie |
| 14. | Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie |
| 15. | Pr. MAAOUNI Abdelaziz | Médecine Interne |
| 16. | Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie -Réanimation |
| 17. | Pr. NAJI M' Barek * | Immuno-Hématologie |
| 18. | Pr. SETTAF Abdellatif | Chirurgie |

Novembre et Décembre 1985

- | | | |
|-----|---------------------------------------|---|
| 19. | Pr. BENJELLOUN Halima | Cardiologie |
| 20. | Pr. BENSALID Younes | Pathologie Chirurgicale |
| 21. | Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa | Neurologie |
| 22. | Pr. IHRAI Hssain * | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 23. | Pr. IRAQI Ghali | Pneumo-phtisiologie |

Janvier, Février et Décembre 1987

- | | | |
|-----|--------------------------------------|------------------------------|
| 24. | Pr. AJANA Ali | Radiologie |
| 25. | Pr. AMMAR Fanid | Pathologie Chirurgicale |
| 26. | Pr. CHAHED OUAZZANI Houriaép.TAOBANE | Gastro-Entérologie |
| 27. | Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq | Pneumo-phtisiologie |
| 28. | Pr. EL HAITEM Naïma | Cardiologie |
| 29. | Pr. EL MANSOURI Abdellah* | Chimie-Toxicologie Expertise |
| 30. | Pr. EL YAACOUBI Moradh | Traumatologie Orthopédie |
| 31. | Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah | Gastro-Entérologie |
| 32. | Pr. LACHKAR Hassan | Médecine Interne |
| 33. | Pr. YAHYAOUI Mohamed | Neurologie |

Décembre 1988

- | | | |
|-----|---------------------------------|--------------------------|
| 34. | Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 35. | Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |
| 36. | Pr. FAIK Mohamed | Urologie |
| 37. | Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 38. | Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- | | | |
|-----|---------------------------------|--------------------------|
| 39. | Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 40. | Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 41. | Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 42. | Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 43. | Pr. CHKOFF Rachid | Pathologie Chirurgicale |
| 44. | Pr. HACHIM Mohammed* | Médecine-Interne |
| 45. | Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 46. | Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 47. | Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |

48. Pr. SEDRATI Omar* Dermatologie
 49. Pr. TAZI Saoud Anas Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

50. Pr. AL HAMANY Zaïtounia Anatomie-Pathologique
 51. Pr. AZZOUZI Abderrahim Anesthésie Réanimation
 52. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM Néphrologie
 53. Pr. BELKOUCHI Abdelkader Chirurgie Générale
 54. Pr. BENABDELLAH Chahrazad Hématologie
 55. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif Chirurgie Générale
 56. Pr. BENSOUDA Yahia Pharmacie galénique
 57. Pr. BERRAHO Amina Ophtalmologie
 58. Pr. BEZZAD Rachid Gynécologie Obstétrique
 59. Pr. CHABRAOUI Layachi Biochimie et Chimie
 60. Pr. CHANA El Houssaine* Ophtalmologie
 61. Pr. CHERRAH Yahia Pharmacologie
 62. Pr. CHOKAIRI Omar Histologie Embryologie
 63. Pr. JANATI Idrissi Mohamed* Chirurgie Générale
 64. Pr. KHATTAB Mohamed Pédiatrie
 65. Pr. OUAALINE Mohammed* Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 66. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH Pharmacologie
 67. Pr. TAOUFIK Jamal Chimie thérapeutique

Décembre 1992

68. Pr. AHALLAT Mohamed Chirurgie Générale
 69. Pr. BENOUDA Amina Microbiologie
 70. Pr. BENSOUDA Adil Anesthésie Réanimation
 71. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib Radiologie
 72. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza Gastro-Entérologie
 73. Pr. CHRAIBI Chafiq Gynécologie Obstétrique
 74. Pr. DAOUDI Rajae Ophtalmologie
 75. Pr. DEHAYNI Mohamed* Gynécologie Obstétrique
 76. Pr. EL HADDOURY Mohamed Anesthésie Réanimation
 77. Pr. EL OUAHABI Abdessamad Neurochirurgie
 78. Pr. FELLAT Rokaya Cardiologie
 79. Pr. GHAFIR Driss* Médecine Interne
 80. Pr. JIDDANE Mohamed Anatomie
 81. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine Gynécologie Obstétrique
 82. Pr. TAGHY Ahmed Chirurgie Générale
 83. Pr. ZOUHDI Mimoun Microbiologie

Mars 1994

84. Pr. AGNAOU Lahcen Ophtalmologie
 85. Pr. AL BAROUDI Saad Chirurgie Générale

| | |
|---|---|
| 86. Pr. BENCHERIFA Fatiha | Ophtalmologie |
| 87. Pr. BENJAAFAR Nouredine | Radiothérapie |
| 88. Pr. BENJELLOUN Samir | Chirurgie Générale |
| 89. Pr. BEN RAIS Nozha | Biophysique |
| 90. Pr. CAOUI Malika | Biophysique |
| 91. Pr. CHRAIBI Abdelmjid | Endocrinologie et Maladies Métaboliques |
| 92. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT | Gynécologie Obstétrique |
| 93. Pr. EL AOUIAD Rajae | Immunologie |
| 94. Pr. EL BARDOUNI Ahmed | Traumatologie-Orthopédie |
| 95. Pr. EL HASSANI My Rachid | Radiologie |
| 96. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur | Médecine Interne |
| 97. Pr. ERROUGANI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 98. Pr. ESSAKALI Malika | Immunologie |
| 99. Pr. ETTAYEBI Fouad | Chirurgie Pédiatrique |
| 100. Pr. HADRI Larbi* | Médecine Interne |
| 101. Pr. HASSAM Badredine | Dermatologie |
| 102. Pr. IFRINE Lahssan | Chirurgie Générale |
| 103. Pr. JELTHI Ahmed | Anatomie Pathologique |
| 104. Pr. MAHFOUD Mustapha | Traumatologie – Orthopédie |
| 105. Pr. MOUDENE Ahmed* | Traumatologie- Orthopédie |
| 106. Pr. OULBACHA Said | Chirurgie Générale |
| 107. Pr. RHRAB Brahim | Gynécologie –Obstétrique |
| 108. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR | Dermatologie |
| 109. Pr. SLAOUI Anas | Chirurgie Cardio-Vasculaire |

Mars 1994

| | |
|--------------------------------|----------------------------|
| 110. Pr. ABBAR Mohamed* | Urologie |
| 111. Pr. ABDELHAK M'barek | Chirurgie – Pédiatrique |
| 112. Pr. BELAIDI Halima | Neurologie |
| 113. Pr. BRAHMI Rida Slimane | Gynécologie Obstétrique |
| 114. Pr. BENTAHILA Abdelali | Pédiatrie |
| 115. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali | Gynécologie – Obstétrique |
| 116. Pr. BERRADA Mohamed Saleh | Traumatologie – Orthopédie |
| 117. Pr. CHAMI Ilham | Radiologie |
| 118. Pr. CHERKAOUI LallaOuafae | Ophtalmologie |
| 119. Pr. EL ABBADI Najia | Neurochirurgie |
| 120. Pr. HANINE Ahmed* | Radiologie |
| 121. Pr. JALIL Abdelouahed | Chirurgie Générale |
| 122. Pr. LAKHDAR Amina | Gynécologie Obstétrique |
| 123. Pr. MOUANE Nezha | Pédiatrie |

Mars 1995

| | |
|----------------------------|----------------------|
| 124. Pr. ABOUQUAL Redouane | Réanimation Médicale |
| 125. Pr. AMRAOUI Mohamed | Chirurgie Générale |

| | |
|--|--|
| 126. Pr. BAIDADA Abdelaziz | Gynécologie Obstétrique |
| 127. Pr. BARGACH Samir | Gynécologie Obstétrique |
| 128. Pr. BEDDOUCHE Amokrane* | Urologie |
| 129. Pr. BENZAOUZ Mustapha | Gastro-Entérologie |
| 130. Pr. CHAARI Jilali* | Médecine Interne |
| 131. Pr. DIMOU M'barek* | Anesthésie Réanimation |
| 132. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine* | Anesthésie Réanimation |
| 133. Pr. EL MESNAOUI Abbes | Chirurgie Générale |
| 134. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 135. Pr. FERHATI Driss | Gynécologie Obstétrique |
| 136. Pr. HASSOUNI Fadil | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 137. Pr. HDA Abdelhamid* | Cardiologie |
| 138. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed | Urologie |
| 139. Pr. IBRAHIMY Wafaa | Ophtalmologie |
| 140. Pr. MANSOURI Aziz | Radiothérapie |
| 141. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia | Ophtalmologie |
| 142. Pr. SEFIANI Abdelaziz | Génétique |
| 143. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali | Réanimation Médicale |

Décembre 1996

| | |
|--|--------------------------|
| 144. Pr. AMIL Touriya* | Radiologie |
| 145. Pr. BELKACEM Rachid | Chirurgie Pédiatrie |
| 146. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim | Ophtalmologie |
| 147. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan | Chirurgie Générale |
| 148. Pr. EL MELLOUKI Ouafae* | Parasitologie |
| 149. Pr. GAOUZI Ahmed | Pédiatrie |
| 150. Pr. MAHFOUDI M'barek* | Radiologie |
| 151. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid | Chirurgie Générale |
| 152. Pr. MOHAMMADI Mohamed | Médecine Interne |
| 153. Pr. MOULINE Soumaya | Pneumo-phtisiologie |
| 154. Pr. OUADGHIRI Mohamed | Traumatologie-Orthopédie |
| 155. Pr. OUZEDDOUN Naima | Néphrologie |
| 156. Pr. ZBIR EL Mehdi* | Cardiologie |

Novembre 1997

| | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 157. Pr. ALAMI Mohamed Hassan | Gynécologie-Obstétrique |
| 158. Pr. BEN AMAR Abdesselem | Chirurgie Générale |
| 159. Pr. BEN SLIMANE Lounis | Urologie |
| 160. Pr. BIROUK Nazha | Neurologie |
| 161. Pr. CHAOUIR Souad* | Radiologie |
| 162. Pr. DERRAZ Said | Neurochirurgie |
| 163. Pr. ERREIMI Naima | Pédiatrie |
| 164. Pr. FELLAT Nadia | Cardiologie |
| 165. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra | Radiologie |

| | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 166. Pr. HAIMEUR Charki* | Anesthésie Réanimation |
| 167. Pr. KADDOURI Nouredine | Chirurgie Pédiatrique |
| 168. Pr. KANOUNI NAWAL | Physiologie |
| 169. Pr. KOUTANI Abdellatif | Urologie |
| 170. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid | Chirurgie Générale |
| 171. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ | Pédiatrie |
| 172. Pr. NAZI M'barek* | Cardiologie |
| 173. Pr. OUAHABI Hamid* | Neurologie |
| 174. Pr. TAOUFIQ Jallal | Psychiatrie |
| 175. Pr. YOUSFI MALKI Mounia | Gynécologie Obstétrique |

Novembre 1998

| | |
|-----------------------------------|--------------------------|
| 176. Pr. AFIFI RAJAA | Gastro-Entérologie |
| 177. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali* | Pneumo-phtisiologie |
| 178. Pr. ALOUANE Mohammed* | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 179. Pr. BENOMAR ALI | Neurologie |
| 180. Pr. BOUGTAB Abdesslam | Chirurgie Générale |
| 181. Pr. ER RIHANI Hassan | Oncologie Médicale |
| 182. Pr. EZZAITOUNI Fatima | Néphrologie |
| 183. Pr. KABBAJ Najat | Radiologie |
| 184. Pr. LAZRAK Khalid (M) | Traumatologie Orthopédie |

Novembre 1998

| | |
|---------------------------|-----------------------|
| 185. Pr. BENKIRANE Majid* | Hématologie |
| 186. Pr. KHATOURI ALI* | Cardiologie |
| 187. Pr. LABRAIMI Ahmed* | Anatomie Pathologique |

Janvier 2000

| | |
|---|--------------------------|
| 188. Pr. ABID Ahmed* | Pneumophtisiologie |
| 189. Pr. AIT OUMAR Hassan | Pédiatrie |
| 190. Pr. BENCHERIF My Zahid | Ophtalmologie |
| 191. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd | Pédiatrie |
| 192. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine | Pneumo-phtisiologie |
| 193. Pr. CHAOUI Zineb | Ophtalmologie |
| 194. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer | Chirurgie Générale |
| 195. Pr. ECHARRAB El Mahjoub | Chirurgie Générale |
| 196. Pr. EL FTOUH Mustapha | Pneumo-phtisiologie |
| 197. Pr. EL MOSTARCHID Brahim* | Neurochirurgie |
| 198. Pr. EL OTMANY Azzedine | Chirurgie Générale |
| 199. Pr. GHANNAM Rachid | Cardiologie |
| 200. Pr. HAMMANI Lahcen | Radiologie |
| 201. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim | Anesthésie-Réanimation |
| 202. Pr. ISMAILI Hassane* | Traumatologie Orthopédie |
| 203. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss | Gastro-Entérologie |

204. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
 205. Pr. TACHINANTE Rajae
 206. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Anesthésie-Réanimation
 Anesthésie-Réanimation
 Médecine Interne

Novembre 2000

207. Pr. AIDI Saadia
 208. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
 209. Pr. AJANA Fatima Zohra
 210. Pr. BENAMR Said
 211. Pr. BENCHEKROUN Nabihah
 212. Pr. CHERTI Mohammed
 213. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
 214. Pr. EL HASSANI Amine
 215. Pr. EL IDGHIRI Hassan
 216. Pr. EL KHADER Khalid
 217. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
 218. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
 219. Pr. HSSAIDA Rachid*
 220. Pr. LACHKAR Azzouz
 221. Pr. LAHLOU Abdou
 222. Pr. MAFTAH Mohamed*
 223. Pr. MAHASSINI Najat
 224. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
 225. Pr. NASSIH Mohamed*
 226. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Générale
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Pédiatrie
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Urologie
 Rhumatologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie-Réanimation
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Neurochirurgie
 Anatomie Pathologique
 Pédiatrie
 Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
 Neurologie

Décembre 2001

227. Pr. ABABOU Adil
 228. Pr. BALKHI Hicham*
 229. Pr. BELMEKKI Mohammed
 230. Pr. BENABDELJLIL Maria
 231. Pr. BENAMAR Loubna
 232. Pr. BENAMOR Jouda
 233. Pr. BENELBARHDADI Imane
 234. Pr. BENNANI Rajae
 235. Pr. BENOUACHANE Thami
 236. Pr. BENYOUSSEF Khalil
 237. Pr. BERRADA Rachid
 238. Pr. BEZZA Ahmed*
 239. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 240. Pr. BOUHOUCHE Rachida
 241. Pr. BOUMDIN El Hassane*
 242. Pr. CHAT Latifa
 243. Pr. CHELLAOUI Mounia

Anesthésie-Réanimation
 Anesthésie-Réanimation
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Néphrologie
 Pneumo-phtisiologie
 Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Rhumatologie
 Anatomie
 Cardiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie

| | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 244. Pr. DAALI Mustapha* | Chirurgie Générale |
| 245. Pr. DRISSI Sidi Mourad* | Radiologie |
| 246. Pr. EL HIJRI Ahmed | Anesthésie-Réanimation |
| 247. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid | Neuro-Chirurgie |
| 248. Pr. EL MADHI Tarik | Chirurgie-Pédiatrique |
| 249. Pr. EL MOUSSAIF Hamid | Ophthalmologie |
| 250. Pr. EL OUNANI Mohamed | Chirurgie Générale |
| 251. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil | Radiologie |
| 252. Pr. ETTAIR Said | Pédiatrie |
| 253. Pr. GAZZAZ Miloudi* | Neuro-Chirurgie |
| 254. Pr. GOURINDA Hassan | Chirurgie-Pédiatrique |
| 255. Pr. HRORA Abdelmalek | Chirurgie Générale |
| 256. Pr. KABBAJ Saad | Anesthésie-Réanimation |
| 257. Pr. KABIRI EL Hassane* | Chirurgie Thoracique |
| 258. Pr. LAMRANI Moulay Omar | Traumatologie Orthopédie |
| 259. Pr. LEKEHAL Brahim | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 260. Pr. MAHASSIN Fattouma* | Médecine Interne |
| 261. Pr. MEDARHRI Jalil | Chirurgie Générale |
| 262. Pr. MIKDAME Mohammed* | Hématologie Clinique |
| 263. Pr. MOHSINE Raouf | Chirurgie Générale |
| 264. Pr. NOUINI Yassine | Urologie |
| 265. Pr. SABBAH Farid | Chirurgie Générale |
| 266. Pr. SEFIANI Yasser | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 267. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia | Pédiatrie |

Décembre 2002

| | |
|---|---|
| 268. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane* | Anatomie Pathologique |
| 269. Pr. AMEUR Ahmed * | Urologie |
| 270. Pr. AMRI Rachida | Cardiologie |
| 271. Pr. AOURARH Aziz* | Gastro-Entérologie |
| 272. Pr. BAMOU Youssef * | Biochimie-Chimie |
| 273. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene* | Endocrinologie et Maladies Métaboliques |
| 274. Pr. BENZEKRI Laila | Dermatologie |
| 275. Pr. BENZZOUBEIR Nadia* | Gastro-Entérologie |
| 276. Pr. BERNOUSSI Zakiya | Anatomie Pathologique |
| 277. Pr. BICHTA Mohamed Zakariya | Psychiatrie |
| 278. Pr. CHOHO Abdelkrim * | Chirurgie Générale |
| 279. Pr. CHKIRATE Bouchra | Pédiatrie |
| 280. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair | Chirurgie Pédiatrique |
| 281. Pr. EL BARNOUSSI Leila | Gynécologie Obstétrique |
| 282. Pr. EL HAOURI Mohamed * | Dermatologie |
| 283. Pr. EL MANSARI Omar* | Chirurgie Générale |
| 284. Pr. ES-SADEL Abdelhamid | Chirurgie Générale |
| 285. Pr. FILALI ADIB Abdelhai | Gynécologie Obstétrique |

- | | |
|--|--------------------------|
| 286. Pr. HADDOUR Leila | Cardiologie |
| 287. Pr. HAJJI Zakia | Ophtalmologie |
| 288. Pr. IKEN Ali | Urologie |
| 289. Pr. ISMAEL Farid | Traumatologie Orthopédie |
| 290. Pr. JAAFAR Abdelouhab* | Traumatologie Orthopédie |
| 291. Pr. KRIOUILE Yamina | Pédiatrie |
| 292. Pr. LAGHMARI Mina | Ophtalmologie |
| 293. Pr. MABROUK Hfid* | Traumatologie Orthopédie |
| 294. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss* | Gynécologie Obstétrique |
| 295. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid* | Cardiologie |
| 296. Pr. NAITLHO Abdelhamid* | Médecine Interne |
| 297. Pr. OUJILAL Abdelilah | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 298. Pr. RACHID Khalid * | Traumatologie Orthopédie |
| 299. Pr. RAISS Mohamed | Chirurgie Générale |
| 300. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha* | Pneumophtisiologie |
| 301. Pr. RHOU Hakima | Néphrologie |
| 302. Pr. SIAH Samir * | Anesthésie Réanimation |
| 303. Pr. THIMOU Amal | Pédiatrie |
| 304. Pr. ZENTAR Aziz* | Chirurgie Générale |

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

- | | |
|----------------------------------|---|
| 305. Pr. ABDELLAH El Hassan | Ophtalmologie |
| 306. Pr. AMRANI Mariam | Anatomie Pathologique |
| 307. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 308. Pr. BENKIRANE Ahmed* | Gastro-Entérologie |
| 309. Pr. BENRAMDANE Larbi* | Chimie Analytique |
| 310. Pr. BOUGHALEM Mohamed* | Anesthésie Réanimation |
| 311. Pr. BOULAADAS Malik | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale |
| 312. Pr. BOURAZZA Ahmed* | Neurologie |
| 313. Pr. CHAGAR Belkacem* | Traumatologie Orthopédie |
| 314. Pr. CHERRADI Nadia | Anatomie Pathologique |
| 315. Pr. EL FENNI Jamal* | Radiologie |
| 316. Pr. EL HANCHI ZAKI | Gynécologie Obstétrique |
| 317. Pr. EL KHORASSANI Mohamed | Pédiatrie |
| 318. Pr. EL YOUNASSI Badreddine* | Cardiologie |
| 319. Pr. HACHI Hafid | Chirurgie Générale |
| 320. Pr. JABOUIRIK Fatima | Pédiatrie |
| 321. Pr. KARMANE Abdelouahed | Ophtalmologie |
| 322. Pr. KHABOUZE Samira | Gynécologie Obstétrique |
| 323. Pr. KHARMAZ Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 324. Pr. LEZREK Mohammed* | Urologie |
| 325. Pr. MOUGHIL Said | Chirurgie Cardio-Vasculaire |
| 326. Pr. NAOUMI Asmae* | Ophtalmologie |

327. Pr. SASSENOU ISMAIL* Gastro-Entérologie
 328. Pr. TARIB Abdelilah* Pharmacie Clinique
 329. Pr. TIJAMI Fouad Chirurgie Générale
 330. Pr. ZARZUR Jamila Cardiologie

Janvier 2005

331. Pr. ABBASSI Abdellah Chirurgie Réparatrice et Plastique
 332. Pr. AL KANDRY Sif Eddine* Chirurgie Générale
 333. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid Microbiologie
 334. Pr. ALLALI Fadoua Rhumatologie
 335. Pr. AMAZOUZI Abdellah Ophtalmologie
 336. Pr. AZIZ Noureddine* Radiologie
 337. Pr. BAHIRI Rachid Rhumatologie
 338. Pr. BARKAT Amina Pédiatrie
 339. Pr. BENHALIMA Hanane Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 340. Pr. BENHARBIT Mohamed Ophtalmologie
 341. Pr. BENYASS Aatif Cardiologie
 342. Pr. BERNOUSSI Abdelghani Ophtalmologie
 343. Pr. BOUKLATA Salwa Radiologie
 344. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed Ophtalmologie
 345. Pr. DOUDOUH Abderrahim* Biophysique
 346. Pr. EL HAMZAOUI Sakina Microbiologie
 347. Pr. HAJJI Leila Cardiologie
 348. Pr. HESSISSEN Leila Pédiatrie
 349. Pr. JIDAL Mohamed* Radiologie
 350. Pr. KARIM Abdelouahed Ophtalmologie
 351. Pr. KENDOOUSSI Mohamed* Cardiologie
 352. Pr. LAAROOUSSI Mohamed Chirurgie Cardio-vasculaire
 353. Pr. LYAGOUBI Mohammed Parasitologie
 354. Pr. NIAMANE Radouane* Rhumatologie
 355. Pr. RAGALA Abdelhak Gynécologie Obstétrique
 356. Pr. SBIHI Souad Histo-Embryologie Cytogénétique
 357. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam Ophtalmologie
 358. Pr. ZERAIDI Najia Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

400. Pr. ACHEMLAL Lahsen* Rhumatologie
 401. Pr. AKJOUJ Said* Radiologie
 402. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra Dermatologie
 403. Pr. BELMEKKI Abdelkader* Hématologie
 404. Pr. BENCHEIKH Razika O.R.L
 405 Pr. BIYI Abdelhamid* Biophysique
 406. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine Chirurgie - Pédiatrique
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif* Chirurgie Cardio – Vasculaire

432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 431. Pr. SEFIANI Sana
 432. Pr. SOUALHI Mouna
 434. Pr. TELLAL Saida*
 435. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

436. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 437. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 438. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 439. Pr. BAITE Abdelouahed *
 440. Pr. TOUATI Zakia
 441. Pr. OUZZIF Ezzohra *
 442. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 443. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq *
 450. Pr. GHARIB Nouredine

Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique

| | |
|-------------------------------|---|
| 451. Pr. TABERKANET Mustafa * | Chirurgie vasculaire périphérique |
| 452. Pr. ISMAILI Nadia | Dermatologie |
| 476. Pr. MASRAR Azlarab | Hématologie biologique |
| 477. Pr. RABHI Monsef * | Médecine interne |
| 478. Pr. MRABET Mustapha * | Médecine préventive santé publique et hygiène |
| 479. Pr. SEKHSOKH Yessine * | Microbiologie |
| 480. Pr. SEFFAR Myriame | Microbiologie |
| 481. Pr. LOUZI Lhoussain * | Microbiologie |
| 459. Pr. MRANI Saad * | Virologie |
| 460. Pr. GANA Rachid | Neuro chirurgie |
| 461. Pr. ICHOU Mohamed * | Oncologie médicale |
| 485. Pr. TACHFOUTI Samira | Ophtalmologie |
| 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine | Ophtalmologie |
| 487. Pr. MELLAL Zakaria | Ophtalmologie |
| 488. Pr. AMMAR Haddou * | ORL |
| 489. Pr. AOUI Sarra | Parasitologie |
| 490. Pr. TLIGUI Houssain | Parasitologie |
| 491. Pr. MOUTAJ Redouane * | Parasitologie |
| 470. Pr. ACHACHI Leila | Pneumo ptisiologie |
| 471. Pr. MARC Karima | Pneumo ptisiologie |
| 494. Pr. BENZIANE Hamid * | Pharmacie clinique |
| 495. Pr. CHERKAOUI Naoual * | Pharmacie galénique |
| 496. Pr. EL OMARI Fatima | Psychiatrie |
| 497. Pr. MAHI Mohamed * | Radiologie |
| 498. Pr. RADOUANE Bouchaib * | Radiologie |
| 499. Pr. KEBDANI Tayeb | Radiothérapie |
| 478. Pr. SIFAT Hassan * | Radiothérapie |
| 479. Pr. HADADI Khalid * | Radiothérapie |
| 480. Pr. ABIDI Khalid | Réanimation médicale |
| 481. Pr. MADANI Naoufel | Réanimation médicale |
| 482. Pr. TANANE Mansour * | Traumatologie orthopédie |
| 483. Pr. AMHAJJI Larbi * | Traumatologie orthopédie |

Décembre 2008

484. Pr. TAHIRI My El Hassan*
485. Pr. ZOUBIR Mohamed*

Mars 2009

486. Pr. BJIJOU Younes
487. Pr. AZENDOUR Hicham *
488. Pr. BELYAMANI Lahcen *
489. Pr. BOUHSAIN Sanae *
490. Pr. OUKERRAJ Latifa
491. Pr. LAMSAOURI Jamal *
492. Pr. MARMADE Lahcen

- Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation

- Anatomie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Biochimie
Cardiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire

| | |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 493. Pr. AMAHZOUNE Brahim * | Chirurgie Cardio-vasculaire |
| 494. Pr. AIT ALI Abdelmounaim * | Chirurgie Générale |
| 495. Pr. BOUNAIM Ahmed * | Chirurgie Générale |
| 496. Pr. EL MALKI Hadj Omar | Chirurgie Générale |
| 497. Pr. MSSROURI Rahal | Chirurgie Générale |
| 498. Pr. CHTATA Hassan Toufik * | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| 499. Pr. BOUI Mohammed * | Dermatologie |
| 500 Pr. KABBAJ Nawal | Gastro-entérologie |
| 501. Pr. FATHI Khalid | Gynécologie obstétrique |
| 502. Pr. MESSAOUDI Nezha * | Hématologie biologique |
| 503. Pr. CHAKOUR Mohammed * | Hématologie biologique |
| 504. Pr. DOGHMI Kamal * | Hématologie clinique |
| 505. Pr. ABOUZAHIR Ali * | Médecine interne |
| 506. Pr. ENNIBI Khalid * | Médecine interne |
| 507. Pr. EL OUENNASS Mostapha | Microbiologie |
| 508. Pr. ZOUHAIR Said* | Microbiologie |
| 509. Pr. L'kassimiHachemi* | Microbiologie |
| 510. Pr. AKHADDAR Ali * | Neuro-chirurgie |
| 511. Pr. AIT BENHADDOU El hachmia | Neurologie |
| 512. Pr. AGADR Aomar * | Pédiatrie |
| 513. Pr. KARBOUBI Lamya | Pédiatrie |
| 514. Pr. MESKINI Toufik | Pédiatrie |
| 515. Pr. KABIRI Meryem | Pédiatrie |
| 516. Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani * | Pneumo-phtisiologie |
| 517. Pr. BASSOU Driss * | Radiologie |
| 518. Pr. ALLALI Nazik | Radiologie |
| 519. Pr. NASSAR Ittimade | Radiologie |
| 520. Pr. HASSIKOU Hasna * | Rhumatologie |
| 521. Pr. AMINE Bouchra | Rhumatologie |
| 522. Pr. BOUSSOUGA Mostapha * | Traumatologie orthopédique |
| 523. Pr. KADI Said * | Traumatologie orthopédique |

Octobre 2010

| | |
|----------------------------------|------------------------------------|
| 524. Pr. AMEZIANE Taoufiq* | Médecine interne |
| 525. Pr. ERRABIH Ikram | Gastro entérologie |
| 526. Pr. MOSADIK Ahlam | Anesthésie Réanimation |
| 527 Pr. ALILOU Mustapha | Anesthésie réanimation |
| 528. Pr. KANOUNI Lamya | Radiothérapie |
| 529. Pr. EL KHARRAS Abdennasser* | Radiologie |
| 530. Pr. DARBI Abdellatif* | Radiologie |
| 531. Pr. EL HAFIDI Naima | Pédiatrie |
| 532. Pr. MALIH Mohamed* | Pédiatrie |
| 533. Pr. BOUSSIF Mohamed* | Médecine aérologique |
| 534. Pr. EL MAZOUZ Samir | Chirurgie plastique et réparatrice |

535. Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 536. Pr. EL SAYEGH Hachem
 537. Pr. MOUJAHID Mountassir*
 538. Pr. BOUAITY Brahim*
 539. Pr. LEZREK Mounir
 540. Pr. NAZIH Mouna*
 541. Pr. LAMALMI Najat
 542. Pr. ZOUAIDIA Fouad
 543. Pr. BELAGUID Abdelaziz
 544. Pr. DAMI Abdellah*
 545. Pr. CHADLI Mariama*

Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie
 Anatomie pathologique
 Anatomie pathologique
 Physiologie
 Biochimie chimie
 Microbiologie

** Enseignants Militaires*

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

- | | |
|--|--|
| 1. Pr. ABOUDRAR Saadia | Physiologie |
| 2. Pr. ALAMI OUHABI Naima | Biochimie |
| 3. Pr. ALAOUI KATIM | Pharmacologie |
| 4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma | Histologie-Embryologie |
| 5. Pr. ANSAR M'hammed | Chimie Organique et Pharmacie Chimique |
| 6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz | Applications Pharmaceutiques |
| 7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed | Génétique Humaine |
| 8. Pr. BOURJOUANE Mohamed | Microbiologie |
| 9. Pr. CHAHED OUAZZANI LallaChadia | Biochimie |
| 10. Pr. DAKKA Taoufiq | Physiologie |
| 11. Pr. DRAOUI Mustapha | Chimie Analytique |
| 12. Pr. EL GUESSABI Lahcen | Pharmacognosie |
| 13. Pr. ETTAIB Abdelkader | Zootecnie |
| 14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes | Pharmacologie |
| 15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed | Chimie Organique |
| 16. Pr. IBRAHIMI Azeddine | Biotechnologie0 |
| 17. Pr. KABBAJ Ouafae | Biochimie |
| 18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine | Biologie |
| 19. Pr. REDHA Ahlam | Biochimie |
| 20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE M ^{ed} | Chimie Organique |
| 21. Pr. TOUATI Driss | Pharmacognosie |
| 22. Pr. ZAHIDI Ahmed | Pharmacologie |
| 23. Pr. ZELLOU Amina | Chimie Organique |

Je dédie cette thèse à ...





*A DIEU soit la Louange et la Gloire pour son Amour et sa
grâce manifestée envers moi durant toutes mes études au
Maroc car Lui seul a été fidèle.*

*Mes mots ne suffiront pas pour te dire merci pour tout ce
que tu as fais et fera pour moi.*

Toi seul Seigneur mérite l'Honneur et la Gloire





A SA MAJESTE LE ROI MOHAMED VI
Chef suprême et Chef d'Etat Major Général des
Forces Armées Royales
Que DIEU le Glorifie et le Préserve





A SON EXCELLENCE ALI BONGO ONDIMBA
Président de la République du Gabon, Chef de l'Etat
Chef suprême des Forces Armées Gabonaises
Que DIEU le Soutienne et l'accompagne





A Feu mon Père

NDJEMBI SOUNA Pierre

Merci pour cette vie que tu m'as donnée

*Ton amour et ta présence me manque, je sais que là où tu es
tu reposes en paix*

A ma Mère

ANDAGUI Alphonsine

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, le respect
que j'ai pour toi.*

*Tu t'es investi à me transmettre le sens de l'amour, de la
responsabilité et de la droiture.*

*Tu as remplis à la fois ce rôle de père et de mère qui je sais
n'a pas toujours été facile.*

Tu t'es donnée entière pour l'éducation de tes enfants,

Voici cette réussite que je te dois

*Que ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma
gratitude*

*Que DIEU Tout Puissant te bénisse, t'accorde une longue
vie, pleine de santé, de bonheur et de joie...*

Combien je t'aime ma maman chérie, je t'aime





A ma grand mère

ONDASSA PAULINE

*Tu nous as quittés trop tôt **Ekémi***

*Aucun mot ne saurais exprimer l'être que tu étais qui durant sa vie
s'est consacré à parfaire notre éducation.*

Tu nous manques

*A ma grande sœur **NDJEMBI Aude Lady***

Tu me manques, que là où tu es tu repose en paix

*A mon homonyme **MPOLO Marie***

Merci pour ton amour et pour ton soutien.

Que DIEU te bénisse et te comble de toutes ses grâces.

A Papa NTORI

Merci pour tout

*Dieu est passé par toi papa pour faire de moi ce que je suis
aujourd'hui.*

*Ce travail est le cadeau que je puisse t'offrir pour tous les sacrifices
déployés à mon égard.*

A Papa Macaire

Merci pour ton soutien, tes encouragements, tes conseils

Reçois toute ma reconnaissance





*A mes mamans
L'ENVOU EBOUMI Rosette, KOMBI Florence, KOUMBA Marie-
Chantal*

Un seul mot MERCI

Pour votre amour, votre soutien.

*Je vous dédie ce travail en reconnaissance de vos sacrifices
Sans oublier Tonton Dieudonné, Tonton Steve et Tonton Brice*

A tous mes frères et sœurs

*Je dédie ce travail à tous mes frères et sœurs en témoignage de ma
profonde affection*

*Ya Lilian, Ya Guillaïn, Ya Arlande, Bettina, Vanessa, Shandy,
Magaly, Papouse, Quincy, Jonathan, Samira, Zacharie, Esther, Paule,
Ezécheïl ...*

*Les mots ne sauraient exprimer l'étendu de mon affection et de ma
gratitude, vos prières, votre soutien et votre aide*

A Alberto, Maman Fanny, Patience, Fha

Merci pour l'amour et la joie que vous apportez aux miens

Je vous dédie ce travail et que DIEU guide vos pas





*A mes bouts de choux présent et avenir
Samuel, Andy, Sarah, Noah, Nathan, David...*

*Que DIEU veille sur chacun de vous, qu'il vous protège et qu'il vous
accorde une très longue vie pleine de grâce.*

*A toi **TSOUE MBIA Dorland Pascal***

*Ton amour, tes encouragements, tes conseils, ont toujours été au
rendez vous*

Merci parce que tu as été toujours là malgré les difficultés

*Reçois à ton tour le témoignage de mon amour, de toute mon affection
et de ma reconnaissance*

*A toute la famille **TSOUE***

*Maman Agathe, Maman Germaine, Ya Vivien, Gladys, Laura,
Pamela, Fiacre, Chella, Junior*

Merci pour votre amour, vos conseils et votre amitié.

*Au couple **Philippe et Désiré SHEMBO DIATA***

Merci pour votre amour, vos conseils, vos enseignements.

*Que le Seigneur vous bénisse et que tout ce que vous semez vous
puissiez le récolter en retour, c'est ma prière pour vous.*

*A **L'ASSEMBLÉE CHRETIENNE DE RABAT** et à toute ma Cellule
Océan*

Merci pour vos prières, votre soutien et votre confiance





A toute ma promotion de l'Ecole Royale du Service de Santé Militaire

Promotion 2007-2008

*Rachid, Eli, Hervé, Désiré, Yannick, Franck, Heritier, Yoyo, Elenga,
Medhar, Akim, Oumarou, Anicet, Elamine, Belchezzi, Mouchidi,
Polycarpo, Bonifacio Emmanuel, Elioth, Juslin, Nathan Petrelli, Diane
et Franchesca*

*Du début à la fin vous avez été présent, vous m'avez accueillie avec
sincérité, ce travail vous ait dédié avec toute ma reconnaissance et
mon amitié.*

*A tous mes anciens et mes jeunes de l'Ecole Royale du Service de Santé
Militaire, à la communauté des PA*

*Je vous dédie ce travail en reconnaissance de vos conseils...Que DIEU
guide chacun de vos pas et vous accorde paix, santé, réussite dans vos
entreprises.*

*Un merci particulier à Mitch, Juslin, Anicet, Stéphane, Armelle (ma
cocotte), Ya Gaelle, Winnie, Losly, Désiré Kassandra, Lyliane, Bob,
Zineb, Carine, Martine, Fidélia...*

*Votre présence, vos conseils et votre amitié m'ont été d'une grande
aide...*

Je vous dédie ce travail. Que DIEU vous bénisse et vous garde.

*A tous ceux qui n'ont pu être nommé par oublié, je peux vous garantir
toute ma reconnaissance*



REMERCIEMENTS





A notre maître et président de thèse

Monsieur M. ZOUHDI

*Professeur de Microbiologie à la Faculté de Médecine et de
Pharmacie et Chef du service de Microbiologie au CHU IBN
SINA*

*J'ai été touché par votre bienveillance et votre cordialité
Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites
en acceptant la présidence de mon jury de thèse
Veuillez agréer, cher maître, le témoignage de mon profond
respect, de ma gratitude et de ma reconnaissance*

Merci, cher Maître





A notre maître et directrice de thèse

Madame le Médecin-Colonel

Mona NAZIH

Professeur Agrégé d'hématologie

La confiance que vous avez placée en moi, en me confiant ce travail, me touche particulièrement

Vous m'avez encadrée et dirigée tout au long de cette thèse avec attention, indulgence et bonne humeur

Votre amabilité, vos compétences et surtout vos qualités humaines m'ont beaucoup marqués.

Pour tout ce que vous m'avez enseigné avec amour, patience et passion, veuillez recevoir, cher maître, l'expression de ma profonde considération

Puisse ma thèse vous honorer et faire votre fierté.

Merci, cher Maître





A notre Maître et membre du jury

Madame le Médecin-Colonel

TELLAL Saïda

*Professeur Agrégé en Biochimie à la Faculté de Médecine et
de Pharmacie de Rabat*

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de prendre place au
sein de ce jury de Thèse,*

*Pour le savoir que vous m'avez transmis au cours de mes
études,*

*Pour avoir pris le temps de commenter et de corriger mon
travail,*

*Veillez trouver ici l'expression de ma profonde
reconnaissance chère Maître.*





A notre Maître et membre du jury

Monsieur le professeur

MASRAR Azlarab

Professeur d'Hématologie Biologie

Chef du service d'Hématologie au CHU IBN SINA

C'est pour nous un honneur de vous avoir dans notre jury.

*Je vous remercie pour tout ce que vous nous avez
appris durant nos années de cours*

Je vous en suis infiniment reconnaissante.

*Veillez agréer, cher maître, le témoignage de mon profond
respect, de ma gratitude et de ma reconnaissance*

Merci





Liste des illustrations



LISTES DES ABRÉVIATIONS

| | |
|----------------|--|
| ACC | : Anticoagulant circulant |
| aβ2GPI | : Anticorps anti-béata-2-glycoprotéine I |
| aCL | : Anticardiolipines |
| aPE | : Anti-phosphatidyléthanolamine |
| aPL | : Antiphospholipide |
| ApoER2' | : Récepteur 2' de l'apolipoprotéine E |
| AT | : Antithrombine |
| AvWS | : Syndrome de Willebrand acquis |
| β2GPI | : béta-2-glycoprotéine I |
| CIVD | : Coagulation intravasculaire disséminée |
| CTAD | : Citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole |
| EGF | : Epidermalgrowth factor |
| EPCR | : Endothelialprotein C receptor |
| F | : Facteur |
| FVIIIc | : Facteur VIII coagulant |
| FT | : Facteur tissulaire |
| FvW | : Facteur de vonWillbrand |
| HAA | : L'hémophilie A acquise |
| HCII | : Cofacteur de l'héparine |
| ICAN-1 | : Intracellularadhesion molecule-1 |
| Ig G | : Immunoglobuline G |

| | |
|--------------|---|
| IgM | : Immunoglobuline M |
| IgA | : Immunoglobuline A |
| INR | : International Normalized Ratio |
| ISI | : Indice De Sensibilité International |
| ISTH | : International Society on Thrombosis and Haemostasis |
| IDM | : Infarctus du myocarde |
| KHPM | : Kininogène de haut poids moléculaire |
| LA | : Lupus anticoagulant |
| LES | : Lupus érythémateux systémique |
| MyD88 | : Myeloiddifferentiation factor 88 |
| NO | : Monoxyde d'azote |
| ORL | : oto-rhino-laryngologie |
| PC | : Protéine C |
| PCa | : Protéine C activée |
| PK | : Prékallitréine |
| PE | : phosphatidyléthanolamine |
| PL | : Phospholipides |
| PLA2 | : Phospholipases A2 |
| PP2A | : Phosphatase protein phosphatase 2A |
| PS | : Protéine S |
| PM | : Poids moléculaire |
| PTI | : Purpura thrombopénique immunologique |
| SAPL | : Syndrome antiphospholipides |

| | |
|----------------|---|
| TCA | : Temps de céphaline avec activateur |
| TCK | : Temps de céphaline avec kaolin |
| TLR | : Toll-like-recepteur |
| TP | : Temps de prothrombine |
| TPHI | : Tissue factor pathwayinhibitor |
| TQ | : Temps de Quick |
| TT | : Temps de thrombine |
| TXA2 | : Thromboxane A2 |
| UB | : Unité Bethesda |
| VCAM1 | : Vascular-celladhesion molecule-1 |
| VIH | : Virus de l'immunodéficience humaine |
| vWF Ag | : Antigène du vWF |
| vWF RCO | : Activité cofacteur de la Ristocétine du vWF |

LISTES DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Déroulement de l'hémostase | 7 |
| Figure 2 : Les diverses cibles antigéniques des anticorps antiphospholipides | 25 |
| Figure 3 : Hétérogénéité des anticorps antiphospholipides | 28 |
| Figure 4 : Structure de la β 2GPI..... | 31 |
| Figure 5 : Mode d'activation cellulaire par les $\alpha\beta$ 2GPI | 31 |
| Figure 6 : Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par l'anti β 2GPI..... | 38 |
| Figure 7 : Modèle du mécanisme physiopathologique de l'annexine A5 et de l'effet de l'hydroxychloroquine | 40 |
| Figure 8 : Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par l'anti- β 2GPI..... | 42 |
| Figure 9 : Modèle d'activation des cellules endothéliales par l'anti- β 2GPI..... | 44 |
| Figure 10 : Modèle d'activation des monocytes par l'anti- β 2GPI | 45 |
| Figure 11 : Structure primaire et mécanisme d'activation du F.VIII | 49 |
| Figure 12 : Mécanismes d'action des anticorps anti-F.VIII..... | 51 |
| Figure 13 : Structure du F.VIII et du F.IX | 52 |
| Figure 14 : Notion de syndrome des antiphospholipides primaire /secondaire..... | 72 |
| Figure 15 : Méthodes de détection et de titrage des anticorps anti-F.VIII par la méthode de Bethesda et Nijmegen | 87 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| Tableau I : Caractéristiques des protéines de la coagulation..... | 8 |
| Tableau II : Rôle du facteur tissulaire | 9 |
| Tableau III : Les inhibiteurs de la coagulation | 11 |
| Tableau IV : La fibrinof ormation..... | 14 |
| Tableau V : Schéma général de la voie de coagulation | 15 |
| Tableau VI : Exploration in vitro de la coagulation..... | 16 |
| Tableau VII : Droite d'étalonnage dite de Thyvolle | 19 |
| Tableau VIII : Schéma général de la fibrinolyse | 22 |
| Tableau IX : Situations cliniques auxquelles des aPL peuvent être associés | 26 |
| Tableau X : Caractéristiques des anticorps anticardiolipines | 29 |
| Tableau XI : Mécanismes d'actions potentiels des anticorps antiphospholipides | 46 |
| Tableau XII : Définition historique du SAPL | 59 |
| Tableau XIII : Critères diagnostiques des anticoagulants circulants de type lupique..... | 60 |
| Tableau XIV : Critères de positivité des tests de diagnostic des LA..... | 63 |
| Tableau XV : Tableau récapitulatif | 65 |
| Tableau XVI : Performances comparées des anticorps IgG anti- β 2GPI et aCL vis-à-vis du SAPL | 69 |
| Tableau XVII : Critères de classification révisés du syndrome des antiphospholipides..... | 73 |
| Tableau XVIII : Critères préliminaires de classification du syndrome catastrophique..... | 74 |
| Tableau XIX : Pathologies associées à la présence d'un auto-anticorps anti-facteur VIII .. | 78 |
| Tableau XX : Pathologies associées à la présence d'un anticorps anti-facteur Vwf | 80 |
| Tableau XXI : Recommandations pratiques pour la recherche d'inhibiteurs anti-FVIII | 82 |
| Tableau XXII : Recommandations pratiques pour la recherche d'inhibiteurs anti-FVIII ... | 88 |



Table des matieres



| | |
|---|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| I. HISTOIRIQUE | 4 |
| II. RAPPEL PHYSIOLOGIQUE | 6 |
| A-Hémostase primaire ou temps endothélio-plaquettaire | 6 |
| B-Coagulation | 7 |
| 1) Les protéines de la coagulation..... | 8 |
| 2) Schéma général des étapes de la coagulation..... | 11 |
| 3) Exploration de la coagulation..... | 16 |
| C-Physiologie de la fibrinolyse | 21 |
| III. MATÉRIELS ET METHODES..... | 23 |
| IV. PHYSIOPATHOLOGIE | 24 |
| A) Les inhibiteurs d'une phase de coagulation : les anticorps antiphospholipides..... | 24 |
| 1) Définition..... | 24 |
| 2) Mécanisme d'action des anticorps antiphospholipides | 37 |
| B) Les inhibiteurs physiologiques d'un facteur de coagulation | 47 |
| 1) Les anticorps anti-facteur VIII et IX | 47 |
| 2) Les anticorps anti-facteur XI..... | 53 |
| 3) Les anticorps anti-facteur de von Willebrand | 53 |
| 4) Les anticorps anti-facteurs V | 54 |
| V. EPIDÉMIOLOGIE ET DIAGNOSTIC DES ANTUCOAGULANTS CIRCULANTS | 56 |
| A).Antiphospholipides | 56 |
| 1) Caractéristiques..... | 56 |
| 2) Le SAPL primaire et le SAPL secondaire | 70 |

| | |
|--|----|
| 3) Le syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS)..... | 74 |
| B) Les acc spécifiques..... | 76 |
| 1. La fréquence | 76 |
| 2. Circonstance de découverte | 79 |
| 3. Critères de diagnostics positifs..... | 83 |
| VI. EVOLUTION DE LA STRATÉGIE DIAGNOSTIC DES ACC..... | 93 |
| VII. PERSPECTIVES DANS LE DIAGNOSTIC DES ACC | 94 |
| VIII. QUESTIONS DEMEURÉES EN SUSPENS | 96 |
| CONCLUSION | 97 |

RESUMES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



Introduction



A- Définition :

Les anticoagulants circulants (ACC) sont des inhibiteurs acquis de la coagulation. C'est un groupe hétérogène de substances inhibitrices de la coagulation. Ce sont des substances acquises ayant les caractéristiques d'anticoagulants (immunoglobulines G) dont certains sont spécifiques de facteurs de coagulation. Les ACC sont fabriqués par l'organisme et retrouvés dans le sang de certains patients. Ils inhibent la formation normale du caillot sanguin et apparaissent dans certaines maladies. Il faut les distinguer :

- des inhibiteurs physiologiques de la coagulation tel que l'antithrombine III, protéine C, le tissue factor pathway inhibitor (TPHI)
- des inhibiteurs thérapeutiques : héparine exogène

Les ACC sont des auto-anticorps qui sont souvent de type IgG ou IgM, parfois les 2 en même temps ; les types IgA sont rares. Ils sont dirigés contre un facteur de la coagulation ou contre une phase de la coagulation. Ils allongent les tests de la coagulation dépendants des phospholipides (TCA et / ou TP et /ou TT) en l'absence de correction par adjonction d'un plasma témoin [1]. En fonction des tests perturbés on distingue deux types d'ACC :

- les inhibiteurs spécifiques d'un facteur de coagulation (anti-facteur VIII, IX, XI, V...) et
- les inhibiteurs dirigés contre une phase de la coagulation ou inhibiteurs de type anti phospholipides (aPL) autrement appelé anti-prothrombinase ou lupus anticoagulant (LA).

Il est très important de les différencier car les inhibiteurs anti-facteurs entraînent des hémorragies et les inhibiteurs de type antiphospholipides entraînent des thromboses. Les ACC ont une action anticoagulante in vitro (phospholipides en quantité limitante) et non in vivo : d'où une absence de risque hémorragique (si absence de déficit en prothrombine ou de thrombopénie majeure).

B- Intérêt :

Il s'agit d'un sujet complexe nécessitant une standardisation des tests. La recherche d'ACC permet de préciser l'origine d'une augmentation isolée des tests de coagulation dont : Temps de céphaline avec activateur (TCA) et Temps de Quick (TQ). Si la recherche est positive il convient alors de préciser la nature de l'ACC.

Le diagnostic et l'interprétation des ACC restent délicat en rapport avec le comportement différent des ACC in vitro et in vivo, d'où le rôle important du biologiste dans le diagnostic, l'évaluation du risque et le suivi du traitement.

L'objectif de notre travail est double:

- L'établissement du diagnostic d'un anticoagulant circulant,
- Ces anticoagulants sont ils responsables d'une symptomatologie clinique ou pas.

I. HISTOIRIQUE

Pour mieux comprendre l'hétérogénéité des aPLs, il est important de connaître leur histoire. Ces anticorps sont connus depuis longtemps comme marqueurs de la syphilis. Cependant, au cours du temps et des découvertes, leurs caractéristiques et leurs associations cliniques se sont considérablement diversifiés. C'est August Wasserman qui, en 1906 [2], est à l'origine de la découverte de ces anticorps avec un test diagnostique de la syphilis qui utilisait la réaction de fixation du complément développée par Jules Bordet, le fameux test de Bordet-Wasserman (BW). L'antigène utilisé dans le BW initial était un extrait de foie issu de fœtus avec syphilis congénitale appelé « réagine ». Il fut remplacé par un extrait de tissus sains grâce aux travaux de Landsteiner, et la méthode de détection évolua du test de fixation du complément au test de floculation sur lame. En 1941, Marie Pangborn démontrait que la réagine était un phospholipide anionique dénommé par la suite « cardiolipin » parce qu'il était isolé à partir du muscle cardiaque [3]. C'est ainsi que, durant plusieurs décennies, un extrait alcoolique de cœur de bœuf fut utilisé comme antigène dans le test de dépistage de la syphilis connus sous le terme de Venereal Disease Research Laboratory (VDRL). L'utilisation à grande échelle du VDRL dans le cadre des campagnes de dépistage de la syphilis allait permettre la mise en évidence d'un syndrome, jusque là ignoré : le syndrome des antiphospholipides (SAPL). En effet, ces campagnes ont révélé un nombre important d'individus avec une sérologie de la syphilis dite « faussement positive » car ils ne présentaient aucun symptôme clinique de la syphilis et le test d'immobilisation du tréponème était négatif. La plus part d'entre eux étaient des femmes. En 1952, Moore et Mohr ont été les premiers à décrire une telle « fausse sérologie » [4]. Lorsqu'elle était transitoire, elle se retrouvait au cours de maladies infectieuses autres que la syphilis ; et lorsqu'elle était persistante, elle était le plus souvent associée à une maladie auto-immune, essentiellement le lupus érythémateux aigu disséminé (LEAD). C'est ainsi que le « faux BW » était devenu un des critères biologiques de diagnostic du LEAD établis par l'American Rheumatism Association (ARA).

En 1952, la présence d'un temps prolongé de coagulation in vitro chez deux patients lupiques a permis l'introduction du terme « anticoagulant circulant » [5], devenu 20 ans plus

tard « anticoagulant lupique » (LA). Une association entre la présence de LA et les manifestations thrombotiques chez les patients lupiques a été décrite par certains auteurs, dont Soulier et Boffa qui, dès 1980 ont rapporté l'association d'avortements répétés et de thromboses avec la présence d'anticoagulant circulant [6]. C'est à partir de 1983 que Harris a largement contribué à l'étude des associations cliniques, avec la présence d'anticorps anticardiolipines (aCL). Avec ses collaborateurs, ils ont mis au point un test radio-immunologique pour la détection des aCL [7], remplacé deux ans plus tard par le test Elisa [8], ce qui en a facilité l'usage et a permis d'étudier la signification clinique de ces anticorps chez les patients lupiques. Une incidence élevée de thromboses et de morbidité fœtale chez des patients lupiques positifs pour ces anticorps a été observée, et c'est ainsi qu'une nouvelle entité, à la fois clinique et biologique a émergé. Elle fut, dans un premier temps, appelée « syndrome des anticardioline » [9] puis SAPL parce que les anticorps reconnaissent des phospholipides autres que la cardiolipine [10].

L'historique des anti-facteurs s'est dessiné dans le temps selon le type d'anticorps atteint. Ainsi la découverte des anticorps anti-facteur VIII et IX c'est faites en 1940 par la découverte de l'hémophilie acquise qui est une maladie mettent en jeu à court terme la vie des patients. Elle a fais beaucoup de chemin depuis sa découverte. Son incidence varie entre un à quatre millions d'individus par an ce qui explique qu'elle soit encore largement méconnue et qu'aucun consensus n'existe quant à son traitement. Il est vrai qu'elle surprend toujours et tue souvent.

La découverte du syndrome de de Willebrand acquis (AvWS) a été décrits pour la première fois en 1968 au cours d'un lupus érythémateux disséminé [11]. Il reste encore largement méconnu puisque seulement 300 cas ont été rapportés dans la littérature depuis cette date [12,13].

Le FV a été identifié dans les années 1940. Le premier déficit constitutionnel en FV a été publié pour la première fois en 1947 par Owren. Son cas index était une jeune femme de 29 ans souffrant d'épistaxis prolongées et de ménorragies très importante. Owren en 1944 démontra qu'elle avait un déficit en un facteur procoagulant encore inconnu qu'il appela facteur V. Ce facteur a ensuite été renommé proaccélérine.

II. RAPPEL PHYSIOLOGIQUE

L'hémostase est un phénomène physiologique permettant d'interrompre un saignement puis de rétablir une circulation sanguine normale. Son rôle est le maintien du volume sanguin et de l'état liquide du sang. Il s'agit d'un système finement régulé et en l'absence de brèche vasculaire la balance entre effets pro coagulants et anticoagulants doit prévenir les saignements spontanés et la formation de thrombose [14].

L'étude de la physiologie de l'hémostase présente trois pôles d'intérêts :

- physiopathologique : analyse des troubles de l'hémostase rencontrée en clinique
- biologique : interprétation des tests explorant les différents stades de l'hémostase
- thérapeutique : approche plus précise de différentes drogues utilisées.

A- Hémostase primaire ou temps endothélio-plaquettaire :

C'est le premier temps de l'hémostase déclenché dès que se constitue une brèche vasculaire aboutissant à la formation d'un clou plaquettaire ou thrombus blanc [15]. Elle est suffisante pour arrêter le saignement au niveau des petits vaisseaux. Au cours de cette étape interviennent : la paroi vasculaire, les plaquettes (dont la membrane est riche en phospholipides et qui se répartissent de manière asymétriques) et des facteurs plasmatiques, le facteur de willebrand et le fibrinogène [16].

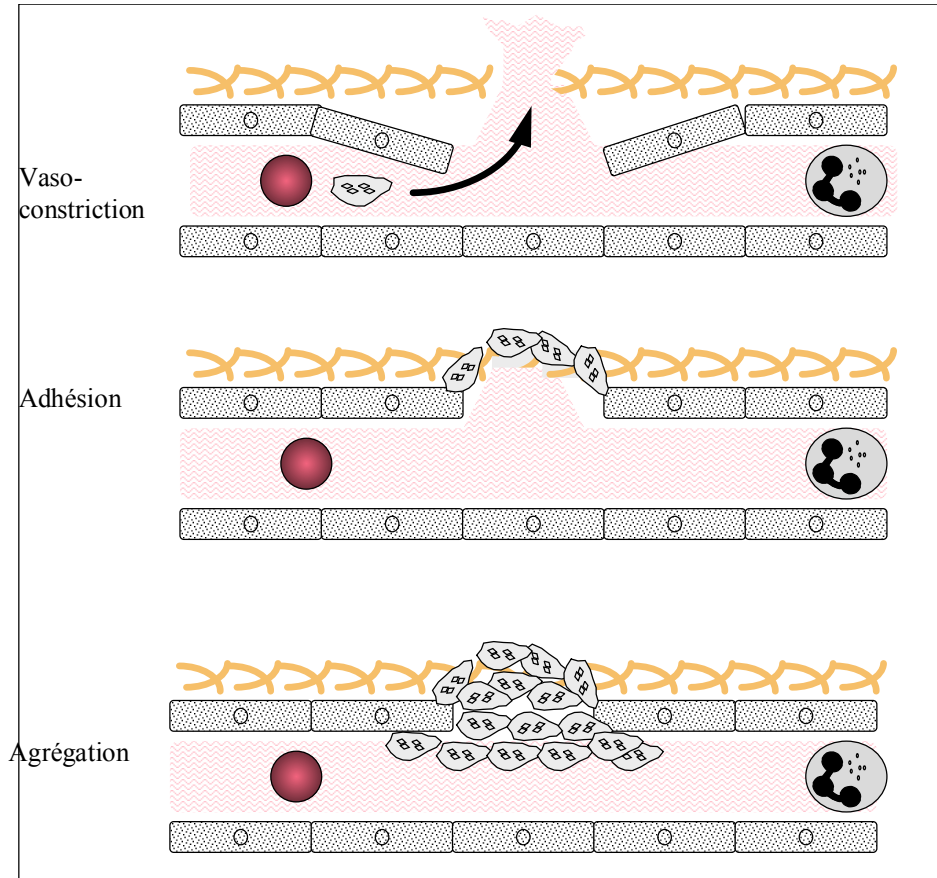


Figure 1 : Déroulement de l'hémostase [17]

B- Coagulation :

La coagulation sanguine est une étape de l'hémostase ayant pour but la formation d'un thrombus solide, c'est donc la transformation d'un liquide le plasma en un gel. Cette gélification est due à la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble [18]. La thrombine est l'enzyme clé qui clive le fibrinogène en fibrine visant à consolider le caillot formé lors de l'hémostase primaire [19]. La thrombine ne peut circuler sous sa forme enzymatique, elle se trouve dans le plasma sous sa forme inactive (zymogène). Son activation est l'aboutissement d'une série d'activation par d'autres molécules inactives.

1) Les protéines de la coagulation

La paroi vasculaire participe grâce à ses propriétés contractiles et/ ou sécrétoires au processus de la coagulation au même titre que le plasma et les plaquettes sanguines. Les protéines de la coagulation sont des protéines plasmatiques qui incluent les facteurs (F) et les inhibiteurs physiologiques de la coagulation. Le facteur tissulaire est une protéine membranaire présente dans la tunique externe du vaisseau, c'est l'élément principal déclenchant le processus de la coagulation quand une lésion vasculaire l'amène au contact du sang [20].

Tableau I : Caractéristiques des protéines de la coagulation [21].

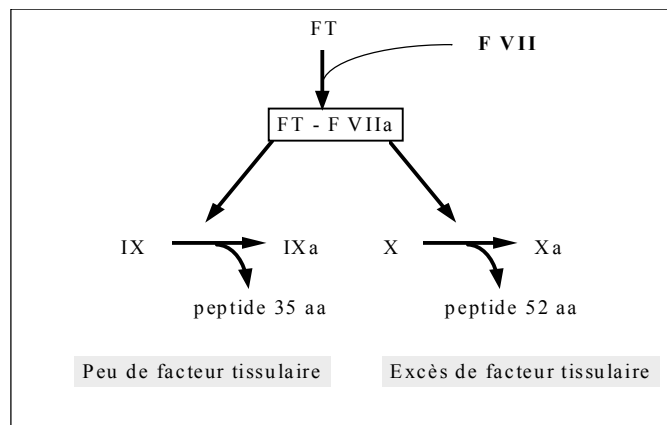
| Acteur | Nom | Fonction | Lieu de synthèse | Vitamine K dépendante |
|-----------------------------------|--------------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|
| Facteurs de la coagulation | | | | |
| I | Fibrinogène | substrat | Foie | |
| II | Prothrombine | Zymogène | Foie | + |
| V | Proaccéléline | Cofacteur | Foie | |
| VII | Proconvertine | Zymogène | Foie | + |
| VIII | Facteur antihémophilique A | Cofacteur | Foie | |
| IX | Facteur antihémiphilique B | Zymogène | Foie | + |
| X | Facteur de Stuart | Zymogène | Foie | + |
| XI | Facteur de Rosenthal | Zymogène | Foie | |
| XII | Facteur Hageman | Zymogène | Foie | |
| XIII | Facteur stabilisant de fibrine | Zymogène | Foie | |
| Facteur tissulaire | | Récepteur VIIa | Multicellulaire | |
| Facteurs inhibiteurs | | | | |
| Antithrombine | | Inhibiteur | Foie | |
| Protéine C | | Zymogène | Foie | + |
| Protéine S | | Cofacteur | Foie | + |
| Thrombomoduline | | Récepteur IIa | Cellule endothéliale | |

1.2. Le facteur tissulaire

Il s'agit d'une glycoprotéine membranaire synthétisée de façon constitutive par les fibroblastes présents dans l'adventis des vaisseaux. Il forme une enveloppe hémostatique autour de l'arbre vasculaire et est séparé du sang par l'endothélium mais il est prêt à intervenir en cas de lésion du vaisseau. Il est inséré dans la bicouche lipidique des membranes des cellules qui l'expriment, le F.T est à la fois l'initiateur de l'activation de la coagulation sanguine et un vrai récepteur appartenant à la famille des récepteurs de cytokines de classes 2. La fixation du F.VII sur le F.T et son activation déclenchent des signaux intracellulaires et des réponses qui participent au remodelage de la paroi vasculaire.

Le facteur VIIa peu soit activer directement le facteur X (si le FT est en excès), soit activer le facteur IX qui en présence du facteur VIII activera le facteur X.

Tableau II : Rôle du facteur tissulaire [17]

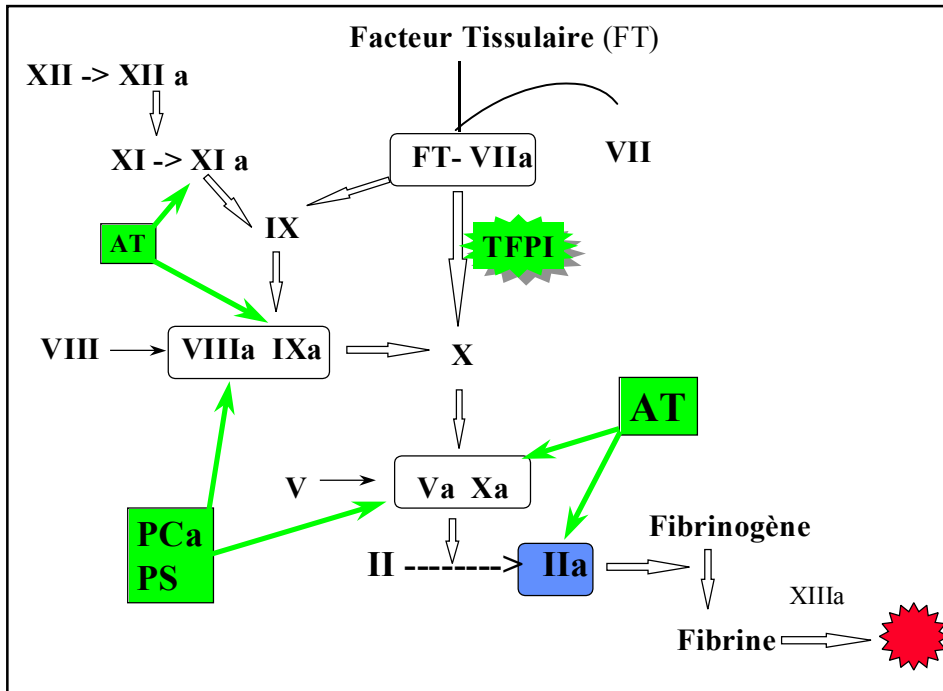


1.3. Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation

Les facteurs activés ne doivent pas circuler dans le plasma d'où le rôle essentiel de la phagocytose des facteurs activés par le système réticulohistiocytaire et dilution des facteurs par le courant circulatoire. Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation sont des protéines plasmatiques qui appartiennent à différentes familles, le déficit en ces inhibiteurs est une cause de thrombophilie. Ils comprennent :

- ✚ **Les inhibiteurs de sérine protéase ou serpins** qui forment des complexes irréversibles avec leur(s) enzyme(s) cibles(s). Ils incluent l'antithrombine (AT), le cofacteur II de l'héparine(HCII) et plus accessoirement l' α 1-antitrypsine et le C1-inhibiteur. L'AT et le HCII possèdent dans leur région N terminal des structures qui leur permettent de se fixer sur certains glycosaminoglycanes, ce qui accélère considérablement leur interaction avec leur(s) enzymes(s) cibles(s). L'antithrombine inhibe le facteur II et Xa, son activité anticoagulante est augmentée par l'héparine. Le déficit en antithrombine en présence de facteur favorisant sera responsable de thrombose à répétition.
- ✚ **Le système de la protéine C (PC) et protéines S (PS)** qui sont des protéines plasmatiques vitamino K dépendante. La protéine C est un zymogène d'une sérine protéase, son activation par la thrombine exige que la thrombine soit fixée sur un récepteur appelé la **thrombomoduline**. La PCa est l'inhibiteur très puissant des facteurs Va et VIIIa. La protéine S n'a pas de domaine sérine protéase et n'est donc pas un zymogène mais est le cofacteur de la protéine C activée (PCa). Le déficit en PC et PS expose à un risque de thrombose.
- ✚ **Le tissue factor pathway inhibitor (TFPI)** c'est une protéine plasmatique monocaténaire qui porte trois domaines présentant des homologies avec les inhibiteurs de type Kunitz (inhibiteurs qui se présentent comme de faux substrats vis-à-vis de leurs enzymes ciblent). Il se fixe aux glycosaminoglycanes de la paroi vasculaire inhibant ainsi l'activation du facteur X par le complexe (FVIIa-FT).

Tableau III : Les inhibiteurs de la coagulation [22]



2) Schéma général des étapes de la coagulation

La cascade de la coagulation est une suite ordonnée de phases enzymatiques déclenchées par un stimulus initiale et aboutissant à la transformation du fibrinogène en fibrine par la thrombine. Son processus de formation est complexe, il comprend une série d'activation enzymatique en cascade qui survient à la surface des phospholipides membranaires de certaines cellules (plaquettes, cellules endothéliales, monocytes).

❖ La conception classique du phénomène de coagulation comportait 2 voies d'activation

La voie intrinsèque dans laquelle tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. Cette voie s'active en présence de surface mouillable comme le verre.

La voie extrinsèque qui pour être activée nécessite la présence d'éléments tissulaires appelés thromboplastine tissulaire.

Le déroulement de la coagulation *in vivo* ne respecte pas cette distinction voie intrinsèque - voie extrinsèque. Cette conception duelle de la coagulation correspond en fait aux processus de coagulation *in vitro* et sera très utile pour l'exploration de la coagulation car la voie intrinsèque (ou endogène) et la voie extrinsèque (ou exogène) sont respectivement explorées par le temps de céphaline activée et le temps de Quick. C'est donc sur ce schéma que pourra se faire le raisonnement diagnostique d'interprétation des tests de coagulation bien que ce schéma ne correspond pas à la réalité *in vivo*.

❖ **Conception actuelle de la coagulation in vivo**

2.1. Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire

Lors d'une lésion vasculaire, le FT présent dans l'adventis fixe à la fois le F.VII et les traces de F.VIIa du sang circulant, avec auto activation immédiate du F.VII. Le complexe binaire FT/VIIa active ensuite simultanément les FIX et le FX fixés sur les surfaces membranaires, initiant ainsi la voie exogène de la coagulation. L'activation directe du F.X est faible car elle est limitée par le TFPI. Le F.Xa forme en présence de phospholipide et de Ca^{++} un complexe enzymatique appelé « prothrombinase » capable de couper la prothrombine (F.II) en plusieurs fragments dont la thrombine.

Les monocytes sanguins et les cellules endothéliales n'expriment pas normalement le FT.

Néanmoins, dans les conditions pathologiques, la synthèse du FT peut être induite dans ces cellules, en particulier sous l'effet de cytokines pro inflammatoires ou du lipopolysaccharide bactérien. Dans ces conditions, ces cellules peuvent initier la coagulation.

Cette phase ne génère que des traces de thrombines. La quantité de thrombine générée ne suffit pas pour produire la fibrine nécessaire à la constitution du caillot, mais permettra le déclenchement de la phase d'amplification de la coagulation.

2.2. Formation de thrombine et amplification du processus

La thrombine générée sur le site de coagulation amplifie immédiatement sa propre formation :

- elle stimule les plaquettes qui passent à proximité provoquant le recrutement et l'activation de nouvelles plaquettes et l'accroissement du thrombus plaquettaire.

-elle active les cofacteurs VIII et V, leur permettant de remplir leur fonction :

- ✚ Le F.VIIIa se sépare du facteur de von Willbrand pour se lier aux phospholipides plaquettaires sur lesquels il est concentré. C'est donc à la surface des plaquettes que se produit la phase d'amplification. Le F.IXa généré pendant la phase d'initiation est fixé de façon diffuse sur les plaquettes où il se lie au F.VIIIa en présence de calcium et forme un complexe appelé tenase ou tenase intrinsèque qui active alors le F.X également fixé sur les phospholipides.
- ✚ Le F.Va se fixe lui aussi à la surface des plaquettes et accélère l'activation du F.II par le F.Xa.

La thrombine active le F.XI mais aussi d'autres types cellulaires en particulier les leucocytes et les cellules vasculaires. A la fin de la phase d'amplification se trouvent donc à la surface des plaquettes activées par les facteurs de coagulation activée le : F.Xa, F.IIa, F.IXa, F.VIIIa, et le F.Va en concentration importante.

2.3. Activation du facteur XI et les éléments de la phase contact

Après la phase d'amplification la présence à la surface des plaquettes de concentration élevées de facteurs activés permettront la génération explosive de quantités importantes de thrombine qui auront de multiples effets :

-l'activation en boucle du F.XI, F.VIII et du F.V

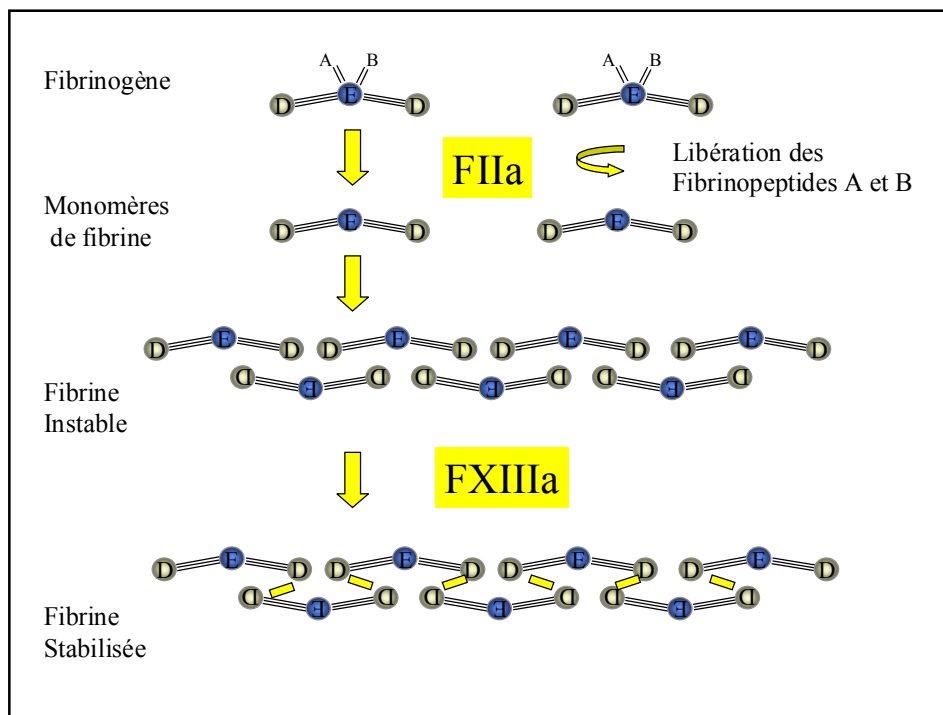
-l'activation des plaquettes et surtout la protéolyse du fibrinogène en monomères de fibrines. L'activation du F.XI peut également ce faire par le contact de protéines plasmatiques (F.XII, PK, KHPM) avec le sous endothélium.

2.4. Formation du caillot de fibrine

Lorsque la concentration de thrombine formée atteint un certain seuil, la thrombine convertit le fibrinogène soluble en fibrine insoluble. La fibrine enveloppe solidement l'agrégat de plaquettes pour former le caillot.

Le fibrinogène est constitué de 3 paires de chaînes $A\alpha$, $B\beta$ et γ . La thrombine sépare les fibrinopeptides A et B des monomères de fibrine. Un polymère instable de fibrine se forme. Il va être stabilisé par le F.XIIIa. L'activation du F.XIII est réalisée par la thrombine et régulée par la présence de calcium et de fibrine qui sert de cofacteur. Le F.XIIIa est une transglutaminase qui stabilise le caillot en créant des liaisons covalentes entre les monomères de fibrines adjacents. On a alors formation d'un réseau de fibrine qui emprisonne les globules rouges : le thrombus rouge définitif est ainsi formé.

Tableau IV : La fibrinoformation [22]



La thrombine (FIIa) clive les deux petits peptides (fibrinopeptides A et B) sur la molécule de fibrinogène, libérant des sites de liaison. Cette molécule de fibrinogène modifiée est alors appelée monomère de fibrine et va pouvoir s'organiser en réseau dans les différents plans de l'espace. Ce réseau de fibrine sera stabilisé par des liaisons covalentes générées par le facteur XIIIa.

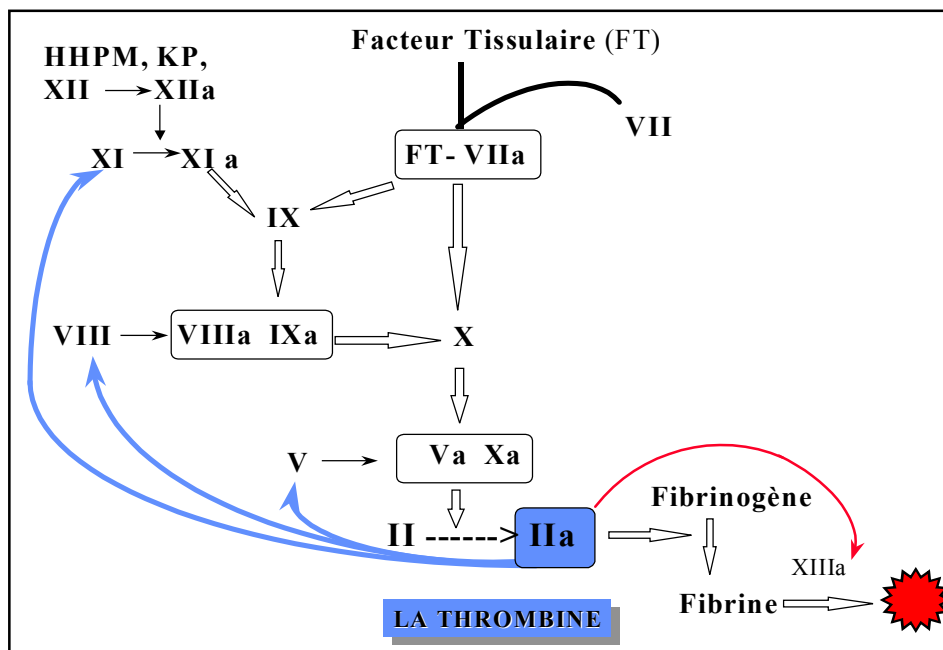
2.5. Rôle du système contact

Dans le schéma actuel de la coagulation *in vivo*, le système contact paraît jouer un rôle limité. Le système contact est composé de 4 facteurs : le facteur XII, la prékallitréine, le kininogène de haut poids moléculaire et le facteur XI. L'activation du système contact peut être déclenchée par le contact du facteur XII avec une surface chargée négativement mouillable ou certains composés biochimiques. Un déficit même complet en l'un des 3 premiers facteurs : XII, PK, KHPM, entraîne des allongements très importants du temps de céphaline activé sans hémorragie. Ces éléments ne paraissent donc pas indispensables à la coagulation *in vivo*.

En revanche, les déficits en facteur XI peuvent s'accompagner de syndromes hémorragiques en particulier lors d'intervention sur la sphère ORL ou le petit bassin.

Le rôle de cette voie d'activation de la coagulation est mineur, et les déficits mêmes sévères en F.XII, PK ou KHPM n'entraînent pas d'augmentation du risque hémorragique.

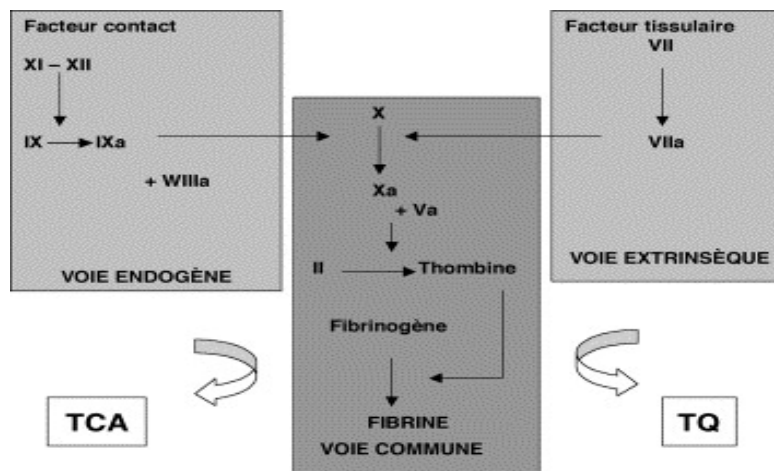
Tableau V : Schéma général de la voie de coagulation [22]



3) Exploration de la coagulation

Les tests de coagulation consistent à mesurer la vitesse de formation d'un caillot de fibrine dans différentes conditions, à l'aide d'automates qui permettent une bonne standardisation. La voie endogène et le tronc commun sont explorés par le TCA, la voie exogène et le tronc commun sont explorés par le temps de Quick.

Tableau VI : Exploration in vitro de la coagulation [21].



Le temps de céphaline activé (TCA) explore les facteurs de la voie endogène et de la voie commune ; le temps de Quick (TQ) explore le facteur VII activé par le facteur tissulaire et les facteurs de la voie commune. Il est admis que ce schéma n'est pas directement applicable in vivo mais qu'il reste utile dans l'exploration in vitro.

3.1. Etape pré-analytique

Prélèvement

- Se réalise chez des sujets au pli du coude avec un garrot peu serré et en peu de temps
- se fait par ponction veineuse, en éliminant les premières gouttes de sang
- on utilise un tube sous vide, en verre siliconé ou plastique.

Les anticoagulants utilisés sont :

- le citrate de sodium 0,109M (chélateur réversible du Ca^{2+})
- CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole), suivi d'une héparinothérapie
- citrate de sodium d'aprotinine suivi d'un traitement thrombolytique
- on doit respecter 9 volumes de sang pour 1 volume de citrate
- en pédiatrie on utilise un tube capillaire de 2ml
- après la prise agiter immédiatement et lentement

Acheminement

-est immédiat < 2h car les F.V et F.VIII sont labiles, aussi éviter le froid car cela entraîne l'activation des F.X et F.VII mais également l'altération des fonctions plaquettaires.

Centrifugation

- centrifuger 2500g de plasma pendant 15mn à 15-20°C
- pour la recherche d'ACC le plasma utilisé doit être pauvre en plaquettes et s'obtient par une double centrifugation permettant le dépistage de la R.P.Ca (résistance protéine C activée).
- pour le plasma riche en plaquette la centrifugation se fait à 800g pendant 10mn.

Conservation

Pour le plasma la conservation se fait -70°C pendant plusieurs mois mais la décongélation se fait en 5 mn à 35°C au bain marie.

3.2. Les tests de première intention : examens standard

Ce sont des tests simples peu coûteux, ils sont utilisés : pour le diagnostic d'un syndrome hémorragique, ou pour essayer de prévoir un risque hémorragique avant une intervention chirurgicale ; ou bien, dans le cadre de thromboses à répétition, pour déterminer la cause de ces maladies invalidantes et graves.

Ils comprennent: le temps de céphaline activateur (TCA), taux de prothrombine (TP) et le taux de fibrinogène.

3.3. Les tests de seconde intention : examens complémentaires

Leur indication est variable ils permettent : le dosage spécifique des facteurs de coagulation et le dosage des inhibiteurs de la coagulation...

3.4. Les tests explorant la coagulation

Le temps de céphaline avec activateur(TCA)

Il mesure le temps de coagulation à 37° d'un plasma en présence de phospholipides (céphaline), d'un activateur de la phase contact (kaolin par exemple → TCK) et de calcium.

Il explore la voie intrinsèque de la coagulation et est fonction de la concentration plasmatique de chacun des facteurs de coagulation impliqués : les facteurs de la phase contact (PK, KHPM, F.XII), F.XI, IX, VIII, X, V, II et le fibrinogène. Le TCA n'explore pas le F.VII ni les plaquettes (remplacée par la céphaline) ainsi donc le TCA n'est donc pas modifié en cas de thrombopénie ou de thrombopathies [23].

Le temps de coagulation est exprimé par rapport au temps d'un plasma témoin, dont la valeur moyenne varie entre 30 et 40 secondes selon les réactifs utilisés et donc de la technique.

Le TCA est allongé lorsqu'il dépasse de 6 à 8 secondes le temps du témoin, mais la frontière n'est pas stricte.

TCA allongé si ration : $\frac{\text{TCA}_{\text{patient}}}{\text{TCA}_{\text{témoin}}} > 1,2$

TCA témoin

La sensibilité de la méthode est bonne à part un déficit isolé en F.IX, VIII, XI et XII mais elle reste perturbée en présence d'ACC. Le TCK est moins sensible à la présence d'ACC d'où la correction et le calcul de l'indice de Rosner.

Chez les patients sous héparinothérapie non fractionnée le TCA est 2 à 3 fois celui du témoin.

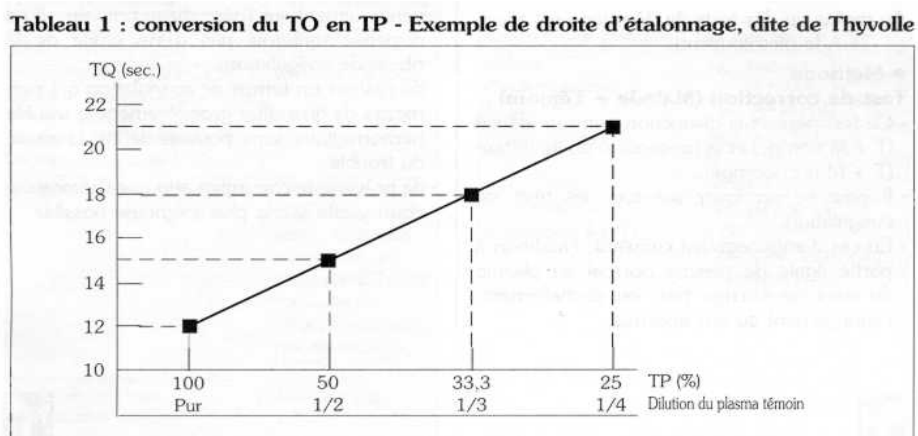
→ **Le temps de Quick(TQ) et le taux de prothrombine(TP)**

Le TQ explore de façon globale les facteurs de coagulation de la voie exogène de la coagulation : F.VII, X, V, II et le fibrinogène. C'est le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquette en présence de thromboplastine (mélange de facteur tissulaire et de phospholipide) et de calcium.

Le temps de coagulation du plasma du patient est comparé à celui du témoin voisin de 12 secondes (10-14s) pour la plupart des réactifs.

Le TQ exprimé en % indique le TP, la conversion se fait à l'aide d'une droite d'étalonnage dite de Thyvolle.

Tableau VII : Droite d'étalonnage dite de Thyvolle [22]



La valeur normale du TP = 70 -100% variable en fonction des réactifs. Les valeurs inférieures à 70% sont considérées comme pathologiques.

Un autre mode d'expression est exclusivement réservé à la surveillance des traitements anticoagulants par les antagonistes de la vitamine K : l'INR (International Normalized Ratio) correspond au rapport du temps de Quick du malade sur celui du témoin élevé à la puissance ISI (Indice De Sensibilité International).

Les valeurs normales de INR=1 et celles de l'ISI=1- 2.

L'INR joue un rôle primordiale dans le suivi des patients sous anti-vitamine K (AVK) mais aussi il permet : -prévention primaire de thrombose veineuse INR = 2 à 3

-prévention d'embolies systémiques dans infarctus du myocarde (IDM), valvulopathies qui ont un INR= 3 à 4,5

-traitement de thrombose veineuse et embolie pulmonaire

-prothèse valvulaire mécanique INR>5 : urgence médical

→ **Dosage du fibrinogène**

Il s'agit du temps de coagulation d'un plasma dilué plus un excès de thrombine, ensuite viens la conversion du temps au taux de fibrinogène. La valeur normale est comprise entre 2 et 4 g/l.

→ **Dosage spécifique des facteurs de coagulation**

Les dosages des facteurs de coagulation ne sont effectués que si les tests de dépistage (TCA ou TQ) sont anormaux. Tous les facteurs de coagulation peuvent être dosés spécifiquement, avec un même principe de dosage biologique.

Lors du dosage d'un plasma déficitaire en un facteur de coagulation considéré on ajoute au plasma du malade, un plasma qui contient tous les facteurs sauf celui que l'on veut doser, le temps de coagulation ainsi obtenu est fonction de la quantité de ce facteur dans le plasma à tester. Les résultats sont exprimés en % de la normale. Lorsqu'un déficit isolé en l'un des facteurs de coagulation est mis en évidence, l'exploration peut être complétée par un dosage immunologique de la protéine pour distinguer les déficits quantitatifs et qualitatifs.

→ **Dosage des inhibiteurs de coagulation**

L'exploration des systèmes de régulation de la coagulation permet de dépister des facteurs de risque de thrombose. Il n'existe actuellement pas de tests satisfaisant permettant d'apprécier de façon global le fonctionnement des inhibiteurs de la coagulation et chaque protéine doit être dosée séparément : antithrombine, protéine C, protéine S. Dans un premier temps seul le dosage fonctionnel est réalisé.

S'il est anormal, le dosage immunologique précise si l'anomalie est quantitative ou qualitative.

→ **Recherche d'un anticoagulant circulant (ACC)**

Des anticorps appelés « anticoagulant circulant » (ACC) peuvent perturber les tests de coagulation. Leur mise en évidence repose sur un « **test de correction** » : l'examen anormal du TCA, TQ, ou temps de thrombine est répété sur un mélange à parties égales de plasma du malade et de plasma normal ensuite incubation de 2h à 3h et mesure ensuite le TCA du malade, du témoin et du mélange.

Calcul ensuite de l'indice de Rosner : $\frac{\text{TCA mélange} - \text{TCA témoin}}{\text{TCA malade}} \times 100$

TCA malade

Si l'indice est compris : → >15%

→ 12-15% alors le test est douteux

→ <12%

Si l'anomalie est due à un déficit, l'apport de 50% de plasma normal suffit à corriger le déficit et le temps de coagulation redevient normal. S'il s'agit d'un ACC, celui-ci bloque la coagulation du plasma normal et le test n'est pas corrigé. L'ACC peut être dirigé contre un des facteurs de coagulation (le plus souvent contre le F.VIII) : le dosage spécifique du facteur en cause permet le diagnostic.

L'ACC peut aussi être dirigé contre les phospholipides pro coagulants (anti phospholipides) : des tests complémentaires faisant varier la concentration de phospholipides permettent de les identifier.

C- Physiologie de la fibrinolyse

La fibrinolyse est le troisième temps de l'hémostase, elle entraîne une dissolution progressive de la fibrine formée au niveau de la brèche vasculaire empêchant ainsi l'installation mais surtout l'extension du caillot. La fibrine n'a pas de fonction permanente sa disparition au bon moment justifie l'existence du système de la fibrinolyse. Son rôle est de :

-permettre la dissolution du caillot fibrino plaquettaire donc évite les dépôts excessifs de fibrines intra et extra vasculaire,

-assure la reperméabilisation des vaisseaux après la formation d'un thrombus.

Le système fibrinolytique est constitué comme celui de la coagulation d'un précurseur inactif le plasminogène synthétisé dans le foi et présent dans le plasma qui ensuite est transformé en plasmine par des activateurs.

La plasmine scinde ensuite la fibrine insoluble en produits de dégradation solubles.

Tableau VIII : Schéma général de la fibrinolyse [22]

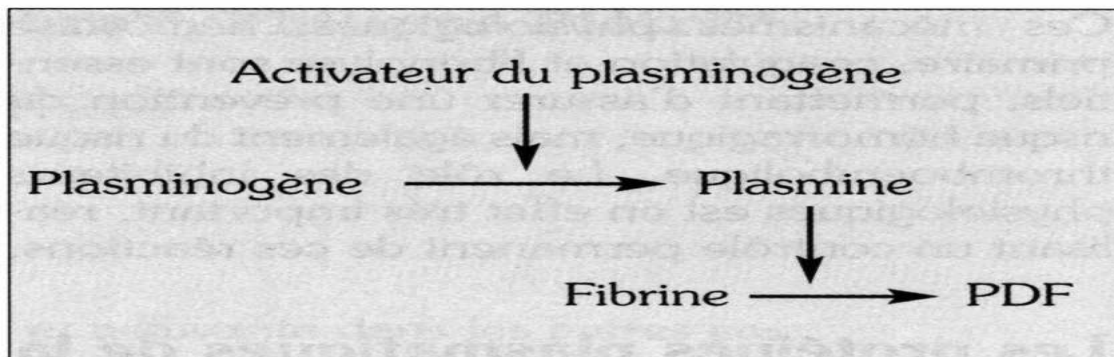


Schéma de la fibrinolyse.

III. MATÉRIELS ET METHODES

Les méthodes utilisées pour la réalisation de cette revue bibliographique sont la recherche de revues et de journaux scientifiques ainsi que la consultation de livres scientifiques pour mieux cerner notre sujet.

Nous avons pour cela consulter des sites de publication scientifique comme Sciences direct, Pub Med, Web of knowledge, Scopus, etc.

Les revues et journaux scientifiques consultés sont entre autre : Annale de Biologie Médical, Revue de Médecine Interne, Revue Francophone des Laboratoires, Journal de biologie médical, Journal of Thrombosis and Haemostasis, The Journal of Rheumatology, Journal of Clinical Investigation, Journal of Autoimmunity etc.

Les mots clés utilisés pour affiner notre recherche sont : Anticoagulant circulant, Antiphospholipides, Antifacteur, Anticardiolipides, Syndrome des antiphospholipides ,

Circulating Anticoagulant, Antiphospholipid, Antiphospholipid syndrome, etc .

Le choix des articles c'est fait pas pertinence tout en retenant les plus récent

IV. PHYSIOPATHOLOGIE

A) Les inhibiteurs d'une phase de coagulation : les anticorps antiphospholipides

1) Définition

Les anticorps « antiphospholipides » (aPLs) désignent une large famille très hétérogène d'auto ou d'allo-anticorps qui regroupe des anticorps détectés par des méthodes immunologiques le plus souvent de type immuno-enzymatique (ELISA) : anticardiolipines (aCL), antibéta-2-glycoprotéine I (anti-béta2GPI), antiphosphatidyl éthanolamine (aPE), antiprothrombine et des anticorps mis en évidence par des techniques de coagulation, les anticoagulants circulants de type lupique (LA).

Ce sont des anticorps circulants qui reconnaissent comme antigène soit directement les phospholipides (PL) anioniques ou neutre, soit des protéines plasmatiques se fixant sur le PL comme la bêta-2-glycoprotéine I (β 2GPI) ou la prothrombine, soit des protéines seules (Fig1). Ces anticorps ne sont pas spécifiques du syndrome antiphospholipides (SAPL) mais peuvent être rencontrés au cours de nombreuses autres situations cliniques tels que les infections diverses (syphilis, la lèpre, les hépatites virales et infection par le VIH.), certains traitements médicamenteux (chlorpromazine, bêtabloquants, quinidiniques et interférons principalement), des néoplasies (*tableau 1*) et qui ne s'accompagnent généralement pas de thrombophilie. On peut les rencontrer également chez les individus sains. Ces aPL sont généralement transitoires et ne prédisposent pas à un risque thrombotique. Les aPLs présumés pathogènes (potentiellement thrombogènes) entrent seuls dans le cadre des pathologies auto-immunes représentées par le SAPL primaire ou secondaire au lupus érythémateux systémique (LES), ils se caractérisent par une dépendance vis-à-vis de cofacteurs /cibles protéiques pour leur fixation in vitro et in vivo.

Outre la grande hétérogénéité qui caractérise les aPLs cette famille d'anticorps présente une particularité remarquable qui se traduit par un allongement des temps de coagulation in vitro. Ce sous type d'aPL, caractérisé par leur capacité à allonger les tests de coagulation

dépendant de la présence de phospholipides se dénomme anticoagulant circulant de type LA, en rapport avec leur description initiale au cours du lupus érythémateux systémique.

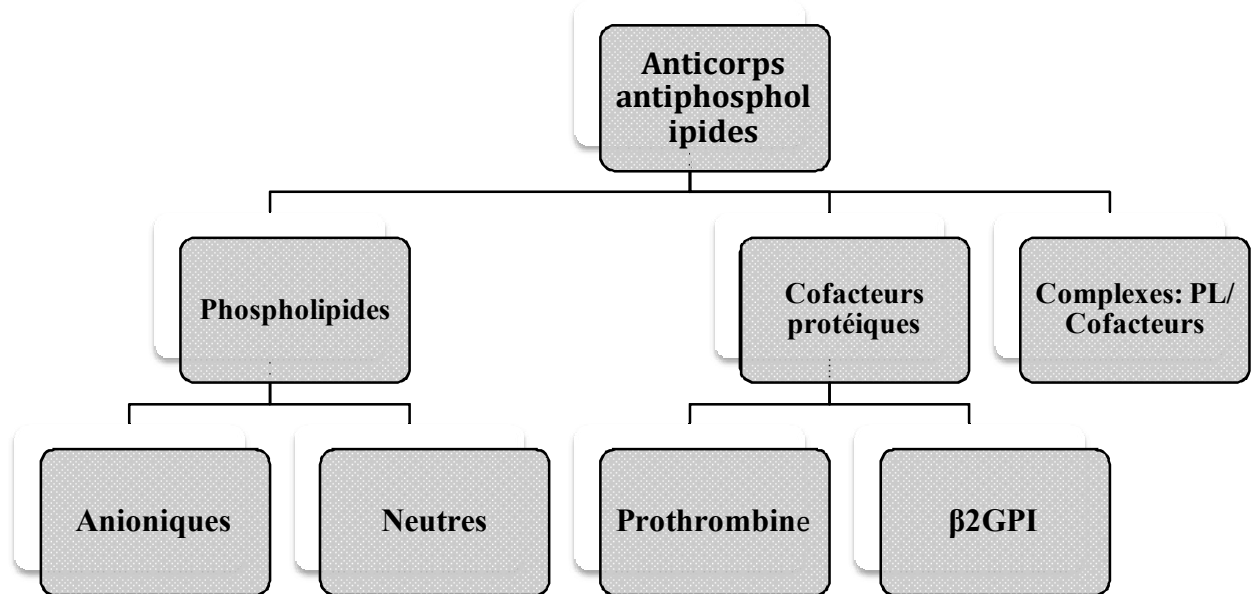


Figure 2 : Les diverses cibles antigéniques des anticorps antiphospholipides [24]

Tableau IX : Situation cliniques auxquelles des aPL peuvent être associés [23]

- Syndrome des anticorps antiphospholipides (SAPL) primaire
- SAPL associé au LES
- Présence isolée d'aPL
 - Sujets asymptomatiques, notamment entourage familial de SAPL
 - Maladies auto-immunes
 - LES sans SAPL
 - Polyarthrite rhizomélique, maladie de Horton/pseudopolyarthrite rhizomélique, sclérodermie
 - Syndrome de Gougerot-Sjögren, polychondrite, thrombopénie auto-immune, thyroïdite
 - Sclérose en plaques
 - Traitement inducteur : procainamide, phénothiazine, hydantoïnes, quinidine, hydralazine, bêtabloquant, interféron alpha...
 - Infection : viroses aiguës, VIH, hépatites C, syphilis, maladie de Lyme, tuberculose, paludisme...
 - Cancers solides, hémopathies malignes, immunoglobulines monoclonales
 - Divers : sarcoïdose, maladie de Crohn, spondylarthropathies, diabète insulino-dépendant, insuffisance rénale terminale, insuffisance hépatocellulaire aiguë, éthyliste chronique, maladie périodique, stérilité, CIVD
 - Artériosclérose précoce et accélérée

LES : Lupus érythémateux systémiques,

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine, CIVD : coagulation intravasculaire disséminée

Les aPLs ont commencé à susciter un vif intérêt chez les cliniciens lorsque leur association avec des maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique a été clairement établie. Cet intérêt s'est encore amplifié avec la mise en évidence, dans les années 1980 de leur relation avec la survenue de manifestations thromboemboliques artérielles ou veineuse et de pertes fœtales répétées, conduisant à l'individualisation, en 1987 d'une

nouvelle entité clinique le SAPL [25]. Ces événements thromboemboliques peuvent se manifester tant dans le cadre clinique du lupus ou, plus rarement, d'autres maladies auto-immunes (Syndrome secondaire des antiphospholipides) qu'en dehors de toute pathologie identifiée (syndrome primaire des antiphospholipides).

Les aPLs admis comme critères du SAPL sont également appelés « aPLs conventionnels » par opposition à d'autres anticorps « aPLs non conventionnels » non reconnus comme critères de SAPL mais pour lesquels certaines études ont montré une association avec les anomalies cliniques de ce syndrome.

1.1 Les antiphospholipides conventionnels

On considère deux groupes d'aPLs selon le type de méthode utilisée pour les mettre en évidence :

- les aPLs mis en évidence par des réactions immuno-enzymatiques, essentiellement l'Elisa : c'est le cas des aCL et des a β 2GPI. Son avantage pour le dépistage des aPLs est de permettre la mise en évidence de la spécificité de l'anticorps, en utilisant un antigène bien défini, et de l'isotype de cet anticorps, en révélant la réaction par un immunsérum spécifique d'un isotype donné.
- les aPLs mis en évidence par des tests fonctionnels de la coagulation : c'est le cas du LA.

En ce qui concerne les aPLs mis en évidence par des tests immuno-enzymatiques, les critères de Sydney incluent la recherche des deux principaux isotypes de ces aPLs : IgG et IgM. L'isotype IgG est le plus fréquemment retrouvé au cours des maladies auto-immunes et du SAPL par contre l'isotype IgM est rare, on le détecte le plus souvent au cours des maladies infectieuses, mais une étude récente a rapporté la présence d'aCL d'isotype IgM sans IgG chez les femmes ayant des complications obstétricales évocatrices d'un SAPL [26]. Quant à l'isotype IgA, il est rare et sa recherche ne présente aucun intérêt devant une suspicion de SAPL.

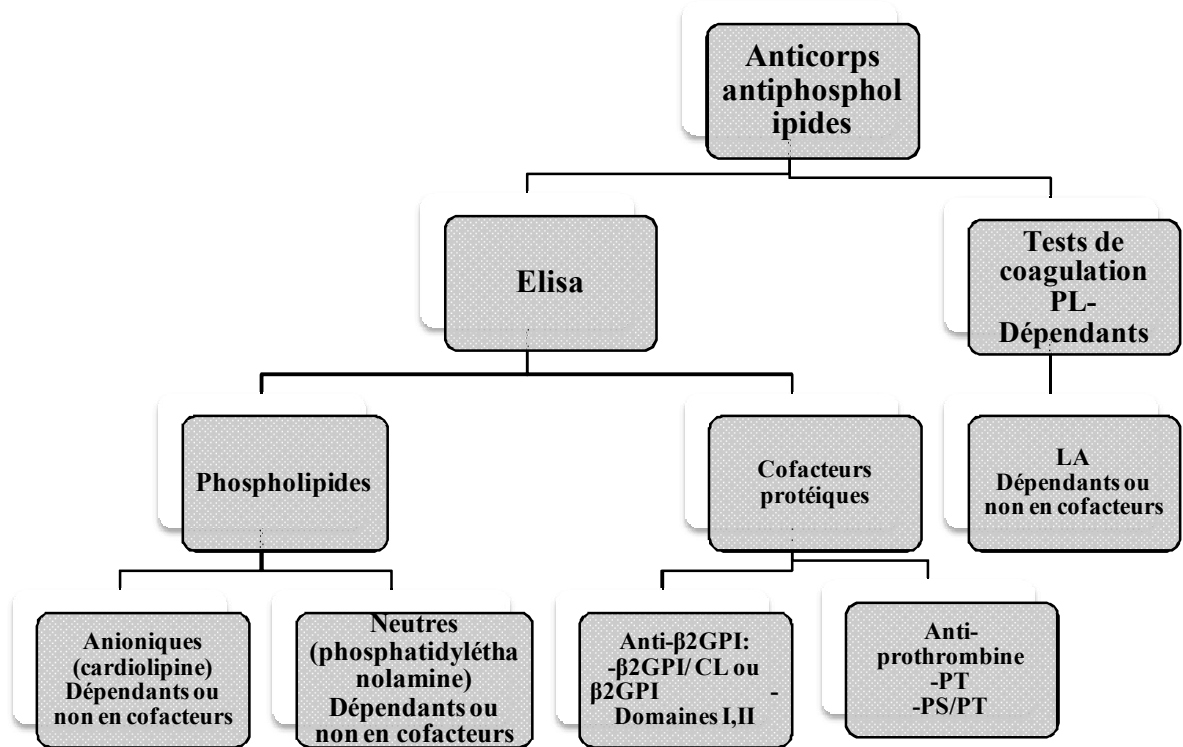


Figure 3 : Hétérogénéité des anticorps antiphospholipides [24]

a) Les anticorps anticardiolipines

La cardiolipine (le terme français « cardiolipide ») est un phospholipide anionique présent dans la membrane interne des mitochondries où elle aurait pour rôle de rendre cette dernière imperméable aux ions. Cependant, sa présence a été rapportée dans le plasma humain normal, sous forme complexée aux lipoprotéines plasmatiques, principalement les *low density lipoprotein* (LDL) [27]. Elle est absente sur la membrane des plaquettes et des cellules endothéliales. Les aCL sont polyspécifiques : ils reconnaissent la cardiolipine mais aussi les autres phospholipides anioniques : phosphatidylglycérol, phosphatidylinositol et phosphatidylsérine.

On oppose deux types d'aCL, selon qu'ils sont dépendants ou non de la présence de cofacteur plasmatique. On distingue ainsi des anticorps dirigés contre les phospholipides anioniques (cardiolipine) seuls et des anticorps dirigés contre un complexe cardiolipine/cofacteur. La β 2GPI qui est une protéine plasmatique, a été identifiée comme le principal cofacteur des aCL [28,29].

Au cours des maladies auto-immunes, dont le SAPL ou le lupus, la cible antigénique des aCL est constituée par un complexe cardiolipine-cofacteur plasmatique. Dans les tests Elisa pour la recherche et le dosage des aCL, les solutions de saturation et/ ou de dilution des échantillons doivent être additionnées soit de β 2GPI humaine purifiée, soit de sérum ou de plasma d'origine animale ou humaine comme source de β 2GPI. Au contraire, la réactivité des aCL produits au cours de pathologies infectieuses n'est pas dépendante de la présence de cofacteurs dans le milieu réactionnel ; ils réagissent avec la cardiolipine seule.

Tableau X : Caractéristiques des anticorps anticardiolipines (aCL) [24]

| Nature | Réactivité | Isotype | Dépendance en cofacteur |
|---|--|-------------------|---|
| Diphosphatidylglycérol Phospholipide anionique | Phospholipide anionique Acide phosphatidique Phosphatidylinositol Phosphatidylsérine | IgG IgM IgA | Cofacteur : β 2GPI aCL indépendants : MI aCL dépendants : MAI |

MI : maladies infectieuses, MAI : maladies auto-immunes

b) Les anticorps anti- β 2GPI

La β 2GPI a été d'abord décrite par Schultze et al en 1961 [30]. C'est une glycoprotéine présente dans le plasma de sujets normaux avec une concentration moyenne de 200 μ g/ml. Elle a été pendant longtemps appelée « apolipoprotéine H » parce que certains l'avaient décrite associée aux lipoprotéines, ce qui s'est avéré faux [31].

Il s'agit donc d'une protéine circulant librement dans le plasma où elle se trouve sous forme libre (environ deux tiers) ou sous forme associée aux lipoprotéines (environ un tiers). Elle est principalement synthétisée par le foie, mais aussi par des cellules diverses comme les cellules endothéliales et placentaires. Elle est constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 326 acides aminés, organisée en cinq structures répétitives ou « domaines » de 60 acides aminés (fig3). La β 2GPI présente une forte affinité pour les molécules chargées négativement comme l'ADN, l'héparine et les PL anioniques comme la phosphatidylsérine.

Elle existe sous deux états conformationnels, l'un circulaire et circulant dans le plasma et l'autre ouvert et lié aux PL. Elle est fortement glycosylée, et les sites de glycosylation se situent sur les domaines III et IV. C'est sur le cinquième domaine que se situe le site principal de liaison aux phospholipides anioniques et sur le premier domaine que se trouvent les principaux épitopes reconnus par les $\alpha\beta$ 2GPI [32].

Ses fonctions physiologiques sont encore inconnues. Un déficit en β 2GPI n'est pas associé à une complication thrombotique, et une activité anticoagulante naturelle in vivo est peu probable du fait de sa faible capacité de liaison aux membranes cellulaires dans les conditions physiologiques. En revanche, les anticorps qui se lient à la β 2GPI vont augmenter sa capacité de liaison aux récepteurs cellulaires, ce qui aura pour conséquence l'induction d'un phénotype procoagulant /proinflammatoire sur les cellules et faciliter l'apparition des symptômes cliniques du SAPL. In vitro, la β 2GPI a des effets anticoagulants qui pourraient être la conséquence de sa liaison aux phospholipides anioniques impliqués dans la coagulation. Les $\alpha\beta$ 2GPI sont hétérogènes quant à leurs spécificités antigéniques, ce qui traduit un impact important sur les méthodes utilisées pour leur détection et sur leur valeur prédictive vis-à-vis du SAPL. Ces anticorps de spécificité différente peuvent être présents dans un même sérum [33]. Les épitopes les plus connus sont localisés sur les domaines I et II de la molécule. Récemment, des études ont montré que les $\alpha\beta$ 2GPI pathogènes reconnaissent des épitopes conformationnels essentiellement localisés dans le domaine I [32].

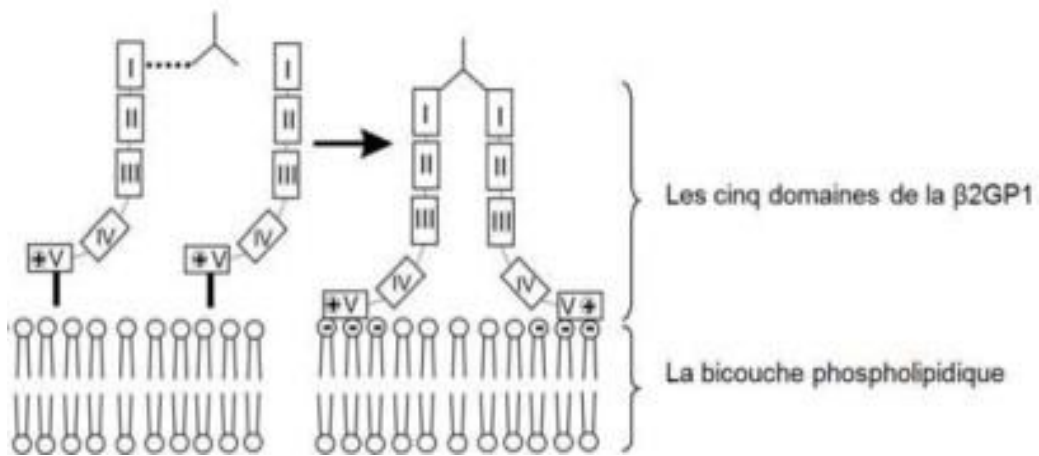


Figure 4 : Structure de la $\beta 2\text{GPI}$ [34].

Site d'interaction entre le cinquième domaine et les charges négatives des phospholipides anioniques présents sur la bicouche alors que le domaine I contient l'épitope de liaison aux anticorps anti- $\beta 2\text{GPI}$ entraînant ainsi sa dimérisation et une augmentation de son affinité pour les phospholipides membranaires.

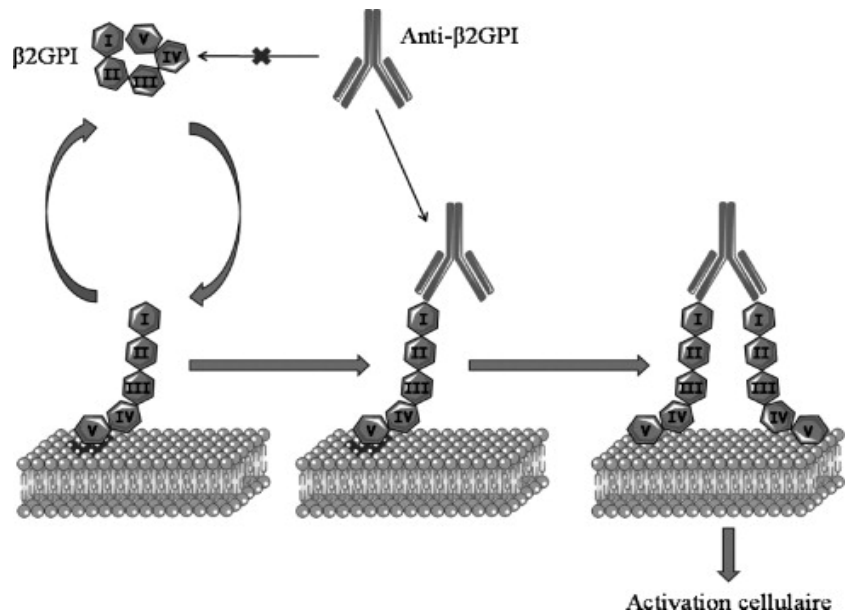


Figure 5 : Mode d'activation cellulaire par les $\alpha\beta 2\text{GPI}$ [35].

La β 2GPI est sous forme circulaire au niveau plasmatique et sa fixation au niveau des phospholipides induit un changement conformationnel permettant la reconnaissance par les anticorps qui vont induire une dimérisation de la β 2GPI augmentant encore son affinité pour les phospholipides et les récepteurs membranaires de la β 2GPI conduisant à l'activation cellulaire.

Anticorps anti-cardiolipine et anti β 2GPI d'isotype IgA

La présence d'aCL d'isotype IgA permet de définir un sous-groupe de patients ayant un SAPL avec une thrombocytopénie, des ulcères cutanés ou des lésions de vascularite. L'intérêt de ces anticorps est néanmoins faible en comparaison aux aCL d'isotype IgG ou IgM. En effet, les aCL d'isotype IgA sont rarement présents de façon isolée [36]. Les aCL d'isotype IgA ne peuvent donc être utilisés à des fins diagnostiques.

Concernant les anti- β 2GPI d'isotype IgA, les données de la littérature ne permettent pas de déterminer si la présence d'IgA anti β 2GPI de façon isolée (en l'absence d'anti β 2GPI d'isotype IgG et IgM) est un facteur de risque indépendant d'événements thrombotiques dans le SAPL [37]. Dans l'état actuel des connaissances, la recherche d'IgA anti- β 2GPI n'est donc pas recommandée.

c) Le lupus anticoagulant (LA)

La dénomination de LA bien qu'ambiguë compte tenue de l'absence de spécificité de cette anomalie vis-à-vis du lupus érythémateux, a été retenue par les experts internationaux pour désigner les anticorps également connus sous les termes d' « antiprothrombinase » ou d' « antithromboplastine ». Les LA désignent des anticorps détectés sur la base de leur capacité à prolonger certains tests de coagulation dépendant des phospholipides. Ces tests sont d'autant plus sensibles aux LA que la concentration en phospholipides mise en jeu y est plus faible. L'effet « anticoagulant » des LA ne s'exerce qu'*in vitro*, dans un milieu où les phospholipides (PL) représentent un facteur limitant de la réaction de coagulation. De façon apparemment paradoxale, cette action anticoagulante ne se manifeste pas *in vivo*.

Les LA apparaissent ainsi au sein de la famille des antiphospholipides comme le plus fort marqueur biologique du risque thrombotique, tant veineux qu'artériel. La mise en évidence des lupus anticoagulants, bien que faisant appel à des tests de coagulation simples, peut s'avérer délicate. Leur détection doit se pratiquer selon les dernières recommandations de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) [38].

Le terme de « LA » regroupe des anticorps qui diffèrent par leur dépendance ou non à la présence de cofacteurs plasmatiques, par la nature de ces cofacteurs et par leur implication dans les complications thrombotiques. Les LA non dépendants en cofacteur sont, comme les aCL, retrouvés essentiellement au cours d'infections. Quant aux LA dépendant de cofacteurs, ces cofacteurs sont représentés par plusieurs protéines plasmatiques, en premier lieu, la β 2GPI.

Plusieurs auteurs, en particulier Arnout [39], ont montré que certains LA étaient en fait l'expression fonctionnelle des a β 2GPI. De même Roubey et al ont montré que des plasmas avec activité LA étaient capables de prolonger le temps de coagulation d'un plasma normal et que cet effet disparaissait quand la β 2GPI était éliminée de ces plasmas [40].

Parmi les aPL, les LA dépendant en β 2GPI sont considérés comme les plus associés à un risque de thrombose et les plus impliqués dans la pathogénie thrombotique [41].

L'activité anticoagulante in vitro de certains LA est dépendante de la présence de prothrombine [42]. Cependant, la relation entre le risque de thrombose et ce type de LA est moindre, comparée à celle des LA dépendant en β 2GPI. En effet, seuls les rares LA dont la cible antigénique est la prothrombine et qui entraînent une hypoprothrombinémie (moins de 10%) peuvent s'accompagner de manifestations hémorragiques.

1.2 Les antiphospholipides non-conventionnels

D'autres anticorps antiphospholipides ont été décrits, comme les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (aPE), anti-prothrombine, anti-annexine V, anti-protéine S, anti-protéine C,... : ces différentes spécificités constituent le « puzzle des antiphospholipides ». Comme dans le cas des aPL conventionnels, les deux isotypes IgG et IgM doivent être

recherchés car ils peuvent être présents isolément ; mais, contrairement aux aCL, la présence de ces anticorps avec l'isotype IgM n'est pas essentiellement associée aux maladies infectieuses.

a) Les anticorps anti-prothrombine

La prothrombine humaine ou facteur II est synthétisée par les hépatocytes. Elle fait partie du complexe prothrombinase avec les facteurs Va, Xa et la phosphatidylsérine en présence de calcium. C'est sur la partie N terminal de la prothrombine que se trouve le site de liaison aux phospholipides anioniques. La concentration de prothrombine dans le plasma humain est de 200µg/ml. Le déficit en prothrombine est une anomalie rare et autosomique associée à une tendance hémorragique sévère.

Bajaj et al. ont été les premiers à décrire la présence d'anticorps anti-prothrombine chez deux patients ayant un LA et une hypoprothrombinémie acquise [43]. Les anticorps anti-prothrombine (IgG ou IgM) reconnaissent aussi bien la prothrombine d'origine humaine que bovine, mais dans les tests Elisa, leur réactivité est nettement supérieure avec la première [44]. Comme les $\alpha\beta$ 2GPI, les anticorps anti-prothrombines sont hétérogènes quant à leur spécificité antigénique et certains reconnaîtraient des épitopes natifs alors que d'autres reconnaîtraient des néo-épitopes.

La réactivité de ces anticorps vis-à-vis de la prothrombine nécessite que celle-ci soit préalablement liée à une surface anionique, c'est à dire à des phospholipides anioniques [45] ou des plaques Elisa irradiées [46].

Un changement de conformation consécutif à la liaison avec des surfaces anioniques induirait des néo-épitopes reconnus par ces anticorps. Ces anticorps seraient de faibles affinités et leur réactivité nécessiterait une forte densité d'antigène immobilisé.

Les antiprothrombines sont mis en évidence par Elisa ce qui a permis d'identifier deux populations d'anticorps anti-prothrombine : ceux dirigés contre la prothrombine (aPT) et ceux dirigés contre le complexe phosphatidylsérine-prothrombine (aPS /PT) [47,48]. Ces deux populations d'anticorps sont souvent présentes simultanément chez un même patient, mais les aPS /PT sont plus étroitement associés avec le SAPL et la présence de LA que les aPT.

Les antiprothrombines ne sont pas spécifique du SAPL ils ont été décrits dans des contextes cliniques très variés allant du lupus aux pathologies infectieuses. Leur présence est fortement associée à celle d'un lupus anticoagulant, en particulier chez les patients ayant une maladie auto-immune, lupus ou SAPL [46, 48]. La plus part des études sur les associations cliniques des antiprothrombines ont montré une association avec les thromboses veineuse, mais la relation entre la présence de ces anticorps et un risque thrombotique n'est pas encore bien défini.

b) Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine

Comme les anticorps dirigés contre les phospholipides anioniques, les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) représentent un groupe hétérogène d'anticorps quant à leur spécificité antigéniques et leur dépendance à l'égard de certaines protéines plasmatiques. La phosphatidyléthanolamine (PE) est un phospholipide neutre qui représente un des composants majeurs des biomembranes localisées, comme la phosphatidylsérine, dans la partie interne de la membrane. Comme les aCL, les aPE peuvent réagir soit avec la PE seule, soit avec des complexes PE-protéines plasmatiques.

En ce qui concerne les cofacteurs des aPE, les kininogènes de haut poids moléculaire (KHPM), ont été décrits comme la cible antigénique de certains aPE qui reconnaissent des épitopes générés par la formation d'un complexe PE-KHPM [49]. D'autres protéines plasmatiques ont été proposées comme cofacteurs des aPE, en particulier, le facteur XI et la prékallikreine [50].

La réactivité des aPE vis-à-vis de la PE seule n'est pas associée essentiellement à des pathologies infectieuses mais se retrouve dans des contextes cliniques divers dont certains sont évocateurs d'un SAPL.

Malgré certaines divergences, la plupart des études sur la signification clinique de ces anticorps dans les maladies auto-immunes s'accordent pour les retrouver associés avec des accidents thromboemboliques ou des pertes fœtales à répétition chez des patients lupiques [51]. Les deux isotypes, IgM et IgG, peuvent être présents simultanément ou isolément, l'isotype IgG serait le plus fréquent au cours du lupus. Les associations entre la présence d'un

isotype donné et un risque thromboembolique varient selon les études. Pour certains auteurs il n'y a pas d'association préférentielle, pour d'autres auteurs plus nombreux, c'est l'isotype IgM qui serait le plus associé avec des manifestations thrombotiques et les pertes fœtales observées en présence ou en l'absence d'une maladie auto-immune [52, 53].

c) Les anticorps anti-annexine V

L'annexine V est une autre cible possible de certains anticorps associés à des thromboses. Les annexines constituent une large famille de protéines Ca⁺⁺ dépendantes, capables de se lier aux phospholipides anioniques avec une avidité supérieure à celle des protéines vitamines K- dépendantes. L'annexine V est une protéine placentaire retrouvée en faible quantité dans le plasma. Elle exerce *in vitro* une puissante activité anticoagulante. Aussi il est tentant de suggérer qu'un déficit en annexine V pourrait représenter une des causes possibles des avortements à répétition.

Certains auteurs ont décrits ces anticorps chez des patients ayant eu des pertes fœtales [54] alors que d'autres, dans une étude récente, ont montré leur faible prévalence dans le syndrome des antiphospholipides avec des pertes fœtales [55]. Les fonctions physiologiques de l'annexine V ne sont pas connues et l'implication pathogénique de ces anticorps dans le syndrome des antiphospholipides reste à établir, et ce d'autant plus que le taux d'annexine V placentaire n'est pas abaissé au cours de ce syndrome.

Ces anticorps ont été retrouvés par d'autres auteurs, chez des patients ayant un lupus ou une polyarthrite rhumatoïde sans complications thrombotiques ou fœtales associées. Les études sont encore peu nombreuses et d'autres seront nécessaires pour évaluer l'intérêt de ces marqueurs en tant que facteurs de risque de thromboses ou de pertes fœtales.

d) Les anticorps dirigés contre la protéine C ou la protéine S

La protéine C et la protéine S sont des inhibiteurs physiologiques de la coagulation. La protéine C est une protéine plasmatique vitamine K-dépendante qui peut être activée par le complexe thrombine-thrombomoduline. La protéine C activée et son cofacteur, la protéine S, inhibent les facteurs Va et VIIIa. Un déficit acquis ou congénital en protéine C ou protéine S est un facteur de risque de thromboses.

Des anticorps dirigés contre ces protéines plasmatiques ont été décrits chez des patients ayant des anticorps antiphospholipides, certains d'entre eux exerceraient une activité inhibitrice des fonctions anticoagulantes de ce système.

2) Mécanisme d'action des anticorps antiphospholipides

Un grand nombre de mécanismes pathogéniques potentiels des aPL ont été proposés à partir de systèmes *in vitro* contenant sérum ou plasma de populations ayant des aPL mal définies quant aux spécificités antigéniques reconnues. Comme nous l'avons vu plus haut ces auto-anticorps interfèrent avec les voies physiologiques de contrôle de la coagulation par leur réactivité avec la β 2GP1, la prothrombine, la protéine C, la protéine S, et il est généralement admis que ces auto-anticorps dérèglent la balance de l'hémostase dans le sens prothrombotique. Une réévaluation s'impose donc pour étayer l'hypothèse selon laquelle des autoanticorps particuliers (ou des combinaisons d'autoanticorps) expliqueraient la gamme des manifestations cliniques observées dans le cadre du SAPL. De plus, certains de ces anticorps ne sont probablement délétères qu'en présence d'autres facteurs de risque associés (chirurgie, traumatisme, contraceptifs oraux, immobilisation prolongée). Etant donné l'hétérogénéité du système, il est possible que différents mécanismes soient impliqués.

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

a) Inhibition du système protéine C-protéine S

Au cours du processus de coagulation, une fraction de la thrombine générée est capable de se lier à la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales pour activer la protéine C fixée à ce niveau par l'*endothelial protein C receptor* (EPCR). La PCa va ainsi interagir avec son cofacteur, la protéine S libre, et exercer son effet anticoagulant en inactivant les facteurs Va et VIIIa par clivage enzymatique. De nombreuses études ont montré que les aPL étaient capables d'interférer avec la voie de la protéine C et plusieurs mécanismes d'inhibition ont été proposés. Les études initiales suggéraient que les aPL empêchaient l'activation de la protéine C [56] alors que d'autres études ont ensuite montré que les aPL, comme les anti- β 2GP1, perturbaient plutôt la formation du complexe entre protéine C activée et facteurs Va et VIIIa étant ainsi à l'origine d'une résistance acquise à la protéine C activée [57]. Les anti- β 2GP1

seraient également capable d'induire un déficit fonctionnel en la protéine S en empêchant la β 2GPI de déplacer la liaison entre la protéine S et son inhibiteur plasmatique la C4b-binding protein (C4bBP), et en diminuant ainsi le taux de protéine S libre [58]. Il a également été décrit dans le SAPL des anticorps dirigés contre l'EPCR détectés par Elisa et significativement corrélés à la survenue de thromboses et de pertes fœtales [59]. Bien que les mécanismes par lesquels les aPL interfèrent avec la voie de la protéine C ne soient pas encore complètement élucidés, l'effet procoagulant qui en résulte permet en partie d'expliquer la survenue d'événement thromboemboliques veineux chez les patients atteints de SAPL.

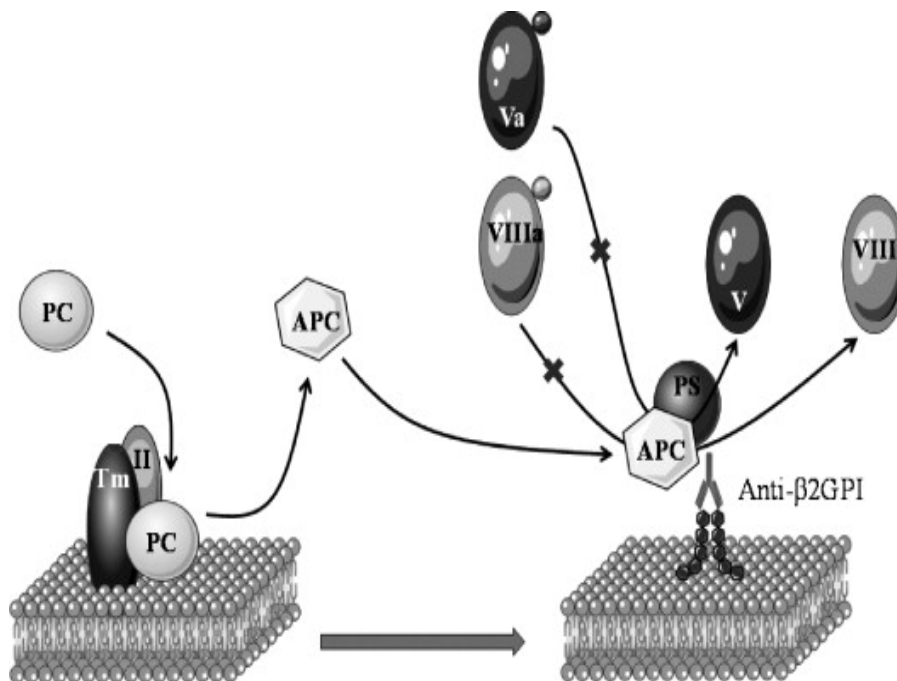


Figure 6. Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par l'anti- β 2GPI [35].

In vivo, les anticorps anti- β 2GPI induisent probablement une résistance acquise à la protéine C activée en diminuant la fixation du complexe protéine C activée-protéine S sur les phospholipides. PC : protéine C ; Tm : thrombomoduline ; II : thrombine ; APC : protéine C activée ; PS : protéine S [60].

b) Inhibition de l'effet anticoagulant de l'annexine A5

Dans les conditions physiologiques, la couche externe des membranes cellulaires est relativement pauvre en PL anioniques comme la phosphatidylsérine. Pourtant au cours de l'apoptose ou de divers processus d'activation cellulaire, on peut observer une exposition des phosphatidylsérines sur le feuillet externe des membranes plasmiques. Au cours de l'activation plaquettaire par exemple, cette exposition de phospholipides anioniques permet le recrutement des facteurs de coagulation vitamino K-dépendant en présence de calcium. Cet assemblage de facteurs de la coagulation à la surface des plaquettes, notamment au niveau des complexes « tenases » vont activer le facteur X (FX) et le complexe « prothrombinase » transformant ainsi la prothrombine en thrombine.

L'annexine A5 est une protéine capable de venir recouvrir les phosphatidylsérines au cours de l'activation plaquettaire pour former un bouclier protecteur qui va diminuer la disponibilité des PL anioniques pour les enzymes de la coagulation et exercer ainsi une action anticoagulante [61]. La dimérisation de la β 2GP1 par les anticorps reconnaissant le domaine I de la β 2GP1 augmente son affinité pour les PL anioniques empêchant ainsi la mise en place du bouclier protecteur d'annexine A5 inhibant alors ses propriétés anticoagulantes [62]. Ce blocage de l'annexine A5 par les aPL serait corrélé à des manifestations thrombotiques et obstétricales [63]. Plus récemment, l'équipe de Rand, à l'origine des travaux sur la résistance à l'annexine A5 a montré que l'hydroxychloroquine pouvait diminuer la fixation des anti- β 2GP1 à la bicouche phospholipidique des membranes plasmiques et rétablir l'activité anticoagulante de l'annexine A5 in vitro à des concentrations utilisables en thérapeutique [64,65].

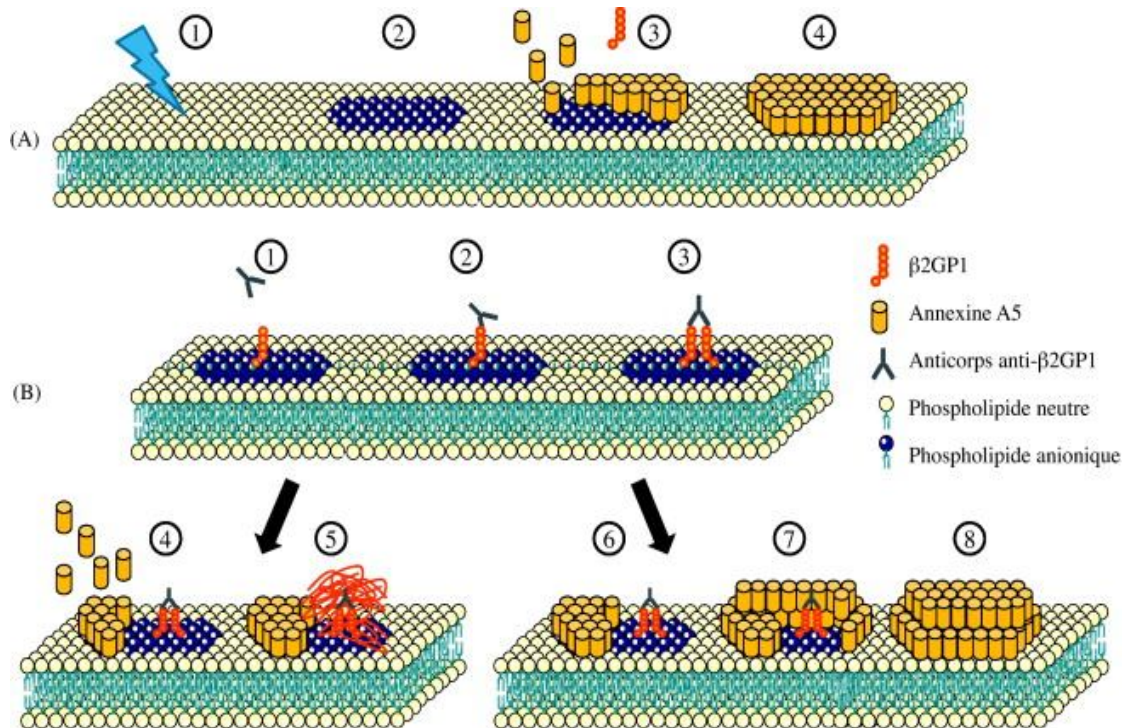


Figure 7 : Modèle du mécanisme physiopathologique de l'annexine A5 et de l'effet de l'hydroxychloroquine [66].

A. Chez un sujet sain, une lésion ou une activation cellulaire (1) entraîne l'exposition de phospholipides anioniques (2). Un bouclier d'annexine A5 se forme alors sur ces phospholipides (3,4) empêchant le β2GP1 de se fixer (moindre affinité de la β2GP1 pour les phospholipides anioniques par rapport à l'annexine A5).

B. Chez un patient porteur d'anticorps anti-phospholipides et notamment anti-β2GP1 (1), l'anticorps va induire une dimérisation de la β2GP1 (2,3), augmentant l'affinité de ce complexe pour les phospholipides anioniques. Ce dernier va donc empêcher la mise en place du bouclier d'annexine A5 (4) et l'effet anticoagulant de l'annexine A5 ne sera pas suffisant pour empêcher l'initiation de la coagulation à la surface cellulaire (5).

En revanche, en présence d'hydroxychloroquine (6–8), on observe une restauration d'un bouclier d'annexine A5, empêchant l'initiation de la coagulation et rétablissant l'effet anticoagulant de l'annexine A5.

c) Inhibition du tissue factor pathway inhibitor type I

Le facteur tissulaire (FT) est une protéine transmembranaire qui forme un complexe avec le facteur VII activé pour déclencher la cascade de la voie exogène de la coagulation. Le *tissue factor path-way inhibitor type I* (TFPI), synthétisé par les cellules endothéliales, est un inhibiteur de l'activité catalytique du complexe FT-FVIIa et diminue ainsi la génération de thrombine et la formation du caillot de fibrine. De nombreuses études ont rapporté une diminution de l'activité du TFPI corrélée à une augmentation de la génération de thrombine chez les patients atteints de SAPL [67]. Cet effet serait lié à la présence d'anticorps dirigés directement contre le TFPI [68] ou bien à une activité inhibitrice des anti- β 2GP1 sur le TFPI [69].

2.2 Activation cellulaire

a) Activation des plaquettes

Une thrombopénie avec une numération plaquettaire inférieure à 100G/l est observée chez environ 30% des patients avec SAPL [70]. Le mécanisme de cette thrombopénie est auto-immun mais contrairement à la thrombopénie induite par l'héparine (TIH) de type 2, elle n'est pas due à une puissante activation plaquettaire mais plutôt à la présence d'anticorps anti-GPIIb/IIIa ou anti-GPIb-IX [71-72] comme dans le purpura thrombopénique immunologique (PTI).

Au cours du SAPL, l'activation des plaquettes aboutit surtout à un effet prothrombotique principalement du à l'interaction du complexe β 2GP1/anti- β 2GP1 avec deux récepteurs présents à la surface des plaquettes, le récepteur 2' de l'apolipoprotéine E (ApoER2') et la glycoprotéine Iba (GPIba) [73] (Fig 7).

Le récepteur ApoER2' fait partie de la famille des récepteurs des lipoprotéines et la GPIba est l'un des membres du complexe GPIb-IX-V qui se lie entre autre avec le facteur de von Willbrand (FvW).

Les événements intracellulaires impliqués dans l'activation plaquettaire ne sont pas complètement élucidés mais il semble que la stimulation de ces deux récepteurs partageraient des effecteurs intracellulaires communs qui aboutissent à l'activation de la p38MAPK qui est une kinase capable de phosphoryler de nombreux substrats dont la phospholipases A2 (PLA2) qui conduit à la libération d'acide arachidonique, puis de thromboxane A2 (TXA2) [80]. Il a d'ailleurs été montré que les patients avec SAPL avaient une excrétion urinaire des métabolites du TXA2 plus importante que des individus sains [74].

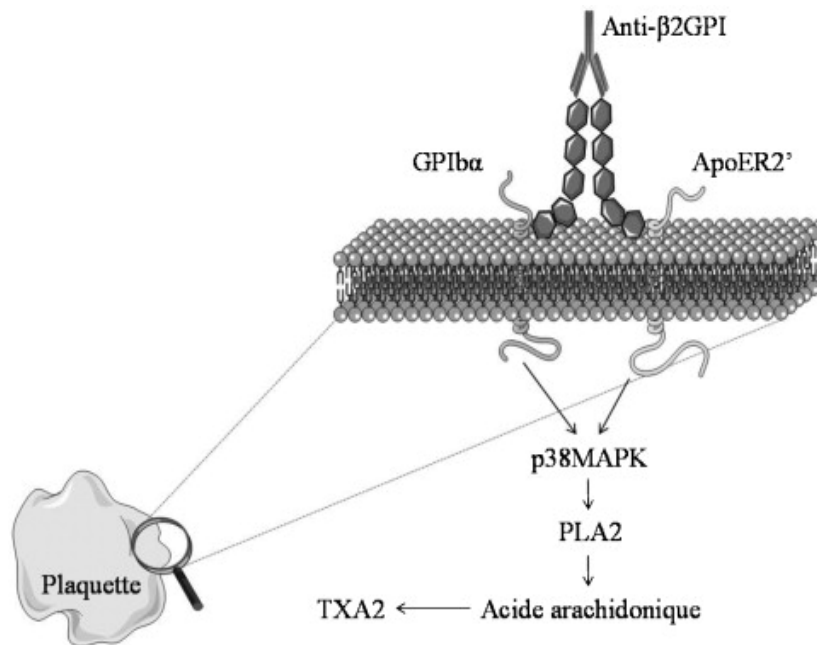


Figure 8 : Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par l'anti-β2GPI[35].

Les anticorps dimérisent la β2GPI qui se lie à son récepteur plaquettaire l'ApoER2' et interagit avec la GPIIb/IIIa qui via la p38MAPK va induire une augmentation de thromboxane A2 plaquettaire proaggrégant ; phospholipase A2 (PLA2) ; thromboxane A2 (TXA2)[75].

b) Activation des cellules endothéliales

Physiologiquement, les cellules endothéliales ont des propriétés anticoagulantes empêchant la formation inappropriée d'un caillot dans la lumière vasculaire. Plusieurs études ont montré que les aPL étaient capables d'inhiber cet effet anticoagulant en activant les cellules endothéliales pour leur conférer un phénotype procoagulant en l'absence de toutes brèches vasculaires [76]. Les anti- β 2GPI peuvent, en effet induire une surexpression de FT [77] et de molécule d'adhésion [78] par les cellules endothéliales. Comme pour les plaquettes, l'ensemble des effecteurs cellulaires mis en jeu dans l'activation des cellules endothéliales n'est pas identifié. Il a cependant, été montré que le complexe trivalent anti- β 2GPI/dimère de la β 2GPI interagissait avec l'annexine A2 au niveau de la membrane des cellules endothéliales [79].

D'autres effecteurs semblent également intervenir, à ce niveau, comme les récepteurs TLR2 et TLR4 [80,81], qui sont des récepteurs des endotoxines bactériennes de la familles des toll-like récepteur (TLR) et le *myeloid differentiation factor 88* (MyD88) [82] qui est une molécule adaptatrice des TLR.

La cascade de signalisation se poursuit par l'activation de la p38MAPK [83] qui va ensuite phosphoryler de nombreux substrats aboutissant à l'augmentation de l'expression de FT et de molécules d'adhésion dont *intracellular adhesion* molecules-1 (ICAN-1), *vascular-cell adhesion* molecule-1 (VCAM1) et la sélectine E (Figure 9). Il a récemment été proposé que le complexe anti- β 2GPI / β 2GPI inhiberait également la production de NO (monoxyde d'azote) par les cellules endothéliales. Les effets vasculaires qui en résultent et en particulier l'adhésion des leucocytes à l'endothélium, participeraient aux manifestations thrombotiques du SAPL. Au niveau de la surface des cellules endothéliales, l'interaction entre le complexe anti- β 2GPI / β 2GPI et le récepteur ApoER2' serait ainsi capable d'activer la phosphatase protein phosphatase 2A (PP2A) qui inhiberait à son tour la libération de NO s'accompagne d'un dysfonctionnement majeur de l'endothélium en favorisant ainsi la formation de thromboses.

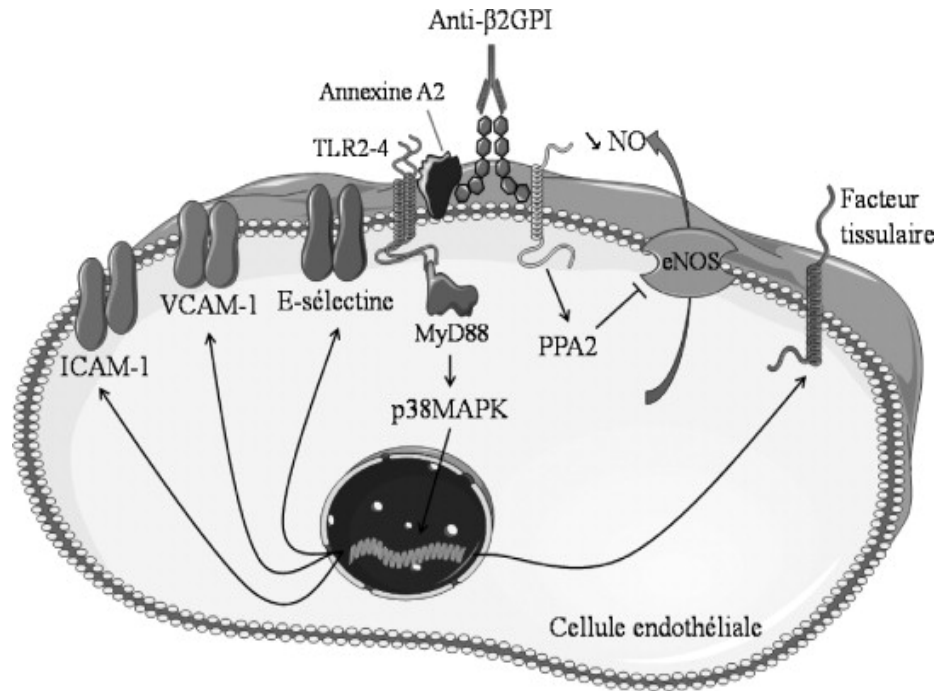


Figure 9. Modèle d'activation des cellules endothéliales par l'anti- β 2GPI[35].

Les anticorps dimérisent la β 2GPI qui se lie à son récepteur de la cellule endothéliale l'annexine A2 et aux TLR2-4 qui via la p38MAPK vont induire une surexpression de facteur tissulaire et de molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine).

Ces anticorps inhibent aussi la production par la cellule endothéliale de NO antiagrégant et vasodilatatrice.

c) Activation des monocytes

Au niveau des monocytes, l'activation cellulaire induite par les aPL s'accompagne d'une surexpression de FT [84] et de cytokines pro-inflammatoires dont le $\text{TNF}\alpha$. Cette tendance procoagulante et pro-inflammatoire des monocytes participe activement à la formation de thromboses retrouvées dans le SAPL. Ainsi, les complexes anti- β 2GPI qui se fixent à la surface des monocytes vont activer le complexe TLR2-4/annexine A2 et la transduction du signal va se poursuivre par l'activation de la p38MAPK, puis par l'expression de FT et de $\text{TNF}\alpha$ [85] (Figure 10).

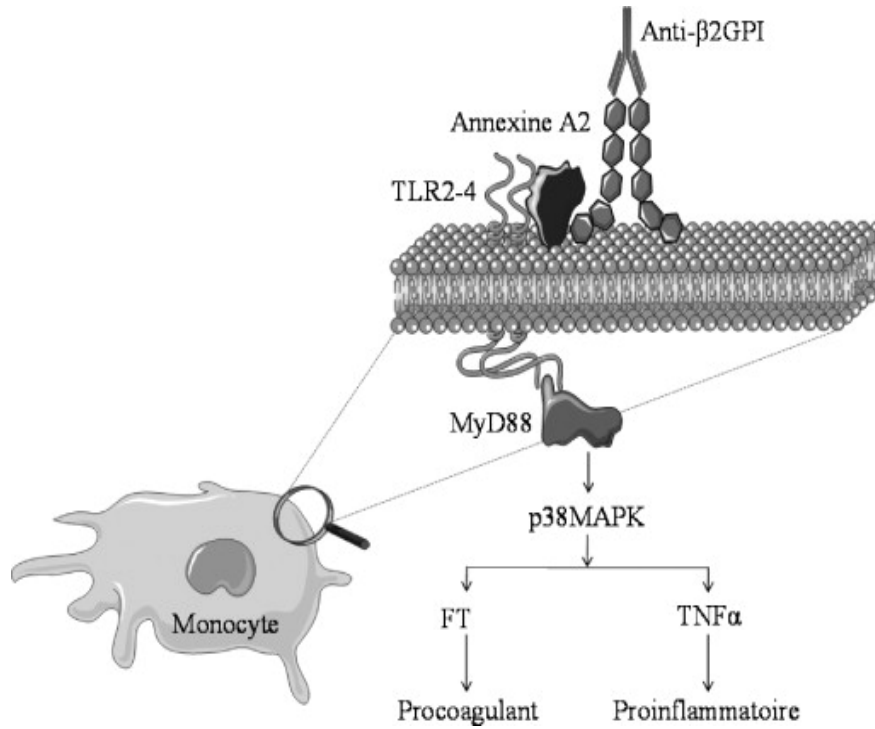


Figure10 : Modèle d'activation des monocytes par l'anti-β2GPI[35].

Les anticorps anti-β2GPI par la voie de la p38MAPK vont induire une surexpression par les monocytes de facteur tissulaire procoagulant et TNFα pro-inflammatoire.

Tableau XI : Mécanismes d'actions potentiels des anticorps antiphospholipides[24]

| Mécanismes | Pathologie | Cible des anticorps impliqués |
|---|--|--|
| ➤ Inhibition de la voie de la protéine C -inhibition de l'activation de la protéine C | Thromboses veineuses | thrombomoduline ? prothrombine ? |
| ➤ -inhibition de l'activité anticoagulante de la protéine C -déficit fonctionnel protéine S | | protéine C, protéine S, β 2GP1, kininogènes, facteur V |
| ➤ Inhibition de l'activité de l'antithrombine III | Thromboses veineuses | protéoglycane à héparane sulfate héparine, β 2GP1 |
| ➤ Interférence avec la fonction de l'annexine V | Obstétricale, thromboses | β 2GP1, annexine V |
| ➤ Inhibition de la fibrinolyse dépendant du FXII | Athérome accéléré | |
| ➤ Perturbation de cellules vasculaires | Obstétricale + Thromboses (artérielles et veineuses) | |
| ➤ Fixation plaquettaire | Thrombopénie | glycoprotéines plaquettares, |
| ➤ Activation plaquettaire (+ complément) | | CD36 |
| ➤ Déséquilibre des eicosanoïdes : -production accrue de thromboxane -défaut de production de prostacycline | | β 2GP1, kininogènes phospholipase A2 β2GP1, annexine V |
| ➤ Effet procoaguant par augmentation de la fixation de prothrombine aux cellules endothéliales | | Prothrombine (anticorps de faible affinité) |
| ➤ Activation et /ou apoptose des cellules endothéliales : -expression accrue de facteur tissulaire -expression accrue de molécules d'adhésion -production accrue d'endothéline1 -perte des propriétés antithrombotiques | Thromboses artérielles et Syndrome catastrophique des antiphospholipides | |

B) Les inhibiteurs physiologiques d'un facteur de coagulation

Ces inhibiteurs sont spécifiques d'un facteur de la coagulation. Ce sont des anticorps circulants pouvant être dirigés contre n'importe lequel des facteurs de coagulation. Ils sont peu fréquents et peuvent se rencontrer chez des sujets déficitaires d'un facteur ayant été transfusés, ou apparaître spontanément en l'absence de tout déficit constitutionnel en facteur de coagulation et qui sont supplémentés. Les inhibiteurs des facteurs VIII, IX et Willebrand seront exposés les premiers car ils sont les plus fréquemment retrouvés. Les anti-facteurs peuvent apparaître spontanément en dehors de tout déficit constitutionnel dans les situations suivantes :

- souvent dans les maladies auto-immunes (LED),
- parfois au cours de maladies dermatologiques : psoriasis, pemphigus, dermatite herpétiforme,
- hémopathies malignes : leucémies, myélome, ...
- néoplasie,
- antibiotiques : sulfamides, phénitode, phénylbutazone,
- inexpliqués, sans maladie apparente

1) Les anticorps anti-facteur VIII et IX

Caractéristique de l'hémophile acquise

L'hémophilie acquise est une maladie de la coagulation liée à la présence d'auto-anticorps acquis dirigés contre les facteurs VIII ou IX de la coagulation. C'est une maladie rare qui se manifeste par un syndrome hémorragique chez un patient indemne de tout déficit constitutionnel de la coagulation. L'inhibiteur anti-VIII ou anti-IX diffère des anticorps qui apparaissent suite à une allo-immunisation transfusionnelle des hémophiles.

1.1 Les anticorps anti-facteur VIII

Les inhibiteurs anti-F VIII sont des anticorps apparaissant chez une personne non hémophile. Il s'agit d'immunoglobulines, presque toujours IgG, plus rarement IgM, à chaîne

légère lambda, exceptionnellement kappa. La sous-classe des IgG4 qui ne représente normalement que 5% de la population des IgG est ici très largement prédominante suivie par les IgG3. L'hémophilie A acquise (HAA) se caractérise par l'apparition de ces auto-anticorps anti-facteur VIII chez un sujet non-déficitaire, se différenciant ainsi de l'hémophilie congénitale (sujet déficitaire) et des phénomènes d'allo-immunisation (apparition d'anticorps anti-facteur VIII substitutif utilisé en traitement des patients déficitaire). Ces anticorps anti-F VIII neutralisent l'activité coagulante du F VIII (F VIII : C) et entraîne une augmentation de sa clairance.

D'après la classification de Biggs (1972) on peut distinguer deux types d'anticorps :

- les anticorps de type I caractérisés par une cinétique d'inactivation du F VIII : C linéaire, rapide et complète. Ce sont des allo-anticorps apparaissant chez 10 à 30% des hémophiles A traités, ils entraînent une résistance à la thérapie substitutive et une augmentation du risque hémorragique,
- les anticorps de type II comportant une première phase d'inactivation rapide suivie d'une deuxième phase plus lente et incomplète ainsi leur détection reste donc parfois difficile. Ce sont des auto-anticorps apparaissant chez les sujets non hémophiles, le plus souvent âgés (60 ans) mais il existe un pic vers 20-30 ans lié à l'HAA associée au post-partum. Elle touche aussi bien les hommes que les femmes. Ces anticorps peuvent être responsables d'un tableau hémorragique en général bruyant et brutal chez une personne n'ayant aucun antécédent hémorragique. La neutralisation du facteur VIII par l'auto-anticorps se caractérise in vitro par une baisse de son activité. Elle rend compte des perturbations des tests de dépistage utilisés en laboratoire.

a) Les sites reconnus par les inhibiteurs anti-FVIII

Le F VIII est une molécule synthétisée sous la forme d'un polypeptide monocaténaire de 2332 acides aminés (aa). L'analyse de sa structure révèle plusieurs domaines homologues juxtaposés dans l'ordre A1-A2-B-A3-C1-C2 séparés entre les domaines A1 et A2, A2 et B, B et A3 de zones hyper-acides parfois appelées AR1, AR2 et AR3 (Figure 11).

Les modifications post-traductionnelles aboutissent à la production d'une molécule de F VIII à deux chaînes : une chaîne lourde composée des domaines A1-A2-B (le domaine B étant protéolysé à des degrés divers) et une chaîne légère composée des domaines A3-C1-C2. L'activation par la thrombine produit un clivage sur deux sites de la chaîne lourde (Arg 372 et Arg 740) et un site de la chaîne légère (Arg 1680). Le F VIII activé (F VIIIa) est donc un hétérotrimère (A1/A2/A3-C1-C2) dépourvu du domaine central B et d'un petit peptide d'activation de 41aa correspondant au domaine AR3 (Figure 11).

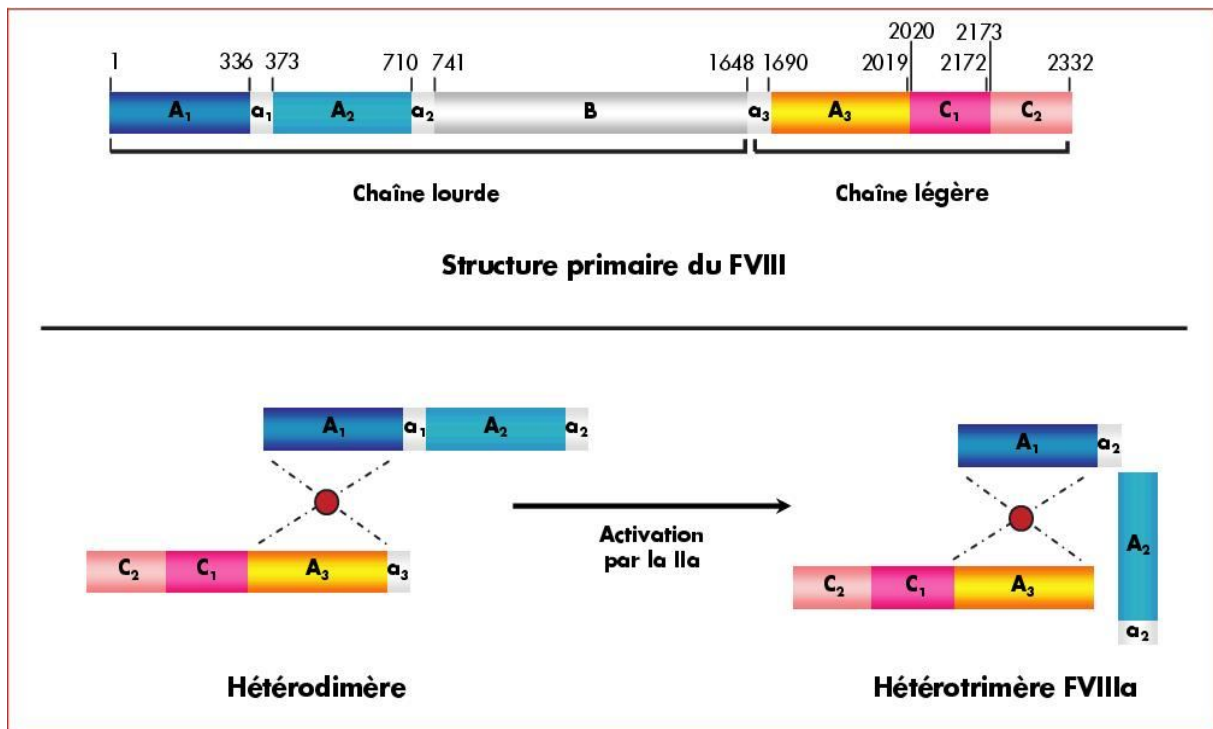


Figure 11 : Structure primaire et mécanisme d'activation du F VIII [86].

Le FVIII est une protéine de 2332 aa composée d'une chaîne lourde (A1-A2-B) et d'une chaîne légère (A3-C1-C2). Il se présente sous forme d'hétérodimères dans le plasma et va être activé par la thrombine et circuler sous forme d'hétérotrimères activés.

Dans la circulation plasmatique le FVIII circule associé au Facteur Willebrand (vWF) qui le protège des phénomènes de dégradation protéolytique et prévient la dissociation des chaînes lourdes et légères. La liaison aux phospholipides (PL) indispensable pour l'activation

optimal du facteur X se fait sur un site localisé aussi dans la portion C terminale du domaine C2 sur lequel se chevauchent donc la liaison aux PL et au vWF.

Les sites reconnus par les inhibiteurs anti-VIII ont d'abord été étudiés par les techniques d'immunoblotting utilisant des fragments de FVIII protéolysé par la thrombine ou des fragments recombinants [87]. La majorité des épitopes reconnus par les anticorps anti-FVIII ont pu ainsi être localisé sur un fragment de 18,3 kDA en position N terminal du domaine A2 et/ou un fragment de 17,3 kDA en position C terminale du domaine C2, quelques-uns d'entre eux reconnaissent en plus le domaine A3. Certains anticorps dirigés contre la zone acide AR1 ont parfois aussi été décrits. Plusieurs méthodes ont permis de démontrer la complexité de la réponse immunitaire des hémophiles immunisés.

Dans une étude portant sur 34 plasmas d'hémophiles avec inhibiteur, l'équipe de Scandella montrait ainsi que dans 80% des cas environ la spécificité porte sur deux ou trois sites avec une composante anti-A2 dans 70% des cas, anti-C2 dans 82%, anti-AR3-A3-C1 dans 56% des cas [88]. La spécificité des auto-anticorps anti-FVIII n'est pas différente (les mêmes épitopes sont reconnus) mais la réponse apparaît plus restreinte. La même étude fait aussi apparaître certaines différences entre les hémophiles traités par produits plasmatiques ou recombinants. On observe ainsi chez les hémophiles traités par produits plasmatiques une plus grande fréquence de la composante anti-AR3-A3-C1 ainsi que l'association anti-C2+AR3-A3-C1. En revanche, l'association anti-A2+C2 apparaît un peu moins fréquente dans le groupe plasmatique. Cependant les deux groupes ne sont pas exactement comparables : les hémophiles traités par les produits plasmatiques étant en majorité des adultes déjà largement traités par FVIII alors que les patients traités par les produits recombinants sont exclusivement de jeunes enfants traités depuis moins longtemps ce qui limite la portée de ces comparaisons.

Les anticorps anti-FVIII peuvent interférer avec les différents partenaires du FVIII. Certains anticorps, par encombrement stérique, vont empêcher l'activation du F VIII en F VIIIa par la thrombine ou perturber la protection du FVIII par le facteur von Willebrand. Les anticorps anti-domaine C2 inhibent la fixation du FVIII avec le facteur von Willebrand, le F

Xa ou les phospholipides. Les anticorps anti-domaine A2 vont empêcher la fixation du FVIII avec le FIXa et anti-domaine A3 perturbent l'interaction avec le F IX.

Un autre mécanisme d'inhibition est la formation de complexes immuns responsables d'une baisse de la demi-vie du FVIII et d'une augmentation de la clairance : ce sont des anticorps non neutralisant. Ces anticorps n'interagissent donc pas avec les fonctions procoagulantes du FVIII : ils sont non inhibiteurs. Enfin, un dernier mécanisme est l'hydrolyse directe du FVIII par des anticorps dits catalytiques. Ces anticorps possèdent une activité enzymatique et catalytique directe sur le FVIII.

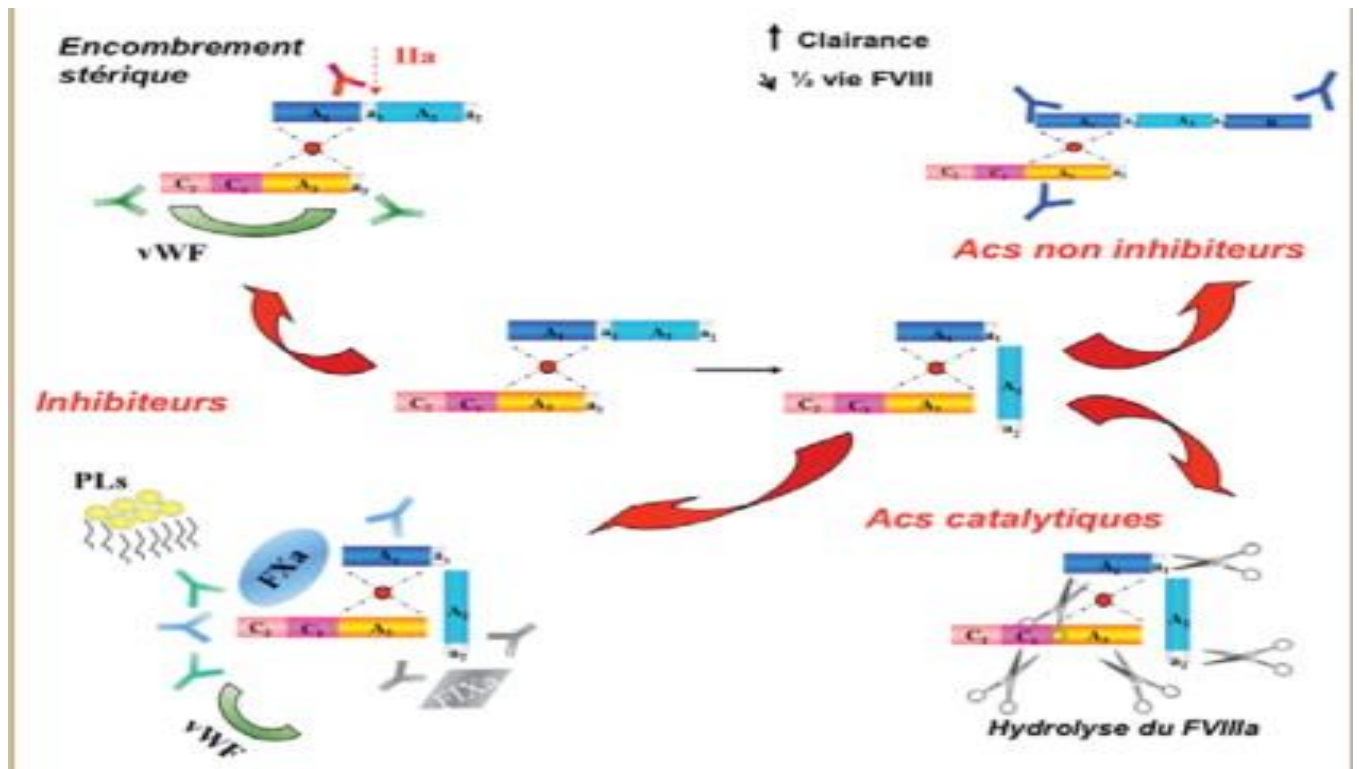


Figure 12 : Mécanismes d'action des anticorps anti-F.VIII [89].

1.2 Les anticorps anti-facteur IX

Cet inhibiteur est une immunoglobuline de type IgG1 ou IgG4, kappa ou lambda mais plus rarement des IgM. Il est peu dépendant du temps, se fixant en moins de 30 minutes, est stable à 56°C, il est non précipitant et ne fixe pas le complément. Le FIX (figure 12 : 2B) est

une sérine protéase de 415 acides aminés, il est organisé en plusieurs domaines : à l'extrémité N-terminal se trouve le domaine GLA comportant de nombreux résidus d'acides glutamique, permettant la liaison aux phospholipides électronégatifs par l'intermédiaire d'un ion calcium. Le FIX possède également 2 domaines de type EGF *like* (*epidermal growth factor*) : EGF 1 et EGF 2. Vers l'extrémité C-terminal, se trouve le domaine d'activation puis le domaine catalytique. Lors de son activation en FIXa, le domaine d'activation est clivé, individualisant ainsi une chaîne lourde et une chaîne légère reliées par un pont disulfure. Le FIXa est une sérine protéase permettant l'activation de FX en FXa au niveau du domaine catalytique. Cette réaction est augmentée d'un facteur 50 en présence de FVIIIa.

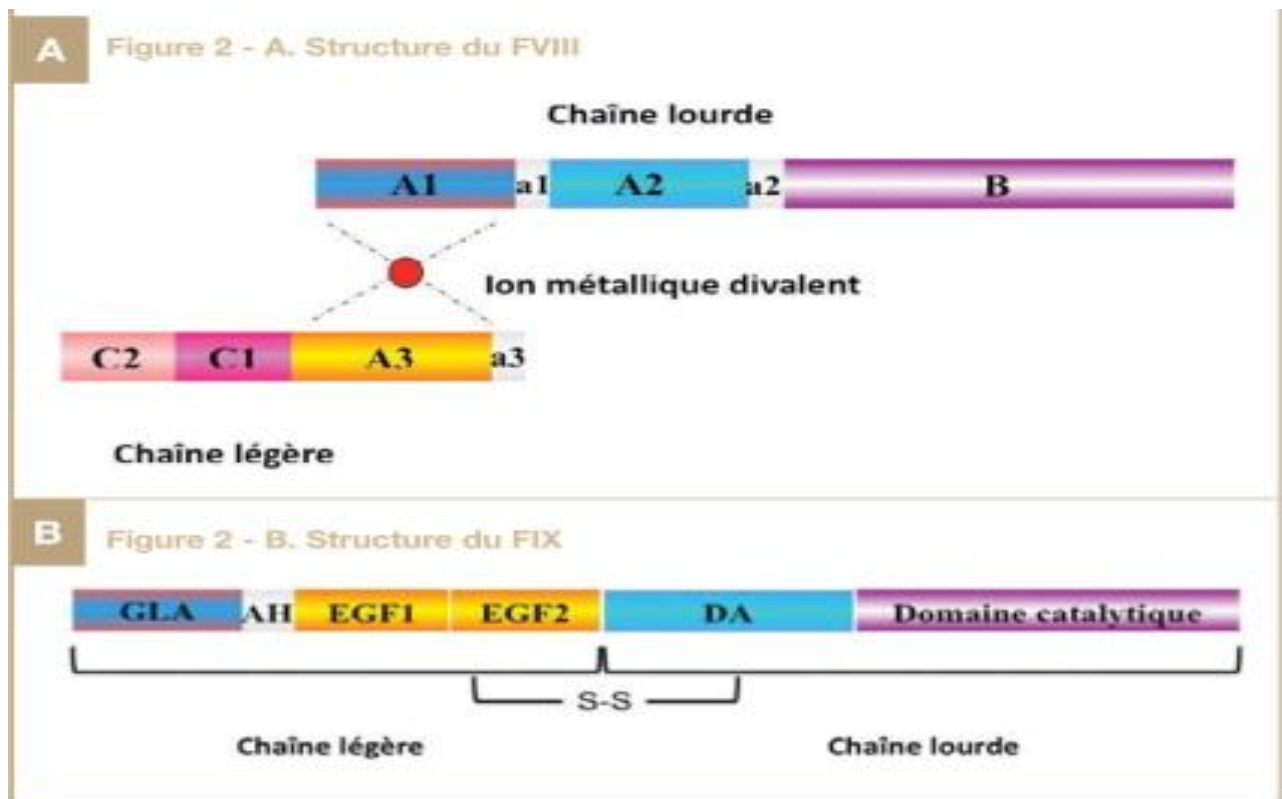


Figure 13 : Structure du FVIII et du FIX [89].

Figure 2 A : Structure du FVIII. Figure 2 - B. Structure du FIX.

Le FVIII (A) est composé d'une chaîne lourde (domaines A1-A2-B) et d'une chaîne légère (A3-C1-C2) reliées par un ion métallique divalent. Le FIX (B) est composé d'une chaîne légère (domaines EGF et GLA) et d'une chaîne lourde (domaine d'activation et domaine catalytique) reliées par un pont disulfure.

2) Les anticorps anti-facteur XI

Le facteur XI est une glycoprotéine dimérique de la coagulation, formé de deux sous-unités identiques unies par un pont disulfure. Il appartient, avec le facteur XII, la PK et le KHPM, au système contact de la coagulation. Ce zymogène est activé en sérine-protéase après protéolyse par le facteur XII activé et la thrombine. Son rôle sous forme active est d'initier la cascade des réactions enzymatiques amenant à la formation de fibrine en induisant l'activation du facteur IX. C'est aussi un inhibiteur de la fibrinolyse, il prend place dans le système fibrinolytique en renforçant la stabilité du caillot et en augmentant sa résistance à la fibrinolytique.

Les déficits en facteur XI, héréditaire autosomiques dominants ou acquis, existent mais sont rares. Ils peuvent être responsables de complications hémorragiques apparaissant le plus souvent dans le contexte d'un traumatisme ou d'une intervention chirurgicale.

Le déficit acquis peut être observé en présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre le facteur XI. L'inhibiteur anti-facteur XI est une immunoglobuline G ou M d'action rapide, mais qui peut être progressive, notamment quand l'anticorps survient au cours d'un déficit constitutionnel [90]. Il peut avoir plusieurs sites d'action à l'égard du facteur XI. IL peut, en effet :

- inhiber le facteur XI activé,
- l'adsorption du facteur XI et la génération du facteur XI activé par les surfaces réactives chargées négativement,
- la fixation du KHPM sur le facteur XI ou encore le clivage du facteur XI par le facteur XII activé [91],
- ou empêcher l'activation du facteur IX par le XIa.

3) Les anticorps anti-facteur de von Willebrand

Le facteur de von Willebrand (vWF) est un facteur plasmatique chargé de deux importantes fonctions ; adhésion des plaquettes au sous-endothélium vasculaire d'une part et le transport et la protection du facteur VIII de la coagulation d'autre part. Il est synthétisé par

la cellule endothéliale vasculaire et le mégacaryocyte. Sa structure est hétérogène car il résulte d'une polymérisation plus ou moins importante d'une structure monomérique de base de 270 kD, et les formes de haut poids moléculaires sont plus efficaces pour l'hémostase primaire.

Les anticorps anti-facteur de von Willebrand n'ont été identifiés que dans 16% des cas de syndrome de Willebrand acquis (AvWS) et plus particulièrement au cours des syndromes prolifératifs, des cancers et des maladies auto-immunes.

Le syndrome de Willebrand acquis est un syndrome rare, cliniquement et biologiquement identique à la maladie de Willebrand (vWD), touchant préférentiellement des personnes sans antécédents hémorragiques personnels ni familiaux, à un âge avancé de leur vie.

Les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans le AvWS dépendent des maladies causales. Un anticorps anti-facteur von Willebrand est retrouvé préférentiellement lors de proliférations lymphoïdes.

On distingue ainsi deux types d'anticorps :

-les anticorps neutralisants qui se lient à un site actif du vWF comme le site de liaison au collagène, à la glycoprotéine Ib ou à la glycoprotéine IIb/IIIa.

Ces anticorps diminuent l'activité du vWF. Ils sont principalement de type IgG, rarement IgM et exceptionnellement IgA [92, 93, 94],

-les anticorps non-neutralisants qui se lient au niveau des sites non fonctionnels de la protéine comme les sites de clivage des multimères de haut poids moléculaires. Ils n'entraînent pas toujours une perte d'activité du vWF mais favorisent sa clairance [92, 95].

4) Les anticorps anti-facteurs V

Il s'agit d'un anticoagulant rare, puisqu'une trentaine de cas seulement ont été décrits dans la littérature. Le facteur V est une protéine monocaténaire de synthèse hépatique il est libéré dans le sang sous forme inactive. Il se répartit en FV circulant (80%) et en FV plaquettaire (20%). Cet anti-facteur est une immunoglobuline IgG4, surtout neutralisant, d'action rapide. Cet anticorps est transitoire : il disparaît rapidement et spontanément dans la

majorité des cas. La présence du facteur V, concentré dans les granules alpha des plaquettes, justifie pour certains des transfusions plaquettaires au cours des syndromes hémorragiques liés à l'anti-facteur V [96].

La structure du FV est très proche de celle du facteur VIII. Le clivage par la thrombine du facteur V donne naissance au facteur Va, dépourvu d'activité enzymatique, cofacteur du Xa avec lequel il forme en présence de Calcium et d'un phospholipide membranaire le complexe prothrombinase. Le FVa est constitué d'une chaîne lourde (domaine A1- A2) et d'une chaîne légère (domaine A3-C1-C2) reliées de façon non covalente par un ion Ca^{2+} [97]. Les domaines A3-C1-C2 obtenus après clivage du facteur V par la thrombine sont responsables de l'activité procoagulante du facteur V. Plus récemment, la purification d'anti-facteur V a permis de préciser qu'il s'agissait le plus fréquemment d'IgG reconnaissant le domaine C2 [98]. In vitro ils inhibent la liaison du facteur V à la phosphatidylsérine.

V. EPIDÉMIOLOGIE ET DIAGNOSTIC DES ANTUCOAGULANTS CIRCULANTS

A. Antiphospholipides

1) Caractéristiques

1.1 Épidémiologie

La prévalence du syndrome des anticorps antiphospholipides dans la population générale est faible. Seul un faible pourcentage de patients qui présentent une thrombose veineuse ou artérielle a des anticorps antiphospholipides à un titre significatif et persistant.

Au cours du LES, la prévalence du LA est d'environ 15 à 30 % et celle des aCL de 25% à 45%. Un SAPL est observé chez 25% à 30% des maladies si le recul est suffisant.

Dans la population générale, la prévalence des aPL est inférieure à 3% tant pour le LA que pour les aCL [99]. Cette prévalence semble augmenter chez les sujets âgés. De nombreuses études transversales ont bien établi l'association entre les aPL et thrombose veineuse, une récente méta-analyse soulignant que cette association est plus forte avec le LA qu'avec les aCL[100]. Toutefois, chez les sujets jeunes, la présence d'aPL constitue un authentique facteur de risque pour la survenue d'un premier infarctus cérébrale ou myocardique [99,101]. Les études prospectives montrent que chez les sujets sains, la présence d'aCL est prédictive de la survenue d'une thrombose veineuse [102]. Après un premier épisode veineux (thrombose profonde ou embolie pulmonaire), la présence d'un LA est fortement annonciatrice de récurrences [103, 104]. Concernant le territoire artériel, la présence d'aCL constitue un facteur de risque pour la survenue d'un premier infarctus myocardique [105]. De plus, la présence d'aCL est associée à un risque accru de récurrences après un premier épisode ischémique coronarien ou cérébral. En résumé, bien que certains résultats préliminaires demandent confirmation, les aPL font progressivement leur entrée au sein des facteurs de risque vasculaire, ce d'autant que certains travaux prenant en compte le titre des aCL ont pu établir l'équivalent d'une courbe effet-dose [102].

1.2 Circonstance de découverte

La recherche d'antiphospholipides est le plus souvent prescrite dans les contextes suivants un bilan initial et suivi de maladies auto-immunes. Les circonstances de détection peuvent se faire :

- Hors de SAPL

La présence d'anticorps antiphospholipides n'est pas spécifique du syndrome des antiphospholipides et ces anticorps peuvent être détectés au cours de nombreuses autres situations tels que :

Infections :

Syphilis, infection par le VIH, hépatites virales, virus Epstein Barr (MNI), fièvre Q, parvovirus B19, lèpre. Hormis pour l'infection par le VIH et la lèpre, la présence des anticorps est généralement transitoire, à la phase aiguë, et ils disparaissent avec le traitement de l'affection sous-jacente lorsqu'elle est curable ou l'arrêt du traitement inducteur. Mise à part l'infection par le parvovirus B19, et la lèpre, les anticorps antiphospholipides détectés au cours des infections ne sont pas β 2GPI-dépendants. Ils sont peu thrombogènes.

Médicaments :

Neuroleptiques, les β -bloquants, Quinidiniques, les Interféron α .

Bien que les aPL induits par les médicaments puissent être cofacteurs dépendants (β 2-GPI, prothrombine), ceux-ci ne s'accompagnent habituellement pas de manifestations thrombotiques. La disparition des anticorps antiphospholipides à l'arrêt du médicament est inconstante (50%) et survient entre 6 et 12 mois après l'arrêt.

Affections malignes :

Tumeurs solides ou hémopathies (dysglobulinémies monoclonales).

Maladies auto-immunes :

Lupus érythémateux systémique, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjogren.

- Dans le SAPL

La pathogénie des aPLs semble être en effet conditionnée par leur persistance, et ce n'est qu'à la suite de deux déterminations positives séparées par un délai minimum de 2 à 3 mois que la présence d'aPL pourra être prise en compte comme critère de diagnostic d'un SAPL. L'association du syndrome antiphospholipide au anticorps antiphospholipides peut être retrouvé dans un bilan initial, le suivi de maladie auto-immunes tels que le lupus érythémateux systémique, autres maladies systémiques auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, maladie de Sjogren, maladie de Behçet, sclérodémie, maladie de Horton...) mais également un bilan étiologique de thromboses veineuses profondes ou superficielles inexpliqués ;

- manifestations ischémiques artérielles affectant en particulier le territoire cérébral (thromboses, accident ischémique transitoire), coronaire, oculaire, rénal (micro angiopathies thrombotiques), notamment lorsqu'elles surviennent chez des sujets jeunes et en l'absence de facteurs de risques identifiés ;

- pathologie obstétricale : pertes fœtales spontanées précoces récidivantes ou morts fœtales tardives, inexpliquées par des causes morphologiques, génétiques ou hormonales avec retard de croissance intra-utérine, pré-éclampsie.

Outre ces critères majeurs, thrombotiques et obstétricaux, d'autres manifestations cliniques sont très évocatrices du SAPL dont elles peuvent être considérées comme critères « mineurs » [106] : lésions cutanées (livedo réticulaire, nécroses cutanées, hémorragies sous-unguéales), cardiaques (valvulopathies), troubles endocriniens (insuffisance surrénale), neurologiques (myélite transverse, épilepsie, chorée) ; thrombopénies persistance inexpliquées.

Tableau XII : Définition historique du SAPL [107]

| |
|--|
| Association d'une manifestation clinique parmi : <ul style="list-style-type: none">-thrombose veineuse,-thrombose artérielle,-pertes fœtales (>2). Avec au moins une anomalie biologique parmi : <ul style="list-style-type: none">-anticoagulant circulant de type lupique (LA) ou antiprothrombinase ;-aCL (> 20 unités GPL (ou MPL). Cette anomalie biologique persistante à au moins 8 semaines d'intervalle. |
|--|

Unités GPL : unités antiphospholipides IgG MPL : antiphospholipides IgM

1.3 Critère de diagnostic positif

Le diagnostic des ACC est délicat car les données des tests biologiques habituellement réalisés au laboratoire ne sont pas toujours faciles à interpréter d'où les principaux tests utilisés qui sont les tests de coagulation mettant en jeu des phospholipides et les tests immunologiques spécifiquement conçus pour détecter ces anticorps.

En effet en dehors de tout signe clinique d'orientation, une recherche spécifique de lupus anticoagulant est fréquemment entreprise à l'initiative du biologiste, devant la découverte fortuite d'un allongement du TCA lors d'une exploration de routine de la coagulation. Les lupus anticoagulants associés à une pathologie infectieuse représentent une cause fréquente des allongements du TCA détectés en pédiatrie sur des bilans préopératoires [108].

a) Les tests de coagulation

Les tests de coagulation dépendant des phospholipides peuvent être perturbés en présence d'un ACC. L'existence ou l'importance de la perturbation des tests dépend d'une part de la sensibilité du test utilisé et, d'autre part, de la nature de l'ACC présent. Les critères diagnostiques des ACC ont été définis par le sous-comité « lupus anticoagulant/anticorps antiphospholipides » de la société internationale d'hémostase et thrombose (ISTH) en 1995

[109]. Pour affirmer un diagnostic d'ACC de type lupique, quatre conditions doivent être remplies (Tableau XIII). Les tests de coagulation utilisés peuvent explorer la voie endogène, la voie exogène ou la phase finale commune de la coagulation. Ces tests sont nombreux, et leur utilisation doit être hiérarchisée.

Tableau XIII : Critères diagnostiques des anticoagulants circulants de type lupique (d'après Brandt)[109]

| |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. Prolongation d'au moins un test de coagulation dépendant des phospholipides ;2. Mise en évidence du caractère inhibiteur par une épreuve de mélange plasma à tester –pool de plasmas normaux ;3. Confirmation du caractère phospholipides-dépendant de l'effet inhibiteur ;4. Absence d'autres coagulopathies susceptibles d'interférer dans les tests (les dosages de facteurs permettent d'éliminer un déficit ou la présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre un facteur). |
|---|

Phase pré-analytique

Cette phase est capitale pour le diagnostic des ACC d'où la nécessité de respecter les recommandations suivantes :

- ponction veineuse franche,
- le garrot non serré,
- les premiers ml rejetés,
- quantité de sang suffisante respectant le volume de l'anticoagulant (citrate tri sodique) à raison de 1 volume pour 9 volumes de sang (tube avec bouchon bleu) , mélanger aussitôt par retournement lents mais complets, sans produire de mousse ni d'hémolyse mécanique, -
- temps d'acheminement < 2 heures,
- plasma déplaqueté par double centrifugation.

Le plasma peut être congelé à -20°C s'il est testé dans les deux semaines, ou -80°C s'il doit être conservé plus longtemps.

La recherche d'ACC comporte quatre étapes, une batterie de tests étant nécessaire pour mettre en évidence ou éliminer la présence d'un ACC :

➤ **Etape 1 : tests de dépistage**

C'est la première étape, mettant en jeu des tests peu coûteux mais très sensibles aux ACC. Il est recommandé d'utiliser : un temps de thromboplastine diluée et un TCA avec des réactifs sensibles aux ACC. Un temps de Quick et un TCA doivent être réalisés en parallèle avec des réactifs au contraire peu sensibles aux ACC ainsi qu'un temps de thrombine sensible à l'héparine. Les plasmas pour lesquels les résultats obtenus avec les réactifs sensibles aux ACC sont normaux, sont considérés comme ne contenant pas d'ACC. Ceux pour lesquels il y a la perturbation des tests peuvent être rattachés de manière certaine à un traitement AVK ou héparine et sont en principe considérés comme ne contenant pas d'ACC. Enfin, les plasmas ayant des allongements des temps de coagulation sans relation avec un traitement anticoagulant ou pour lesquels il existe un doute quant à la présence d'anticoagulant circulant sont testés dans les tests suivants.

Les tests suivants consistent à utiliser des tests plus coûteux comme le temps de venin vipère Russell dilué (dRVVT), temps de textarine et d'ecarine, temps de venin de vipère Taipan. Les plasmas dont les temps de coagulation sont allongés avec les réactifs sensibles aux ACC mais normaux avec les réactifs peu sensibles sont considérés comme comportant un ACC, tandis que les autres plasmas sont testés pour la recherche de déficit en facteur.

Le temps de reptilase :

Il s'agit d'un test chronométrique, simple et automatisable, qui explore la transformation du fibrinogène en fibrine (fibrinoformation). Il est exprimé en seconde, ou sous forme d'un ratio par rapport à un plasma normal. Associé au temps de thrombine, ce test est utilisé dans l'exploration des anomalies qualitatives du fibrinogène (dysfibrinogénémies).

La caractéristique du temps de reptilase est d'être contrairement au temps de thrombine, insensible à la présence de médicament à activité antithrombine, tels que l'héparine et l'hirudine. Le test est réalisé sur un plasma citraté, les conditions pré-analytiques doivent être scrupuleusement respectées, toute hémolyse ou toute amorce même minime de la coagulation invalide le test. En présence d'un allongement du temps de thrombine, le temps de reptilase permet de préciser si ce phénomène est dû à la présence d'antithrombine (héparine). En effet, dans ce cas précis, le temps de reptilase reste normal.

➤ **Etape 2 : effet inhibiteur**

Devant l'anomalie d'un ou plusieurs tests de dépistage, la démonstration de la présence d'un inhibiteur fait appel à une épreuve de « correction », après mélange du plasma à tester avec un pool de plasma normal. L'absence de correction de l'allongement initial signe la présence d'un inhibiteur, qui reste à caractériser. Au contraire, la normalisation du temps de coagulation du mélange est en faveur d'un déficit touchant l'un au moins des facteurs explorés par le test.

Test de correction

La préparation du plasma normal destiné aux tests de mélange doit être aussi rigoureuse que celle des échantillons à tester. Idéalement il s'agit d'un pool de plasmas frais provenant des sujets sains (20 au minimum) préparé dans les meilleurs délais suivant le prélèvement, déplaqué par double centrifugation, voire filtration, pouvant être conservé quelque mois à -80°C ou quelques semaines à -20°C. L'effet inhibiteur du LA est de type inhibiteur immédiat contrastant avec les inhibiteurs spécifiques du facteur VIIIc dont l'action inhibitrice dépend du temps (2h d'incubation).

Une activité inhibitrice progressive peut cependant être mise en évidence pour environ 10% des lupus anticoagulants par l'incubation du mélange 2h à 37°C. La proportion idéale d'échantillon à tester et de pool normal peut varier. Habituellement, le mélange est effectué à parties égales, mais l'utilisation de proportions différentes (deux parties de plasma à tester pour une partie de pool de plasma normal) permet dans certains cas de sensibiliser le test. Les critères de correction diffèrent selon le test utilisé et figurent dans le Tableau ci dessous.

Pour le TCA ou le temps de Kaolin on calcule l'indice de ROSNER selon la formule :

Indice de ROSNER :

$$\frac{\text{TCA}_{\text{mélange}} - \text{TCA}_{\text{témoin}}}{\text{TCA}_{\text{malade}}} \times 100$$

Pour le TTD on considère le rapport : temps de mélange (M+T) / temps témoin. Le dRVVT peut être interprété selon ce dernier critère, mais il est le plus souvent, intégré dans une étape de confirmation et n'est pratiqué sur le mélange plasma patient + plasma témoin que lorsque le patient est traité par antivitamine K ou présente un déficit en facteur du complexe prothrombinique.

Tableau XIV : Critères de positivité des tests de diagnostic des LA[110]

| | Négatif | Douteux | Positif |
|--------------------------------|---------|-------------|---------|
| Test de correction | | | |
| -TCA : indice de Rosner (%) | < 12 | 12 – 15 | ≥ 15 |
| -du TTD* | < 1,10 | 1,10 – 1,20 | ≥ 1,20 |
| Tests de neutralisation | | | |
| -principe TCA** (sec) : | <7 | 7-10 | >10 |
| -principe dRVVT*** | <1,20 | | ≥1,20 |

-IR < 12 : correction du TCA et la non présence d'ACC, il s'agit d'un déficit en facteur plasmatique de la voie endogène de la coagulation : dosage alors des facteurs VIII, IX, XI, XII

-15 < IR > 12 : alors le test est douteux

-IR > 15 : pas de correction du TCA ce qui indique la présence d'un ACC spécifique d'un facteur ou d'un anti-phospholipide. Seul le dosage spécifique des facteurs de la voie endogène permettra ainsi d'affirmer le diagnostic, mais s'il s'agit d'un anticoagulant spécifique, on fera alors un titrage, le résultat est rendu en unités Bethesda. Cependant, un anticoagulant de type lupique peut être concomitant de celle d'un déficit en facteur et masquer ce dernier. La non correction du TCA lors de l'épreuve du mélange doit donc pour cette raison inciter à rechercher un déficit en facteur pour s'assurer de l'absence de risque hémorragique.

* : temps de thromboplastine dilué : indice : temps du mélange/temps du témoin

** : raccourcissement du temps de coagulation après ajout de phospholipides

*** : ratio normalisé = (dRVVT dépista.patient/dRVVTconfirm. Patient) / (dRVVT dépist. Témoin/ dRVVT confirm. Témoin).

➤ **Etape 3 : confirmation de la dépendance en phospholipide ou test de neutralisation**

L'absence de correction significative des tests de dépistage lors de l'épreuve de mélange signe la présence d'un « anticoagulant circulant » qui reste à caractériser. Avant d'affirmer qu'il s'agit d'un LA, il faut trouver sa dépendance en phospholipides.

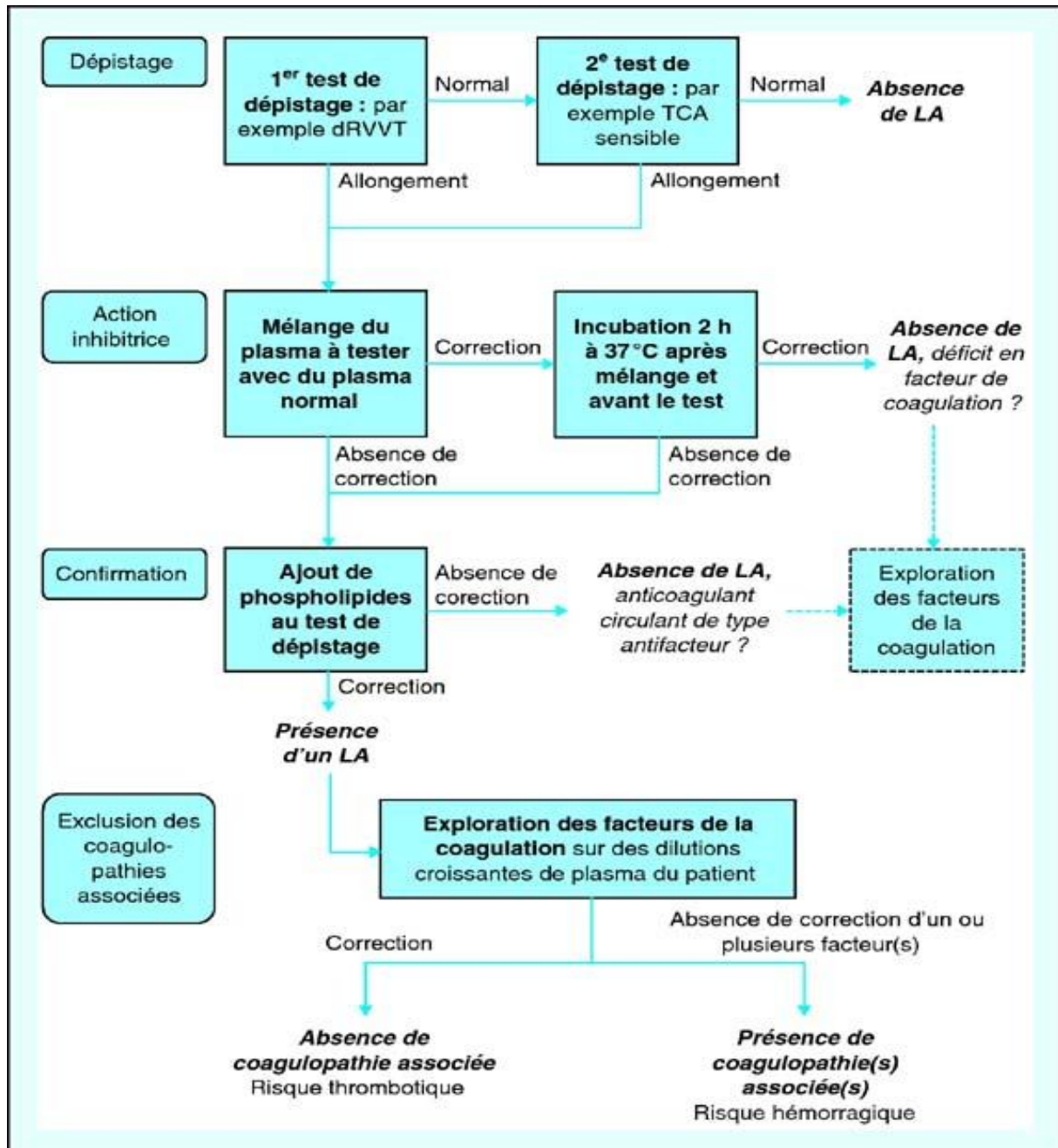
Cette étape assure donc le diagnostic différentiel entre les LA et les inhibiteurs dirigés contre un facteur de la coagulation. Elle consiste à reprendre le(s) test(s) de dépistage initialement allongé(s) en augmentant la concentration en phospholipides des réactifs, afin de neutraliser au moins partiellement l'inhibiteur. Un raccourcissement du temps de coagulation traduit la présence d'un LA. Le degré de raccourcissement considéré comme significatif varie selon les tests. La nature des phospholipides mis en œuvre dans le système de neutralisation du TCA est diverse. Le test original de Triplett faisait intervenir des lysats plaquettaires mais d'autres sources de PL sont utilisables avec la même efficacité.

Les tests de neutralisation utilisant le dRVVT présentent une meilleure spécificité vis-à-vis des LA car insensibles à la présence d'un anti-VIIIc à titre élevé. Cette spécificité est améliorée par l'expression du résultat sous forme de ratio normalisé obtenu en divisant le rapport (dRVVT patient dépistage/dRVVT patient confirmation) par le rapport (dRVVT témoin dépistage/ dRVVT témoin confirmation).

➤ **Etape 4 : exclusion d'une anomalie de la coagulation associée**

Il s'agit d'éliminer toute autre cause que le LA pouvant contribuer à l'allongement des tests de dépistage : déficit en facteur(s) de la voie endogène (VIII, IX, XI, XII, facteur contact) dans le cas d'un allongement très marqué du TCA, déficit en facteur(s) du complexe prothrombinique devant une perturbation importante du TTD ou du dRVVT.

Tableau XV : Tableau récapitulatif [111]



b) Tests immunologiques

Dans la famille très hétérogène des anticorps antiphospholipides, certaines spécificités peuvent être mise en évidence par des techniques immuno-enzymatiques de type ELISA (anticardioline, anti β 2GPI par exemple). La mise en œuvre des tests immunologiques parallèlement aux tests de coagulation est indispensable du fait que les anticorps antiphospholipides ne sont détectés simultanément par ces deux méthodes que dans 60% des cas. Son avantage pour le dépistage des aPL est de permettre la mise en évidence de la spécificité de l'anticorps, en utilisant un antigène bien défini, et de l'isotype de cet anticorps, en révélant la réaction par un immunosérum spécifique d'un isotype donné.

Ces anticorps peuvent reconnaître différentes structures :

- Des phospholipides isolés, anioniques (phosphatidylinositol, phosphatidylsérine) ou neutre (phosphatidyléthanolamine) ;
- Des complexes phospholipides /cofacteurs protéiques (β 2GPI, prothrombine, protéine C, protéine S)
- Des cofacteurs seuls, indépendants de toute liaison avec les phospholipides.

Devant l'extrême diversité des anticorps recherchés par différentes trousse, il est important de bien maîtriser les paramètres méthodologiques propres à chaque trousse et de définir la valeur diagnostique à accorder aux résultats. Parmi tous les anticorps détectés, les anticorps les plus fréquemment recherchés en pratique courante sont les anticorps anticardiolipines.

➤ **Anticorps anticardiolipines**

- **Cible antigénique**

Les aCL reconnaissent la cardiolipine, mais également d'autres phospholipides anioniques comme la phosphatidylsérine exposée à la face externe de la membrane des plaquettes lors de leur activation. Le test CL-ELISA conventionnels, utilisant le sérum animal comme source prépondérante de β 2GPI, met en évidence sans permettre de les distinguer, au moins deux catégories d'anticorps :

- l'une dont la fixation à la cardiolipine n'est possible qu'en présence de β 2GPI (aCL β 2GPI-dépendants) et se rencontre dans le cas des maladies auto-immunes et du syndrome des antiphospholipides. Ce sont essentiellement les isotypes IgG et leur présence est durable,
- l'autre représente les vrais aCL (β 2GPI-indépendant) et sont observés dans les infections. Ils sont d'isotype IgM ou IgG et présents de façon transitoire (disparaissent en 2 à 3 mois).

- **CL-Elisa**

Ce test, dont le principe est simple est malheureusement encore à l'heure actuelle mal standardisée [112] en raison d'une grande diversité de choix, entre les laboratoires, ou selon les trousse commerciales utilisées, dans les différents éléments de la réaction (microplaque, antigène, tampon, utilisation ou non d'un « blanc sérum ») mais aussi dans le choix des valeurs seuils et de la méthode d'expression des résultats. La majorité des trousse commercialisées expriment des résultats quantitatifs en unités GPL et MPL, respectivement pour les isotypes IgG et IgM à partir d'une gamme d'étalon à l'aide de standards « maison », ou fournis par l'université de Louisville (USA), appelés « standard de Harris ». Le mode de détermination de la valeur seuil introduit un autre facteur de variabilité entre les kits Elisa-aCL. Différentes méthodes de calcul sont employées pour la détermination de la valeur seuil : moyenne + n déviation standard (n peut varier de 2 à 5), percentiles. La distribution des anticardiolipines dans la population dite normale n'est pas gaussienne et c'est la méthode des percentiles qui paraît la plus adaptée mais le choix du percentile seuil n'est pas toujours identique (il varie de 95 à 99).

➤ **Les anticorps anti- β 2GPI**

La détection directe des anticorps anti- β 2GPI, en l'absence de phospholipides (β 2GPI Elisa) impose l'utilisation de microplaques particulières, constituée de polystyrène irradié ou de chlorure de polyvinyle. L'irradiation des plaques, en créant des résidus carbonyles chargés négativement, mime le changement conformationnel de la β 2GPI induit par leur liaison aux

PL, et surtout augmente la densité antigénique au fond des puits, permettent une meilleure fixation des anticorps qui ont une faible affinité.

L'antigène immobilisé sur plaque irradiée est de la β 2GPI humaine purifiée et le tampon de saturation et de dilution des échantillons ne contiendront pas de β 2GPI. Malgré son apparente plus grande simplicité et la diffusion d'un étalon, ce β 2GPI Elisa souffre du même manque de standardisation que son aîné, le CL-Elisa, et un effort de standardisation de ces deux Elisa est actuellement entrepris dans le cadre du forum européen sur les anticorps antiphospholipides.

Interprétation des discordances entre CL et β 2GPI-Elisa

- **Résultats aCL positif et anti β 2GPI négatif**

Ces anticorps correspondent aux « vrais » aCL, β 2GPI-indépendants et sont classiquement observés, de façon transitoire, au cours des infections. Certains de ces anticorps peuvent avoir une spécificité d'espèce ne reconnaissant que la β 2GPI bovine présente dans le tampon utilisé pour l'aCL-Elisa [113]. On pourra observer ce profil immunologique (aCL+/a β 2GPI -) dans d'authentiques SAPL, en effet si de nombreux travaux soulignent la meilleure spécificité des anti- β 2GPI vis-à-vis des critères cliniques du SAPL, ils ont également une moins bonne sensibilité que les aCL, ne disposant donc pas de la recherche de ces derniers. Ceci a été bien montré par une étude de Sanmarco et al. [114], dont les résultats sont résumés dans le Tableau XVI. Enfin, signalons que d'autres cofacteurs protéiques des aCL ont récemment été décrits [115].

- **Résultats aCL négatif et anti- β 2GPI positif**

De rares anticorps anti- β 2GPI sont dirigés contre des épitopes rendus inaccessibles par l'interaction β 2GPI/PL, ces anticorps pouvant se rencontrer dans des SAPL cliniques. Certains anticorps, volontiers d'isotype IgM, ont une spécificité d'espèce reconnaissant la β 2GPI humaine (utilisée dans le β 2GPI-Elisa), mais non la β 2GPI animale (prépondérante dans le CL-Elisa) [112].

Tableau XVI : Performances comparées des anticorps IgG anti- β 2GPI et anticardiolipine vis-à-vis du SAPL, d'après Sanmarco et al. [114]

| | Spécificité | Sensibilité | VPP positive |
|---------------------------------|-------------|-------------|--------------|
| aCL | 54% | 87% | 34,6% |
| a β2GPI | 98% | 54% | 87,5% |

VPP : Valeurs prédictives positive

➤ **Les anticorps antiprothrombines**

Les anticorps antiprothrombines peuvent être détecté par un Elisa utilisant comme antigène de la prothrombine humaine purifiée immobilisée directement sur les plaques de polystyrène irradiées [116] ou sur plaques revêtues de PL anioniques en présence de Ca^{++} . Les anticorps antiprothrombines, à la différence des anticorps anti- β 2GPI, ne sont mis en évidence par le CL-Elisa et, comme pour les anticorps anti- β 2GPI, seule une fraction des anticorps antiprothrombine détectés par Elisa possède une activité LA détectée par les tests de coagulation.

➤ **Les anticorps antiphosphatidyléthanolamines**

Ils sont détectés par méthode Elisa utilisant des phospholipides neutres et sont distincts des LA et aCL. Ils leur sont souvent associés dans les pathologies auto-immunes mais ils peuvent être rencontrés isolément, notamment, associés aux complications obstétricales et vasculaires cutanées et neurologiques. Une fraction de ces anticorps dépende de cofacteurs protéiques comme le kininogènes

1.4 Diagnostic étiologique

En dehors de tout signe clinique d'orientation, une recherche spécifique de LA est fréquemment entreprise à l'initiative du biologiste, devant : la découverte fortuite d'un allongement du temps de céphaline avec activateur, lors d'une exploration de routine de la coagulation, car il n'est pas rare de voir apparaître un LA associé ou non à d'autres anticorps

antiphospholipides, dans un contexte infectieux, iatrogène (traitements par chlorpromazine, antibiotiques, interféron) ou néoplasique (hémopathies lymphoïdes, tumeurs solides). Les LA associés à une pathologie infectieuse représentent une cause fréquente des allongements du TCA détectés en pédiatrie sur des bilans préopératoires. Ces anticorps sont habituellement transitoires, disparaissant avec le traitement de l'affection sous-jacente lorsqu'elle est curable ou l'arrêt du médicament inducteur, et exceptionnellement associés à des manifestations thrombotiques. La pathogénie des antiphospholipides semble en effet être conditionnée par leur persistance, et ce n'est qu'à la suite de deux déterminations positives séparées par un délai minimum de 2 à 3 mois que la présence d'antiphospholipides pourra être prise en compte comme critère de diagnostic d'un SAPL. Les antiphospholipides ne sont donc pas spécifiques du syndrome des antiphospholipides.

2) Le SAPL primaire et le SAPL secondaire

2.1 Caractéristique

Le SAPL est une affection auto-immune caractérisée sur le plan clinique par des événements thrombotiques ou obstétricaux et sur le plan immunologiques par la présence d'auto-anticorps favorisant la thrombose. Le SAPL est caractérisé par son hétérogénéité et ses critères diagnostiques évolutifs, aussi bien sur le plan clinique que biologique, ce qui peut parfois compliquer la démarche diagnostique.

Le SAPL est considéré comme **primaire** s'il n'est pas associé à aucune autre maladie sous-jacente, en particulier auto-immune. Le terme de SAPL **secondaire** est souvent employé pour le SAPL survenant chez un patient présentant un lupus systémique ou une autre maladie systémique auto-immune. Le SAPL primaire, dans son versant non obstétrical à une prédominance féminine moindre que le lupus et un âge de début en moyenne plus élevé de 5 à 10 ans que celui du lupus systémique. Les principales séries de la littérature avaient un âge moyen de 30 ans. Néanmoins, toutes les tranches d'âge sont concernées, y compris les enfants. La prévalence des aPL au cours du lupus varie selon les séries de 7% à 65% pour le LA, de 17% à 87% pour les aCL, et de 20% à 40% pour l'anti-β2GPI.

Cette dispersion est liée à la sensibilité des méthodes utilisées, au nombre de déterminations par patient (le titre des anticorps pouvant fluctuer dans le temps) et à la durée du suivi. Ces anticorps sont rares dans la population générale : 2% à 4% selon qu'il s'agit d'immunoglobulines G (IgG) aCL ou d'IgM (aCL), augmentant sensiblement chez les sujets très âgés. Dans ce cas il s'agit alors de vieillards et porteurs de polypathologies nécessitant des prises médicamenteuses variées, elles-mêmes inductrices d'aPL.

Chez la femme enceinte, la prévalence des aPL serait de 1% à 1,8%. La prévalence du SAPL au cours du lupus systémique a probablement été surestimée ; la meta-analyse de Love et Santoro faisait état d'un chiffre de 42% chez les lupus porteurs d'un LA contre 12% chez ceux n'ayant pas de LA [117]. Selon Hughes, 40% des 300 lupus avec aCL ont fait des thromboses contre 18% des 364 lupus sans aCL [118]. Il n'existe aucune étude permettant de chiffrer la prévalence du SAPL primaire dans la population générale. Les seuls chiffres disponibles concernent la prévalence des aPL au cours de situations pathologiques tels que les accidents vasculaires cérébraux et les infarctus du myocarde chez les sujets jeunes. Ainsi, chez les sujets de moins de 50 ans, le SAPL serait associé à 36% des nouveaux accidents vasculaires cérébraux (AVC).

La présence d'aPL constitue désormais un véritable facteur de risque vasculaire artériel (cerveau, cœur) et pour certains veineux. Enfin les enquêtes familiales ont montré que 10% à 20% des malades ayant un SAPL ont, parmi leur ascendants ou descendants direct, des sujets souffrant également d'un SAPL ou d'une maladie auto-immune : lupus systémique ou lupus incomplet surtout, mais aussi thyroïdite, polyarthrite rhumatoïde, sclérodermie,....

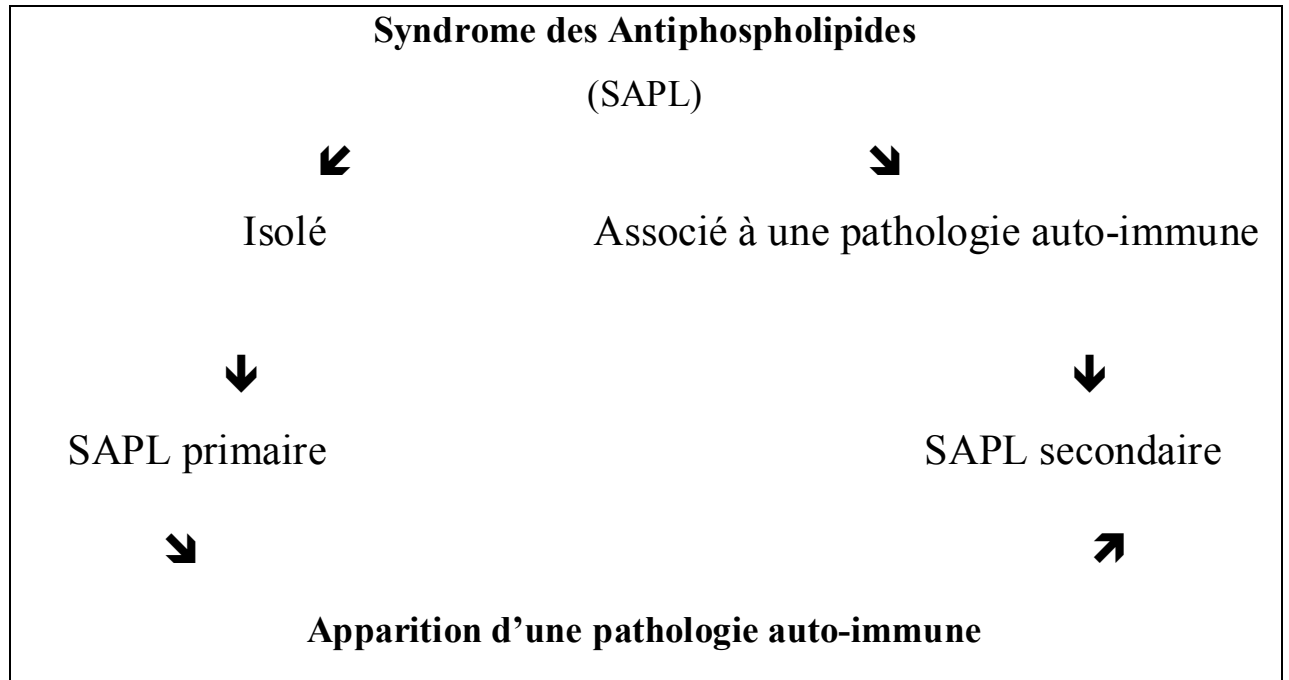


Figure 14 : Notion de syndrome des antiphospholipides primaire /secondaire [119].

2.2 Nomenclature du SAPL

Au symposium de Sydney, il a été déconseillé d'utiliser le terme générique de SAPL secondaire mais de préciser à quelle maladie le SAPL était associé (SAPL associé à un lupus systémique, à une sclérodémie systémique ou à une autre pathologie auto-immune ou non).

En novembre 2004, une conférence préalable au XI Congrès international sur les anticorps antiphospholipides, a permis la révision des critères de Sapporo, et publiée comme consensus en 2006 [120]. En effet les critères de Sapporo souffrent de manque de spécificité et de sensibilité vis-à-vis des patients âgés et présentant des facteurs de risques thrombotiques acquis ou constitutionnels [121]. La principale nouveauté dans les critères de Sydney est l'introduction des anticorps anti- β 2GP1 de classe IgG ou IgM, à côté du lupus anticoagulant et des aCL IgG ou IgM (supérieurs respectivement à 40 GPL ou MPL, ou au 99 percentile). L'intervalle de temps pour la persistance de positivité des tests est passé de 6 à 12 semaines pour éliminer les aPL post-infectieux transitoire.

Tableau XVII : Critères de classification révisés du syndrome des antiphospholipides (critères de Sydney) [122]

La présence d'un SAPL est définie si l'un au moins des critères cliniques et l'un au moins des critères biologiques sont mis en évidence :

Critères cliniques

1. Thrombose :

Un ou plusieurs épisodes symptomatiques de thromboses artérielles, veineuses ou d'un petit vaisseau dans n'importe quel tissu ou organe. Cette thrombose doit être confirmée par une imagerie de référence ou d'un examen histopathologique. Dans cette dernière situation, il doit s'agir d'une thrombose sans inflammation significative de la paroi vasculaire.

2. Manifestations obstétricales:

(a) Une ou plusieurs morts inexpliquées, fœtus morphologiquement normal, à la 10 semaine de gestation ou au-delà (morphologie normale établie par échographie ou examen direct) ou

(b) Une ou plusieurs naissances prématurées d'un nouveau-né morphologiquement normal avant la 34 semaine de gestation à cause d'une éclampsie ou d'une pré éclampsie grave ou de signes reconnus d'insuffisance placentaire

ou

(c) Au moins 3 avortements spontanés consécutifs avant la 10 semaine de gestation sans cause anatomique ou hormonale maternelle et sans cause chromosomique maternelle ou paternelle.

Critères biologiques

1. Présence d'un anticoagulant circulant (« lupus anticoagulant ») à deux reprises au moins, espacées de 12 semaines, mis en évidence en suivant les recommandations de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH).

2. Anticorps anticardiolipides (aCL) d'isotype IgG et /ou IgM dans le sérum ou le plasma, avec un titre moyen ou élevé (>40 GPL OU MPL, ou > 99 percentile), présents à 2 reprises au moins avec des mesures espacées de 12 semaines ou plus, par ELISA standardisé.

3. Anticorps anti- β 2GPI d'isotype IgG et/ou IgM dans le sérum ou le plasma, avec un titre moyen ou élevé (>40 GPL OU MPL, ou > 99 percentile), présents à 2 reprises au moins avec des mesures espacées de 12 semaines ou plus, par ELISA standardisé. Le diagnostic ne peut être retenu s'il y a moins de 12 semaines ou plus de 5 ans entre les manifestations cliniques et la positivité de l'antiphospholipide.

3) Le syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS)

3.1 Définition

Chez une minorité de malades atteints de SAPL, primaire ou en contexte lupique, les thromboses surviennent d'emblée de façon multiple, au cours d'un processus aigu responsable d'une défaillance multiviscérale conduisant souvent au décès : il s'agit du « syndrome catastrophique des antiphospholipides ».

Ce syndrome est caractérisé non seulement par le caractère simultané des thromboses, mais aussi par leur prédominance pour la microcirculation. Le terme a été proposé par Asherson en 1992, après analyse de 10 observations [123]. La définition proposée s'appuie surtout sur le nombre de sites atteints, supérieur ou égal à 3. Le diagnostic est souvent délicat et les limites conceptuelles sont parfois floues, entre SAPL catastrophique (CAPS) microangiopathie thrombotique de type purpura thrombocytopénique et thrombotique, voire coagulation intravasculaire disséminée. Le CAPS conduit, en quelque jour ou semaines, à une défaillance polyviscérale associant notamment : atteinte rénale, détresse cardiorespiratoire et diverses manifestations digestives ou cutanées. L'atteinte prédominante des petits vaisseaux constitue une des différences essentielles avec le SAPL classique. Cette microvasculopathie concerne de façon concomitante plusieurs organes : poumon, cœur, cerveau, reins, foie, surrénales, pancréas, intestin...

Tableau XVIII : Critères préliminaires de classification du syndrome catastrophique (CAPS) [124].

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. Atteinte objective de 3 organes, systèmes et/ou tissus au moins.2. Développement simultané ou en moins de 1 semaines des manifestations.3. Confirmation histologique de l'occlusion des petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissu.4. Confirmation biologique de la présence d'aPL (LA et/ou aCL) à 2 reprises à 6 semaines d'intervalles (si inconnu antérieurement). |
|---|

La performance de ces critères préliminaires a été passée au crible de 176 CAPS du registre international : 51% sont classés « définis » et 40% « probables », soit une sensibilité de 90,3% et une spécificité de 99,4%.

CAPS défini : 4 critères présents

CAPS probable : 4 critères présents, mais deux organes/tissus/ systèmes

ou 4 critères mais un seul dosage positif d'aPL

ou critères 1, 2 et 3

ou critères 1, 3, et 4 avec développement d'un troisième événement entre 1 semaine et 1 mois malgré le traitement anticoagulant.

L'atteinte rénale se traduit par une augmentation de plus de 50% de la créatinémie, hypertension artérielle (HTA) sévère (> 180/100mmHg) et/ou protéinurie (>500mg/24h).

3.2 Epidémiologie

Une soixantaine de cas de SAPL catastrophique ont été rapportés dans la littérature dont 50 ont été récemment colligés par Asherson et al [125]. Le sexe ratio du SAPL catastrophique est de 2 femmes pour 1 homme. C'est une pathologie du sujet jeune : l'âge moyen de survenue est de 38 ans. Le contexte pathologique était le plus souvent un SAPL primaire (60% des cas) ou un lupus défini par 4 critères ou plus dans la grille internationale.

3.3 Anomalies biologiques

Une thrombopénie avec moins de 100 000 plaquettes par mm³ concerne la majorité des malades. Une hémolyse immunologique est également fréquemment rencontrée. Un tiers des patients a au moins un stigmate de coagulopathie de consommation intravasculaire disséminée. La différence clinique essentielle est l'absence de saignement spontané dans le SAPL catastrophique. L'association d'un anticoagulant de type lupique et d'un anticorps anticardioline, le plus souvent d'isotype IgG et à titre élevé, est retrouvée dans la quasi totalité des cas.

3.4 Physiopathologie

Dans le SAPL catastrophique, c'est la microthrombose non inflammatoire qui apparaît anatomiquement. Toutefois la continuité clinique, biologique et surtout anatomique entre SAPL catastrophique, coagulopathie de consommation et microangiopathie thrombotique implique un phénomène complexe, intriquant thrombose et lésion endothéliale.

B) Les acc spécifiques

1. La fréquence

1.1 Des anticorps anti-facteur VIII et IX dans l'hémophilie acquise

L'hémophilie A (HA) acquise est une maladie auto-immune rare, due à la présence d'un auto-anticorps dirigé contre le facteur VIII. Elle survient sans antécédents familiaux, aussi bien chez l'homme que la femme. Sa fréquence est difficile à évaluer en raison du caractère sporadique de la maladie et du petit nombre de patients incorporés dans les quelques séries existantes. La fréquence de survenue des anticorps anti-FVIII est appréciée par deux paramètres : la prévalence (se réfère au nombres de personnes ayant développé un inhibiteur parmi les hémophiles traités observés à un instant donné) et l'incidence (le nombre de nouveau cas d'inhibiteurs survenant chez les hémophiles traité durant une période de surveillance donnée que ces anticorps soient ou non persistants). L'incidence globale des anticorps anti-FVIII dans l'HA est estimée à un à deux nouveaux cas par million d'habitants et par an (1,48/million d'habitants/an en Grande Bretagne) [126]. Son incidence augmente avec l'âge (six million d'habitants/an entre 65 et 85 ans et plus de 15 million d'habitants après 85ans) et elle est exceptionnelle chez l'enfant (0,045/million d'habitants/an pour l'enfant de moins de 16ans [127].

La prévalence est d'environ 1 à 1,5 cas /million d'individus /an, qui augmente avec l'âge c'est une maladie grave, dont le taux de mortalité est classiquement rapporté entre 8 et 20% des cas. Elle touche le plus souvent les patients de plus de 60ans. Chez les sujets jeune, cette pathologie touche plus volontiers les femmes dans un contexte de maladie auto-immune ou surtout dans la période du postpartum (entre un et cinq mois après l'accouchement) et le plus souvent elle survient à l'issue de la première grossesse [128] L'incidence de l'hémophilie

B acquise ne peut être établie, celle-ci étant encore plus rare. En faite, l'apparition d'anticorps anti-facteur IX est très rare chez les patients hémophiles B, seulement 1,5 à 3% des patients hémophiles B développent des inhibiteurs [129]. Chez les sujets sains, seulement quelques cas d'inhibiteurs anti-facteur IX ont été décrits jusqu'à aujourd'hui dans la littérature [130].

Facteurs de risque d'apparition des inhibiteurs :

Il existe différents facteurs de risques d'apparition d'un inhibiteur. Ces facteurs de risque peuvent être en partie dépendants de l'hémophile et de ses caractéristiques génétiques. Le risque de développer un inhibiteur est également dépendant des modalités thérapeutiques. Il est établi que l'appartenance à une famille dont un des membres a déjà développé un inhibiteur est un facteur de risque indépendant. De même, l'ethnie est également un facteur de risque : les populations non caucasiennes ont un risque plus important que les autres notamment. Un des facteurs de risque génétiques le plus important est lié à la mutation causale de l'hémophilie : les grandes délétions, les mutations non-sens ou l'inversion de l'intron 22 sont significativement associées à un risque accru de développement d'un inhibiteur. Certains haplotypes HLA ont également été incriminés.

Enfin, certains polymorphismes du TNF alpha et de l'IL 10 ont également été associés à un risque plus élevé.

Les modalités de traitement peuvent également influencer le risque d'apparition d'un inhibiteur. L'incidence des inhibiteurs serait plus élevée en cas de première administration précoce de FVIII. L'âge à la première exposition serait donc crucial mais cette donnée est à nuancer car elle n'a pas été confirmée lors de plusieurs études. Les modalités d'injections ont été incriminées : en effet, la prophylaxie serait associée à un risque plus faible que l'administration des traitements à la demande. L'injection de facteur pendant une chirurgie ou un épisode hémorragique grave pourrait également favoriser le développement d'un inhibiteur.

La diffusion sous cutanée du FVIII thérapeutique serait également associée à un risque plus élevé. Le type de traitement substitutif utilisé, recombinant ou plasmatiques, est sujet à de nombreux débats. Actuellement, les données de la littérature ne permettent pas de statuer

de manière définitive sur le risque en fonction du type de produit. A l'inverse, certains facteurs diminueraient le risque de développer un inhibiteur comme la prophylaxie régulière ou certains polymorphismes de la CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4*).

Tableau XIX : Facteurs influençant le risque de développer un inhibiteur [131]

| Facteurs augmentant le risque de développer un inhibiteur | | |
|--|-------------------------------------|--|
| Facteurs génétiques | Génotype FVIII | Mutations non sens Inversion intron 22 Large délétions |
| | Antécédents familiaux d'inhibiteurs | 1 ^{er} degrés surtout |
| | Ethnie | Non caucasien |
| | Génotype de certains gènes | TNF alpha IL10 |
| Facteurs non génétiques | Modalités thérapeutiques | Taitement à la demande Diffusion/injection sous cutanée de FVIII Chirurgie Age à la première injection Traitement intensif pour hémorragie majeure |
| Facteurs diminuant le risque de développer un inhibiteur | | |
| Facteurs génétiques | Génotype de certains gènes | CTLA-4 |
| Facteurs non génétiques | Modalités thérapeutiques | Prophylaxie régulière |

1.2 Les anticorps anti-facteur XI

Des articles trouvés aucun n'énoncent l'historique des anti-facteurs XI.

1.3 Les anticorps anti-facteur de von Willebrand

Contrairement à l'hémophilie acquise, un auto anticorps facteur de von Willebrand n'est identifié que dans 16% des cas de syndrome de Willebrand acquis (AvWS) et, plus particulièrement, au cours des syndromes lymphoprolifératifs, des cancers et des maladies immunes.

L'AvWS est une maladie hémorragique très rare pour laquelle il est difficile d'établir une prévalence exacte puisqu'elle n'est pas toujours recherchée ni correctement diagnostiquée. Néanmoins, elle a été estimée à 0,04% de la population générale [132]. L'âge de survenue d'un AvWS est en moyenne de 60ans [133] mais des cas ont été rapportés chez l'enfant et chez l'adulte jeune. Cela s'explique par la diversité des pathologies associées à l'AvWS : certaines, comme les maladies auto-immunes, touchent également des personnes jeunes. Le sex- ratio de la pathologie est équilibré : la plus grande cohorte de malades a dénombré 98 hommes pour 88 femmes [133]. L'augmentation du nombre des cas publiés a permis de montrer la diversité des pathologies reconnus comme étant responsable de l'AvWS.

1.4 Les anticorps anti-facteur V

L'incidence de l'anti-facteur V est difficile à déterminer en raison de probables cas asymptomatiques non diagnostiqués. Une étude australienne rapporte une incidence annuelle d'environ 0,29 cas par million d'habitants tout anti-FV confondu [134]. Une étude chinoise rapporte quant à elle une incidence annuelle de 0,09 cas par million d'habitant pour l'anti-FV n'ayant pas pour origine un déficit constitutionnel ou une exposition à la thrombine bovine. [135].

2. Circonstance de découverte

2.1 Les anticorps anti- facteur VIII et IX

Ces auto-anticorps se rencontrent dans différentes circonstances pathologiques (tableau VI), mais il faut souligner que dans la majorité des cas aucune étiologie n'est retrouvée.

Les anti-VIII peuvent se voir au cours de pathologies immunitaires, lupus polyarthrite rhumatoïde essentiellement, dermatologiques comme le pemphigus ou la dermite herpétiforme, lors de néoplasies, de maladies hématologiques ou de désordres respiratoires, en association avec un traitement par antibiotiques, sulfamides, phénytoïne ou phénylbutazone ou lors du post-partum. Enfin dans la moitié des cas, l'apparition de cet inhibiteur reste inexplicée, qu'il s'agisse du premier signe d'une pathologie récurrente, ou d'un inhibiteur qui reste isolé. Un bilan étiologique doit être systématiquement entrepris car le syndrome hémorragique peut être le signe révélateur de l'affection et non un signe d'accompagnement.

Tableau XX : Pathologies associées à la présence d'un auto-anticorps anti-facteur VIII [136]

| Maladies associées | Fréquences des associations avec un anti-VIII |
|---|--|
| Idiopathique | 47 - 52,3% |
| Auto-immun Lupus Polyarthrite rhumatoïde Syndrome de Gougerot-Sjogren | 11,7 - 19,1% |
| Tumeur solide Poumon, Prostate, Ovaire Colon, Rein | 1,5 - 12,5% |
| Grossesse post partum | 7,7 - 11,6% |
| Médicamenteux Pénicilline Méthyl-dopa Phénytoïne | 2,9 - 4,6% |
| Syndrome prolifératif LLC Lymphome | 1,8 - 3% |

Les étiologies de l'hémophilie B acquise sont multiples, plusieurs pathologies peuvent être associées à la présence des anticorps anti-IX. Environ la moitié des cas sont associés aux maladies auto-immunes (lupus érythémateux systémique, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjogren), aux hémopathies malignes, lymphomes et leucémies lymphoïdes, aux cancers solides (poumon, colon, rein...) et dans certains cas, l'hémophilie acquise peut être secondaire à la grossesse. L'hémophilie acquise peut aussi être liée, mais rarement, à la prise de certains médicaments tels que la pénicilline, la méthyldopa et la phénytoïne. Mais, dans la moitié des cas, la présence de ces anticorps est idiopathique.

2.2 Les anticorps anti-facteur XI

Les inhibiteurs anti-facteur XI ont été décrits chez des patients déficitaires après perfusions répétées de plasma frais congelé contenant le facteur XI [137, 138]. Mais ces inhibiteurs acquis anti-facteurs XI ont été rapportés, le plus souvent au cours de maladies auto-immunes (lupus en particulier) [139], mais aussi au cours d'affection diverses comme des néoplasies (cancer pulmonaire, adénocarcinome de la prostate, des hémopathies malignes (leucémie lymphoïde chronique, macroglobulinémie de Waldenström) des cardiopathies, des hépatopathies, des affections dermatologiques (psoriasis ou des infections virales). Ces inhibiteurs peuvent également apparaître après antibiothérapie, un traitement à la chlorpromazine ou procaïnamide.

2.3 Les anticorps anti-facteur von Willebrand

Les pathologies responsables du AvWS sont variées allant des syndromes lymphoprolifératifs aux maladies auto-immunes. Les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dépendent de ces maladies causales.

Un anticorps anti-facteur von Willebrand (vWF) est retrouvé préférentiellement lors de proliférations lymphoïdes alors que la destruction mécanique des multimères de haut poids moléculaire (HPM) est observée d'avantage lors de problèmes cardiaques.

Tableau XXI : Pathologies associées à la présence d'un anticorps anti-facteur von Willebrand [140]

| Maladies associées | Fréquences des associations avec un anti-VIII |
|--|--|
| Syndromes myéloprolifératifs | 50% |
| MGUS | 23% |
| Myélomes multiples | |
| Maladie de Waldenstrom | 9% |
| leucémie lymphoïde chronique | |
| Valvulopathies cardiaques Sténose aortique | 21% |
| cardiomyopathies hypertrophique | |
| Maladie auto-immune | 2-6% |
| Idiopathique néoplasie | 2- 4 % |
| l'hypothyroïdisme | |
| médicamenteux (antibiotiques, antifongiques, acide valproïque) | |

2.4 Les anticorps anti-facteur V

Knobl et al. [141] ont proposé une classification en cinq sous-groupes en individualisant les anti-facteurs V secondaires à l'utilisation de colles biologiques, à la chirurgie sans utilisation de colles biologiques, associés à des affections diverses, survenant chez des sujets présentant un déficit congénital et enfin idiopathiques.

- à l'apparition des anticorps liée à la contamination des préparations de thrombine bovine par du facteur V bovin responsable d'une xéno-immunisation. Ces anticorps anti-facteur V bovin ont une activité anti-facteur V humain et surviennent surtout lors de

l'utilisation de quantités importantes ou répétées de colles biologiques [142-143]. Ces colles sont actuellement retirées du marché français,

- à la survenue postopératoire (souvent cardiovasculaire ou digestive) sans qu'il y ait eu utilisation de colles biologiques d'origine bovine. Il s'agit de la condition la plus fréquemment rapportée dans la littérature, (33% de l'anti-FV spontané) [141],

- est associée sans qu'un lien de causalité soit clairement établi. L'association à des néoplasies, notamment des lymphomes non hodgkiniens, à des gammopathies monoclonales sont décrites. Un contexte de maladie auto-immune est retrouvé dans 6,7% des cas. Un cas a été rapporté au cours d'un syndrome de Gougerot-Sjogren [144] mais le patient était également porteur d'une polyarthrite rhumatoïde et des cas isolés associés à la maladie coeliaque, la maladie de Crohm, la thyroïdite de Hashimoto et la pemphigoïde bulleuse. Ces anticorps ont été décrits également chez des patients ayant une infection par le VIH [145]. On retient également un lien possible avec des traitements par aminosides ou béta-lactamines

- comprend les cas exceptionnels d'anti-FV apparus chez des patients ayant un déficit constitutionnel en FV après transfusion de plasma frais congelé.

- Regroupe les cas idiopathiques (28%) de l'anti-FV spontanés. Ce groupe aurait un pronostic plus sombre du fait de la persistance prolongée de l'antifacteur V, habituellement transitoire dans les autres cas, et de manifestation hémorragique plus fréquente.

3. Critères de diagnostics positifs

3.1 Les anticorps anti-facteur VIII et IX

a) Les anticorps anti-facteur VIII

Il dépend exclusivement du laboratoire. C'est la seule caractéristique de l'affection à être bien connue et pour laquelle il existe une démarche standardisée [146,147]. Les critères diagnostiques retenus sont : un taux de F VIII < 30% et un titre d'anticorps > 1 Bethesda [148]. Au laboratoire, le diagnostic biologique d'un anticorps anti-FVIII est en général basé sur la mise en évidence de son effet inhibiteur sur les fonctions procoagulantes du FVIII.

• **Les tests de dépistage**

Le premier test à réaliser est le TCA. Ce test sera naturellement allongé chez un hémophile A. En revanche, un TCA allongé chez une personne ayant toujours eu un TCA normal (et d'autant plus qu'il existe une symptomatologie hémorragique acquise), en dehors de tout traitement anticoagulant, devra faire évoquer de principe le diagnostic d'une hémophilie A acquise.

En effet il est peu probable qu'une héparinothérapie puisse modifier le TCK mais la situation peut être observée en cas de contamination par l'héparine lors du prélèvement. L'allongement du test peut alors rendre faussement positif le dépistage d'un anticoagulant circulant. Une mesure du temps de thrombine doit donc toujours être pratiquée pour l'éliminer. Par ailleurs, compte tenu de la cinétique des auto-anticorps, le dépistage doit être sensibilisé en incubant le plasma du patient 2 heures à 37°C.

• **Les diagnostics différentiels biologiques de l'hémophilie acquise**

La situation clinique peut aider à leur différenciation. Les anticoagulants circulants de type lupus anticoagulant (LA) sont des auto-anticorps dirigés contre les phospholipides. Cette caractéristique permet leur mise en évidence par des tests d'explorations de la coagulation riches en phospholipides mais ils sont associés cliniquement à des manifestations thrombotiques et non hémorragiques. Les déficits réels en facteurs comme l'hémophile A sont des maladies congénitales au support génétique. Par ailleurs, pour exclure la présence d'un LA, il est essentiel de doser les facteurs de coagulation exploré par le TCA après plusieurs dilutions du plasma du malade. En présence d'un anti-FVIII le taux du facteur VIII reste bas quelle soit la dilution du plasma du malade. En présence d'un LA puissant il peut arriver que le taux de facteur VIII reste bas (1-2%) malgré un dosage à forte dilution (1/40 ou 1/80). Il se pose alors la question d'une rare association LA + anti-facteur VIII. Le dosage du facteur VIII par une technique chromogène, insensible au LA, permet de lever le doute : un taux normal du facteur VIII par cette technique permet naturellement d'exclure la présence d'un anti-facteur.

• **Le test du mélange**

C'est un test simple, disponible dans tous les laboratoires permettant de donner une orientation sur l'étiologie de l'allongement du TCA. La présence de l'inhibiteur, est mise en évidence par le **test du mélange** volume à volume du plasma du patient et d'un plasma témoin. La notion de « correction » du TCA du mélange est évaluée de manière objective par l'indice de Rosner dont la formule est la suivante :

$$\text{IR} = [(\text{temps du mélange} - \text{temps du témoin}) / \text{temps malade}] \times 100$$

(Tous les temps sont exprimés en secondes)

IR < 12, il y a correction

12 < IR < 15 = résultat douteux, réitérer la mesure après incubation du mélange 2 heures à 37°C.

IR > 15, il n'y a pas de correction. L'absence de correction du TCA après addition d'un plasma témoin est en faveur d'un ACC.

NB : Une incubation 2h à 37°C est nécessaire (l'effet ACC est plus net après incubation, du fait d'une activité inhibitrice progressive).

• **Le titrage de l'auto-anticorps par la méthode de Bethesda**

On effectue un mélange 1 :1 du plasma du patient avec un pool de plasma normal (utilisée comme source de FVIII) et un autre mélange 1 :1 du pool normal avec un tampon imidazole est utilisé comme référence. Une étape de chauffage de 90 minutes à 58°C du plasma du patient est réalisé avant le test afin d'inactiver le FVIII résiduel du plasma du patient (le FVIII est thermolabile alors que les anticorps anti-FVIII ne le sont pas) et ainsi éviter au maximum les faux négatifs. Ces mélanges sont ensuite incubés 2heures à 37° C afin de faciliter la liaison des anticorps au FVIII. Un dosage du FVIIIc est réalisé sur ces mélanges. Le taux de FVIII résiduel est alors exprimé selon la formule suivante :

$$\text{FVIII résiduel} = (\text{FVIII mélange patient- tampon} / \text{FVIII mélange contrôle}) \times 100.$$

On obtient ainsi le taux de facteur VIII corrigé.

Ce taux de facteur VIII corrigé est proche de 100% quand il n'y a pas d'anti-FVIII mais lorsqu'il est < 75% soit 0,4 UB il est en faveur de la présence d'un anti-VIII qu'il faut ensuite titrer.

En cas de FVIII résiduel < 25%, des pré-dilutions supplémentaires sont nécessaires.

• **Titration de l'inhibiteur :**

Le titre de l'inhibiteur est exprimé en unité Bethesda (UB), 1UB correspond à la quantité d'AC anti-VIII capable d'inhiber 50% du FVIII contenu dans 1mL de plasma. Ce titrage est calculé à l'aide d'une courbe en reportant la valeur du FVIII résiduel, en tenant compte de la pré-dilution.

On distingue ainsi :

0 UB = absence d'anticorps,

0,6 – 5 UB = taux faible (seuil de positivité actuellement admis est de 0,6 UB/ml),

5 – 10 UB = taux modéré,

>10 UB = taux fort.

Les anticorps sont classés en faibles répondeurs ou forts répondeurs selon que leur titre est inférieur ou supérieur à 5 UB/mL

Deux points doivent être soulignés :

- compte tenu de la difficulté de le réaliser et du temps requis pour faire le dosage, le titrage n'est pas compatible avec l'urgence ;
- le titre d'anticorps n'est pas corrélé au risque hémorragique. Il est en revanche important pour le suivi de l'efficacité du traitement.

Dans les années 1990, en raison d'une recherche plus intensive des inhibiteurs liée au développement des FVIII recombinants, une optimisation de la méthode Bethesda a été apportée : il s'agit de la **méthode Nijmegen**, décrite en 1995 [149]. Cette méthode modifie la méthode Bethesda afin d'en améliorer la sensibilité et la spécificité. Les principales

modifications sont les suivantes : le pH du plasma normal est tamponné à 7,4 et le tampon imidazole du mélange contrôle est remplacé par du plasma déficient en FVIII (Figure 15). Les mélanges sont ensuite incubés 2h à 37°C puis un dosage du FVIII est ensuite réalisé. De la même manière que pour la technique Bethesda, l'inhibiteur est titré selon la pré-dilution et le taux de FVIII résiduel.

La méthode Nijmegen est actuellement considérée comme la méthode de référence par le sous comité scientifique FVIII/FIX de l'International society on thrombosis and haemostasis [150]. Des recommandations pratiques sont fournies dans le Tableau XXII.

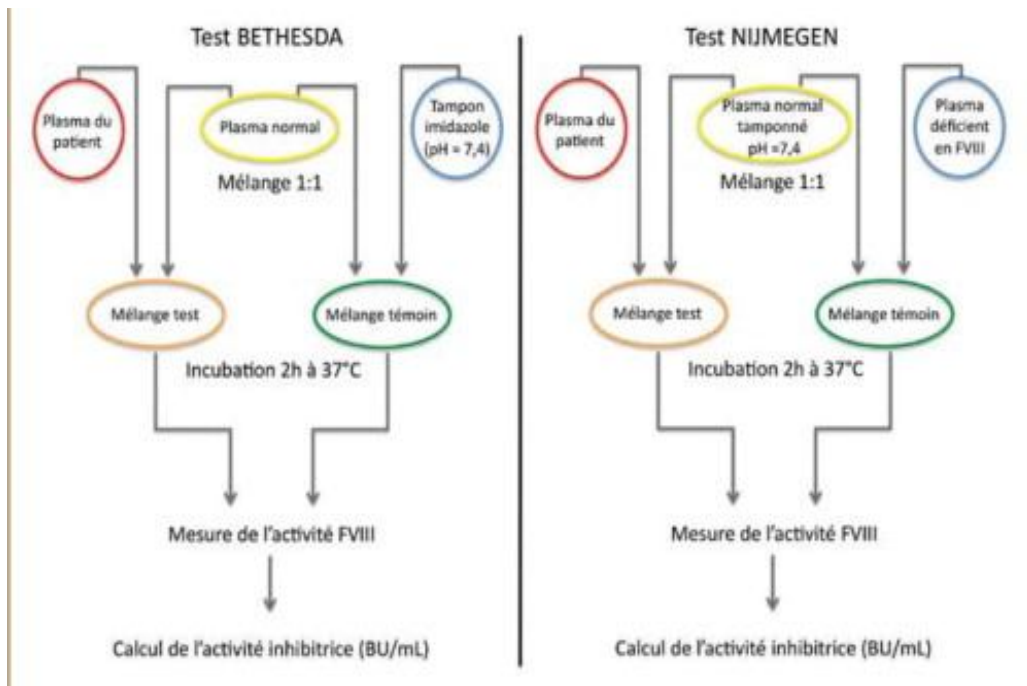


Figure 15. Méthodes de détection et de titrage des anticorps anti-FVIII par les méthodes Bethesda et Nijmegen [151].

Les capacités inhibitrices des anticorps anti-FVIII sont évaluées en dosant l'activité FVIII coagulante du mélange d'un plasma du patient avec un plasma normal. Les principales différences entre la méthode Bethesda et la méthode Nijmegen consistent en l'utilisation d'un plasma normal tamponné à pH 7,4 et d'un plasma déficient en FVIII dans la méthode Nijmegen.

Tableau XXII : Recommandations pratiques pour la recherche d'inhibiteurs anti-FVIII [151]

| |
|--|
| Inactivation du FVIII résiduel par la chaleur au bain marie : 58°C-90 minutes |
| Débuter avec du plasma non dilué, si une pré-dilution est nécessaire (FVIII résiduel < 25%), diluer avec du plasma déficient en FVIII. Choisir la plus basse pré-dilution procurant un FVIII résiduel entre 25 et 50%. |
| Utiliser un plasma déficient en FVIII contenant du facteur von Willebrand comme plasma contrôle |
| Utiliser un plasma normal tamponné à 7,4 en imidazole contenant une activité FVIII proche de 100% |
| Incuber 2h à 37°C au bain-marie avant le dosage de FVIII |

Autres méthodes de détection

Il existe d'autres techniques disponibles afin d'étudier la réponse humorale anti-FVIII. Ces techniques, parfois complexes, sont généralement disponibles dans de rares laboratoires de recherches. Elles permettent de mieux comprendre la physiopathologie de cette réponse humorale et de précisément caractériser les Acs anti-FVIII :

• **La technique ELISA** : qui est une technique largement répandue dans de nombreux laboratoires. Certains kits de dosages ont été développés afin de détecter les Acs anti-FVIII [152]. Cette méthode possède une bonne sensibilité et spécificité ainsi qu'une bonne valeur prédictive négative. Elle est néanmoins difficilement applicable en routine dans les laboratoires en raison de sa consommation relativement élevée en plasma.

Elle n'appartient pas, à ce jour, aux recommandations pour la recherche d'anti-FVIII mais il existe des études cliniques en cours visant à évaluer son intérêt en pratique clinique. De plus, la technique ELISA n'apporte que peu d'information supplémentaire car elle ne permet pas de caractériser de manière fine les épitopes reconnus par les Acs anti-FVIII.

• **Les techniques d'immuno-empreinte ou d'immuno-précipitation** ont permis les premières études sur la spécificité épitopique des Acs anti-VIII [153]. L'utilisation de fragments de FVIII générés suite aux clivages par la thrombine ou l'utilisation de fragments recombinants des différents domaines du FVIII ont permis de cartographier de manière précise des épitopes reconnus par les Acs anti-FVIII [154]. Cependant, ces techniques ne permettent pas d'identifier des épitopes conformationnels (ou discontinus), représentant 90% des épitopes reconnus par les Acs. Elles possèdent également certaines limites quant à la résolution de l'analyse épitopique en raison de l'absence de dissociation de la chaîne légère.

• **La technique Spot** a été développée dans les années 1990. Elle est basée sur l'utilisation d'une membrane de cellulose sur laquelle est fixée un grand nombre de peptides, généralement synthétisés à partir de la séquence peptidique de la protéine d'intérêt [155].

• **La technique de phage display** consiste à faire exprimer par des phages des peptides aléatoires. Cette technique est très performante pour identifier d'éventuels épitopes conformationnels [156].

• **La technique Luminex** est également utilisée afin de rechercher et de caractériser les Acs anti-FVIII [157]. Cette technique présente l'avantage d'être rapide (<2h), sa faible consommation de plasma (<100µL), ses capacités de multiplexage. Elle est donc particulièrement adaptée à la recherche et à la caractérisation des Acs anti-FVIII.

b) Les anticorps anti-facteur IX

Le diagnostic de l'hémophilie B acquise est établi au laboratoire devant un allongement isolé et inexplicable du temps de céphaline activateur (TCA). A noter que le diagnostic de l'hémophilie B acquise chez un enfant est une entité tellement rare qu'elle peut parfois passer inaperçue. C'est pour cette raison qu'une exploration approfondie par un spécialiste est nécessaire pour diagnostiquer rapidement cette pathologie et ne pas passer à côté de cette entité.

Le diagnostic se fait en plusieurs étapes ; lors d'un allongement isolé du TCA, une épreuve de correction du TCA, utilisant un mélange volume à volume du plasma malade avec un plasma témoin, est réalisée. L'absence de correction immédiate du TCA du mélange avec un indice de Rosner supérieur à 15 fait suspecter un anticoagulant circulant. En fait, la durée

de chauffage du mélange permet de mettre en évidence des inhibiteurs anticoagulants, même de titre faible, car l'activité de cet anticorps est progressive, dépendante du temps et de la température. Ainsi après deux heures à 37°C, l'activité de l'inhibiteur est maximale. La diminution isolée du facteur IX coagulant associée à un indice de Rosner positif doit faire suspecter un anti-IX. Le diagnostic est confirmé par la recherche d'inhibiteur anti-IX et son titrage par la méthode Bethesda. Ce test consiste à mesurer la quantité de facteur IX résiduel après deux heures d'incubation à 37°C d'un plasma normal de référence avec différentes dilutions du plasma du malade.

3.2 Les anticorps anti-facteur XI

Les tests explorant la voie endogène de la coagulation sont allongés : le temps de céphaline avec activateur (TCA) et le temps de céphaline kaolin (TCK). Le taux de prothrombine et le temps de thrombine sont normaux. L'allongement du TCA n'est pas corrigé par l'apport d'un plasma témoin. L'activité du facteur XI est diminuée et peut être indétectable (< 1%). La recherche d'un inhibiteur anti-facteur XI s'effectue après chauffage du plasma malade à 56°C, 30 min, afin de libérer l'anticorps du complexe facteur XI-anti-facteur XI, puis incubation pendant 2h à 37°C d'un mélange plasma malade-plasma témoin et dosage du facteur XI résiduel.

Le titrage de l'anti-facteur XI se fait en ajoutant au plasma témoin différentes dilutions du plasma malade (du 1/2 au 1/128). Le dosage du facteur XI résiduel est fait sur un point de chaque dilution. Le taux de l'anticorps anti-facteur XI est calculé d'après le pourcentage de facteur XI résiduel dans le mélange en unités Bethesda, sachant que 50% de facteur XI résiduel correspondant à 1unité Bethesda/ml. L'action de l'inhibiteur est le plus souvent rapide et l'allongement du TCA en présence de l'anticorps apparaît de façon quasi instantané aussi bien sur le plasma malade que sur le mélange plasma malade- plasma témoin. Ces anticorps peuvent être associés à la diminution d'autres facteurs de la voie endogène : le facteur XII, prékallicroïne, KHPM, voire le Facteur VIII coagulant et facteur IX, ou être associé à un lupus anticoagulant [158].

Lors de la réalisation des dilutions plasmatiques, des tests de mesures permettent d'atténuer l'effet de l'inhibiteur et d'obtenir des valeurs normales. Si, en dépit de ces précautions, le déficit en facteur XII persiste, il convient de s'assurer de l'absence d'inhibiteur spécifique anti-facteur XII (des associations d'inhibiteurs dirigés à la fois contre le facteur XI et le facteur XII ont été rapportées) et d'évoquer alors une réaction croisée entre l'anti-facteur XI et le facteur XII in vitro.

3.3 Les anticorps anti-facteurs von Willebrand

Le diagnostic d'AvWS se réalise en deux étapes : la première phase constitue le diagnostic positif de vWD (dosage du vWF : RCO, du vWF :Ag, du FVIII :C, étude de la distribution des multimères) , la seconde s'attache à prouver le caractère acquis du déficit et à préciser son phénotype.

L'anamnèse du patient est une étape essentielle dans le diagnostic d'AvWS. Elle permet de suspecter le caractère acquis de la maladie si l'histoire personnelle et familiale du malade ne montre aucun problème hémorragique particulier. Néanmoins, un AvWS peut évoluer à bas bruit pendant plusieurs années. Actuellement, il n'existe pas de test diagnostique sensible et spécifique pour l'AvWS. Les critères minimums définis par le registre international sont [159] :

- la mise en évidence du caractère acquis des saignements ;
- la diminution du vWF : RCO ;

3.4 Les anticorps anti-facteur V

La présence d'un anti-FV se traduit par des tests classiques de coagulation perturbés. En présence d'un anti-FV, le TP est diminué et le TCA est allongé. Les dosages des facteurs de la voie extrinsèque (II, V, X) sont alors effectués et vont révéler un abaissement du FV. Le facteur VIII doit être également dosé pour rechercher un possible déficit combiné V et VIII. S'il est élevé, il pourra au contraire faire évoquer un désordre hépatique. Il est également intéressant de doser le fibrinogène et de rechercher des D-dimères pour éliminer une CIVD. Le dépistage d'un inhibiteur neutralisant peut se faire par plusieurs méthodes dont :

-le calcul de l'indice de Rosner en mesurant le TCA d'un mélange (1 :1) plasma malade/plasma témoin incubé deux heures à 37°C. Un indice de Rosner supérieur à 15 évoquera la présence d'un inhibiteur.

-par la méthode des dilutions successives. Le plasma du malade étant dilué en tampon Owren-Koller l'inhibiteur est également dilué et en multipliant la dilution par le % de FV quantifié, on doit observer une augmentation du FV. Un témoin normal est traité de la même manière et doit donner un taux stable de FV.

-la méthode Bethesda qui est la méthode de référence. Le plasma du malade est mélangé à volume égal avec un plasma témoin et après incubation à 37°C, l'activité du FV résiduel dans le mélange est comparée à celle d'un mélange réalisé en parallèle avec le plasma témoin et du tampon Owren-Koller à pH 7,35.

Généralement, contrairement aux inhibiteurs anti-FVIII, les anti-FV inactivent complètement le FV du témoin en moins de 15minutes. Quelques observations ont tout de même rapporté une inhibition dépendante du temps (jusqu'à deux heures) mais avec cependant une activité inhibitrice mise en évidence dès le temps 0 du mélange [160]. Pour pallier le manque de spécificité et de sensibilité de la méthode Bethesda pour les anticorps faibles, des variations ont été décrites. Ainsi, la méthode Nijmegen a été introduite en 1995 [161] des modifications comportent, d'une part, le pH qui est maintenu à 7,4 pour éviter une consommation de facteur pendant l'incubation et, d'autre part, l'utilisation d'un plasma déficient en facteur à la place du tampon pour le contrôle. Les anticorps non neutralisants n'ont pas d'activité inhibitrice sur les propriétés pro-coagulantes du FV, ils ne sont pas détectés par la méthode Bethesda ou dérivées. Ils peuvent par exemple être dirigés contre les épitopes non fonctionnels (A1, C1 ET B) et ainsi réduire la stabilité du FV ou former des complexes immuns avec les molécules de FV et augmenter ainsi sa clairance. On observe alors une diminution du FV sans qu'il soit possible de titrer l'anticorps.

VI. EVOLUTION DE LA STRATÉGIE DIAGNOSTIC DES ACC

Après la profusion des tests proposés pour la détection des lupus anticoagulant, la démarche diagnostique actuellement recommandée en 2011 a été simplifiée [162-163] :

- L'étape pré-analytique doit garantir un prélèvement de qualité, évitant une activation plaquettaire, et éliminant au maximum les plaquettes par double centrifugation. Il faut s'assurer de l'absence d'héparine dans le prélèvement (temps de thrombine au besoin).
- Le pool plasma doit être irréprochable, au moins 20 donneurs sains, parfaitement déplaqueté, taux de facteur VIII très proche de 100%. Des plasmas commerciaux spécialement dédiés à ces tests sont disponibles.
- Il est recommandé d'associer deux tests commerciaux, le dRVVT en premier lieu car le plus spécifique et un TCA avec un réactif reconnu sensible. Cette combinaison assure actuellement le meilleur équilibre sensibilité-spécificité.
- La confirmation de la nature phospholipidique d'un inhibiteur est réalisée par un test riche en phospholipide : dRVVT de confirmation, ou Staclot LA.
- Le temps de Quick doit être réalisé notamment pour vérifier que le malade n'est pas sous anti-vitamines K. Il est recommandé de ne pas faire de recherche de LA tant que l'INR est supérieur à 1,5.

VII. PERSPECTIVES DANS LE DIAGNOSTIC DES ACC

Un des points important du diagnostic des anticoagulants circulants, et qui n'est pas encore résolu, est l'établissement de la sensibilité relative des différents tests, étant donné que la réponse dépend à la fois du plasma à étudier et du réactif à utiliser. C'est pour cette raison qu'il n'y a aucun standard anticoagulant de type lupique, pas d'unité pour l'exprimer, ni de technique pour le titrer, puisque le titre dépend du test employé.

Il y a eu quelques tentatives pour standardiser les tests de dépistage de l'anticoagulant de type lupique avec un système log-log semblable à celui utilisé pour calibrer les thromboplastines. Des plasmas de malades avec du plasma normal ont été utilisés pour éviter l'influence de déficits en facteurs de coagulation. Les problèmes posés par cette méthodologie sont d'abord l'établissement d'une méthode de référence et qu'elle soit limitée à comparer des techniques évaluant les mêmes voies d'activation. Schjetlein et al ont réalisé une étude intéressante dans ce sens, en utilisant le « rapport-lupus » d'une population normale, en assignant au seuil supérieure normal de ce rapport la valeur d'une unité anticoagulant de type lupique.

On peut de cette façon réaliser des dilutions d'un plasma contenant un anticoagulant de type lupique puissant avec du plasma normal et obtenir une courbe de calibration logit-log pour quantifier les anticoagulants de type lupique. Il serait nécessaire de disposer d'avantage de résultats car la quantification des anticoagulants de type lupique serait sans doute importante pour l'étude de leur signification clinique et biologique.

Le problème majeur concerne la grande variation entre les laboratoires et les difficultés dans le diagnostic de l'anticoagulant de type lupique. Plusieurs études ont été réalisées récemment dans le cadre du sous-comité « lupus anticoagulant and phospholipid dependent antibodies » de l'International Society on thrombosis and haemostasis où des échantillons, des réactifs, et un long questionnaire ont été envoyés à des laboratoires de référence dans différents pays de façon à avoir une idée sur le diagnostic de l'anticoagulant de type lupique dans le monde et pouvoir évaluer certains aspects méthodologiques importants.

Depuis quelques années se développent des ateliers de formation qui favorisent les échanges scientifiques. Le premier a eu lieu à Sirmione (Italie) en 1990, puis à San Antonio (Texas, Etats-Unis) en 1992, le dernier est celui qui a eu lieu à Buenos Aires en 1995. Ces activités devront continuer pour essayer de résoudre les différents problèmes qui se posent dans ce domaine.

VIII. QUESTIONS DEMEURÉES EN SUSPENS

De nombreuses questions se posent encore tels que :

- La recherche des anti- β 2GP1 peut-elle remplacer les aCL ?

Les anti- β 2GP1 constituent la cible antigénique la plus importante des aPL et sont plus fortement associées que les aCL aux manifestations thrombotiques et obstétricales du SAPL.

- Les aPL non conventionnels, surtout les aPE, sont-ils éligibles comme critère de diagnostic biologique du SAPL ?

En effet de nombreux auteurs soulignent l'importance de la recherche des aPE dans un SAPL clinique parlant en l'absence du LA, aCL et anti- β 2GP1 [164-165].

- Quels isotopes rechercher au cours du SAPL ?

L'isotype IgG est le plus fréquent pour les aCL et les anti- β 2GP1 mais il faut rechercher l'isotype IgM chez des patients à risque lorsque les IgG anti- β 2GP1 sont absents. De plus, la recherche de ces deux isotopes améliore la sensibilité et la spécificité des anti- β 2GP1 pour le diagnostic du SAPL. L'intérêt de la recherche des IgA anti- β 2GP1 reste à démontrer.

- L'interférence des nouveaux anticoagulants anti-Xa ou anti-IIa directs sur la recherche des lupus anticoagulant n'est pas établie.



Conclusion



Les anticoagulants circulants sont facilement dépistés et diagnostiqués quand ils sont puissants entraînant un net allongement du TCA, mais les résultats des tests réalisés à la recherche des ACC faibles sont souvent discordants. Le respect strict des procédures pré-analytiques est impératif.

Les anticorps aPL sont repartis en deux catégories, ceux mis en évidence par des tests de coagulations (LA) dont la démarche diagnostique suit un protocole bien précis mis à jour en 2009 par l'ISTH et d'autres détectés par méthodes immunoenzymatiques (aCL et anti- β 2GP1) souffrant encore de problèmes de standardisation et de variabilité inter laboratoires. Une meilleure connaissance des cibles antigéniques des aPLs a considérablement fait progresser la stratégie de détection de ces anticorps. Une certaine expertise est toutefois requise de la part des biologistes et un suivi des recommandations qui évoluent au rythme des workshops internationaux régulièrement organisés.

L'apparition des auto-anticorps est rare mais est associée à un risque vital non négligeable. Un diagnostic rapide et relativement sûr de ces anticorps doit être disponible dans les laboratoires de biologie médicale. Malgré une certaine standardisation des méthodes mise en place il existe une importante variabilité des méthodes. D'autres mesures sont encore nécessaires afin de réduire cette variabilité. Au sein des laboratoires le respect strict des procédures pré-analytiques est impératif. En l'absence de gold standard du fait de la diversité des ACC les seuils d'alarme des tests de dépistage doivent être précisés et varier ainsi suivant le mode de détection et suivant les laboratoires. Idéalement chaque laboratoire doit ainsi déterminer son seuil d'alarme pour chaque couple machine-test selon les recommandations des comités internationaux.



Résumés



RESUME

Titre : Diagnostic biologique des anticoagulants circulants

Mots clés : Anticoagulants circulants, Antiphospholipides, Antifacteurs

Auteur : NDJEMBI MPOLO Franchesca Caresse

Les anticoagulants circulants sont des inhibiteurs acquis de la coagulation. Leur recherche permet de préciser l'origine d'une augmentation isolée des tests de coagulation dont le Temps de céphaline avec activateur et le Temps de Quick.

Les anticoagulants circulants sont de nature immunologique et sont dirigés contre un facteur de coagulation ou contre une phase de la coagulation. Les anticorps « antiphospholipides » désignent une large famille hétérogène d'auto ou d'allo-anticorps. Ils inhibent une phase de la coagulation et sont détectés par des techniques de coagulation, dont les lupus anticoagulants et pour d'autres par des méthodes immunologiques, de type Elisa, les anticardiolipines et les anti-beta2-glycoprotéines notamment. La présence de ces anticorps peut être associée à des manifestations thrombotiques et ou obstétricales définissant le syndrome des antiphospholipides. Ces derniers se caractérisent par leur capacité à allonger les tests de coagulation dépendant de phospholipides.

Les inhibiteurs spécifiques d'un facteur de la coagulation sont des anticorps dirigés contre n'importe lequel des facteurs de coagulation, ils apparaissent spontanément en dehors de tout déficit constitutionnel. Ils sont peu fréquents et les inhibiteurs des facteurs VIII, IX seront plus fréquemment retrouvés.

Le diagnostic des ACC est basé sur les données des tests biologiques habituellement réalisés au laboratoire et ne sont pas toujours faciles à interpréter d'où la définition des critères diagnostiques des ACC par le sous-comité « lupus anticoagulant/anticorps antiphospholipides ». Les tests immunologiques parallèlement aux tests de coagulation sont indispensables permettant la mise en évidence de la spécificité de l'anticorps, en utilisant un antigène bien défini.

Malgré une certaine standardisation des méthodes il existe une importante variabilité de celle-ci.

SUMMARY

Title :Biological diagnosis of the circulating anticoagulants

Keywords: Circulating anticoagulants, Antiphospholipides, Antifactors

Author: NDJEMBI MPOLO Franchesca Caresse

The circulating anticoagulants are acquired inhibitors of coagulation. Their research makes it possible to specify the origin of an increase isolated from the tests of coagulation of which the cephalinTime with activator and the Time of Quick.

The circulating anticoagulants are of immunologic al nature and are directed against a factor of coagulation or a phase of coagulation. The antibodies “Antiphospholipides” designate a broad heterogeneous family of auto orallo-antibody. They inhibit a phase of coagulation and are detected by techniques of coagulation, of which the lupus anticoagulants and for others by immunological methods, of type Elisa, anticardiolipines and the antionesin particular. The presence of these antibodies can be associated with thromboticand or obstetric demonstrations defining the syndrome with the Antiphospholipides.

The latter are characterized by their capacity to lengthen the tests ofcoagulation depending on phospholipids.

The specific inhibitors of a factor of coagulation are antibodies directed against any of the factors of coagulation, they appear spontaneously apart from any constitutional deficit.Theyare not very frequent and the inhibitors of factors VIII, IX will be more frequently found.

The diagnosis of the ACC is based on the data of the biological tests usually carried out at the laboratory and are not always easy to interpret from where the definition of the diagnostic criteria of the ACC by the subcommittee “lupus anticoagulant/antibody Antiphospholipides”.

The immunological tests parallel to the tests of coagulation are essential allowing the description of the specificity of the antibody, by using a well-defined antigen. In spite of a certain standardization of the methods there exists an important variability of that.

ملخص

العنوان: التشخيص البيولوجي لمضادات التخثر في الدم

كلمات البحث: مضادات التخثر في الدم، مضادات الفسفوليبيدات، مضادات عوامل التخثر

المؤلف: NDJEMBI MPOLO Franchesca Caresse

مضادات تخثر الدم هي كابتات مكتسبة للتخثر.

يمكن البحث عن هذه المضادات من تحديد سبب اختلال أي من إختبارات التخثر الدموي بما فيها وقت السيفالين مع محفز ووقت كويك.

مضادات تخثر الدم ذات طبيعة مناعية وهي موجهة ضد كل عامل من عوامل التخثر أو ضد مرحلة من مراحلها.

مضادات الأجسام مضادات الفوسفوليبيدية تمثل عائلة عريضة غير متجانسة من مضادات الأجسام ضد الذاتية و ضد الخيفية. وهي تكبح مرحلة معينة من مراحل التخثر ويتم كشف هذه المضادات عن طريق تقنيات تخثر من بينها الذئبة مضادة التخثر وتقنيات أخرى مناعية من نوع إيزا، مضادات الكاغديوليبيدات و مضادات البيطاط 2 كلينوبروتين بالخصوص.

وجود هذه المضادات يمكن جمعه مع أعراض خثرية أو توليدية تحدد متلازمة مضادات الدهون الفسفورية.

الكابتات الخاصة بكل عامل من عوامل التخثر هي عبارة عن مضادات أجسام موجهة ضد أي من عوامل التخثر و هي تظهر تلقائيا في غياب أي نقص وراثي. هذه الكابتات قليلة الوجود والمعتور عليه بالخصوص هي كابتات العوامل VIII و IX

يستند تشخيص ACC على بيانات من الاختبارات المعملية المطلوبة عادة في المختبر وليس دائما من السهل تفسيره البيانات وبالتالي تم تحديد المعايير التشخيصية للACC من طرف اللجنة الفرعية :

« lupus anticoagulant/anticorps antiphospholipides »

الاختبارات المناعية بالتوازي مع الاختبارات التخثر ضرورية لتسليط الضوء على خصوصية الأضداد، وذلك باستخدام مستضد محدد جيدا.

على الرغم من وجود نوع من التوحيد في الطرق التشخيصية لازال هناك تفاوت كبير في نتائج هذه الطرق.



Références bibliographiques



- [1] Martin-Toutain, Maladies acquises de la coagulation ACC, Service d'hématologie-Biologique, GH Pitié-Salpêtrière-Paris.
- [2] Wassermann A, Neisser A, Bruck C. Eine serodiagnostische reaktion bei syphilis. Deutsche Med Wochenschr 1906;32:745—6.
- [3] Pangborn MC. A new serologically active phospholipid from beef heart. Proc Soc Exp Biol Med 1941;48:484—6.
- [4] Moore JE, Mohr CF. Biologically false-positive tests for syphilis. JAMA 1952;150:463—73.
- [5] Conley MR, Hartman RC. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. J Lab Clin Invest 1952;31:621—2.
- [6] Soulier JP, Boffa MC. Avortements à répétition, thromboses, anticoagulant circulant. Nouv Presse Med 1980;9:859—65. □[6] Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young.
- [7] CG, Loizou S. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in SLE. Lancet 1983;2:1211—4.
- [8] Loizou S, McCrea JD, Rudge AC, Reynolds R, Boyle CC, Harris EN. Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. Clin Exp Immunol 1985;62:738—45.
- [9] Hughes GR. The anticardiolipin syndrome. Clin Exp Rheumatol 1985;3:285—6.
- [10] Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the “antiphospholipid syndrome”. Br J Rheumatol 1987;26(Suppl. 2):19.
- [11] Simone JV, Cornet JA, Abilgaard CF. Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematosus Blood 1968 ; 31/ 806-12.

- [12] Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Bude U, van Gereden PJJ, Mohiri H, et al .
Acquired von Willebrand syndrome : data from an international registry. *Thromb Haemost* 2000 ; 84 : 345-9.
- [13] Briat A, Tapon-Bretonnière J. Le syndrome de Willebrand acquis . *Hematologie* 2005 ;11 :111-6.
- [14] J.mASLIAH-Planchon, L Darnige. Anticorps antiphospholipides et Hémostase. *Rev Med interne*, 2011.
- [15] J.J. Eledjam, J.F.Schved, J. Bonnafox, département d'anesthésie-Réanimation, CHU de Nimes, 1985.
- [16] Hémostase et Thrombose, 4^{ème} édition J.Leryoy et Al : HP.
- [17] <http://www.adhet.org>
- [18] Hémostase et thrombose, 4^{ème} édition J.Leryoy et Al. Coagulation.
- [19] Nathan N, Julia A, Trouble de l'hémostase aux urgences. Elsevier, 2007, 25-080-20.
- [20] A. Masrar, A. Jaïdi, R. Seddik, S. Benkirane. Laboratoire Central d'Hématologie, Centre hospitalier Ibn Sina, Rabat *Journal de biologie médicale* / Avril 2012 N°1.
- [21] B Boneu, J.P Cazenave J Sampol, D Arnoux, B Boutière, Elsevier 2004, Pages 71–81.
- [22] Françoise Baledent, Biologiste, Hôpital de Saint-Denis, 93205, France.
- [23] Abrèges d'hématologie et transfusion, J-P Lévy, B. Varet, J-P Clauvel, F. Lefrère, 2^{ème} édition MASSON.
- [24] M. Sanmarco, Antiphospholipides autoantibodies, Have become very heterogeneous, Laboratoire d'immunologie, Hôpital de la Conception, 147, 2011.
- [25] Harris EN, Baguley E., Asherson RA, Hugue GRV. Clinical and serological features of the « antiphospholipides syndrome » *Br J. Rheumatol* 1987 :26 :19.

- [26] Wasserman A, Neisser A, Bruck C. Eine serodiagnostische reaktion ber syphilis. Deutsche Med Wochenschr 1906,32 :745-6.
- [27] Deguchi H, Fernandez JA, Hackeng TA, Banka CL, Griffin H. Car- diolipin is a normal component of human plasma lipoproteins. Proc Natl Acad Sci U S A 2000;97:1743—8.
- [28] Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticar- diolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune diseases. Lancet 1990;336:177—8.
- [29] McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krillis SA. Anti- phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2glycoprotein 1 (apolipoprotein H). Proc Nat Acad Sci U S A 1990;87:4120—4.
- [30] Schultze HE. Glycoproteins of human plasma. Bull Schweiz Akad Med Wiss 1961;17:77—91.
- [31] A □gar C, de Groot PG, Levels JH, Marquart JA, Meijers JC. Beta2- glycoprotein I is incorrectly named apolipoprotein H. J Thromb □Haemost 2009;7:235—6.
- [32] Iverson GM, Victoria EJ, Marquis DM. Anti-beta2glycoprotein I (beta2GPI) autoantibodies recognize an epitope on the first domain of beta2GPI. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95: 15542—6.
- [33] Sanmarco M, Soler C. Heterogeneity of anti-2-glycoprotein I. Nouv Rev Fr Hematol 1995;37:S57—60.
- [34] Rym Ellouze, Sami Guermazi, Revue Francophone des Laboratoires 2011, 436 : 83-88.
- [35] Spiros Miyakis, Bill Gianna Kopoulos, Steven A. Krilis Beta 2 glycoprotein I, Function in health and disease. Science direct Elsevier, 2004 ;114 :335-346.

- [36] Selva-O'Callaghan A, Ordi-Ross and al . Ig A anticardiolipin antibodies-relation with other antiphospholipid antibodies and clinical significance. *Thromb Haemost* 1998 ;25 :675-80.
- [37] Fanopoulos D, Teodorescu MR,, Varga J Teodorescu M, High frequency of abnormal levels of IgA anti-beta2-glycoprotein I antibodies in patients with systemic lupus erythematosus : relationship with antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1998, 25 :675-80.
- [38] Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009;7:1737—40.
- [39] Arnout J. Antiphospholipid syndrome: diagnostic aspects of lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 2001;86:83—91.
- [40] Roubey RAS, Pratt CW, Buyon JP, Winfield JB. Lupus anticoagulant activity of autoimmune antiphospholipid antibodies is dependent upon 2-glycoprotein 1. *J Clin Invest* 1992;90:1100—4.
- [41] De Laat HB, Derksen RH, Urbanus RT, Roest M, de Groot PG. Beta2-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2004;104:3598—602.
- [42] Bevers EM, Galli M. Cofactors involved in the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1992;1:51—3.
- [43] Bajaj SP, Rapaport SI, Fierer DS, Herbst KD, Schwartz DB. A mechanism for the hypoprothrombinemia of the acquired hypoprothrombinemia-lupus anticoagulant syndrome. *Blood* 1983;61:684—92.
- [44] Arvieux J, Darnige L, Caron C, Reber G, Bensa JC, Colomb MG. Development of an ELISA for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 1995;74:1120—5.

- [45] Wu JR, Lentz Br, Phospholipi-spécific conformational changes in human prothrombin upon binding to procoagulant acidic lipid membranes. *Thromb Haemost* 1994, 71 :596-604.
- [46] Arvieux J, Darnige L, Caronc and al. Development oh an Elisa for autoantibodies ton prothrombin showing their prevalance in patients with lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 1995, 74 : 1120-5
- [47] Bardin N, Alessi MC, Dignat-George F, Vague IJ, Sampol J, Harlé JR, et al. Does the anti-prothrombin antibodies measurement provide additional information in patients with thrombosis? *Immunobiology* 2007;212:557—65.
- [48] Fleck RA, Rapaport SI, Raol VM Anti-prothrombin antibodies and lupus anticoagulant. *Blood* 1988 : 72 : 512-9.
- [49] Sugi T, McIntyre JA. Phosphatidylethanolamine induces spe- cific conformational changes in the kininogens recognizable by antiphosphatidylethanolamine antibodies. *Thromb Haemost* 1996;76:354—60.
- [50] Sugi T, McIntyre JA. Certain autoantibodies to phosphati- dylethanolamine (aPE) recognize factor XI and prekallikrein independently or in addition to the kininogens. *J Autoimmun* 2001;17:207—14.
- [51] Falcon CR ; Hoffer AM, Carreras LO. Evaluation oh the clinical and laboratory associations of antiphosphatidylethanolamine antibodies. *Thromb Res* 1990 ; 59 :383-8.
- [52] Berard M, Chantome R, Maercelli A, Boffa MC , Antiphosphatidylethanolamine antibodies as the only antiphospholipid antibodies : I. Association with thrombosis and vascular cutaneous diseases. *J Rheumatol* 1996, 23 : 1369-74.
- [53] Sanmarco M, Averous P, Soler C, Aillaud MF, Bernard D. IgM isotype Antiphosphatidylethanolamine antibodies (aPEA) in patients with thrombotic events . *Lupus* 1996, 5 : 511.

- [54] Matsuda J, Gotoh M, Saitoh N, Gohchi K, Tsukamoto W, Yamamoto T. Anti-annexin V antibody in the sera of patients with habitual fetal loss or preeclampsia. *Thromb Res* 1994, 75 : 105-6.
- [55] Hachulla E et Arvieux J. Syndrome des antiphospholipides. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* (éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, Hématologie, 13-022-C-10,20001.
- [56] Cariou R, Tobelem G, Bellucci S, Soria C, Maclouf J, et al Effet of lupus anticoagulant on antithrombogenic properties of endothelial cells-inhibition of thrombomodulin-dependent protein C activation. *Thromb Haemost* 1988 ;60 :54-8.
- [57] Marciniak E, Romond EH, Impaired catalytic function of activated protein C : a new in vitro manifestation of lupus anticoagulant. *Blood* 1989 ;74 :2426-32.
- [58] Merrill JT, Zhang HW, Shen C, Butman BT, Jeffries EP, Lahita RG, et al. Enhancement on protein S anticoagulant function by beta 2-glycoprotein I, a major target antigen of antiphospholipid antibodies :beta-2-glycoprotein I interferes with binding of protein S to its plasma inhibitor, C4b-binding protein. *Thromb Haemost* 1999 ;81 :748-57.
- [59] Hurtado V, Montes R, Gris JC, Bertolaccini ML, Alonso A, Martinez-Gonzalez MA, et al. Autoantibodies against EPCR are found in antiphospholip syndrome and are a risk factor for fetal death. *Blood* 2004 ;104 :1369-74.
- [60] Lellouche F, Martinuzzo M , Said P, Maclouf J.Carreras LO. Imbalance of thromboxane/ prostacyclin biosynthesis in patients with lupus anticoagulant. *Blood* 1991.78 :2894-9.
- [61] Andree HA, Stuart MC, Hermens WT, Reutelingsperger CP, Hemker HC, Frederik PM et al. Clustering of lipid-bound annexin V may explain its anticoagulant effect. *JBiol Chem* 1992 ;267/17907-12.

- [62] de Laat B, Wu XX, Van Lummel M, Derksen RH, de Groot PG, Rand JH. Correlation between antiphospholipid-antibodies that recognize domain I of beta 2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5, blood 2007 ;109/1490-4.
- [63] Rand JH, Wu XX, Andree HA, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, et al . Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome-a possible thrombogenic mechanism, N Engl J Med 1997 ; 337 :154-60.
- [64] Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Chen PP, HathcockJJ, Taatjes DJ. Hydroxychloroquine directly reduces the binding of antiphospholipid antibody-beta2-glycoprotein I complexes to phospholipid bilayers. Blood 2008,112 :1687-95.
- [65] Szymezak J, Ankri A, Fischer AM, Darnige L Hydroxychloroquine : une nouvelle approche thérapeutique des manifestations thrombotiques du syndrome des antiphospholipides. Rev Med Interne 2010 ;115 :2292-9.
- [66] J. Szymezak, A. Ankri, A.-M. Fischer, L. Darnige. Hydroxychloroquine : une nouvelle approche thérapeutique des manifestations thrombotiques du syndrome des antiphospholipides. Rev Med Interne 2010 ;31 :854-7.
- [67] Adams MJ, Donohoe S, Mackie IJ, Machin SJ. Anti-tissue factor pathway inhibitor activity in patients with primary antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2001 ;114 ;375-9.
- [68] Forastiero RR, Martinuzzo ME, De Larnaga G, Broze GJ. Antibodies to tissue factor pathway inhibitor are uncommonly detected in patients with infection related antiphospholip antibodies. J Thromb Haemost 2003,1 :2250-1.
- [69] Salemink I, Blezer R, Willems GM, Galli M, Bevers E, Lindhout T. Antibodies to beta 2-glycoprotein I associated with antiphospholipid syndrome suppress the inhibitory activity of tissue factor pathway inhibitor. Thromb Haemost 2000 ;84 :653-6.

- [70] Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT et al. Antiphospholipid syndrome : clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. *Arthritis Rheum* 2002 ;46 :1019-27.
- [71] Godeau B, Piette JC, Fromont P, Inrator L, Schaeffer A, Bierling P, Specific antiplatelet glycoprotein autoantibodies are associated with the thrombo-cytopenia of primary antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 1997 :98 :873-9.
- [72] Moulis G, Delavigne K, Huguet F, Fortenfant F, Beyne-Rauzy O, Adoue D. Profil des anticorps antiphospholipides et risques de thromboses : étude comparative entre thrombopénie immunologique chronique et syndrome des antiphospholipides primaire. *Rev Med Interne* doi :10.1016 /j.revmed.2011.07.014.
- [73] Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, Yu P, Berndt MC, Andrews RK, et al Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in complex with beta 2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum* 2006 ;54 :2558-67.
- [74] Lellouche F, Martinuzzo M , Said P, Maclouf J. Carreras LO. Imbalance of thromboxane/ prostacyclin biosynthesis in patients with lupus anticoagulant. *Blood* 1991.78 :2894-9.
- [75] Masliah-Planchon J, Darnige L. Anticorps antiphospholipides et hémostasie. *Rev MeD Interne*. 2011,4248,8
- [76] Pierangeli SS, Colden-Stanfield M, Liu X, Barker JH, Anderson GL, Harris EN, Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate endothelial cells in vitro and in vivo. *Circulation* 1999 ;99 :1997-2002.
- [77] Reverter JC, Tassies D, Font J, Khamashta MA, Cervera R, et al ; Effects of human monoclonal anticardiolipin antibodies on platelet function and on tissue factor expression on monocytes. *Arthritis Rheum* 1998 ;41 :1420-7.

- [78] Simantov R, Lasala JM, Lo SK, Gharavi AE, Sammaritano LR, Salmon JE, et al. Activation of cultured vascular endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *J Clin Invest* 1995;96 :2211-9.
- [79] Romay-Penabad Z, Montiel-Manzano MG, Shilagard T, Papalardo E, Vargas G, Deora AB, et al. Annexin A2 is involved in antiphospholipid antibody-mediated pathogenic effects in vitro and in vivo. *Blood* 2009 ; 114 :3074-83.
- [80] Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, Raschi E, Liu X, Romay-Penabad Z, De Micheli V, et al. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis :in vivo studies. *Ann Rheum Dis* 2007 ;66 :1327-33.
- [81] Satta N, Kruithof EK, Fickentscher C, Dunoyer-Geindre S, Boehlen F, Reber G, et al. Toll-like receptor 2 mediates the activation of human monocytes and endothelial cells by antiphospholipid antibodies, *Blood* 2011 ;117(20) :5523-31.
- [82] Raschi E, Testoni C, Bosisio D, Borghi MO, Koike T, Mantovani A et al. Role of the MyD88 transduction signaling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies, *Blood* 2003,101 :3495-500.
- [83] Vega-Ostertag M, Casper K , Swerlick R, Ferrara D, Harris EN, Pierangeli SS. Involvement of p 38MAPK in the up-regulation of tissue factor on endothelial cells by antiphospholipid antibodies, *Arthritis Rheum* 2005 ;52 :1545-54
- [84] Cuadrado MJ, Lopez-Pedreira C, Khamashta MA, Camps MT, Tinahones F, Torres A, et al. Thrombosis in primary antiphospholip syndrome : a pivotal role for monocyte tissue factor expression, *Arthritis Rheum* 1997 ;40 :834-41
- [85] Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000 ; 15 : 145-51.
- [86] Aurélien Lebreton, Géraldine Lavigne, Anti-FVIII and anti-FIX antibodies . *Revue Francophone des laboratoires*, 2012, 443, 55-62.

- [87] Scandella D, Mahoney SDG, Mattingly M, Roeder D, Timmos L, Fulcher CA. Epitope mapping of human factor VIII antibodies by deletion analysis of factor VIII fragments expressed in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ;85 : 6152-6
- [88] Prescott R, Nakai H, S aenko EL, Scharrer I, Nisson IM, Humphries JE, Hurst D, and al Scandella D and the Recombinate and Kogenate Study Groups. The inhibitor antibody response is more complex in hemophilia A patients than in most of nonhemophiliacs with Factor VIII autoantibodies. *Blood* 1997 ; 89 : 3663-71.
- [89] Aurélien Lebreton, Géraldine Lavigne, Anti-FVIII and anti-FIX antibodies . *Revue Francophone des laboratoires*, 2012, 443, 55-62.
- [90] Aourousseau MH, Boffa MC. Anticoagulants circulants en dehors de l'hémophilie. Les inhibiteurs spécifiques d'un facteur de la coagulation. Editions techniques, *Encyclo Med Chir (Paris, France), Hématologie*, 13022C, 1991, 5P.
- [91] Chediak J, Madej-Zevin P, Ratnoff OD, Goldsmith GH, Everson B, Studies on a circulating anticoagulant inhibiting factor XI in a patient with congenitl deficiency and carcinoma of the prostate. *Be J Haematol* 1986 ;63 :123-33.
- [92] Casonato A, Pontara E, Doria A, Bertomoro A, Cattini MG, Gambari PF, et al. Lack of multimer organization of von Willebrand factor in an acquired von Willebrand syndrome. *Br J Haematol* 2002;116:899–904.
- [93] Siaka C, Rugeri L, Caron C, Goudemand J. A new ELISA assay for diagnosis of acquired von Willebrand syndrome. *Haemophilia* 2003;9:303–8.
- [94] vanGenderenPJJ,VinkT,MichielsJJ,van'tVeerMB,SixmaJJ,vanVliet H. Acquired von Willebrand disease caused by an autoantibody selectively inhibiting the binding of von Willebrand factor to collagen. *Blood* 1994; 84:3378–84.
- [95] Briat A, Tapon-Bretonnière J. Le syndrome de Willebrand acquis. *Hematologie* 2005;11:111–6.
- [96] Chediak J, Ashenurst JB, Garlick I, Desser RK, Successful management of bleeding in a patient with factor V inhibitor by platelet transfusio. *Blood* 1980 ; 56 : 835-41

- [97] Monkovic DD, Tacy PB. Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. *Biochemistry* 1990 ; 29 :1118-28.
- [98] Ortel TL, Moore KD, Quinn-Allen MA, Okamura T, Sinclair AJ, et al. Inhibitory anti-factor V antibodies bind to the factor V C2 domain and are associated with hemorrhagic manifestations. *Blood* 1998 ; 91 : 4188-96.
- [99] Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000 ; 15 : 145-51.
- [100] Wahl DG, Guillemin F, de Maistre E, Perret-Guillaume C, Lecompte T, Thibaut G. Meta-analysis of the risk of venous thrombosis in individuals with antiphospholipid antibodies without underlying autoimmune disease or previous thrombosis. *Lupus* 1998 ; 7 : 15-22.
- [101] Kenet G, Sadetzki S, Murad H, et al. Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke* 2000 ; 31 : 1283-8.
- [102] Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer L, et al. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992 ; 117 : 997-1002.
- [103] Kearon C, Gent M, Hirsh J, et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *N Engl J Med* 1999 ; 340 : 901-7.
- [104] Wahl DG, De Maistre E, Guillemin F, Regnault V, Perret-Guillaume C, Lecompte T. Antibodies against phospholipids and beta 2-glycoprotein I increase the risk of recurrent venous thromboembolism in patients without systemic lupus erythematosus. *QJM* 1998 ; 91 : 125-30.
- [105] Vaarala O, Manttari M, Manninen V, et al. Anticardiolipin antibodies and risk of myocardial infarction in a prospective cohort of middle-aged men. *Circulation* 1995 ; 91 : 23-7.
- [106] Piette JC. Towards improved criteria for the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1998 ; 7(suppl 2) :S149-57.

- [107] Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hugues GR, Clinical and serological features of the « antiphospholipidesyndrome ». Br J Rheumatol 1987 ; 26 :19.
- [108] Male C, Lechner K, Eichinger S et al. Clinical significance and course oh lupus anticoagualants in children S et al Clinical significance and course of lupus anticoagualant in childrem Pediatr 1999,134 :199-205.
- [109] Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants : an update. On behalf of the subcommitte on lupus anticoagulant/antiphospholipide antibody of the scientific and standardisation committee of the ISTH. Thromb Haemost 1995 ;74 :1185-90.
- [110] L Darnige , La boratoire d'hématologie centre hospitalier de Compiègne, Immunoanal Biol Spéc Elsevier 2001,16 :359-367.
- [111] Benoit Visseaux, Jullien Masliah-Planchon, Anne-Marie Fischer, Luc Darnige, Annales de Biologie Clinique, Volume 69, 2011, Numéro 4, 411-8.
- [112] Reber G, Arvieux J, Comby E, Degenne D, de Moerloose P, San marco M, Potron G. Multicenter evaluation of nine commercial kits for the quantitation of anticardiolipin antibodies. Thromb Haemost 1995 ;73 :52.
- [113] Arvieux J, Darnige L, Hachulla E, Roussel B, Bensa JC, Colomb MG. Species specificity of anti- β 2GPI antibodies and its relevance to anticardiolipin antibody quantitation Thromb Haemost 1996 ;75 :725-30.
- [114] Sanmarco M, Soler C, Christidies C, Raoult D, Weiller PJ, Gerolami V, Bernard D. Prevalence and clinical significance of IgG isotype and anti- β 2GPI antibodies in antiphospholipid syndrome : a comparative study with anticardiolipin antibodies. J Lab Clin Med 1997 ; 129 :449-506.
- [115] Rampazzo P, Biasolo A, Garin J, Rosato A, Betterle C, Ruffati A, Pengo V. Some Patients with antiphospholipid syndrome express hitherto undescribed antibodies to cardiolipin binding proteins. Thromb Haemost 2001 ;85 :57-62.

- [116] Arvieux J, Darnige L, Caron C, Reber G, Bensa JC, Colomb MG. Development of an Elisa for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 1995 ;74 :1120-5.
- [117] Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid antibodies : anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-sle disorders. Prevalence and clinical significance. *Ann Intern Med* 1990 ; 112 :682-98.
- [118] Hughes GR. The antiphospholipid syndrome : ten years on. *Lancet* 1993 ; 342 :341-4
- [119] F. Depasse, A. Ebel, M.M. Samama, Recent acquisitions in the antiphospholipid syndrome. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée* 17, 2002, 207-217.
- [120] Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al International consensus statement on an update of the classification criteria for definite anti-phospholip syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006 ; 4(2) : 295-306.
- [121] Giron-Gonzales JA, Garcia del Rio E, Rodriguez C, et al. Antiphospholip syndrome and asymptomatic carries of antiphospholipid antibody : prospective analysis of 404 individuals. *J Rheumatol* 2004 ; 31(8) : 1560-7.
- [122] 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* 2006 ;4 :295-306.
- [123] Ingram SB, Goodnight, Bennet RM, An unusual syndrome of a devastating non inflammatory vasculopathy associated with anticardiolipin antibodies. Report of 2 cases. *Arthritis Rheum* 1987 ;30 :1167-71.
- [124] Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa MC, Piette JC, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome/ international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines. *Lupus* 2003,12 :530-4.
- [125] Piette JC, Cacoub P. Antiphospholipid syndrome in the elderly :caution, circulation 1998 ;97 :2195-6.

- [126] Collins PW, Hirsch S, Baglin TP, Dolan G, Hanley J, Makris M, et al. Acquired hemophilia A in the United Kingdom: a 2-year national surveillance study by the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation. *Blood* 2007;109:1870–7.
- [127] Moraca RJ, Ragni MV. Acquired anti-FVIII inhibitors in children. *Haemophilia* 2002;8:28–32.
- [128] Huth-Kuhne A, Baudo F, Collins P, et al. International recommendations on the diagnosis and treatment of patients with acquired hemophilia. *Haematologica* 2009 ; 94 (4) : 566-75.
- [129] Krishnamurthy P, Hawche C, Evans G, Winter M. A rare case of an acquired inhibitor to factor IX. *Haemophilia* 2011 ; 3 :1-2.
- [130] Mazzucconi MG, Peraino M, Bizzoni L, Bernasconi S, Luciani m, Rossi GD, Acquired inhibitor against factor IX in a child : successful treatment with high dose immunoglobulin and dexamthasone. *Haemophilia* 1999 ;5 :132-4.
- [131] Coppola A, Santoro C, Tagliaferri A et al. Understanding inhibitor development in haemophilia A : towards clinical prediction nd prevention strategies. *Haemophilia* 2010 ; 16(suppl 1) :13-9.
- [132] Kumar S, Pruthi RK, Nichols WL. Acquired von Willebrand's syndrome: a single institution experience. *Am J Hematol* 2003;72:243–7.
- [133] Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Bude U, van Gereden PJJ, Mohiri H, et al .Acquired von Willebrand syndrome : data from an international registry. *Thromb Haemost* 2000 ; 84 : 345-9.
- [134] Favaloro EJ, Posen J, Ramakrishna R, Soltani S, McRae S, Just S, et al . Factor V inhibitor rare or not so uncommon ?A multi-laboratory investigation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004, 15, 637-47.
- [135] Ang AI, Kuperan P, Ng CH, Ng, hJ. Acquired factor Vinhibitore . A problem –based systematic review .*Thomb Haemost* 2009 ; 101 : 852-9.

- [136] Serge Vedy, Jean-Michel Peloni, Celine Ragot et al. Hémophilie acquise : quand la réalité rattrape l'actualité. Eddition Elsevier Masson, (Laveran, France), Hématologie 13998, 2007
- [137] Morgan K, Schiffmann S, Feinstein D, Acquired factor XI inhibitors in txo patients with hereditary factor XI déficiency. Thromb Haemost 1984 ; 51 :371-5
- [138] Musclom CE, Amato D, Ofosu F, Armstrong AL, Abbott D, Transfusion-induced specifi anti-factor XI inhibitor in a patient with previously unrecognized factor XI deficiency. Am J Clin Pathol 1988 ; 89 : 418-22
- [139] Vercellotti GM, Mosher DF, Acquired factor XI deficiency in systemic lupus erythematosus. Thromb Haemost 1982 ; 48 : 250-2.
- [140] S. Bustany, P. Gautier, A. Lequerrec et al. Le syndrome de Willebrand acquis : du diagnostic au traitement. Elsevier Masson 2009 ; 57 : 536-542.
- [141] Knobl P, Lechner K, Acquired factor V inhibitors. Clin Haematol 1998 , 11 : 305-18
- [142] Banninger H, Hardegger T, Tobler A, Barth A, Schupbach P, Rein-hart W et al .Fibrin glue in surgery : frequent development of inhibitors of bovine thrombin and human factor V. Br J Haematol 1993 ; 85 : 528-32
- [143] Mazzucconi MG, Solinas S, Chistolini A, Motta M, Mariani G. Inhibitor to factor V in severe factor V congenital deficiency .A case report. Nouv Rev Fr Hématol 1985, 27 : 305-5.
- [144] Koyama T, Saito T, Kusano T, Hirosawa S, Factor V inhibitor associated with Sjogren's syndrome. Br J Haematol 1995 ; 89 : 893-6
- [145] Favaloro EJ, Posen J, Ramakrishna R, Soltani S, McRae S, Just S, et al. Factor V inhibitor rare or not so uncommon ?A multi-laboratory investigation. Blood Coagul Fibrinolysis 2004, 15, 637-47.
- [146] Aillaud M.F, Antifacteurs, EMB copyright 2003, Elsevier, Paris, p. 32428- 32558.
- [147] Sampol J, Arnoux D, Boutière B, Manuel d'hémostase, Coll. Option Bio, Elsevier, Paris, 1995.

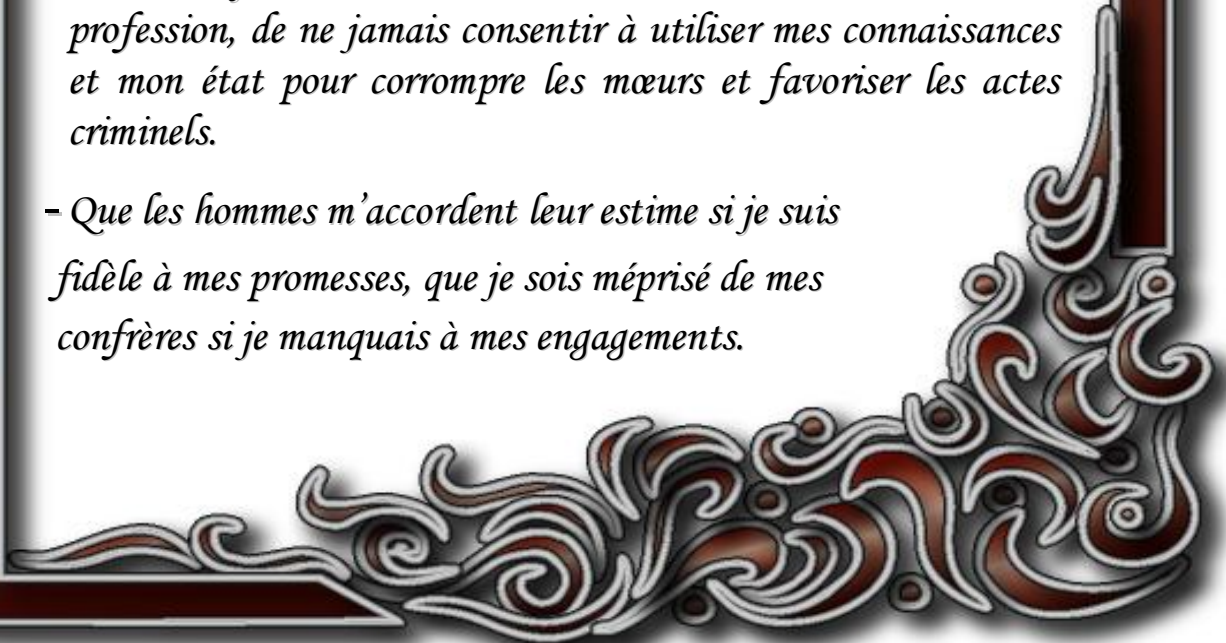
- [148] Lévesque H., Borg J. Y., Bossi P., Goudemand J., Guillet B., Cabane J., L'hémophilie acquise : approches diagnostiques et thérapeutiques actuelles, *Rev. Med. Int* 22(2001) 854-866.
- [149] Giles AR, Verbruggen B, Rivard GE et al. A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII :c inhibitors in the haemophilia A population of Canada, association of hemophilia centre directors of Canada Factor VIII/IX subcommittee of scientific and standardization committee of international society on thrombosis and haemostasis. *Thromb Haemost* 1998 ;79 (4) :872-5.
- [150] 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* 2009, 7(10) :1737-40.
- [151] Aurélien Lebreton, Géraldine Lavigne, Anti-FVIII and anti-FIX antibodies .*Revue Francophone des laboratoires*, 2012, 443, 55-62.
- [152] Martin PG, Sukhu K, Chambers E et al. Evaluation of a novel ELISA screening test for detecting of factor VIII inhibitory antibodies in haemophiliacs. *Clin Lab Haematol* 1999 ;21(2) :7728-32.
- [153] Fulcher CA, de Graaf Mahoney S, Roberts JR et al. Localization of human factor FVIII inhibitor epitopes to two polypeptide fragments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82(22) :7728-32.
- [154] Scandella D, De Graaf Mahoney S, et al. Localization of human factor FVIII inhibitor antibodies by deletion analysis of factor VIII fragments expressed in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ;85(16) :6152-6.
- [155] Kopecky EM, Greinstetter S, Pabinger I, et al. Mapping of FVIII inhibitor epitopes using cellulose-bound synthetic peptide arrays. *J Immunol Methods* 2006, 308 (1-2)90-100.

- [156] Smith GP, Petrenko VA, Phage Display. *Chem Rev* 1997,97(2) :391-410.
- [157] Lavigne-Lissalde G, Tarrade C, Lapalud P, et al. Simultaneous detection and epitope mapping of anti-factor VIII antibodies. *Thromb Haemost* 2008 ;99 (6) :1090-6.
- [158] Arousseau MH. Inhibiteurs spécifiques des facteurs de la coagulation (en dehors de l'hémophilie). In :Sampol J, Arnoux D, Boutière B, eds. *Manuel d'hémostase* Paris : Elsevier 1995 :379-94.
- [159] Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Bude U, van Gereden PJJ, Mohiri H, et al. Acquired von Willebrand syndrome : data from an international registry. *Thromb Haemost* 2000 ; 84 : 345-9.
- [160] Ang AI, Kuperna P ; Ng CH, Ng HJ. Acquired factor V inhibitor .A problem-based systematic review. *Thromb Haemost* 2009 ;101 :852-9.
- [161] Verbruggen B, Van Heerde WL, Laros-van Gorkom BA. Improvements in factor VIII inhibitor detection : from Bethesda to Nijmegen. *Semin Thromb Hemost* 2009, 35 :752-9.
- [162] 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 Haemost* 2009, 7(10) :1737-40.
- [163] De Moerloose P, Tirefort-Dimitrova Y, Noger F, et al. Syndrome des anticorps antiphospholipides : beaucoup de nouveauté. *Rev Med Suisse* 2010 ;6 (235) :298-301.
- [164] Sanmarco M, Alessi MC, Harle JR, et al. Antibodies to phosphatidylethanolamine as the only antiphospholipid antibodies found in patients with unexplained thromboses. *Thromb Haemost* 2001 ; 85 (5):800-5.
- [165] Sanmarco M, Gayet S, Alessi MC, et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with the participation of the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 2007 ;97(6) :949-54.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

وأحسب والله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"

التشخيص البيولوجي لمضادات التختثر في الدم

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: فرانشيسكا كاريس نديمبي مبولو

المزودة في: 03 فبراير 1987 فرانسفيل (كابون)

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية - الرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: مضادات التختثر في الدم - مضادات الفسفوليبيدات - مضادات عوامل التختثر.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: ميمون زهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيدة: منى نزيه

أستاذة مبرزة في علم الدم

السيدة: سعيدة طلال

أعضاء

أستاذة في الكيمياء الإحيائية

السيد : عز العرب مسرار

أستاذ في علم الدم البيولوجي