



كلية الطب  
والصيدلة - مراكش  
FACULTÉ DE MÉDECINE  
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2024

Thèse N° 272

# Les anticoagulants circulants : Méthodologie diagnostique au laboratoire et implications cliniques (expérience de laboratoire d'hématologie HMA)

## THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 12/07/2024

PAR

**Mme. Laila OUBRAIM**

Née le 15 Juillet 1998 à Taroudant

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

## MOTS-CLÉS :

Anticoagulants Circulants – Lupus Anticoagulant – Thrombose  
Syndrome des Antiphospholipides.

## JURY

Mme.	<b>S. CHELLAK</b> Professeur de Biochimie–chimie	PRESIDENTE
M.	<b>M. CHAKOUR</b> Professeur d'Hématologie biologique	RAPPORTEUR
M.	<b>S. KADDOURI</b> Professeur de Médecine interne	} JUGES
Mme.	<b>F. LAHLIMI</b> Professeur agrégé d'Hématologie clinique	



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَتَبَسَّ ضَاحِكًا مِّن قَوْلِهَا وَقَالَ

رَبِّ أَوْزَعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ

الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ

وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ

وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ

النمل: ١٩



# Serment d'Hippocrate

**Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.**

**Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.**

**Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.**

**Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.**

**Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.**

**Les médecins seront mes frères.**

**Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.**

**Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.**

**Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.**

**Je m'y engage librement et sur mon honneur.**

**Déclaration Genève, 1948**





**LISTE DES PROFESSEURS**



**UNIVERSITE CADI AYYAD**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**  
**MARRAKECH**

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

**ADMINISTRATION**

Doyen : Pr Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la coopération : Pr. Hanane RAISS

Vice doyen aux affaires pédagogiques : Pr. Ghizlane DRAISS

Vice doyen chargé de la Pharmacie : Pr. Said ZOUHAIR

Secrétaire Général : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

**Liste nominative du personnel enseignants chercheurs  
permanant**

N°	Nom et Prénom	Cadre	Spécialité
01	BOUSKRAOUI Mohammed (Doyen)	P.E.S	Pédiatrie
02	CHOULLI Mohamed Khaled	P.E.S	Neuro pharmacologie
03	KHATOURI Ali	P.E.S	Cardiologie
04	NIAMANE Radouane	P.E.S	Rhumatologie
05	AIT BENALI Said	P.E.S	Neurochirurgie
06	KRATI Khadija	P.E.S	Gastro-entérologie
07	SOUMMANI Abderraouf	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
08	RAJI Abdelaziz	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
09	KISSANI Najib	P.E.S	Neurologie
10	SARF Ismail	P.E.S	Urologie
11	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	P.E.S	Ophthalmologie
12	AMAL Said	P.E.S	Dermatologie
13	ESSAADOUNI Lamiaa	P.E.S	Médecine interne
14	MANSOURI Nadia	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale



15	MOUTAJ Redouane	P.E.S	Parasitologie
16	AMMAR Haddou	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
17	ZOUHAIR Said	P.E.S	Microbiologie
18	CHAKOUR Mohammed	P.E.S	Hématologie biologique
19	EL FEZZAZI Redouane	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
20	YOUNOUS Said	P.E.S	Anesthésie-réanimation
21	BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	P.E.S	Chirurgie générale
22	ASMOUKI Hamid	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
23	BOUMZEBRA Drissi	P.E.S	Chirurgie Cardio-vasculaire
24	CHELLAK Saliha	P.E.S	Biochimie-chimie
25	LOUZI Abdelouahed	P.E.S	Chirurgie-générale
26	AIT-SAB Imane	P.E.S	Pédiatrie
27	GHANNANE Houssine	P.E.S	Neurochirurgie
28	ABOULFALAH Abderrahim	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
29	OULAD SAIAD Mohamed	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
30	DAHAMI Zakaria	P.E.S	Urologie
31	EL HATTAOUI Mustapha	P.E.S	Cardiologie
32	ELFIKRI Abdelghani	P.E.S	Radiologie
33	KAMILI El Ouafi El Aouni	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
34	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	P.E.S	Pédiatrie (Néonatalogie)
35	MATRANE Aboubakr	P.E.S	Médecine nucléaire
36	AIT AMEUR Mustapha	P.E.S	Hématologie biologique
37	AMINE Mohamed	P.E.S	Epidémiologie clinique
38	EL ADIB Ahmed Rhassane	P.E.S	Anesthésie-réanimation
39	ADMOU Brahim	P.E.S	Immunologie
40	CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	P.E.S	Radiologie
41	TASSI Noura	P.E.S	Maladies infectieuses
42	MANOUDI Fatiha	P.E.S	Psychiatrie
43	BOURROUS Monir	P.E.S	Pédiatrie
44	NEJMI Hicham	P.E.S	Anesthésie-réanimation
45	LAOUAD Inass	P.E.S	Néphrologie
46	EL HOUDZI Jamila	P.E.S	Pédiatrie
47	FOURAIJI Karima	P.E.S	Chirurgie pédiatrique

48	ARSALANE Lamiae	P.E.S	Microbiologie–virologie
49	BOUKHIRA Abderrahman	P.E.S	Biochimie–chimie
50	KHALLOUKI Mohammed	P.E.S	Anesthésie–réanimation
51	BSISS Mohammed Aziz	P.E.S	Biophysique
52	EL OMRANI Abdelhamid	P.E.S	Radiothérapie
53	SORAA Nabila	P.E.S	Microbiologie–virologie
54	KHOUCHANI Mouna	P.E.S	Radiothérapie
55	JALAL Hicham	P.E.S	Radiologie
56	OUALI IDRISSE Mariem	P.E.S	Radiologie
57	ZAHLANE Mouna	P.E.S	Médecine interne
58	BENJILALI Laila	P.E.S	Médecine interne
59	NARJIS Youssef	P.E.S	Chirurgie générale
60	RABBANI Khalid	P.E.S	Chirurgie générale
61	HAJJI Ibtissam	P.E.S	Ophthalmologie
62	EL ANSARI Nawal	P.E.S	Endocrinologie et maladies métabolique
63	ABOU EL HASSAN Taoufik	P.E.S	Anesthésie–réanimation
64	SAMLANI Zouhour	P.E.S	Gastro–entérologie
65	LAGHMARI Mehdi	P.E.S	Neurochirurgie
66	ABOUSSAIR Nisrine	P.E.S	Génétique
67	BENCHAMKHA Yassine	P.E.S	Chirurgie réparatrice et plastique
68	CHAFIK Rachid	P.E.S	Traumato–orthopédie
69	MADHAR Si Mohamed	P.E.S	Traumato–orthopédie
70	EL HAOURY Hanane	P.E.S	Traumato–orthopédie
71	ABKARI Imad	P.E.S	Traumato–orthopédie
72	EL BOUIHI Mohamed	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
73	LAKMICHI Mohamed Amine	P.E.S	Urologie
74	AGHOUTANE El Mouhtadi	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
75	HOCAR Ouafa	P.E.S	Dermatologie
76	EL KARIMI Saloua	P.E.S	Cardiologie
77	EL BOUCHTI Imane	P.E.S	Rhumatologie
78	AMRO Lamyae	P.E.S	Pneumo–phtisiologie

79	ZYANI Mohammad	P.E.S	Médecine interne
80	GHOUNDALE Omar	P.E.S	Urologie
81	QACIF Hassan	P.E.S	Médecine interne
82	BEN DRISS Laila	P.E.S	Cardiologie
83	MOUFID Kamal	P.E.S	Urologie
84	QAMOUSS Youssef	P.E.S	Anesthésie réanimation
85	EL BARNI Rachid	P.E.S	Chirurgie générale
86	KRIET Mohamed	P.E.S	Ophthalmologie
87	BOUCHENTOUF Rachid	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
88	ABOUCHADI Abdeljalil	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
89	BASRAOUI Dounia	P.E.S	Radiologie
90	RAIS Hanane	P.E.S	Anatomie Pathologique
91	BELKHOUS Ahlam	P.E.S	Rhumatologie
92	ZAOUI Sanaa	P.E.S	Pharmacologie
93	MSOUGAR Yassine	P.E.S	Chirurgie thoracique
94	EL MGHARI TABIB Ghizlane	P.E.S	Endocrinologie et maladies métaboliques
95	DRAISS Ghizlane	P.E.S	Pédiatrie
96	EL IDRISSE SLITINE Nadia	P.E.S	Pédiatrie
97	RADA Noureddine	P.E.S	Pédiatrie
98	BOURRAHOUI Aicha	P.E.S	Pédiatrie
99	MOUAFFAK Youssef	P.E.S	Anesthésie-réanimation
100	ZIADI Amra	P.E.S	Anesthésie-réanimation
101	ANIBA Khalid	P.E.S	Neurochirurgie
102	TAZI Mohamed Illias	P.E.S	Hématologie clinique
103	ROCHDI Youssef	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
104	FADILI Wafaa	P.E.S	Néphrologie
105	ADALI Imane	P.E.S	Psychiatrie
106	ZAHLANE Kawtar	P.E.S	Microbiologie- virologie
107	LOUHAB Nisrine	P.E.S	Neurologie
108	HAROU Karam	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
109	BASSIR Ahlam	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
110	BOUKHANNI Lahcen	P.E.S	Gynécologie-obstétrique

111	FAKHIR Bouchra	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
112	BENHIMA Mohamed Amine	P.E.S	Traumatologie-orthopédie
113	HACHIMI Abdelhamid	P.E.S	Réanimation médicale
114	EL KHAYARI Mina	P.E.S	Réanimation médicale
115	AISSAOUI Younes	P.E.S	Anesthésie-réanimation
116	BAIZRI Hicham	P.E.S	Endocrinologie et maladies métaboliques
117	ATMANE El Mehdi	P.E.S	Radiologie
118	EL AMRANI Moulay Driss	P.E.S	Anatomie
119	BELBARAKA Rhizlane	P.E.S	Oncologie médicale
120	ALJ Soumaya	P.E.S	Radiologie
121	OUBAHA Sofia	P.E.S	Physiologie
122	EL HAOUATI Rachid	P.E.S	Chirurgie Cardio-vasculaire
123	BENALI Abdeslam	P.E.S	Psychiatrie
124	MLIHA TOUATI Mohammed	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
125	MARGAD Omar	P.E.S	Traumatologie-orthopédie
126	KADDOURI Said	P.E.S	Médecine interne
127	ZEMRAOUI Nadir	P.E.S	Néphrologie
128	EL KHADER Ahmed	P.E.S	Chirurgie générale
129	LAKOUICHMI Mohammed	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
130	DAROUASSI Youssef	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
131	BENJELLOUN HARZIMI Amine	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
132	FAKHRI Anass	P.E.S	Histologie-embryologie cytogénétique
133	SALAMA Tarik	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
134	CHRAA Mohamed	P.E.S	Physiologie
135	ZARROUKI Youssef	P.E.S	Anesthésie-réanimation
136	AIT BATAHAR Salma	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
137	ADARMOUCH Latifa	P.E.S	Médecine communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
138	BELBACHIR Anass	P.E.S	Anatomie pathologique
139	HAZMIRI Fatima Ezzahra	P.E.S	Histologie-embryologie

			cytogénétique
140	EL KAMOUNI Youssef	P.E.S	Microbiologie–virologie
141	SERGHINI Issam	P.E.S	Anesthésie–réanimation
142	EL MEZOUARI El Mostafa	P.E.S	Parasitologie mycologie
143	ABIR Badreddine	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
144	GHAZI Mirieme	P.E.S	Rhumatologie
145	ZIDANE Moulay Abdelfettah	P.E.S	Chirurgie thoracique
146	LAHKIM Mohammed	P.E.S	Chirurgie générale
147	MOUHSINE Abdelilah	P.E.S	Radiologie
148	TOURABI Khalid	P.E.S	Chirurgie réparatrice et plastique
149	BELHADJ Ayoub	Pr Ag	Anesthésie–réanimation
150	BOUZERDA Abdelmajid	Pr Ag	Cardiologie
151	ARABI Hafid	Pr Ag	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle
152	ARSALANE Adil	Pr Ag	Chirurgie thoracique
153	NADER Youssef	Pr Ag	Traumatologie–orthopédie
154	SEDDIKI Rachid	Pr Ag	Anesthésie–réanimation
155	ABDELFETTAH Youness	Pr Ag	Réducation et réhabilitation fonctionnelle
156	REBAHI Houssam	Pr Ag	Anesthésie–réanimation
157	BENNAOUI Fatiha	Pr Ag	Pédiatrie
158	ZOUIZRA Zahira	Pr Ag	Chirurgie Cardio–vasculaire
159	SEBBANI Majda	Pr Ag	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
160	ABDOU Abdessamad	Pr Ag	Chirurgie Cardio–vasculaire
161	HAMMOUNE Nabil	Pr Ag	Radiologie
162	ESSADI Ismail	Pr Ag	Oncologie médicale
163	MESSAOUDI Redouane	Pr Ag	Ophthalmologie
164	ALJALIL Abdelfattah	Pr Ag	Oto–rhino–laryngologie
165	LAFFINTI Mahmoud Amine	Pr Ag	Psychiatrie
166	RHARRASSI Issam	Pr Ag	Anatomie–patologique

167	ASSERRAJI Mohammed	Pr Ag	Néphrologie
168	JANAH Hicham	Pr Ag	Pneumo-phtisiologie
169	NASSIM SABAH Taoufik	Pr Ag	Chirurgie réparatrice et plastique E]
170	ELBAZ Meriem	Pr Ag	Pédiatrie
171	BELGHMAIDI Sarah	Pr Ag	Ophthalmologie
172	FENANE Hicham	Pr Ag	Chirurgie thoracique
173	GEBRATI Lhoucine	Pr Hab	Chimie
174E]	FDIL Naima	Pr Hab	Chimie de coordination bio-organique
175	LOQMAN Souad	Pr Hab	Microbiologie et toxicologie environnementale
176	BAALLAL Hassan	Pr Ag	Neurochirurgie
177	BELFQUIH Hatim	Pr Ag	Neurochirurgie
178	MILOUDI Mouhcine	Pr Ag	Microbiologie-virologie
179	AKKA Rachid	Pr Ag	Gastro-entérologie
180	BABA Hicham	Pr Ag	Chirurgie générale
181	MAOUJOURD Omar	Pr Ag	Néphrologie
182	SIRBOU Rachid	Pr Ag	Médecine d'urgence et de catastrophe
183	EL FILALI Oualid	Pr Ag	Chirurgie Vasculaire périphérique
184	EL- AKHIRI Mohammed	Pr Ag	Oto-rhino-laryngologie
185	HAJJI Fouad	Pr Ag	Urologie
186	OUMERZOUK Jawad	Pr Ag	Neurologie
187	JALLAL Hamid	Pr Ag	Cardiologie
188	ZBITOU Mohamed Anas	Pr Ag	Cardiologie
189	RAISSI Abderrahim	Pr Ag	Hématologie clinique
190	BELLASRI Salah	Pr Ag	Radiologie
191	DAMI Abdallah	Pr Ag	Médecine Légale
192	AZIZ Zakaria	Pr Ag	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
193	ELOUARDI Youssef	Pr Ag	Anesthésie-réanimation
194	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Pr Ag	Hématologie clinique

195	EL FAKIRI Karima	Pr Ag	Pédiatrie
196	NASSIH Houda	Pr Ag	Pédiatrie
197	LAHMINE Widad	Pr Ag	Pédiatrie
198	BENANTAR Lamia	Pr Ag	Neurochirurgie
199	EL FADLI Mohammed	Pr Ag	Oncologie médicale
200	AIT ERRAMI Adil	Pr Ag	Gastro-entérologie
201	CHETTATI Mariam	Pr Ag	Néphrologie
202	SAYAGH Sanae	Pr Ag	Hématologie
203	BOUTAKIOUTE Badr	Pr Ag	Radiologie
204	CHAHBI Zakaria	Pr Ass	Maladies infectieuses
205	ACHKOUN Abdessalam	Pr Ass	Anatomie
206	DARFAOUI Mouna	Pr Ass	Radiothérapie
207	EL-QADIRY Rabiya	Pr Ass	Pédiatrie
208	ELJAMILI Mohammed	Pr Ass	Cardiologie
209	HAMRI Asma	Pr Ass	Chirurgie Générale
210	EL HAKKOUNI Awatif	Pr Ass	Parasitologie mycologie
211	ELATIQUI Oumkeltoum	Pr Ass	Chirurgie réparatrice et plastique
212	BENZALIM Meriam	Pr Ass	Radiologie
213	ABOULMAKARIM Siham	Pr Ass	Biochimie
214	LAMRANI HANCI Asmae	Pr Ass	Microbiologie-virologie
215	HAJHOUI Farouk	Pr Ass	Neurochirurgie
216	EL KHASSOUI Amine	Pr Ass	Chirurgie pédiatrique
217	MEFTAH Azzelarab	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
218	DOUIREK Fouzia	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
219	BELARBI Marouane	Pr Ass	Néphrologie
220	AMINE Abdellah	Pr Ass	Cardiologie
221	CHETOUI Abdelkhalek	Pr Ass	Cardiologie
222	WARDA Karima	Pr Ass	Microbiologie
223	EL AMIRI My Ahmed	Pr Ass	Chimie de Coordination bio-organique
224	ROUKHSI Redouane	Pr Ass	Radiologie
225	EL GAMRANI Younes	Pr Ass	Gastro-entérologie

226	ARROB Adil	Pr Ass	Chirurgie réparatrice et plastique
227	SALLAHI Hicham	Pr Ass	Traumatologie-orthopédie
228	SBAAI Mohammed	Pr Ass	Parasitologie-mycologie
229	FASSI Fihri Mohamed jawad	Pr Ass	Chirurgie générale
230	BENCHAFAI Ilias	Pr Ass	Oto-rhino-laryngologie
231	EL JADI Hamza	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
232	SLIOUI Badr	Pr Ass	Radiologie
233	AZAMI Mohamed Amine	Pr Ass	Anatomie pathologique
234	YAHYAOUI Hicham	Pr Ass	Hématologie
235	ABALLA Najoua	Pr Ass	Chirurgie pédiatrique
236	MOUGUI Ahmed	Pr Ass	Rhumatologie
237	SAHRAOUI Houssam Eddine	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
238	AABBASSI Bouchra	Pr Ass	Pédopsychiatrie
239	SBAI Asma	Pr Ass	Informatique
240	HAZIME Raja	Pr Ass	Immunologie
241	CHEGGOUR Mouna	Pr Ass	Biochimie
242	RHEZALI Manal	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
243	ZOUITA Btissam	Pr Ass	Radiologie
244	MOULINE Souhail	Pr Ass	Microbiologie-virologie
245	AZIZI Mounia	Pr Ass	Néphrologie
246	BENYASS Youssef	Pr Ass	Traumato-orthopédie
247	BOUHAMIDI Ahmed	Pr Ass	Dermatologie
248	YANISSE Siham	Pr Ass	Pharmacie galénique
249	DOULHOUSNE Hassan	Pr Ass	Radiologie
250	KHALLIKANE Said	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
251	BENAMEUR Yassir	Pr Ass	Médecine nucléaire
252	ZIRAOUI Oualid	Pr Ass	Chimie thérapeutique
253	IDALENE Malika	Pr Ass	Maladies infectieuses
254	LACHHAB Zineb	Pr Ass	Pharmacognosie
255	ABOUDOURIB Maryem	Pr Ass	Dermatologie
256	AHBALA Tariq	Pr Ass	Chirurgie générale
257	LALAOUI Abdessamad	Pr Ass	Pédiatrie



258	ESSAFTI Meryem	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
259	RACHIDI Hind	Pr Ass	Anatomie pathologique
260	FIKRI Oussama	Pr Ass	Pneumo-phtisiologie
261	EL HAMDAOUI Omar	Pr Ass	Toxicologie
262	EL HAJJAMI Ayoub	Pr Ass	Radiologie
263	BOUMEDIANE El Mehdi	Pr Ass	Traumato-orthopédie
264	RAFI Sana	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
265	JEBRANE Ilham	Pr Ass	Pharmacologie
266	LAKHDAR Youssef	Pr Ass	Oto-rhino-laryngologie
267	LGHABI Majida	Pr Ass	Médecine du Travail
268	AIT LHAJ El Houssaine	Pr Ass	Ophthalmologie
269	RAMRAOUI Mohammed-Es-said	Pr Ass	Chirurgie générale
270	EL MOUHAFID Faisal	Pr Ass	Chirurgie générale
271	AHMANNA Hussein-choukri	Pr Ass	Radiologie
272	AIT M'BAREK Yassine	Pr Ass	Neurochirurgie
273	ELMASRIOUI Joumana	Pr Ass	Physiologie
274	FOURA Salma	Pr Ass	Chirurgie pédiatrique
275	LASRI Najat	Pr Ass	Hématologie clinique
276	BOUKTIB Youssef	Pr Ass	Radiologie
277	MOUROUTH Hanane	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
278	BOUZID Fatima zahrae	Pr Ass	Génétique
279	MRHAR Soumia	Pr Ass	Pédiatrie
280	QUIDDI Wafa	Pr Ass	Hématologie
281	BEN HOUMICH Taoufik	Pr Ass	Microbiologie-virologie
282	FETOUI Imane	Pr Ass	Pédiatrie
283	FATH EL KHIR Yassine	Pr Ass	Traumato-orthopédie
284	NASSIRI Mohamed	Pr Ass	Traumato-orthopédie
285	AIT-DRISS Wiam	Pr Ass	Maladies infectieuses
286	AIT YAHYA Abdelkarim	Pr Ass	Cardiologie
287	DIANI Abdelwahed	Pr Ass	Radiologie
288	AIT BELAID Wafae	Pr Ass	Chirurgie générale
289	ZTATI Mohamed	Pr Ass	Cardiologie
290	HAMOUCHE Nabil	Pr Ass	Néphrologie

291	ELMARDOULI Mouhcine	Pr Ass	Chirurgie Cardio-vasculaire
292	BENNIS Lamiae	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
293	BENDAOUD Layla	Pr Ass	Dermatologie
294	HABBAB Adil	Pr Ass	Chirurgie générale
295	CHATAR Achraf	Pr Ass	Urologie
296	OUMGHAR Nezha	Pr Ass	Biophysique
297	HOUMAID Hanane	Pr Ass	Gynécologie-obstétrique
298	YOUSFI Jaouad	Pr Ass	Gériatrie
299	NACIR Oussama	Pr Ass	Gastro-entérologie
300	BABACHEIKH Safia	Pr Ass	Gynécologie-obstétrique
301	ABDOURAFIQ Hasna	Pr Ass	Anatomie
302	TAMOUR Hicham	Pr Ass	Anatomie
303	IRAQI HOUSSAINI Kawtar	Pr Ass	Gynécologie-obstétrique
304	EL FAHIRI Fatima Zahrae	Pr Ass	Psychiatrie
305	BOUKIND Samira	Pr Ass	Anatomie
306	LOUKHNATI Mehdi	Pr Ass	Hématologie clinique
307	ZAHROU Farid	Pr Ass	Neurochirurgie
308	MAAROUFI Fathillah Elkarim	Pr Ass	Chirurgie générale
309	EL MOUSSAOUI Soufiane	Pr Ass	Pédiatrie
310	BARKICHE Samir	Pr Ass	Radiothérapie
311	ABI EL AALA Khalid	Pr Ass	Pédiatrie
312	AFANI Leila	Pr Ass	Oncologie médicale
313	EL MOULOUA Ahmed	Pr Ass	Chirurgie pédiatrique
314	LAGRINE Mariam	Pr Ass	Pédiatrie
315	OULGHOUL Omar	Pr Ass	Oto-rhino-laryngologie
316	AMOCH Abdelaziz	Pr Ass	Urologie
317	ZAHLAN Safaa	Pr Ass	Neurologie
318	EL MAHFOUDI Aziz	Pr Ass	Gynécologie-obstétrique
319	CHEHBOUNI Mohamed	Pr Ass	Oto-rhino-laryngologie
320	LAIRANI Fatima ezzahra	Pr Ass	Gastro-entérologie
321	SAADI Khadija	Pr Ass	Pédiatrie
322	DAFIR Kenza	Pr Ass	Génétique
323	CHERKAOUI RHAZOUANI Oussama	Pr Ass	Neurologie

324	ABAINOU Lahoussaine	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
325	BENCHANNA Rachid	Pr Ass	Pneumo-phtisiologie
326	TITOU Hicham	Pr Ass	Dermatologie
327	EL GHOUL Naoufal	Pr Ass	Traumato-orthopédie
328	BAHI Mohammed	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
329	RAITEB Mohammed	Pr Ass	Maladies infectieuses
330	DREF Maria	Pr Ass	Anatomie pathologique
331	ENNACIRI Zainab	Pr Ass	Psychiatrie
332	BOUSSAIDANE Mohammed	Pr Ass	Traumato-orthopédie
333	JENDOUI Omar	Pr Ass	Urologie
334	MANSOURI Maria	Pr Ass	Génétique
335	ERRIFAIY Hayate	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
336	BOUKOUB Naila	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
337	OUACHAOU Jamal	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
338	EL FARGANI Rania	Pr Ass	Maladies infectieuses
339	IJIM Mohamed	Pr Ass	Pneumo-phtisiologie
340	AKANOUR Adil	Pr Ass	Psychiatrie
341	ELHANAFI Fatima Ezzohra	Pr Ass	Pédiatrie
342	MERBOUH Manal	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
343	BOUROUMANE Mohamed Rida	Pr Ass	Anatomie
344	IJDDA Sara	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques

LISTE ARRETEE LE 09/01/2024



# **DÉDICACES**



*Ce moment est l'occasion d'adresser mes remerciements  
et ma reconnaissance et de dédier cette thèse.....*



***Je dédie cette Thèse***

اللَّهُ

اللَّهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ حَمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه، اللَّهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ كما ينبغي لجلال  
وجهك وعظيم سلطانك، اللَّهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ حمد خلقك ورضى نفسك ووزنك وعرشك  
ومداد كلماتك، اللَّهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ حتى ترضى ولك الحمد على الرضى

*A la mémoire de mon père Aïssa oubraïm*

*Dédicace à l'homme de ma vie, à mon père qui n'a pas pu voir mon travail : Merci pour cette vie que tu m'as offerte, ton amour et ta présence me manquent. Aujourd'hui, comme chaque jour, je te suis reconnaissante de ce que je suis et de ce que je deviendrai. Aucun mot ne peut exprimer l'amour immense que je ressens pour toi ni la gratitude profonde que j'éprouve pour tous tes efforts et sacrifices.*

*Je t'aimerai jusqu'à la fin de mes jours.*

*A la plus belle maman du monde*

*À ma mère, qui illumine mes jours, qui est ma vie et mon bonheur, je te remercie infiniment pour tout. Merci pour les leçons que tu m'as enseignées, pour ton dévouement, ta tendresse, et ta constante disponibilité. Merci pour ton soutien inconditionnel, tes précieux conseils, ton énergie positive, et pour être toujours là pour moi. Ton amour éternel est un cadeau inestimable. Je ne pourrais jamais assez te remercier pour tout ce que tu fais pour moi. Que Dieu te bénisse, te donne une longue vie remplie de santé, de bonheur et de joie.*

*Tu es chère à mon cœur, je t'aime infiniment...*

### *A mes chers frères : Rachid et Jamal*

*Trouver les mots pour exprimer toute mon affection, mes pensées, l'amour et le respect que j'ai pour vous est une tâche difficile. Vous avez toujours été là pour moi, m'entourant de votre affection et de votre générosité. Un simple "merci" ne suffit pas pour vous exprimer ma gratitude. Que cette modestie soit un témoignage de ma reconnaissance envers vous. Je prie sincèrement que Dieu Tout-Puissant vous accorde santé et bonheur, et vous aide à réaliser tous vos désirs.*

### *A mon âme sœur Saïda*

*À travers ces mots, je ne peux totalement exprimer l'étendue de mon amour pour toi. Ton soutien et tes encouragements tout au long de mes années d'études ont été inestimables. Ta présence à mes côtés pour me reconforter a été constante. Je te souhaite une vie remplie de bonheur et de succès, et je prie que Dieu, Tout-Puissant, veille sur toi et te protège.*

### *A ma chère sœur Khadija*

*Tu as été une amie véritable pour moi. Les mots me manquent pour exprimer pleinement ma gratitude et les sentiments que j'ai pour toi. Je t'offre ce travail en te souhaitant une abondance de bonheur et de réussite.*



*A mes très chères sœurs Fatima et Karima*

*Je suis à court de mots pour exprimer toute ma gratitude envers vous pour tout ce que vous avez fait pour moi. Votre soutien inébranlable tout au long de mon parcours a été précieux. Que ce travail soit le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux. Avec tout mon amour.*

*Mes frères et mes sœurs, Vous êtes le plus précieux cadeau que mes parents m'ont offert. Aucun mot ne saura exprimer l'immense amour que je vous porte.*

*A mes nièces et mes neveux adorables*

*Je vous offre ce travail comme un témoignage de l'amour que je vous porte. Que Dieu veille sur chacun de vous, vous protège, vous préserve, vous comble de bonheur et de réussite, et vous guide dans la réalisation de vos rêves.*

*A mes belles sœurs : Latifa et Meryem*

*Merci de m'avoir accueilli chaleureusement, de m'avoir considéré comme une sœur. Que Dieu vous procure bonheur et prospérité.*

*A mon mari Mohamed*

*Il est difficile de résumer en quelques mots tout ce que je ressens pour toi. Que ce travail soit le témoignage de ma profonde gratitude, de mon amour et de mon estime envers toi. Merci pour ta tendresse et ton soutien constants.*

*A mes très chères amies Maryem, Asma et Noura*

*On a commencé ensemble, et nous voilà en train de tracer nos chemins ensemble. On a partagé énormément de bons moments, pleins de souvenirs et pleins de fous rires. Puisse dieu nous garder toujours ensemble et unies. Je vous souhaite plein de bonheur et de réussite.*

*A mes chères amies Nada et Nadia*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.*

*A mes chères amie Mouna et Hasna*

*Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apporté. Je ne vous oublierai jamais et j'espère que la vie, nous permettra de nous revoir plus souvent.*

*A tous ceux qui me sont chers et à tous ceux qui n'ont pu être nommé par oubli, je peux vous garantir toute ma reconnaissance*



# **REMERCIEMENTS**



*À notre maître et Présidente de thèse Professeur CHELLAK  
Salîha. Professeur de l'enseignement supérieur de Biochimie-  
chimie à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech*

*Nous sommes très sensibles au grand honneur que vous nous  
faites en acceptant avec bienveillance de présider notre jury de  
thèse. Nous avons eu le privilège d'être un de vos élèves. Nous  
avons toujours admiré la simplicité et la facilité de votre abord  
et largement bénéficié de l'étendue de votre savoir et de vos  
hauts talents pédagogiques. Vos hautes qualités humaines et  
professionnelles ainsi que votre sérieux ont toujours suscité  
notre profond respect. Veuillez trouver dans ce travail, les  
marques de notre profonde gratitude et l'expression d'une  
reconnaissance infinie.*

*À notre maître et rapporteur de thèse Professeur CHAKOUR  
Mohamed. Professeur de l'enseignement supérieur  
d'Hématologie Biologique à l'hôpital militaire Avicenne de  
Marrakech*

*La confiance que vous avez manifestée en me confiant ce  
travail me touche profondément. Vous m'avez guidé et soutenu  
tout au long de cette thèse avec une attention, une indulgence  
et une bonne humeur remarquables. Votre amabilité, vos  
compétences et surtout vos qualités humaines ont eu un impact  
significatif sur moi. Pour tout ce que vous m'avez enseigné  
avec patience et passion, je vous adresse, cher Maître,  
l'expression de ma plus profonde considération. Que ma thèse  
puisse vous honorer et vous rendre fier.*

*À notre maître et juge de thèse Professeur KADDOURI Saïd.  
Professeur de l'enseignement supérieur de Médecine interne à  
l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech*

*Nous vous exprimons notre gratitude pour avoir accepté de  
juger ce travail, ce qui nous honore grandement. Nous vous  
sommes reconnaissants pour le savoir que vous avez partagé  
avec nous. Votre présence parmi nous est un honneur. Recevez  
ici l'expression de notre profond respect et de notre plus haute  
estime.*

*À notre maître et juge de thèse Professeure LAHLIMI Fatima  
Ezzahra. Professeur agrégé d'hématologie clinique au centre  
hospitalier universitaire Mohammed VI de Marrakech*

*Je vous suis profondément reconnaissante d'avoir accepté de  
faire partie du jury. Je vous remercie d'apporter votre  
expérience et vos connaissances à l'évaluation de ce travail.  
Permettez-moi de vous présenter à travers cette thèse le  
témoignage de mon grand respect et l'expression de ma  
profonde reconnaissance.*

*À notre Professeur YAHYAOUI Hicham Professeur de  
l'enseignement supérieur d'Hématologie Biologique à l'hôpital  
militaire Avicenne de Marrakech*

*Pour l'attention que vous avez bien voulu me témoigner en  
acceptant de co-diriger cette thèse, pour toute votre aide, votre  
implication, votre grande disponibilité et votre gentillesse. Je  
vous prie de recevoir en retour le témoignage de ma plus  
grande reconnaissance.*



# **GRAPHIQUES ET DES FIGURES**



# Liste des graphiques

- GRAPHIQUE 1** : REPARTITION DE LA POPULATION TOTALE SELON LE SEXE.
- GRAPHIQUE 2** : REPARTITION DE LA POPULATION ACC POSITIF SELON LE SEXE.
- GRAPHIQUE 3** : REPARTITION DE LA POPULATION TOTALE SELON LES TRANCHES D'AGE.
- GRAPHIQUE 4** : REPARTITION DE LA POPULATION ACC POSITIF SELON LES TRANCHES D'AGE.
- GRAPHIQUE 5** : REPARTITION DES PATIENTS SELON LES SERVICES DEMANDEURS.
- GRAPHIQUE 6** : INDICATIONS DE RECHERCHE DES ACC.
- GRAPHIQUE 7** : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE RESULTAT DU TCA.
- GRAPHIQUE 8** : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE RATIO TCA.
- GRAPHIQUE 9** : REPARTITION SELON LE RESULTAT DE L'INDICE DE ROSNER (IR).
- GRAPHIQUE 10** : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE RESULTAT DU TQ.
- GRAPHIQUE 11** : REPARTITION DES RESULTATS DE DRVVTS.
- GRAPHIQUE 12** : REPARTITION DES RESULTATS DU RATIO DRVVTS.
- GRAPHIQUE 13** : REPARTITION SELON LES RESULTATS DE DRVVTC.
- GRAPHIQUE 14** : REPARTITION DES RESULTATS DU RATIO DRVVTC.
- GRAPHIQUE 15** : REPARTITION SELON LE RATIO NORMALISE.
- GRAPHIQUE 16** : RESULTATS DU RATIO TCA ET DU RATIO NORMALISE (DRVVT) CHEZ LES PATIENTS SOUS HBPM.
- GRAPHIQUE 17** : RESULTATS DU RATIO TCA ET DU RATIO NORMALISE (DRVVT) PAR RAPPORT A LA VALEUR DE L'INR DANS LES ECHANTILLONS DES PATIENTS SOUS AVK.
- GRAPHIQUE 18** : RESULTATS DU RATIO TCA ET DU RATIO NORMALISE (DRVVT) CHEZ LES PATIENTS SOUS ANTICOAGULANT ORAUX DIRECTS (AOD).
- GRAPHIQUE 19** : REPARTITION DES PATIENTS SELON LA POSITIVITE DES ACC.
- GRAPHIQUE 20** : REPARTITION SELON LES COAGULOPATHIES ASSOCIEES CHEZ LA POPULATION ACC POSITIF.
- GRAPHIQUE 21** : ANTECEDENTS LES PLUS FREQUEMMENT OBSERVES DANS NOTRE SERIE ET DANS LA LITTERATURE.

# Liste des figures

- FIGURE 1** : AUTOMATE SYSMEX CS-2100I UTILISE POUR LA DETECTION DES ACC DANS LE LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE HMA.
- FIGURE 2** : STRUCTURE ET COMPOSITION DE LA PAROI VASCULAIRE.
- FIGURE 3** : REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UNE PLAQUETTE.
- FIGURE 4** : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA BIOSYNTHESE DU VWF DANS LA CELLULE ENDOTHELIALE.
- FIGURE 5** : SCHEMA DU FIBRINOGENE.
- FIGURE 6** : ADHESION PLAQUETTAIRE.
- FIGURE 7** : ACTIVATION PLAQUETTAIRE.
- FIGURE 8** : AGREGATION PLAQUETTAIRE.
- FIGURE 9** : PHASES SUCCESSIVES DE LA FORMATION DU THROMBUS BLANC : ADHESION, ACTIVATION ET AGREGATION.
- FIGURE 10** : INHIBITEURS PHYSIOLOGIQUES DE LA COAGULATION.
- FIGURE 11** : MECANISMES D'INHIBITION DE LA REACTION INITIALE DE LA COAGULATION SANGUINE PAR LE TFPI A LA SURFACE DES CELLULES.
- FIGURE 12** : SCHEMA DE LA COAGULATION.
- FIGURE 13** : PHASE D'INITIATION DE LA COAGULATION.
- FIGURE 14** : PHASES DE LA COAGULATION.
- FIGURE 15** : REPRESENTATION DU CIRCUIT DEPUIS LA PRESCRIPTION JUSQU'A L'INTERPRETATION DE L'ANALYSE.
- FIGURE 16** : EXPLORATION DE LA COAGULATION IN VITRO.
- FIGURE 17** : ACTIVEURS ET INHIBITEURS PHYSIOLOGIQUES DE LA FIBRINOLYSE.
- FIGURE 18** : STRUCTURE DU FVIII.
- FIGURE 19** : MECANISMES D'ACTION DES ANTICORPS ANTI-FVIII.
- FIGURE 20** : METHODES DE DETECTION ET DE TITRAGE DES ANTICORPS ANTI-FVIII PAR LA METHODE BETHESDA.
- FIGURE 21** : STRUCTURE DU FACTEUR IX.
- FIGURE 22** : HETEROGENEITE DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES.
- FIGURE 23** : DATES CLES DANS L'HISTOIRE DU SAPL.
- FIGURE 24** : SITES EPITOPIQUES RECONNUS PAR LES ANTICORPS ANTI-B2 GLYCOPROTEINE I.
- FIGURE 25** : MODELE D'INACTIVATION DU SYSTEME PROTEINE C/PROTEINE S PAR LES ANTI-B2GPI.
- FIGURE 26** : MODELE DE SENSIBILISATION DES PLAQUETTES A LEURS AGONISTES PAR LES ANTI-B2GPI.
- FIGURE 27** : MODELE GENERAL D'ACTIVATION CELLULAIRE PAR LES ANTI-B2GPI.



- FIGURE 28 :** MODELE D'ACTIVATION DES CELLULES ENDOTHELIALES PAR LES ANTI- B2GPI.
- FIGURE 29 :** MODELE D'ACTIVATION DES MONOCYTES PAR LES ANTI- B2GPI.
- FIGURE 30 :** PHYSIOPATHOLOGIE DES THROMBOSES VEINEUSES ET ARTERIELLES DANS LE SAPL.
- FIGURE 31 :** PHYSIOPATHOLOGIE DANS LES COMPLICATIONS OBSTETRIQUES DU SAPL.
- FIGURE 32 :** CRITERES DE CLASSIFICATION ACR/EULAR DU SAPL.
- FIGURE 33 :** MECANISMES IMPLIQUES DANS LES MANIFESTATIONS CLINIQUES DU SAPL.
- FIGURE 34 :** ALGORITHME DECISIONNEL POUR METTRE EN EVIDENCE UN LUPUS ANTICOAGULANT.
- FIGURE 35 :** PRINCIPE DU TEST DRVVT.
- FIGURE 36 :** ANTICORPS DETECTES PAR L'ELISA ACL.
- FIGURE 37 :** DEUX FORMES DE LA PROTEINE BETA 2-GLYCOPROTEINE I (B2GPI).
- FIGURE 38 :** AC DETECTES PAR ELISA B2GPI.
- FIGURE 39 :** DIFFERENTES ALGORITHMES POSSIBLES POUR LA DETECTION DE L'ANTICOAGULANT CIRCULANT LUPIQUE.
- FIGURE 40 :** METHODES DE NEUTRALISATION DES ANTICOAGULANTS ORAUX DIRECTS (AOD) DANS LES TESTS DE COAGULATION.
- FIGURE 41 :** HIERARCHIES DES TESTS SUGGEREES POUR LES PATIENTS ANTICOAGULES.
- FIGURE 42 :** COMPARAISON ENTRE LES CRITERES DE SYDNEY 2006 ET LES CRITERES ACR/EULAR DE 2023.



**LISTE DES TABLEAUX**



## Liste des tableaux

<b>TABLEAU I</b>	:	VALEURS DE REFERENCE DU DRVVT.
<b>TABLEAU II</b>	:	REPARTITION DES PATIENTS SELON LES ANTECEDENTS.
<b>TABLEAU III</b>	:	POURCENTAGE DE DETECTION DES ACC PAR LES TESTS D'HEMOSTASE.
<b>TABLEAU IV</b>	:	FACTEURS DE LA COAGULATION.
<b>TABLEAU V</b>	:	CLASSIFICATION CLINIQUES DU SAPL.
<b>TABLEAU VI</b>	:	CRITERES DE CLASSIFICATION DU CAPS.
<b>TABLEAU VII</b>	:	INTERPRETATION DES VALEURS SELON LE TEST UTILISE.
<b>TABLEAU VIII</b>	:	COMPARAISON SELON LE SEXE DANS NOTRE SERIE ET D'AUTRES SERIES DE LA LITTERATURE.
<b>TABLEAU IX</b>	:	COMPARAISON SELON L'AGE MOYEN DANS NOTRE SERIE ET LES AUTRES SERIES DE LA LITTERATURE.
<b>TABLEAU X</b>	:	METHODE DE POURCENTAGE DE CORRECTION.
<b>TABLEAU XI</b>	:	METHODES DE SOUSTRACTION ET DE RATIO UTILISEES DANS L'INTERPRETATION DU TEST DE MELANGE.
<b>TABLEAU XII</b>	:	EFFETS DES ANTICOAGULANTS SUR LES TESTS DES ACC.
<b>TABLEAU XIII</b>	:	POURCENTAGES DE DETECTION DE L'ACC PAR LES TESTS.
<b>TABLEAU XIV</b>	:	DERNIERES RECOMMANDATIONS DE L'ISTH-SSC CONCERNANT LA DETECTION DES ACC.
<b>TABLEAU XV</b>	:	NOUVEAUX CRITERES DE CLASSIFICATIONS DU SAPL PUBLIES EN 2023.



# **ABRÉVIATIONS**



## Liste des abréviations

<b>AC</b>	:	Anticoagulant
<b>ACC</b>	:	Anticoagulant circulant
<b>aCL</b>	:	Anticorps anticardiolipine
<b>ACR</b>	:	American College of Rheumatology
<b>ADP</b>	:	Adénosine diphosphate
<b>AOD</b>	:	Anticoagulants oraux directs
<b>APC</b>	:	Protéine C activée
<b>aPC</b>	:	Anticorps antiphosphatidylcholine
<b>aPE</b>	:	Antiphosphatidyl-éthanolamine
<b>aPL</b>	:	Antiphospholipide
<b>ApoER2'</b>	:	Récepteur 2' de l'apolipoprotéine E
<b>aPT</b>	:	Anticorps antiprothrombine
<b>AT</b>	:	Antithrombine
<b>AVK</b>	:	Antagoniste de la vitamine K
<b>β2GPI</b>	:	Bêta2-glycoprotéine I
<b>BSH</b>	:	British Society of Hematology
<b>CAPS</b>	:	Syndrome antiphospholipide catastrophique
<b>CIVD</b>	:	Coagulation intravasculaire disséminée
<b>CLSI</b>	:	Clinical and laboratory standards institute
<b>CRP</b>	:	Protéine C-réactive
<b>dRVVT</b>	:	Temps dilué du venin de vipère de Russell
<b>dRVVTC</b>	:	dRVVT confirm (confirmation)
<b>dRVVTs</b>	:	dRVVT screen (dépistage)
<b>EBV</b>	:	Virus Epstein-Barr
<b>EPCR</b>	:	Endothelial protein C receptor
<b>EULAR</b>	:	European league against rheumatism
<b>GP</b>	:	Glycoprotéine

<b>HBPM</b>	:	Héparine de bas poids moléculaire
<b>ICA</b>	:	Indice de l'anticoagulant circulant
<b>INR</b>	:	International normalized ratio
<b>IR</b>	:	Indice de Rosner
<b>ISTH</b>	:	International Society on Thrombosis and Haemostasis
<b>KHPM</b>	:	kininogènes de haut poids moléculaire
<b>LA</b>	:	Lupus anticoagulant
<b>LED</b>	:	Lupus érythémateux disséminé
<b>LES</b>	:	Lupus érythémateux systémique
<b>MTEV</b>	:	Maladie thromboembolique veineuse
<b>NO</b>	:	Monoxyde d'azote
<b>OR</b>	:	Odds ratio
<b>PAI</b>	:	Plasminogen activator inhibitor
<b>Pas</b>	:	Activateurs du plasminogène
<b>PC</b>	:	Protéine C
<b>PDF</b>	:	Produits de dégradation de fibrine
<b>PGI2</b>	:	Prostaglandine I2
<b>PK</b>	:	Prékallicréine
<b>PL</b>	:	Phospholipide
<b>PLA2</b>	:	Phospholipase A2
<b>PNP</b>	:	Pooled normal plasma
<b>PS</b>	:	Protéine S
<b>SAPL</b>	:	Syndrome antiphospholipide
<b>SSC</b>	:	Scientific Steering Committee
<b>TCA</b>	:	Temps de céphaline avec activateur
<b>TEV</b>	:	Thromboembolie veineuse
<b>TF</b>	:	Facteur tissulaire
<b>TFPI</b>	:	Inhibiteur du facteur tissulaire
<b>TIH</b>	:	Thrombopénie induite par l'héparine

<b>TLR</b>	:	Toll-like récepteur
<b>TP</b>	:	Taux de prothrombine
<b>t-PA</b>	:	Plasminogène type tissulaire
<b>tPA</b>	:	Tissue plasminogen activator
<b>TQ</b>	:	Temps de Quick
<b>TT</b>	:	Temps de thrombine
<b>TVP</b>	:	Thrombose veineuse profonde
<b>TXA2</b>	:	Thromboxane A2
<b>VIH</b>	:	Virus de l'immunodéficience humaine
<b>VWF</b>	:	Facteur de Von Willebrand



# **PLAN**





<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>PATIENTS &amp; METHODES</b>	<b>4</b>
<b>I. Type et période d'étude</b>	<b>5</b>
<b>II. Sélection des patients</b>	<b>5</b>
1. Critères d'inclusion	5
2. Critères d'exclusion	5
<b>III. Méthodes</b>	<b>5</b>
1. Cadre d'étude	5
2. Recueil des données	6
3. Analyse des données	6
4. Moyens diagnostiques au laboratoire d'hématologie	7
<b>RESULTATS</b>	<b>12</b>
<b>I. Etude épidémiologique</b>	<b>13</b>
1. Nombre de cas colligés	13
2. Répartition selon le sexe	13
3. Répartition selon l'âge	14
4. Répartition selon les services demandeurs	15
<b>II. Répartition selon les antécédents</b>	<b>16</b>
<b>III. Répartition selon les indications de recherche des ACC</b>	<b>17</b>
<b>IV. Diagnostic des ACC</b>	<b>18</b>
1. Exploration de la voie intrinsèque de la coagulation	18
2. Exploration de la voie extrinsèque de la coagulation	20
3. Exploration de la voie commune de la coagulation	20
4. Détection des ACC chez les patients sous anticoagulants	23
<b>V. Pourcentage de détection de l'ACC par les tests</b>	<b>25</b>
1. TCA	25
2. Temps de quick	25
3. dRVVT	25
<b>VI. Recherche d'une coagulopathie associée</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSSION</b>	<b>28</b>
<b>Partie I : Rappels</b>	<b>29</b>
<b>I. Rappels physiologiques sur l'hémostase</b>	<b>29</b>
1. Introduction	29
2. Hémostase primaire	29
3. Coagulation (Hémostase secondaire)	39
4. Fibrinolyse	60
<b>II. Rappels physiopathologiques</b>	<b>62</b>

1. Anticoagulants circulants	62
2. Anticorps antiphospholipides	73
<b>III. Syndrome des antiphospholipides (SAPL)</b>	<b>94</b>
1. Définition	94
2. Critères diagnostiques : Cliniques et biologiques	95
3. Autres manifestations hors critères	102
4. Syndrome catastrophique des anticorps antiphospholipides CAPS	103
<b>IV. Exploration au laboratoire</b>	<b>105</b>
1. Anticoagulant circulant de type lupique	105
2. Autres anticorps antiphospholipides	112
<b>Partie II : Discussion de nos résultats</b>	<b>116</b>
<b>I. Données épidémiologiques</b>	<b>116</b>
1. Sexe	116
2. Âge	117
<b>II. Antécédents</b>	<b>119</b>
<b>III. Indications de recherche des ACC</b>	<b>122</b>
<b>IV. Diagnostic des ACC : Etape pré-analytique</b>	<b>124</b>
<b>V. Diagnostic des ACC : Etape analytique</b>	<b>127</b>
1. Précautions et algorithmes	127
2. Exploration en fonction des 3 voies de la coagulation	138
3. Cas particuliers de détection des ACC chez les patients sous anticoagulants	148
<b>VI. Diagnostic des ACC : Etape post-analytique</b>	<b>155</b>
1. Valeur seuil	155
2. Interprétation et validation des résultats	156
3. Pourcentage de détection de l'ACC par les tests	157
<b>VII. Exclusion d'une coagulopathie associée</b>	<b>160</b>
<b>LIMITES ET RECOMMANDATIONS</b>	<b>162</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>172</b>
<b>ANNEXE</b>	<b>174</b>
<b>RESUMES</b>	<b>178</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>186</b>



# **INTRODUCTION**



Les anticoagulants (AC) sont des molécules qui inhibent le processus de la coagulation. Ils sont produits dans les conditions physiologiques normales comme l'antithrombine, la protéine C et S et l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (tissu factor pathway inhibitor : TFPI). Il existe aussi des AC auto anticorps trouvés dans le sang de certains patients sous certaines conditions pathologiques, et on parle des anticoagulants circulants (ACC) [1].

Les ACC sont des inhibiteurs acquis de la coagulation. C'est un groupe hétérogène de substances inhibitrices de la coagulation qui sont souvent de type IgG ou IgM, parfois les 2 en même temps, les types IgA sont rares. Nous distinguons deux groupes d'ACC selon leur spécificité : des ACC agissant spécifiquement sur les facteurs de coagulation (des anti-facteurs de la coagulation) et les ACC dirigés contre une phase de la coagulation. Ces derniers sont non spécifiques notamment les ACC de type lupique (lupus anticoagulant : LA) qui s'attaquent aux phospholipides (PLs) ou des protéines associées aux phospholipides.

Il est très important de les différencier car les inhibiteurs spécifiques anti-facteurs entraînent des hémorragies et les inhibiteurs de type antiphospholipides entraînent des thromboses. Les ACC ont une action anticoagulante in vitro et non in vivo : d'où une absence de risque hémorragique. Il est à noter que ces anticoagulants circulants allongent les tests de la coagulation dépendants des phospholipides [TCA (Temps de céphaline avec activateur) et/ou TP (Taux de prothrombine) et /ou TT (Temps de thrombine)] [2].

Dans notre étude, nous allons nous focaliser spécifiquement sur le lupus anticoagulant (LA).

Il est décrit pour la première fois en 1906 par Wassermann dans une étude menée sur des patients présentant des résultats sérologiques positifs pour la syphilis [3].

L'anticoagulant circulant de type lupique est un paramètre biologique fréquemment recherché au laboratoire. Sa présence persistante peut être responsable d'évènements thrombotiques et/ou de complications obstétricales justifiant la nécessité de sa détection.

Ainsi, il fait partie d'une entité clinico-biologique dénommée syndrome des antiphospholipides (SAPL). Sa mise en évidence, par des tests de coagulation, est complexe et peu standardisée tant au niveau pré-analytique, analytique que pour l'interprétation des résultats [4]. Les études multicentriques montrent qu'il y a encore trop de résultats rendus faussement positifs ou faussement négatifs, d'où le rôle important du biologiste dans l'interprétation des résultats et donc dans le diagnostic. Toutefois, il est indispensable d'identifier correctement les patients à risque. Leur prise en charge est capitale pour limiter la survenue de complications graves et de récidives.

Dans ce travail, nous proposons d'analyser les différentes méthodes utilisées dans le laboratoire d'hématologie HMA pour détecter les anticoagulants circulants lupiques. Nous soulignerons également l'importance de l'étape pré-analytique et post-analytique. Le but est de repérer les patients positifs au lupus anticoagulant, de prévenir ou de réduire la survenue des manifestations cliniques, notamment les thromboses et les fausses couches, de suivre leur progression dans le temps, de réduire les risques de rechute et d'aider le clinicien à proposer une prise en charge appropriée.

Les objectifs de notre travail sont :

- Eclaircir la méthodologie diagnostique des anticoagulants circulants.
- Montrer la gravité clinique : thromboses et fausses couches.

  
**PATIENTS & METHODES**  


## **I. Type et période d'étude :**

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 3 ans allant d'octobre 2021 à décembre 2023.

## **II. Sélection des patients :**

Trente huit patients avaient bénéficié d'une demande de recherche des ACC au laboratoire d'hématologie de l'hôpital militaire Avicenne (HMA) de Marrakech.

### **1. Critères d'inclusion :**

Dans notre étude, nous avons inclus les patients des deux sexes, présentant une suspicion de présence d'anticoagulant circulant à la suite de manifestations cliniques (thrombose vasculaire, manifestation obstétricale, maladie auto immune...), ou biologiques (découverte fortuite d'un allongement isolé du TCA au cours d'un bilan pré-opératoire, suivi de pathologie auto-immune ou bien au cours d'un bilan de santé).

### **2. Critères d'exclusion :**

Nous avons exclu de notre étude les anticoagulants circulants spécifiques à un facteur.

## **III. Méthodes :**

### **1. Cadre d'étude :**

Au sein du bloc des laboratoires se trouve le laboratoire d'hématologie qui se compose d'une unité de cyto-hématologie et d'une unité d'hémostase.

Le personnel se compose d'un professeur d'enseignement supérieur (chef de service), d'un professeur assistant, d'un médecin spécialiste, d'une équipe de médecins résidents et d'une équipe de techniciens.

L'activité démarre à 08 heures du matin. Les techniciens procèdent à la réception, la détection des non-conformités et à la centrifugation des prélèvements. Avant la réalisation des tests, un contrôle de qualité interne est obligatoire pour assurer une bonne fiabilité des résultats.

## **2. Recueil des données :**

Les données de cette étude rétrospective ont été collectées pour chaque patient par exploitation de son dossier médical.

Toutes les données ont été exploitées grâce à une fiche d'exploitation préétablie qui a permis de rassembler et d'analyser les principaux caractères épidémiologiques, cliniques et biologiques renseignés (Annexe 1). Cette fiche comportait les rubriques suivantes :

- Les données épidémiologiques : âge et sexe du patient
- Les antécédents
- Services demandeurs
- Les circonstances de découverte.
- L'exploration des voies de coagulation.

## **3. Analyse des données :**

La saisie des textes et des tableaux a été faite sur le logiciel Word 2019 et celle des graphiques sur le logiciel Origin Lab et Corel Draw 21. L'exploitation statistique a été réalisée sur : Microsoft Excel.



#### **4. Moyens diagnostiques au laboratoire d'hématologie :**

##### **4.1. Phase pré-analytique, analytique et post-analytique :**

###### **a. Phase pré-analytique :**

Qui comprend la prescription des éléments cliniques et thérapeutiques, le prélèvement d'un échantillon biologique sur le patient, l'étiquetage, le transport de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé, et éventuellement sa conservation.

###### **➤ Conditions pré-analytiques :**

La recherche des ACC a été réalisée sur des échantillons plasmatiques obtenus après une centrifugation du sang veineux prélevé sur un tube contenant une solution de citrate trisodique 0,109 M en respectant le rapport (1 volume de citrate pour 9 volumes de sang). S'ensuit une centrifugation : 5 minutes à 2500 g. Le traitement de l'échantillon se fait sans délai, sinon pas plus de quatre heures.

###### **b. Phase analytique :**

Est le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique, qui est précédée par des contrôles de qualité internes pour les tests à réaliser.

###### **c. Phase post-analytique :**

Elle permet l'interprétation contextuelle et la validation des résultats ainsi que leur communication appropriée au prescripteur.

##### **4.2. Tests biologiques :**

###### **a. Exploration de la voie intrinsèque de la coagulation par le TCA :**

Le test de dépistage des ACC utilisé est le TCA avec de la céphaline et de la silice comme activateur. Le TCA du patient a été considéré comme allongé lorsqu'il était supérieur au TCA témoin. Les résultats sont exprimés en temps de coagulation du plasma du patient (secondes) par rapport à celui d'un pool de plasmas normaux appelé «témoin». Ratio (TCA patient /TCA témoin) >1,20 chez l'adulte (Ratio physiologique TCA patient/TCA témoin <1,2).

Le TCA permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation de la voie intrinsèque (facteurs PK, KHPM, XII, XI, IX, VIII) et le tronc commun (V, II et X) ainsi que le fibrinogène.

Nous observons un allongement du TCA dans les cas suivants :

- Présence d'héparine :
  - Héparinothérapie
  - Contamination *ex vivo*
- Anticoagulant circulant (ACC) = Anticorps inhibiteur d'un facteur de la coagulation :
  - Anticorps antiphospholipides de type lupique
  - Anticorps anti FVIII ou anti FIX
  - Anticorps anti FXI ou anti FXII (plus rare)
- Déficit isolé d'un facteur de la coagulation :
  - Déficit en F VIII => Hémophilie A ou Willebrand
  - Déficit en F IX=> Hémophilie B
  - Déficit en F XI => maladie de Rosenthal
  - Déficit en facteur de la phase contact : XII, PK (Prékallicréine), KHPM (Kininogène de haut poids moléculaire)

➤ **Test de correction :**

Le test de correction a pour but de différencier entre un déficit en facteur et la présence d'un anticoagulant circulant. Cette épreuve de mélange est réalisée sur le temps de céphaline avec activateur.

La correction, ou la non-corrrection, du TCA est objectivée par le calcul de l'indice de Rosner (IR) de la manière suivante :  $IR = [(TCA \text{ mélange} - TCA \text{ témoin}) / TCA \text{ patient}] \times 100$

Nous estimons que le TCA est corrigé si l'indice de Rosner est inférieur à 12%. Il n'est pas corrigé si l'indice de Rosner est supérieur à 15%. Il existe une zone grise, une zone douteuse entre 12 et 15% où le test doit être refait. La correction du TCA lors de l'épreuve du mélange est en faveur d'un déficit en facteur de la coagulation. La non-corrrection du TCA oriente plutôt vers un ACC.

➤ **Test de neutralisation :**

Le test de neutralisation n'a pas été réalisé.

*b. Exploration de la voie extrinsèque de la coagulation par le temps de Quick :*

Le principe du temps de Quick (TQ) consiste à comparer, en présence de thromboplastine calcique, le temps de coagulation d'un plasma à étudier par rapport à un témoin normal servant de référence.

Le TQ permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de coagulation de la voie extrinsèque (facteur VII) et les facteurs du complexe prothrombinique (facteur II, facteur V et facteur X). Les résultats sont exprimés en secondes par rapport à un pool de plasmas témoin.

Le TTD n'a pas été réalisé pour nos patients.

*c. Exploration de la voie commune de la coagulation par le test dRVVT :*

Dans notre laboratoire, les échantillons ont été analysés par réalisation d'un test de détection de l'anticoagulant lupique qui est le dRVVT (le temps dilué du venin de vipère de Russell).

Le test du dRVVT, utilisant une trousse commerciale [LA1 screen/LA2confirm (Siemens)], a été réalisé en méthode intégrée, en accord avec les recommandations du fournisseur et de l'ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis). Les tests de dépistage (dRVVTscreen/dRVVTs) et de confirmation (dRVVTconfirm/dRVVTc) ont ainsi été effectués en parallèle. Les résultats ont été exprimés sous forme de Lupus anticoagulant ratio (LA ratio ou ratio dRVVT normalisé) :

$$\text{LA ratio} = \text{ratio dRVVT Screen} / \text{ratio dRVVT Confirm.}$$

Avec :

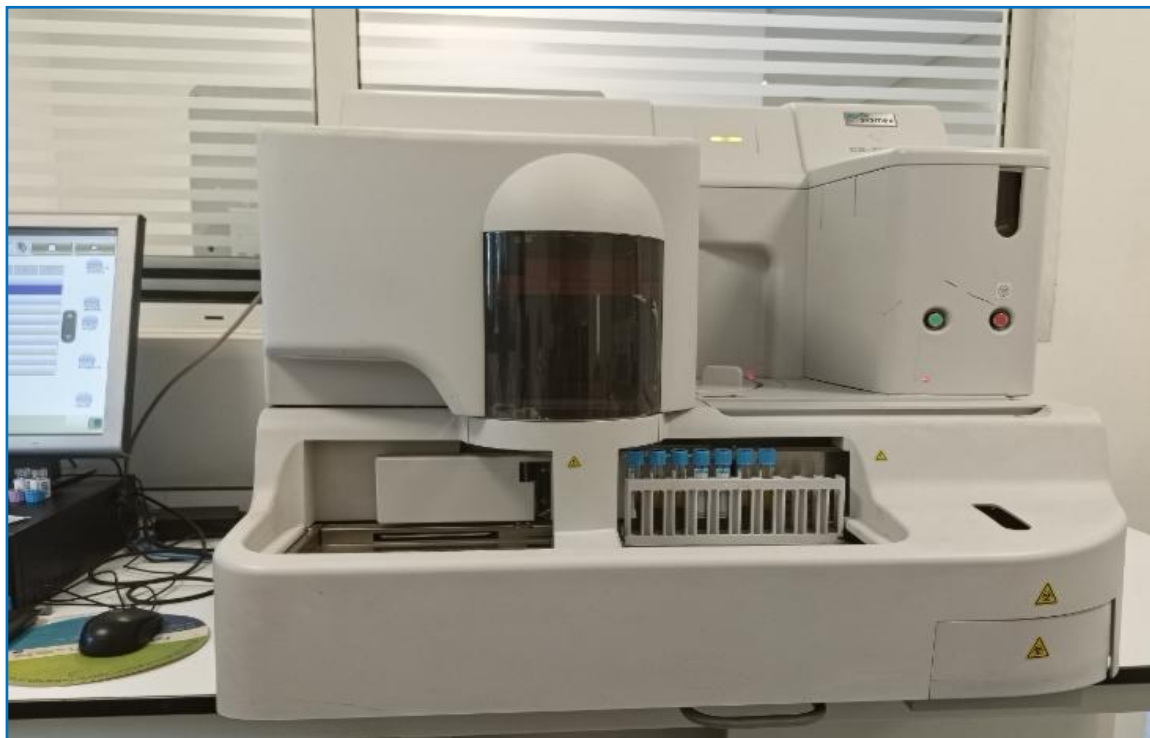
$$\text{Ratio dRVVTs} = \frac{\text{résultats du dRVVTs du patient (secondes)}}{\text{moyenne des valeurs normales dRVVTs (secondes)}}$$

$$\text{Ratio dRVVTc} = \frac{\text{résultats du dRVVTc du patient (secondes)}}{\text{moyenne des valeurs normales dRVVTc (secondes)}}$$

Les moyennes des valeurs normales du dRVVT screen et confirm ont été calculées à chaque changement de lot de réactif. Pour un lot de réactifs utilisé sur l'automate SYSMEX CS-2100i (Fig.1) durant la période de sélection des dossiers, les moyennes des temps témoins des dRVVT Screen et Confirm et les intervalles de référence des ratios ont été montrés sur le tableau I.

**Tableau I : Valeurs de référence du dRVVT.**

	Valeurs de référence
dRVVT Screen (sec)	30s
dRVVT Confirm (sec)	30s
Ratio dRVVT Screen	<1.20
Ratio dRVVT Confirm	<1.20
Seuil de positivité du LA ratio	≥ 1,20



**Figure 1 : Automate SYSMEX CS-2100i utilisé pour la détection des ACC dans le laboratoire d'hématologie HMA.**



## **RESULTATS**



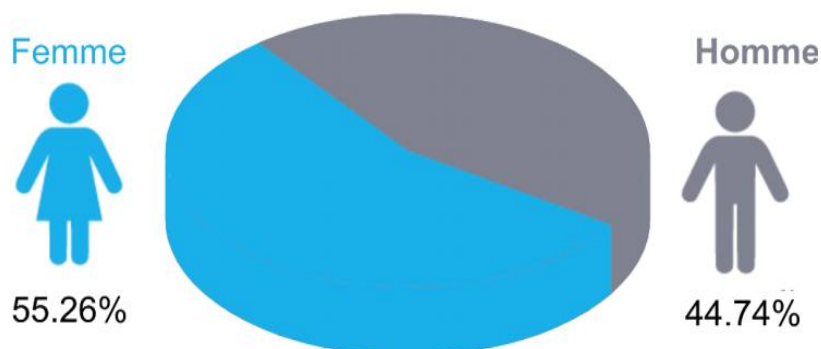
## I. Etude épidémiologique :

### 1. Nombre de cas colligés :

La présente étude est basée sur l'analyse des données médicales enregistrées au laboratoire d'hématologie HMA de Marrakech. Les dossiers de patients étudiés dans ce travail ont été collectés sur une période étalée sur trois ans, entre octobre 2021 à décembre 2023. Nous avons colligé 38 dossiers dont les patients ont eu une grande probabilité d'avoir un anticoagulant circulant lupique positif.

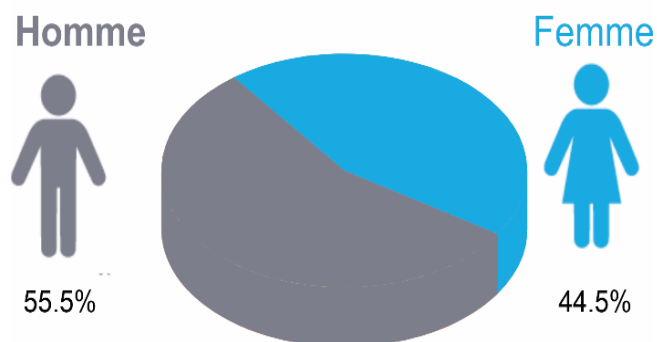
### 2. Répartition selon le sexe :

Nous avons étudié 38 dossiers, parmi eux 21 patients ont été des femmes et 17 des hommes, représentant respectivement 55,26% et 44,74% (Graphique1).



**Graphique 1 : Répartition de la population totale selon le sexe.**

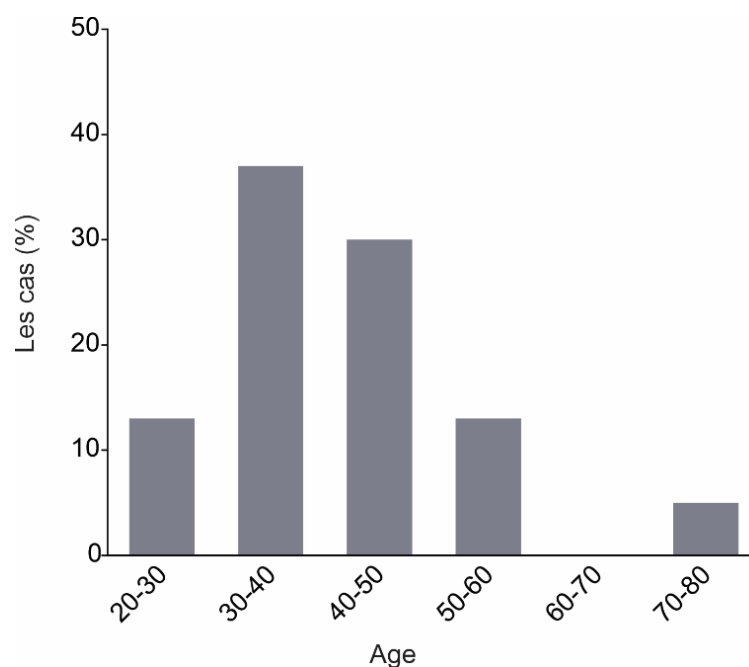
Sur l'ensemble des dossiers, la positivité des ACC a été observée chez 27 patients, dont 44,50% ont été des femmes et 55,50% des hommes, avec un sex-ratio hommes sur femmes (H/F) de 1,25 (Graphique 2).



**Graphique 2 : Répartition de la population ACC positif selon le sexe.**

### **3. Répartition selon l'âge :**

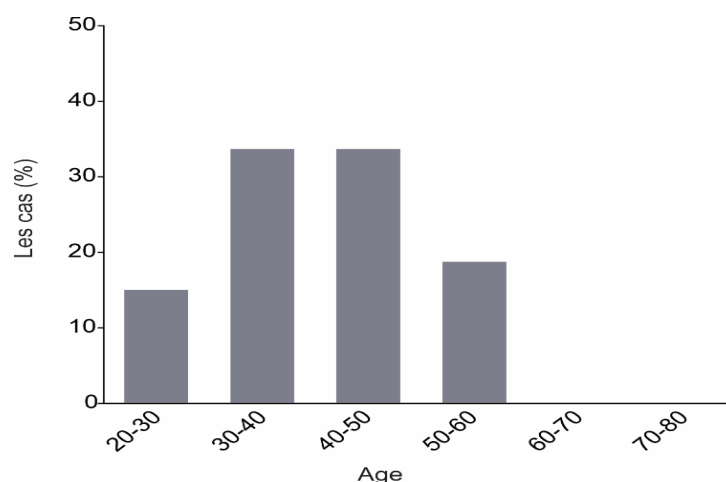
Dans cette étude, l'âge de la population totale au moment du diagnostic variait entre 20 et 74 ans, avec une moyenne d'âge de  $40,94 \pm 3$  ans (Graphique 3). Il convient de souligner que la grande majorité des patients (50%) avaient un âge inférieur à 40 ans.



**Graphique 3 : Répartition de la population totale selon les tranches d'âge.**

Alors que la moyenne d'âge de la sous population ACC positif était de 40,37 ans, et la plupart des cas positifs avaient un âge qui se situait entre 30 et 50 ans (Graphique 4).

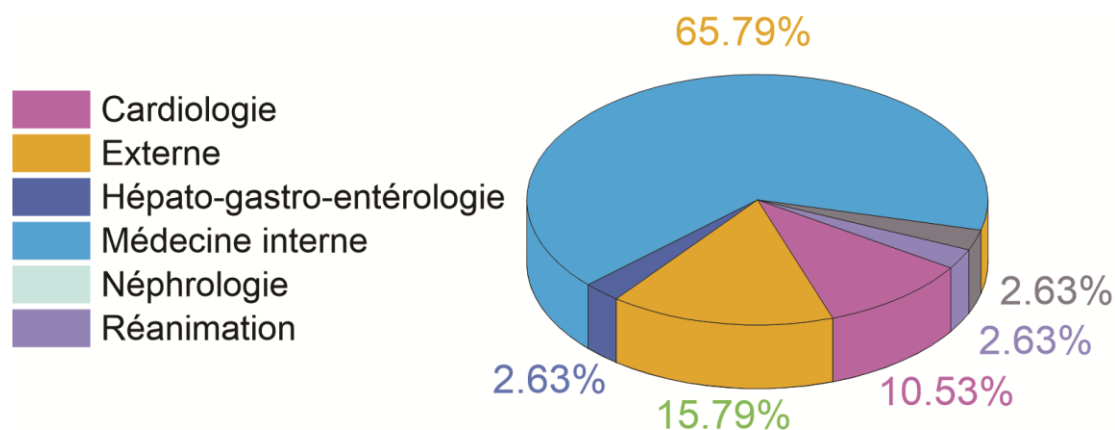




**Graphique 4 : Répartition de la population ACC positif selon les tranches d'âge.**

#### **4. Répartition selon les services demandeurs :**

La majorité des patients concernés par cette étude étaient suivis à l'HMA de Marrakech, 65,79% ont été pris en charge par le service de médecine interne, 10,53% par le service de cardiologie, 2,63% par le service de réanimation, 2,63% par le service de néphrologie, et 2,63% par le service d'hépto-gastro-entérologie. Le reste des patients soit 15,79% ont été reçus au laboratoire à titre externe (Graphique 5).



**Graphique 5 : Répartition des patients selon les services demandeurs.**

## II. Répartition selon les antécédents :

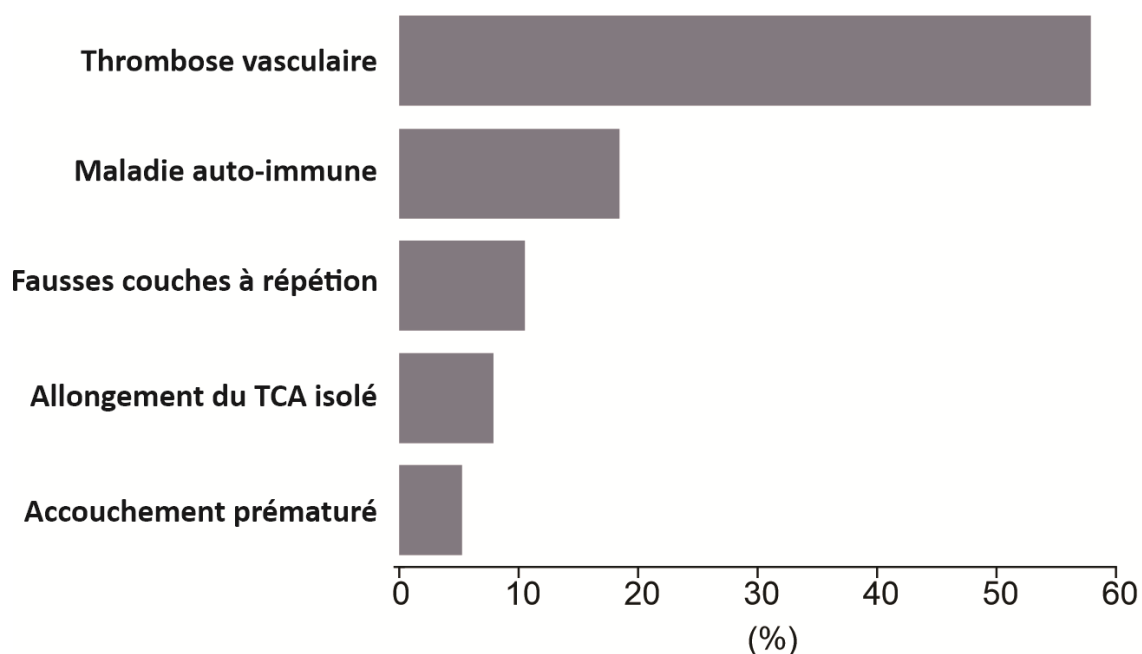
Dans notre population étudiée, 22 patients ont eu des antécédents personnels d'événements thromboemboliques avec une prédominance veineuse, soit 63,63% de la population. Chez les femmes, 8 patientes ont présenté des complications liées à la grossesse, dont deux femmes ont présenté des issues liées à la fois à la grossesse et aux thromboses. 11 patients ont eu des antécédents de maladies auto-immunes, dont quatre ont eu également des thromboses associées. Alors que la prise des anticoagulants a été observée chez 10 patients, dont 5 sous traitement antivitamine K (AVK), 3 sous anticoagulants oraux directs (AOD), et 2 sous héparine de bas poids moléculaire (HBPM) (Tab.II).

**Tableau II : Répartition des patients selon les antécédents.**

Antécédents	Population totale	Population avec un acc positif
Thromboemboliques	22	19
Thrombose veineuse profonde	11	10
Embolie pulmonaire	5	4
Accident vasculaire cérébral	3	2
Thrombose de la veine cave inférieure	2	2
Thrombose de la veine porte	1	1
Obstétriques	8	4
Fausse couche à répétition	6	4
Accouchement prématuré	2	0
Maladies auto-immunes	11	8
Lupus érythémateux disséminé	5	2
Behçet	4	4
Syndrome de Gougerot-Sjögren	1	1
Thyroïdite auto-immune	1	1
Prise médicamenteuse	10	8
AVK	5	4
AOD	3	3
HBPM	2	1

### III. Répartition selon les indications de recherche des ACC :

Les circonstances de la détection des ACC chez 57,89% des cas ont été des thromboses veineuses ou artérielles non provoquées et non expliquées et 18,43% des patients ont effectué la recherche de l'anticoagulant circulant lupique dans un contexte de maladies auto immunes (LES et thyroïdite auto-immune). Alors que chez 5,27% des patientes c'était dans un cadre d'accouchement prématuré et chez 10,52% à la suite des multiples fausses couches spontanées et précoces. Enfin chez 7,89% des patients le motif était un allongement inexpliqué du TCA par rapport au témoin (Graphique 6).



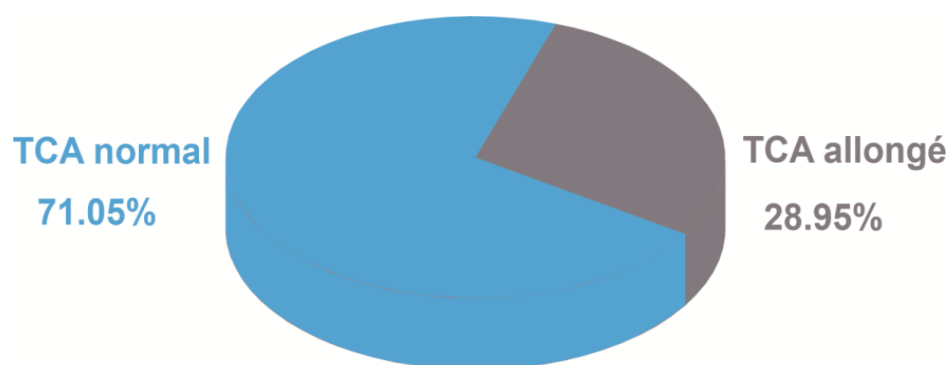
**Graphique 6 : Indications de recherche des ACC.**

#### IV. Diagnostic des ACC :

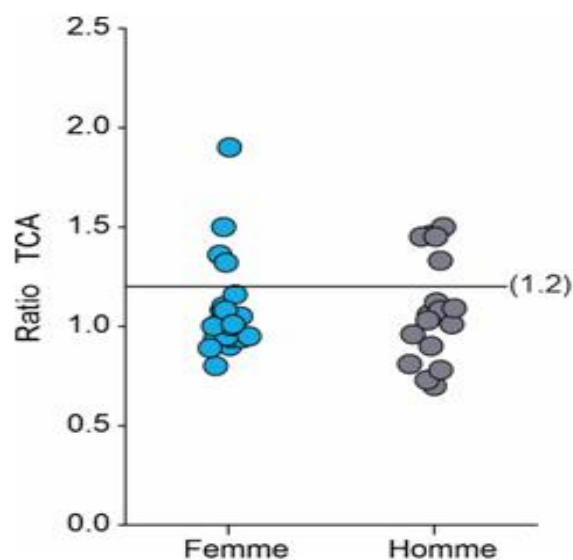
##### 1. Exploration de la voie intrinsèque de la coagulation :

###### 1.1. Test de dépistage : Temps de céphaline avec activateur :

Dans la présente étude, le TCA allongé par rapport au témoin a été noté chez 11 patients, soit 28,95% avec un ratio TCA supérieur à 1,2, alors qu'il a été normal chez 27 patients, soit 71,05% des cas (Graphique 7 et 8).



Graphique 7 : Répartition des patients selon le résultat du TCA.

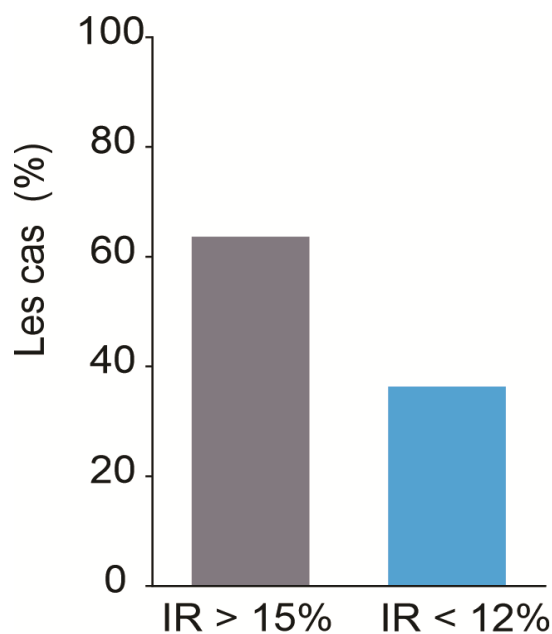


Graphique 8 : Répartition des patients selon le ratio TCA.

**1.2. Mise en évidence d'un inhibiteur : Test de mélange :**

Le test de mélange a été réalisé chez tous les patients avec un TCA allongé lors de l'étape de dépistage ce qui représente 28,95%, tandis qu'il n'a pas été réalisé chez 27 de nos patients, ce qui représente 71,05%.

Nous avons calculé l'indice de Rosner (IR) chez les patients qui ont bénéficié d'un test de mélange, nous avons remarqué que 7 patients avaient un IR supérieur à 15% soit 63,64% et que 4 patients avaient un IR inférieur à 12% soit 36,36% (Graphique 9).



**Graphique 9 : Répartition selon le résultat de l'indice de Rosner (IR).**

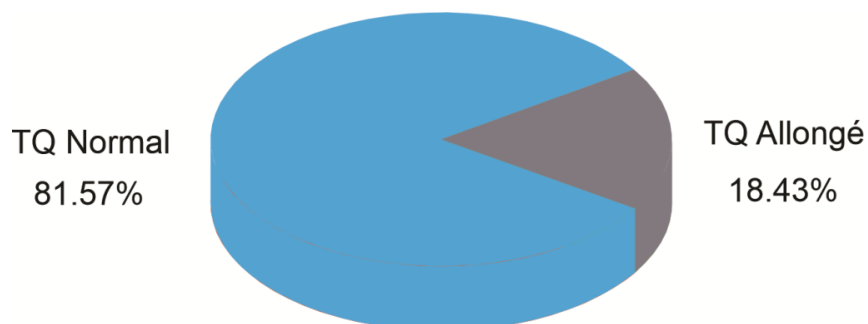
**1.3. Test de neutralisation :**

Chez les patients de notre série, le test de neutralisation n'a pas été réalisé.

## 2. Exploration de la voie extrinsèque de la coagulation :

### 2.1. Test de dépistage : Temps de Quick (TQ) :

Le temps de Quick était allongé chez 7 patients, ce qui représente 18,43%. Alors que 31 patients avaient un TQ normal soit 81,57% de la population totale (Graphique 10).



**Graphique 10 : Répartition des patients selon le résultat du TQ.**

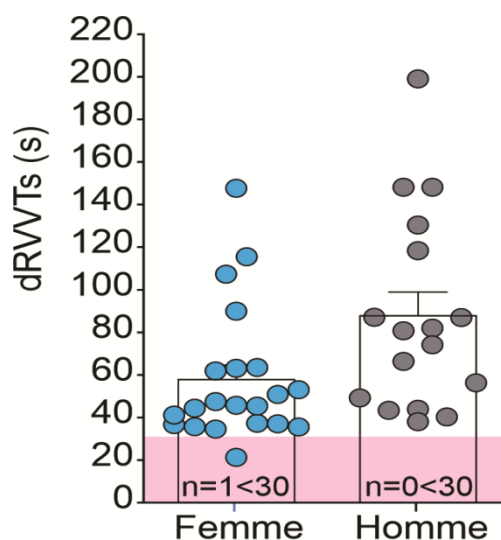
### 2.2. Temps de Thromboplastine Diluée (TTD) :

Il convient de souligner que le temps de thromboplastine diluée n'a pas été effectué chez les patients inclus dans cette étude.

## 3. Exploration de la voie commune de la coagulation :

### 3.1. dRVVT screen :

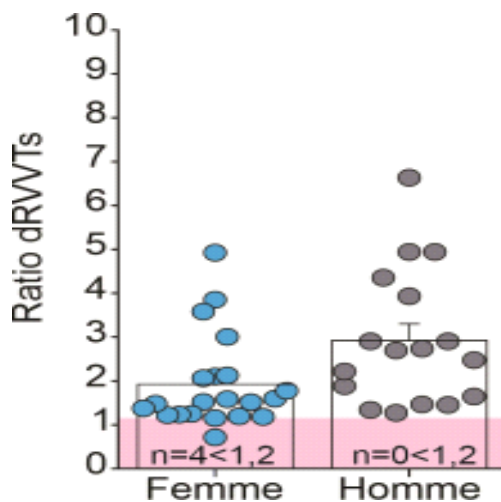
Nous avons effectué le test dRVVTs chez tous les patients de notre série, où 97,36% des cas ont donné un résultat positif (supérieur à la valeur normale du témoin 30 Secondes).



**Graphique 11 : Répartition des résultats de dRVVTs.**

### 3.2. Ratio dRVVTs :

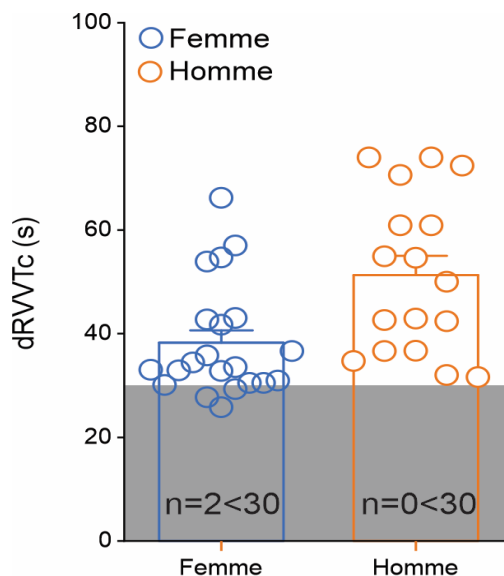
Le ratio dRVVTs était positif ( $>1,2$ ) chez 34 patients soit 89,48% de la population totale, alors que 4 patients présentaient une valeur inférieure à 1,2 (Graphique 11).



**Graphique 12 : Répartition des résultats du ratio dRVVTs.**

### 3.3. dRVVT confirm :

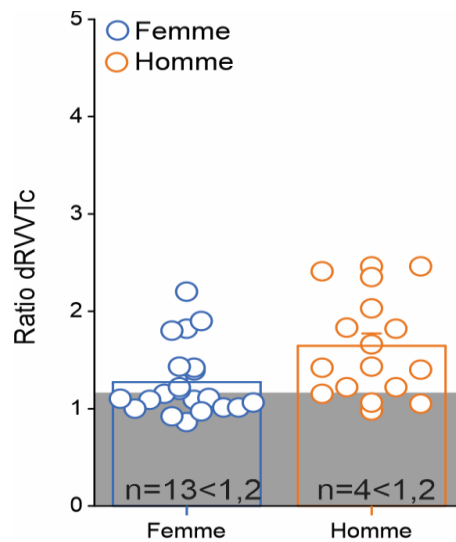
Le test dRVVTc a été réalisé chez tous les patients, avec un résultat positif chez 94,73% des cas (Graphique 12).



**Graphique 13 : Répartition selon les résultats de dRVVTc.**

**3.4. Ratio dRVVTc :**

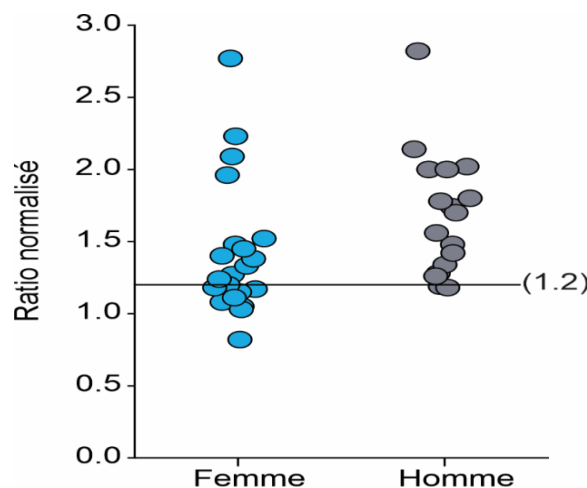
Le ratio dRVVTc était calculé, où une valeur  $> 1,20$  était retrouvée chez 21 patients, soit 55,26% de la population totale (Graphique 13).



**Graphique 14 : Répartition des résultats du ratio dRVVTc.**

**3.5. Calcul du ratio normalisé :**

Le ratio normalisé était calculé chez les patients qui avaient bénéficié du dRVVT screen et confirm selon la formule suivante :  $\text{ratio normalisé} = \text{ratio screen} / \text{ratio confirm}$ . Il était positif ( $> 1,2$ ) chez 71,05% des cas.

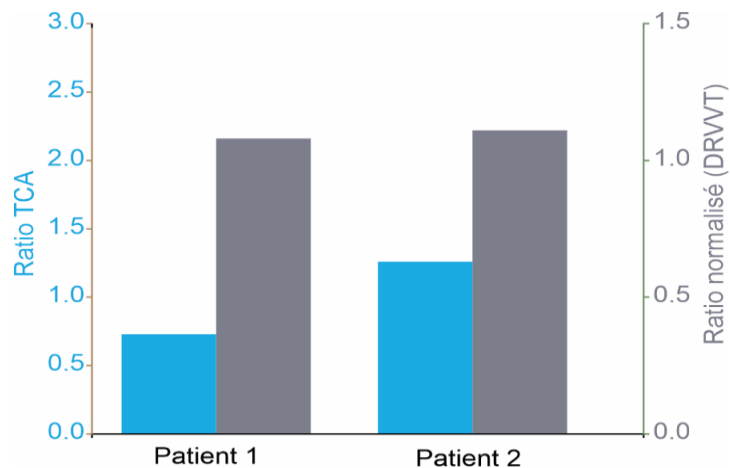


**Graphique 15 : Répartition selon le ratio normalisé.**



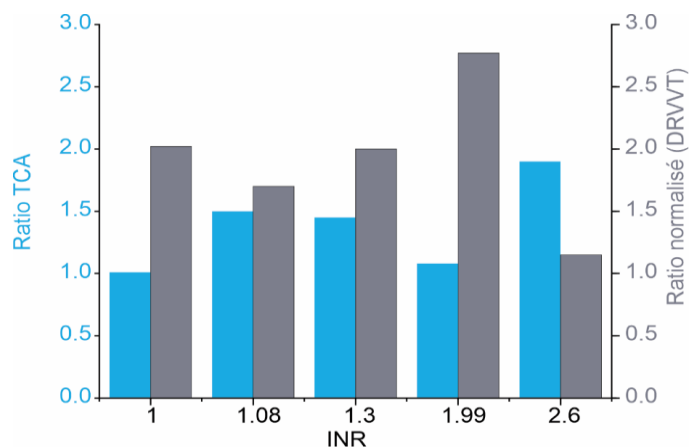
#### 4. Détection des ACC chez les patients sous anticoagulants :

Dans notre étude, nous avons réalisé une recherche des ACC chez des patients sous anticoagulant. Deux patients ont été traités avec de l'héparine de bas poids moléculaire (HBPM), la détection des ACC a révélé que seul un patient a présenté un résultat positif (Graphique 16).



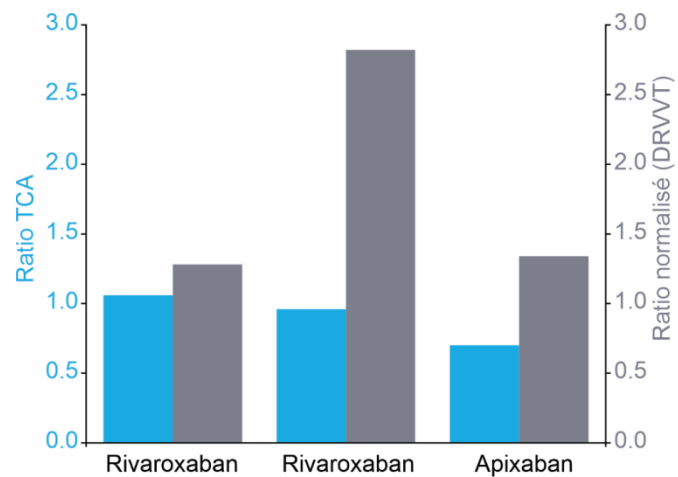
**Graphique 16 : Résultats du ratio TCA et du ratio normalisé (dRVVT) chez les patients sous HBPM.**

Dans notre série, 5 patients ont été traités avec les AVK. L'anticoagulant circulant lupique a été confirmé chez 4 patients (3 avec un INR <1,5 et un avec INR=1,99), tandis qu'il a été négatif chez un seul patient avec un INR =2,6.



**Graphique 17: Résultats du ratio TCA et du ratio normalisé (dRVVT) par rapport à la valeur de l'INR dans les échantillons des patients sous AVK.**

Trois patients ont été sous anticoagulants oraux directs AOD (deux sous Rivaroxaban et un sous Apixaban). Les trois patients ont été testés positifs pour l'anticoagulant circulant lupique (Graphique 18).



**Graphique 18 : Résultats du ratio TCA et du ratio normalisé (dRVVT) chez les patients sous anticoagulant oraux directs (AOD).**

## V. Pourcentage de détection de l'ACC par les tests :

### 1. TCA :

Dans notre étude, 7 patients avaient un TCA allongé et un IR >15%. Parmi ces patients, 3 présentaient un IR >15% et un ratio normalisé du dRVVT positif, tandis que 4 présentaient une association entre un IR >15%, un TQ allongé et un ratio normalisé du dRVVT positif.

### 2. Temps de quick :

Dans notre population, 7 patients avaient un TQ allongé. Parmi ces patients, 3 présentaient un TQ allongé et un ratio normalisé du dRVVT positif, tandis que 4 présentaient une association entre un TQ allongé, un IR >15% et un ratio normalisé du dRVVT positif.

### 3. dRVVT :

Dans notre étude, 27 patients avaient un ratio normalisé du dRVVT positif, Parmi ces patients, 3 présentaient un ratio normalisé du dRVVT positif et IR >15%, 3 présentaient un ratio normalisé du dRVVT positif et un allongement du TQ, tandis que 4 présentaient une association entre un ratio normalisé du dRVVT positif, un IR >15% et un TQ allongé. Le reste (17 patients) avait une positivité seule du ratio normalisé du dRVVT.

**Tableau III : Pourcentage de détection des ACC par les tests d'hémostase.**

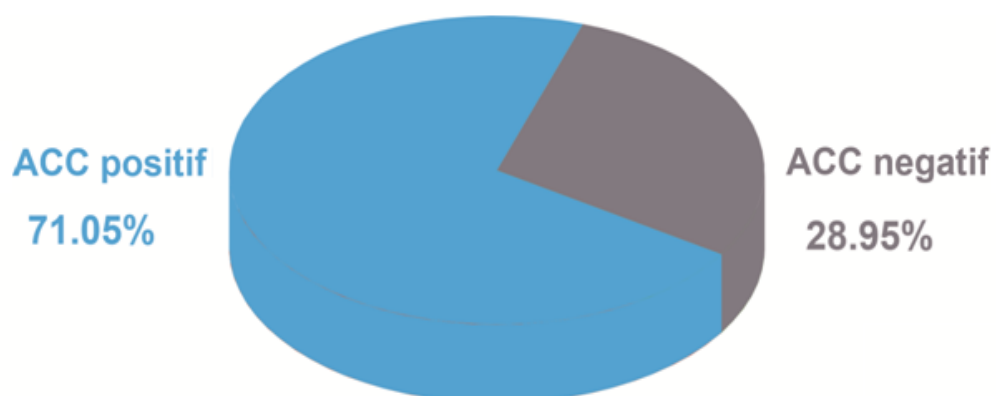
Le test utilisé pour la détection de l'ACC	Le pourcentage de détection de l'ACC dans la population totale	Le pourcentage de détection de l'ACC dans la sous population ACC positif
TQ seul	0%	0%
TCA seul	0%	0%
dRVVT seul	44,74%	62,96%
TQ + TCA	0%	0%
TQ + dRVVT	7,89%	11,11%
TCA + dRVVT	7,90%	11,11%
TQ + TCA +dRVVT	10,52%	14,82%

Au total, 38 cas ont été inclus dans cette étude. La positivité des ACC a été confirmée chez 27 patients soit 71,05%.

Sur les 21 femmes, la positivité des ACC a été observée chez 12 patientes et 9 étaient négatives.

Sur les 17 hommes, la positivité des ACC a été observée chez 15 patients et 2 étaient négatifs.

Un test de contrôle après 12 semaines d'intervalle a été demandé pour les patients avec un anticoagulant circulant lupique positif, les résultats de ce test ont confirmé la présence de l'ACC chez tous les patients.

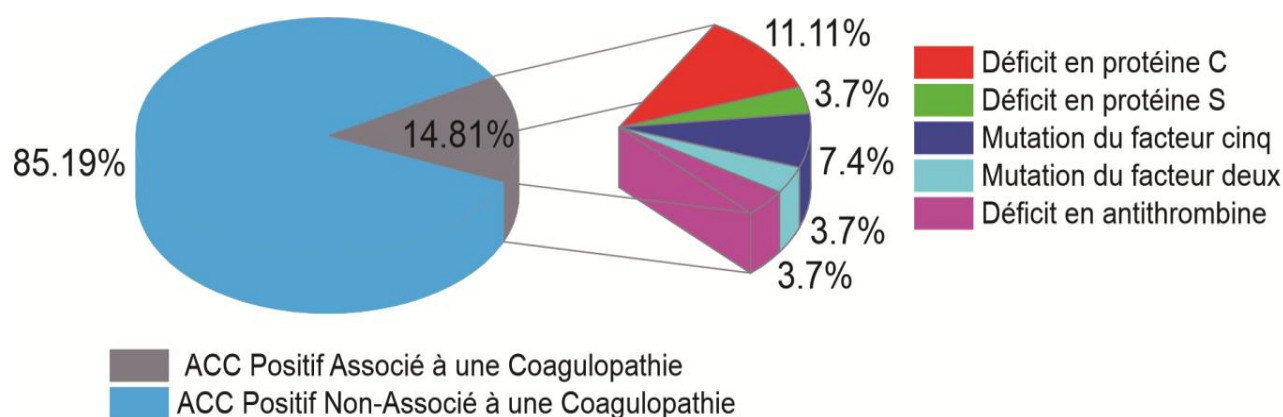


**Graphique 19 : Répartition des patients selon la positivité des ACC.**

## VI. Recherche d'une coagulopathie associée :

La recherche d'une anomalie de coagulation associée a été réalisée chez les patients avec un résultat d'ACC positif. Parmi les 27 patients 4 avaient des coagulopathies associées, soit 14,81%.

Le déficit en protéine C a été retrouvé chez 11,11%, la mutation du facteur V leiden chez 7,4%, le déficit en antithrombine chez 3,7%, le déficit en protéine S chez 3,7% et la mutation du facteur II chez 3,7%.



**Graphique 20 : Répartition selon les coagulopathies associées chez la population ACC positif.**



## **DISCUSSION**



## Partie I : Rappels :

### I. Rappels physiologiques sur l'hémostase :

#### 1. Introduction :

Toute atteinte à l'intégrité du système vasculaire entraînant une perte de sang déclenche une série de processus cellulaires et biochimiques qui aboutissent au colmatage de la brèche et au contrôle de l'hémorragie. L'hémostase englobe tous ces mécanismes physiologiques et implique plusieurs étapes complexes et interdépendantes qui doivent être isolées à des fins descriptives :

- Hémostase primaire : Première étape d'urgence du contrôle hémorragique, conduisant au thrombus plaquettaire en une durée de 3 à 5 minutes.
- Hémostase secondaire ou coagulation plasmatique : Sa fonction est de consolider le thrombus plaquettaire en créant un réseau protéique de fibrine en 5 à 10 minutes.
- Fibrinolyse : Assurant secondairement la dégradation enzymatique de la masse fibrinoplaquettaire à l'issue de la réparation vasculaire dans un délai de 48 à 72 heures.

Tous ces processus sont étroitement régulés par la mise en œuvre d'un système très complexe d'activateurs et d'inhibiteurs, ce qui permet à l'hémostase de se développer sur le site de la lésion vasculaire sans extension à distance [5].

#### 2. Hémostase primaire [5] :

Il s'agit de l'ensemble des mécanismes physiologiques qui conduisent à l'occlusion initiale de la brèche vasculaire et aux premières étapes de sa réparation. Le bouchon plaquettaire ou thrombus blanc est le produit final de l'hémostase primaire, qui est ensuite consolidée par la mise en œuvre des processus de coagulation.

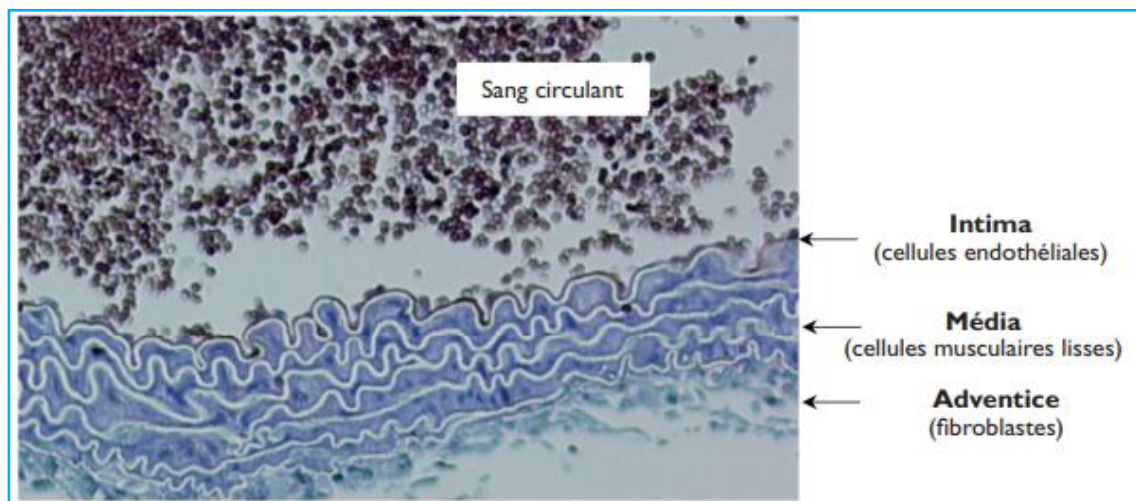
Quatre acteurs principaux dominent cette phase qui sont les composants de la paroi vasculaire, les plaquettes sanguines, et les deux protéines plasmatiques fibrinogène et le facteur de von Willebrand (VWF).

**2.1. Acteurs de l'hémostase primaire [5] :**

**a. La paroi vasculaire :**

La composition anatomique des vaisseaux sanguins est constituée de plusieurs couches cellulaires et non cellulaires qui varient en fonction du type et de la taille du vaisseau. On retrouve, de dedans en dehors, la monocouche de cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et la couche externe de tissu conjonctif ou adventice (Fig.2). La propriété fondamentale de la paroi vasculaire, qui sous-tend l'équilibre physiologique des mécanismes de l'hémostase, est l'hémocompatibilité de la cellule endothéliale au repos qui est donc thromborésistante en empêchant l'activation du système de la coagulation. En revanche, la cellule endothéliale activée et surtout les structures sous endothéliales sont hautement thrombogènes.

Toute atteinte à l'intégrité de la couche endothéliale expose les structures sous-endothéliales directement au sang circulant, entraînant une hémostase primaire et une coagulation, qui aboutissent à leur tour à la formation d'un thrombus.



**Figure 2 : Structure et composition de la paroi vasculaire [6].**



- **Les cellules endothéliales** : Elles tapissent la surface interne de la lumière vasculaire et sont disposées en une monocouche de cellules cohésives dont les propriétés sont nombreuses et varient en fonction de leur état d'activation : elles peuvent moduler la thrombose, produire des protéines et réguler sélectivement les échanges entre le sang et le milieu intérieur. Les cellules endothéliales s'attachent à une couche de macromolécules qu'elles synthétisent elles-mêmes et qui sont hautement thrombogènes : collagène, fibronectine, laminine, VWF et glycosaminoglycanes.

La thromborésistance de la surface interne de la cellule endothéliale est assurée par des propriétés actives et passives, notamment la charge ionique négative de la membrane, l'agencement antiadhésif des protéines de surface, la production locale de médiateurs antiagrégants plaquettaires, d'inhibiteurs de la coagulation et d'activateurs de la fibrinolyse.

La thrombogénicité de la cellule endothéliale s'exprime par la modulation de ses propriétés induites par divers médiateurs activateurs, tels que les endotoxines bactériennes, les cytokines pro-inflammatoires (interleukine [IL-1], facteur de nécrose tumorale [TNF] et la thrombine. Les cellules endothéliales activées expriment des protéines prothrombotiques (phospholipides, facteur tissulaire...) à la surface de leur membrane, déclenchant ainsi l'adhésion/l'agrégation des plaquettes ou des réactions de coagulation.

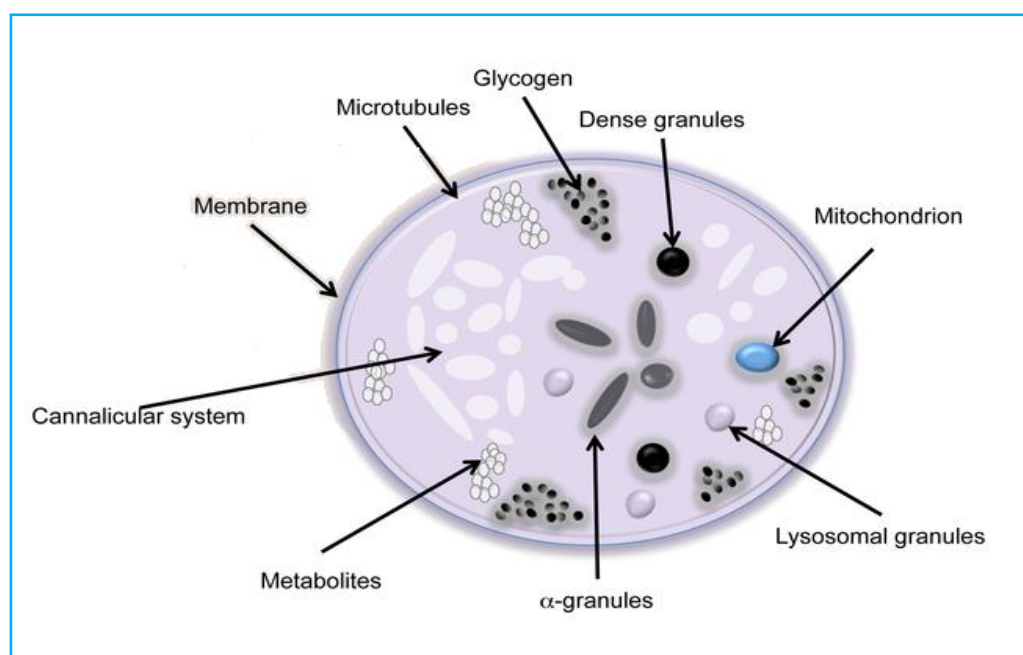
La cellule endothéliale présente également une activité métabolique importante, conduisant à la production de multiples molécules impliquées dans l'hémostase : Le collagène, une des principales protéines prothrombogène, le facteur tissulaire qui est un récepteur du facteur VII, initiant la voie extrinsèque de la coagulation, la thrombomoduline qui active la protéine C, inhibiteur de la coagulation sanguine en présence de thrombine, les protéines vasoactives telles que le monoxyde d'azote (NO) un vasodilatateur ou l'endothéline un vasoconstricteur et les protéines qui modulent à la fois l'activité plaquettaire et la fonction vasomotrice, comme la prostacycline (PGI<sub>2</sub>), antiplaquettaire et vasodilatatrice, ou le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), proplaquettaire et vasoconstricteur.

- Les cellules musculaires lisses : Elles régulent le tonus vasomoteur par l'intermédiaire du système nerveux autonome et des médiateurs chimiques vasoactifs synthétisés par la cellule endothéliale, tels que le NO et l'endothéline. Leur prolifération dépend de facteurs de croissance endothéliaux (facteur de croissance dérivé des plaquettes [PDGF], facteur de croissance des fibroblastes [FGF] et sérotonine).

*b. Plaquettes [5] :*

Les plaquettes, également appelées thrombocytes, possèdent une structure unique adaptée à leurs fonctions primaires d'adhésion à l'endothélium et d'auto-agrégation (Fig.3) :

- Membrane cytoplasmique riche en glycoprotéines fonctionnelles.
- Système membranaire complexe intracytoplasmique.
- Système microtubulaire et microfibrillaire.
- Système de granulations intracytoplasmiques.



**Figure 3 : Représentation schématique d'une plaquette [7].**

La membrane plaquettaire est classiquement constituée, comme toute membrane cellulaire, d'une double couche lipidique au sein de laquelle viennent s'arrimer des glycoprotéines hydrophobes riches en acide sialique déterminant la charge négative. Les phospholipides constituent 80% des lipides membranaires et sont polarisés au niveau du feuillet interne lorsque la plaquette est au repos. A l'état d'activation plaquettaire, les phospholipides sont exposés sur la face externe de la membrane, en contact avec les composants plasmatiques, assurant ainsi leur fonction pro-coagulante. Les glycoprotéines ancrées dans la membrane jouent un rôle de récepteur en transmettant des signaux à des structures cytoplasmiques, contractiles ou sécrétoires. Les glycoprotéines les plus connues sont le complexe gplb/IX, un récepteur du VWF qui assure l'adhésion des plaquettes à l'endothélium, et le complexe gpIIb/IIIa, un récepteur du fibrinogène impliqué dans l'agrégation plaquettaire.

Un système membranaire complexe intracytoplasmique caractérise la cellule plaquettaire et ses fonctions de sécrétion. Le système canaliculaire ouvert est un réseau membranaire constitué à partir d'invaginations de la membrane plasmique, dont le rôle est de permettre le déversement et le stockage des substances des granulations plaquettaires. Le système tubulaire dense n'est pas ouvert sur l'extérieur et consiste en un lieu de stockage du  $Ca^{++}$  utilisé par les structures contractiles. Les microtubules et les microfibrilles représentent l'appareil contractile de la cellule plaquettaire, ils assurent le maintien de sa forme discoïde au repos et ses mouvements et changements de forme caractérisant son état d'activation, par le biais des deux principales protéines contractiles qui sont l'actine et la myosine.

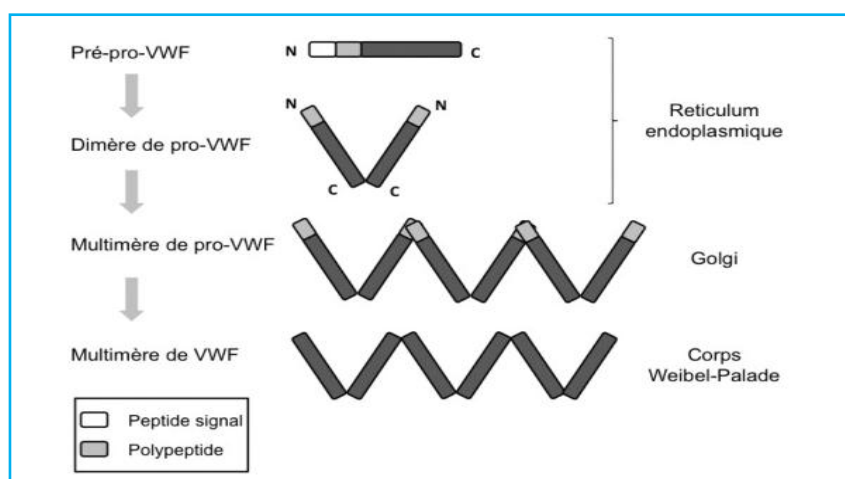
Trois types de granules intracytoplasmiques sont individualisables, dont le rôle réside dans le stockage de nombreuses substances spécifiques à chacune d'entre elles :

- Les granules alpha sont les plus abondants et sont mis en évidence par leur teinte azurophile en coloration par le May-Grünwald Giemsa en microscopie optique. Ils contiennent des facteurs de la coagulation et des cytokines (PDGF, transforming growth factor [TGF], epidermal growth factor [EGF]...).

- Les granules denses sont les moins nombreux, de l'ordre de 5 à 10 par cellule, individualisables en microscopie électronique, ils contiennent des substances proagrégantes et vasoactives (adénosine diphosphate [ADP], adénosine triphosphate [ATP], sérotonine, histamine, Ca<sup>++</sup>...).
- Les lysosomes, enfin, sont le lieu de stockage de diverses enzymes à activité antibactérienne ou protéolytique (phosphatase acide, protéase, collagénase...).

*c. Facteur von Willebrand :*

Il s'agit d'une protéine synthétisée à la fois par les cellules endothéliales et par les mégacaryocytes. Son précurseur est un monomère de 2050 acides aminés d'un poids moléculaire de 270 kDa qui se polymérise secondairement en VWF de haut poids moléculaire pour être stocké par la cellule endothéliale, au sein des corps de Weibel-Palade, ou par les plaquettes, au sein des granules  $\alpha$ , avant d'être libéré dans la circulation (Fig.4). Son rôle est double : il permet l'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales activées ou sous - endothélium par l'intermédiaire de son récepteur plaquettaire, la gplb/IX. En outre, le FVW fonctionne comme une protéine de transport pour le facteur de coagulation VIII, également connu sous le nom de facteur antihémophilique A.

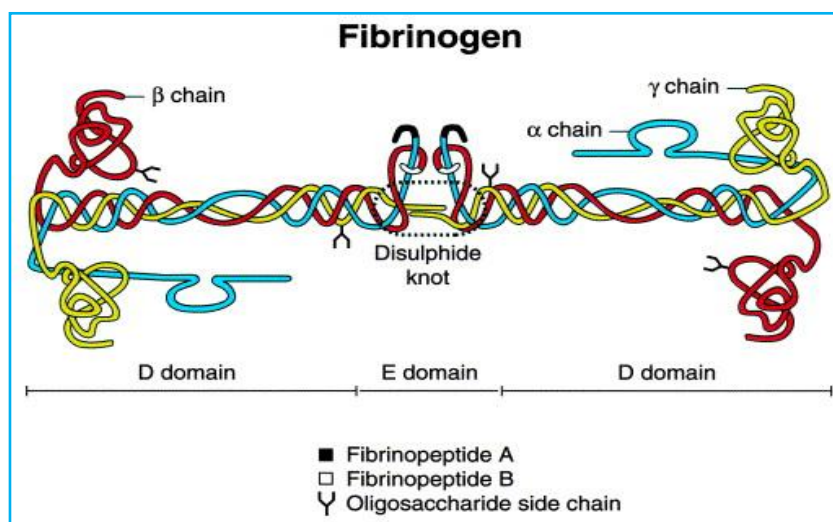


**Figure 4 : Représentation schématique de la biosynthèse du VWF dans la cellule endothéliale**

[8].

*d. Fibrinogène :*

Il s'agit d'une protéine soluble synthétisée par le foie, qui est le substrat final de la coagulation transformé en fibrine insoluble par la thrombine. En outre, le fibrinogène joue un rôle crucial dans l'hémostase primaire en fournissant des ponts moléculaires inter-plaquettaires qui conduisent à des agrégats plaquettaires [5].



**Figure 5 : Schéma du fibrinogène [9].**

**2.2. Différentes étapes de l'hémostase primaire :**

*a. Vasoconstriction (temps vasculaire) :*

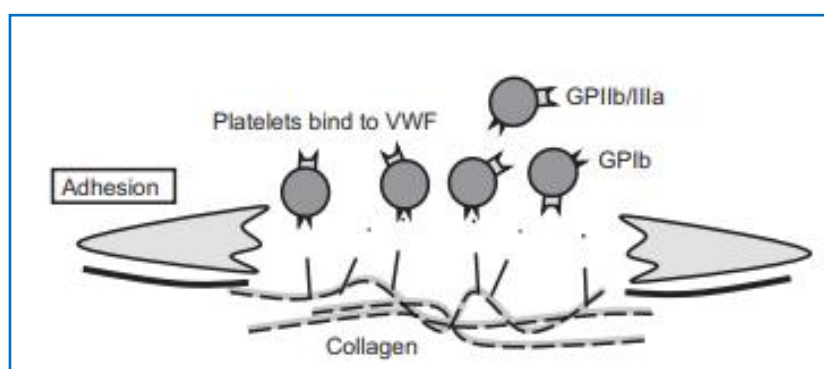
Elle constitue la réponse immédiate à toute lésion vasculaire et est en grande partie secondaire à un réflexe neurogène du système sympathique [10], renforcé par la sécrétion locale de facteurs tels que l'endothéline, un puissant vasoconstricteur synthétisé par l'endothélium. En réduisant le flux sanguin, la vasoconstriction diminue les pertes sanguines pendant une courte période. Ce phénomène est plus marqué dans les petits vaisseaux de la microcirculation car les microvaisseaux (artérioles de moins de 100  $\mu\text{m}$  de diamètre) sont régulés par des substances chimiques présentes dans la circulation, comme certains produits métaboliques ou médiateurs neurogènes (NO, prostaglandines, sérotonine).

Cependant, il semble que le rôle de la vasoconstriction dans l'hémostase ait été surestimé pendant une longue période. En revanche, dans les vaisseaux de moyen et gros calibre, la vasoconstriction est faible et l'écoulement du sang suit les lois de la dynamique des fluides.

*b. Formation du thrombus blanc (temps plaquettaire) :*

La vasoconstriction est suivie rapidement par l'obturation de la plaie vasculaire par un thrombus plaquettaire peu compact, le thrombus blanc ou clou plaquettaire de Hayem. Sa formation comporte trois phases successives (Fig.9).

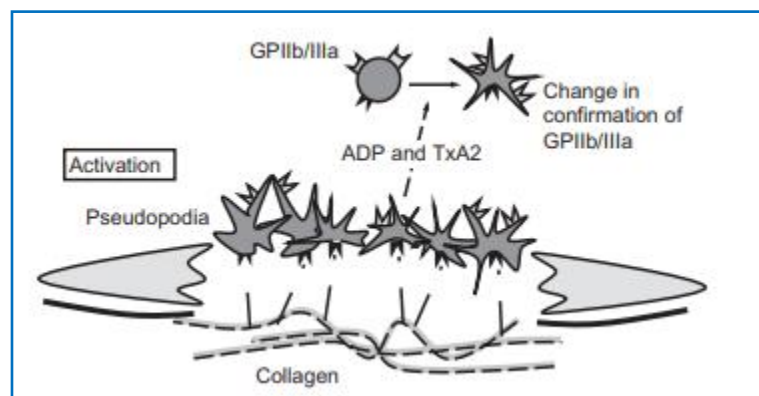
- **Adhésion plaquettaire** : Les plaquettes adhèrent au collagène exposé et à la matrice extracellulaire sous-endothéliale du tissu conjonctif sur les bords de la lésion vasculaire en présence d'un cofacteur, le facteur von Willebrand (VWF), cette protéine forme un pont moléculaire entre le collagène exposé et le récepteur de diverses glycoprotéines (GP) situées à la surface des plaquettes activées. Les GPs plaquettaires sont des complexes phospholipidiques, tels que GPIb-IX-V et GPIIb-IIIa, qui jouent un rôle crucial dans la coagulation intrinsèque car ils possèdent des sites de liaison pour le calcium et les facteurs plasmatiques. Les plaquettes forment initialement une monocouche recouvrant la brèche vasculaire et leur activation se produit en quelques secondes (10 à 20 s). L'adhésion plaquettaire est un processus transitoire et réversible, par lequel les plaquettes peuvent se déplacer lentement le long des bords de la plaie et finir par se détacher si elles ne sont pas activées. D'autres interactions contribuent également au processus d'adhésion, comme la liaison entre le récepteur plaquettaire du collagène GPIa-IIa/VI et les fibrilles de collagène sous-endothéliales, en particulier lorsque le flux sanguin est faible, comme dans les capillaires [11] (Fig.6).



**Figure 6 : Adhésion plaquettaire [12].**

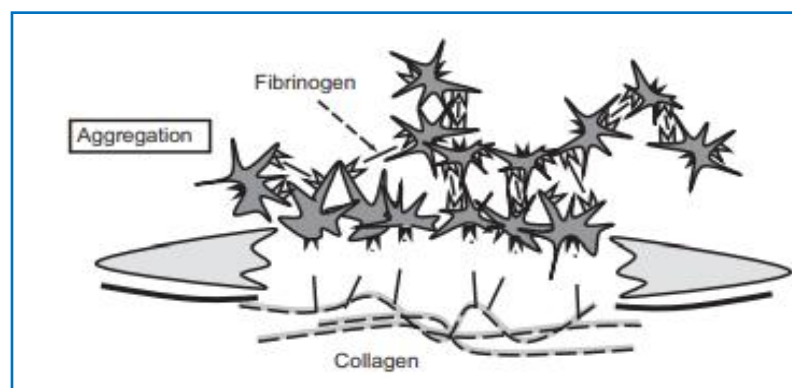
- **Activation plaquettaire :** Elle conduit à l'expression des récepteurs GP situés à la surface de la membrane de la plaque et à la libération du contenu des granules de sécrétion (facteurs de croissance, protéines adhérentes, etc.) et à la synthèse du thromboxane A2 (TxA2) à partir de l'acide arachidonique de la membrane plasmique de la plaque. Ce dernier est l'une des principales enzymes du processus inflammatoire et un puissant vasoconstricteur qui stimule localement la libération du contenu des cellules de la plaque. L'activation des plaques renforce la vasoconstriction locale et favorise l'activation des plaques circulantes adhérant les unes aux autres. Puis survient la phase d'agrégation plaquettaire. Le TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ) sécrété par les plaquettes attire les monocytes circulants sur la zone lésée, les active et contrôle donc la réponse inflammatoire. Les monocytes activés se transforment en macrophages qui assurent l'élimination des bactéries et la détersion de la plaque [13].

Un autre phénomène essentiel se déroulant au cours de la phase d'activation plaquettaire est le phénomène de « flip-flop » membranaire, permettant aux structures internes de la membrane de se repositionner vers l'extérieur en contact avec le plasma. Cette modification permet aux phospholipides chargés négativement, et notamment la phosphatidylsérine, de s'extérioriser et de devenir disponibles pour la fixation des facteurs de la coagulation vitamine K-dépendants, amplifiant considérablement les processus enzymatiques de la cascade de la coagulation [5].



**Figure 7 : Activation plaquettaire [12].**

- **Agrégation plaquettaire :** Les plaquettes peuvent être activées par diverses substances, telles que l'adénosine diphosphate (ADP), l'adrénaline, la thrombine produite pendant la coagulation, le collagène, le TxA2, et même par la liaison au VWF par l'intermédiaire de GPIb-IX-V. L'activation des plaquettes active à son tour les récepteurs GPIIb-IIIa, ce qui entraîne une adhésion permanente entre les plaquettes et le complexe VWF-collagène. À ce stade, les plaquettes subissent une métamorphose visqueuse qui entraîne une agrégation réversible suite à la libération d'ADP et de TxA2. Par la suite, l'agrégation devient irréversible sous l'effet de la thrombine plaquettaire et plasmatique. L'activation des récepteurs GPIIb-IIIa est responsable de cette agrégation, leur activation permettant l'agrégation des plaquettes. Le fibrinogène forme alors un pont moléculaire entre deux récepteurs GPIIb-IIIa [14]. Les plaquettes ont également la capacité de se contracter. Cela leur permet de libérer des quantités importantes d'actine et de myosine qui stimulent la vasoconstriction et favorisent la fusion des plaquettes. Pendant ce temps, la thrombine convertit le fibrinogène en fibrine dans le thrombus blanc et la zone voisine : il s'agit d'une hémostase secondaire qui renforce encore le thrombus blanc.



**Figure 8 : Agrégation plaquettaire [12].**





### **3.1. Facteurs de coagulation :**

On entend par facteurs de la coagulation des protéines plasmatiques participant au processus de la coagulation et dont on distingue trois groupes différents [5]:

- Les protéines à activité enzymatique
- Les protéines dénuées d'activité enzymatique mais servant de cofacteurs
- Les protéines ayant un rôle de substrat

La majorité des facteurs de coagulation sont des précurseurs d'enzymes protéolytiques appelées zymogènes qui circulent sous une forme inactive. L'activation de chaque zymogène est indiquée par le suffixe de la lettre « a » au chiffre romain identifiant ce zymogène particulier. La plupart des procoagulants et anticoagulants sont synthétisés par le foie, à l'exception des facteurs III, IV et VIII.

La nomenclature des protéines de coagulation est assez complexe. Les 4 premiers des 12 facteurs initialement identifiés sont désignés par leurs noms communs, à savoir le fibrinogène, la prothrombine, le facteur tissulaire (TF) et le calcium, et ne reçoivent pas de chiffres romains. FVI n'existe plus. Les facteurs de coagulation récemment découverts, tels que la prékallikrène et le kininogène de haut poids moléculaire n'ont pas reçu de chiffres romains. Certains facteurs portent plusieurs noms. Les facteurs V et VIII sont également appelés facteurs labiles car leur activité coagulante n'est pas durable dans le sang stocké.

Les facteurs de la coagulation sont synthétisés par les hépatocytes, et une insuffisance hépatocellulaire sévère entraîne une diminution globale des facteurs de coagulation en raison d'un défaut de production. Il est essentiel de bien comprendre que chaque facteur de la coagulation est défini par son activité coagulante évaluée par des tests in vitro de la coagulation, et par son activité antigénique évaluée par la quantification de la protéine. Un défaut fonctionnel est marqué par une diminution de l'activité coagulante tout en conservant l'activité antigénique [5].

Tableau IV: Facteurs de la coagulation[16].

Protéines de la coagulation	Masse moléculaire (kDa)	Fonction	Concentration plasmatique (mg/l)	Demi-vie plasmatique (h)
<b>Facteurs de la coagulation :</b>				
I (fibrinogène)	340	Substrat	2-4.10*	120
II (prothrombine)*	72	Zymogène	100-150	80
V (Proaccéléline)				
VII (Proconvertine)*	330	Cofacteur	5-10	24
VIII(Facteur antihémophilique A)	50	Zymogène	0.35-0.6	6
X (Facteur Stuart)*	330	Cofacteur	0.1-0.2	12
IX (Facteur antihémophilique B)*	59	Zymogène	7-17	48
XI (Facteur Rosenthal)	57	Zymogène	3-5	24
XII (Facteur Hageman)	160	Zymogène	3-6	60
XIII (facteur stabilisant de la fibrine)	80	Zymogène	30-40	60
Prékallikréine	320	Zymogène	20-30	240
Kininogène de haut poids moléculaire	85	Zymogène	25-50	35
	100	Cofacteur	60-90	150
Facteur tissulaire**	47	Cofacteur	-	-

\* : Synthèse vitamine K dépendante.

\*\* : Facteur tissulaire n'est pas une protéine plasmatique mais une protéine membranaire.

a. Précurseurs enzymatiques :

Les facteurs vitamine K-dépendants FII, FVII, FIX et FX et les facteurs contacts FXI, FXII et prékallikréine, sont des précurseurs enzymatiques inactifs qui circulent dans le plasma ou pro-enzymes. Ils possèdent un site actif protéolytique dans la région C terminale, qui est masqué jusqu'à ce que la molécule soit activée. Ce domaine catalytique est caractérisé par une séquence précise d'acides aminés, dont un résidu sérine dans une conformation spatiale particulière, d'où leur nom de sérine protéases. L'activation consiste en une hydrolyse partielle de la molécule démasquant le site sérine-protéase. Le facteur activé a ainsi la capacité d'activer par hydrolyse un autre facteur dans une véritable cascade enzymatique.

La vitamine K est nécessaire à l'acquisition des propriétés fonctionnelles des facteurs II, VII, IX et X dépendant de la vitamine K. Le rôle de la vitamine K est de carboxyler les résidus d'acide glutamique de la partie N-terminale de la chaîne polypeptidique. La carboxylation est nécessaire à la fixation du calcium, véritable pont entre la chaîne polypeptidique et la surface phospholipidique plaquettaire ou tissulaire. En l'absence de vitamine K, le foie libère des facteurs décarboxylés dont l'activité est très faible. La fixation des sérines protéases pro-coagulantes à la surface des phospholipides offre trois types d'avantages au processus de coagulation : une augmentation de la concentration qui accélère les interactions entre les différents facteurs, une restriction locale de l'activation de la coagulation et une protection des enzymes pro-coagulantes contre les inhibiteurs de la coagulation circulants.

Les facteurs de contact (facteurs XI, XII, prékallikréine), dont la synthèse est indépendante de la vitamine K, sont principalement définis par leur rôle dans la coagulation plasmatique in vitro. Leur activation est déclenchée par le contact avec une surface non mouillable (comme les tubes de verre) ou chargée négativement (comme le sous-endothélium). Leur rôle dans l'hémostase physiologique semble mineur, et si leur déficit congénital perturbe fortement les tests de coagulation, les individus atteints ne présentent pas de manifestations hémorragiques.

En revanche, les facteurs de contact participent aux processus de fibrinolyse et d'inflammation, tous deux étroitement liés au système de coagulation.

***b. Cofacteurs :***

Les facteurs V et VIII sont dépourvus d'activité enzymatique mais accélèrent les réactions entre une enzyme et son substrat, d'où leur nom de cofacteurs. La thrombine (Va et VIIIa) les active en hydrolysant partiellement leurs molécules, exposant ainsi les sites de liaison du cofacteur à l'enzyme et à son substrat. Les facteurs Va et VIIIa ont pour rôle de renforcer les interactions enzymatiques et participent à deux complexes enzymatiques de la cascade de la coagulation, à savoir le complexe ténase (VIIIa) et le complexe prothrombinase (Va).

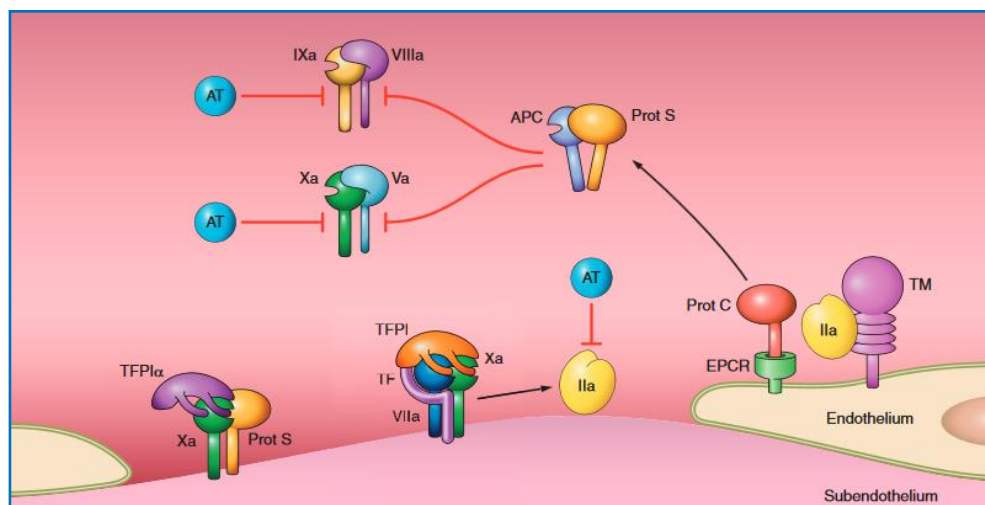
*c. Substrat :*

Le fibrinogène est le troisième type de facteur de coagulation, fonctionnant comme un substrat sans activité enzymatique ou catalytique inhérente. Il sert de substrat ultime de la coagulation et est hydrolysé par la thrombine, qui le convertit ensuite en chaînes de fibrine insolubles. Le facteur XIII, ou facteur de stabilisation de la fibrine, renforce la cohésion des molécules de fibrine en créant des liaisons covalentes intermoléculaires, ce qui permet d'obtenir un réseau de fibrine plus stable et plus solide.

**3.2. Inhibiteurs physiologiques de la coagulation :**

Un système physiologique très complexe régule la coagulation pour limiter l'extension locale du caillot et empêcher la diffusion à distance de la formation de fibrine. L'endothélium sain libère des facteurs anticoagulants comme la prostacycline et le NO. La prostacycline ou prostaglandine I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) interagit avec le TxA<sub>2</sub> pour moduler la fonction plaquettaire. À l'état normal, elle prévient l'agrégation plaquettaire intravasculaire, après une lésion tissulaire, elle favorise la formation du thrombus. Il existe d'autres systèmes qui bloquent la formation du caillot ou assurent sa dissolution. Classiquement on décrit trois systèmes anticoagulants naturels (Fig.10) :

- Le premier agit dès la phase d'initiation de la voie extrinsèque : l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI) [17].
- Le deuxième est déclenché par la thrombine qui, en se fixant sur le récepteur de la thrombomoduline de la cellule endothéliale, active la protéine C. Cette dernière, avec la participation d'un cofacteur, la protéine S, inhibe les facteurs Va et VIIIa. Les protéines C et S sont toutes les deux vitamines K-dépendantes.
- Le troisième repose sur l'antithrombine circulante qui, lorsqu'elle est activée par l'héparine, inhibe la thrombine et plusieurs autres facteurs de la coagulation comme les facteurs IXa, Xa, XIa.... L'antithrombine III est aussi un puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire [18].



**Figure 10 : Inhibiteurs physiologiques de la coagulation [19].**

**a. Antithrombine :**

L'antithrombine (AT), anciennement connue sous le nom d'AT, est le principal inhibiteur de la thrombine. Il s'agit d'un inhibiteur de protéase à sérine qui se lie à la thrombine, aux facteurs IXa, Xa, XIa et XIIa et les inactive. L'activité enzymatique de l'AT est renforcée en présence d'héparine. Cependant, la concentration plasmatique de l'héparine est faible et ne contribue pas de manière significative à l'activation in vivo de l'AT. L'AT est activée par la liaison du sulfate d'héparine présent à la surface des cellules endothéliales. L'AT lie les facteurs de coagulation dans un rapport de 1:1 et ce complexe est éliminé par les cellules réticulo-endothéliales. Les autres inhibiteurs de la thrombine sont le cofacteur II de l'héparine, l' $\alpha$ 2-macroglobuline et l' $\alpha$ 1-antitrypsine [19].

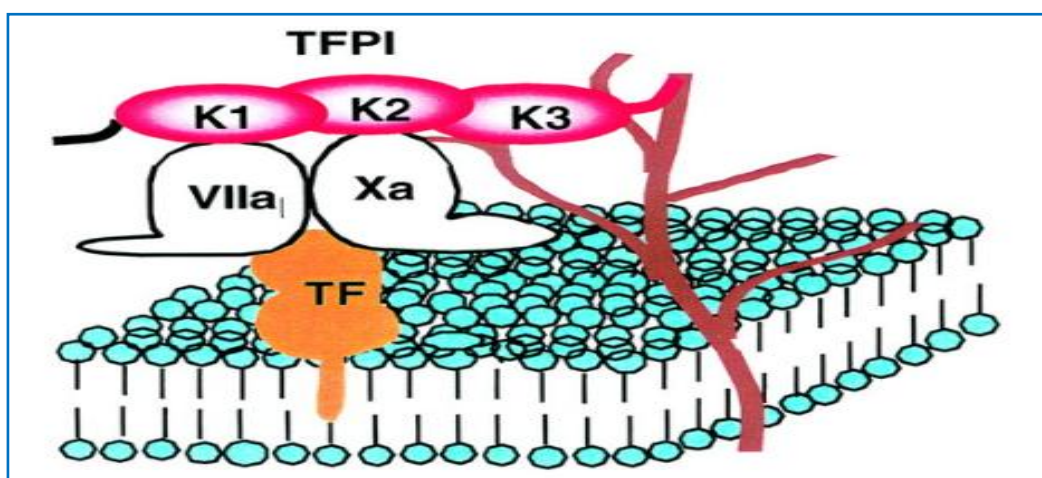
**b. Système de la protéine C (PC) et protéine S (PS) :**

C'est le système inhibiteur des cofacteurs. L'activité coagulante des complexes ténase et prothrombinase dépend des cofacteurs FVIIIa et FVa, respectivement. La protéine C activée (APC), en complexe avec la protéine S, entraîne l'inactivation protéolytique du FVIIIa et du FVa, supprimant ainsi les actions de la ténase et de la prothrombinase. La protéine C est un facteur anticoagulant présentant une forte homologie avec les facteurs pro-coagulants dépendants de la vitamine K. Pour un contrôle anticoagulant complet, elle doit être clivée en APC et se lier à son cofacteur, la protéine S, qui est également une protéine dépendante de la vitamine K.

c. Inhibiteur du complexe facteur tissulaire –FVIIa (TFPI) :

L'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) est une protéine anticoagulante à épissage alternatif présente dans le plasma, les plaquettes et la matrice extracellulaire, ainsi qu'à la surface des cellules endothéliales, les monocytes et les macrophages. Il s'agit d'un inhibiteur de protéase à sérine multifonctionnel de type Kunitz qui agit à plusieurs étapes de la cascade de la coagulation sanguine. Le TFPI inhibe principalement l'initiation de la coagulation, en atténuant les stimuli procoagulants avant que la thrombine ne soit générée [20]. Il se fixe sur le complexe (FT-VIIa) et inhibe sa capacité à activer le facteur X.

Deux isoformes principales de TFPI: TFPI $\alpha$ , qui contient 3 domaines inhibiteurs de type Kunitz (K1, K2, K3) et une extrémité C chargée positivement et TFPI $\beta$ , qui contient les domaines K1 et K2 de TFPI $\alpha$ , suivis d'une extrémité C unique. Les domaines K1 et K2 lient et inhibent respectivement le FVIIa et le FXa, tandis que le domaine K3 n'a pas de fonction inhibitrice connue [21] (Fig.11).



**Figure 11 : Mécanismes d'inhibition de la réaction initiale de la coagulation sanguine par le TFPI à la surface des cellules [17].**

**3.3. Déroulement de processus de coagulation :**

La théorie traditionnelle de la cascade de la coagulation impliquant deux voies distinctes, l'extrinsèque et l'intrinsèque, a été remplacée par un modèle rénové qui se distingue par trois étapes : D'abord une initiation, puis une amplification et une propagation [16].

Le déclenchement de la coagulation nécessite plusieurs éléments. Les plaquettes, les cellules endothéliales et les leucocytes doivent être activés afin qu'une surface appropriée soit fournie pour l'adhésion des protéines de coagulation. Ces dernières doivent être ancrées à la surface en proximité géographique afin que l'activation séquentielle de chaque zymogène de coagulation se produise (la cascade de la coagulation). L'étape ultime est la formation de thrombine, qui entraîne l'agrégation des plaquettes, la formation et la stabilisation de la fibrine et l'inhibition de la fibrinolyse [22].

*a. In vitro :*

➤ **La voie extrinsèque :**

Il est activé par le TF, qui est exprimé dans le tissu sous-endothélial. Dans des conditions physiologiques normales, l'endothélium vasculaire normal minimise le contact entre le TF et les procoagulants plasmatiques, mais les agressions vasculaires exposent le TF qui lie le facteur VIIIa et le calcium pour favoriser la conversion du facteur X en Xa [23].

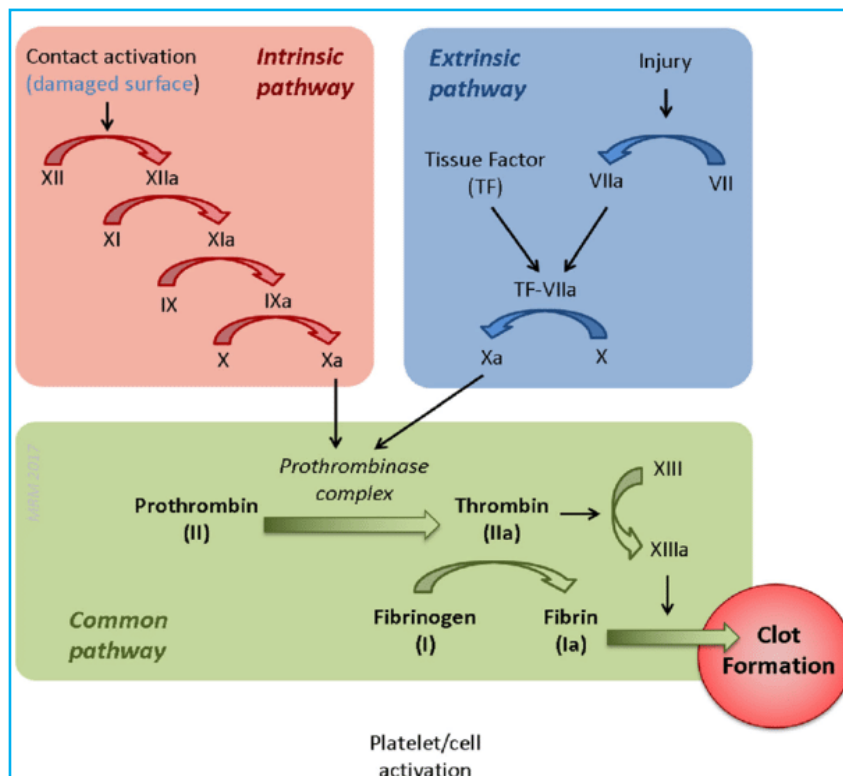
➤ **La voie intrinsèque :**

La voie intrinsèque, ou coagulation endogène, est initiée par l'activation du facteur XII, facteur contact ou facteur Hageman, qui s'active au contact de certaines surfaces comme celles du collagène... et du verre d'où la coagulation spontanée du sang dans les tubes en verre. Le facteur XIIa active le facteur XI en présence d'un cofacteur, le high-molecular-weight-kininogen (HMWK), en facteur XIa. Le facteur XIa active le facteur IX, et le facteur IXa le facteur X en facteur Xa. Notons que le facteur VIIIa participe aussi à l'activation du facteur X.



➤ La voie commune :

La voie extrinsèque et la voie intrinsèque agissent toutes les deux sur le facteur X, qui est à l'origine de la voie commune de la coagulation. Le facteur Xa assure la transformation de la prothrombine en thrombine qui, par réduction enzymatique, transforme le fibrinogène en fibrine. La fibrine polymérisée constitue un réseau d'abord instable, puis insoluble après l'action du facteur XIII qui est activé par la fibrine. Ce réseau de fibrine qui emprisonne principalement des érythrocytes, constitue l'armature du caillot.



**Figure 12 : Schéma de la coagulation [24].**

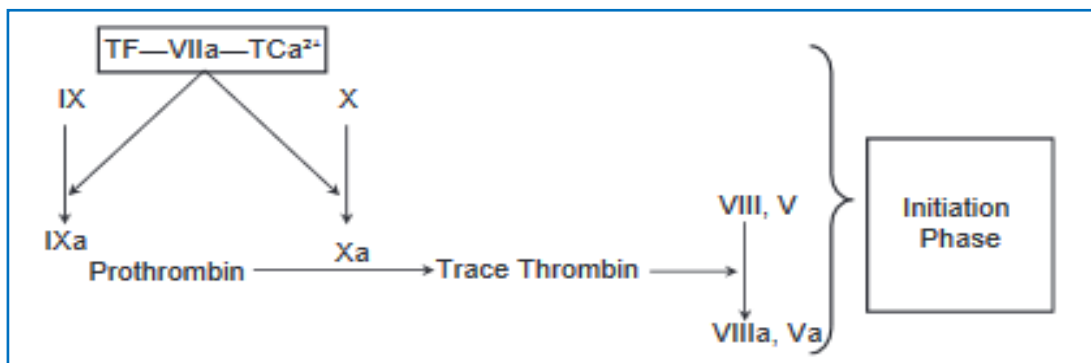
b. In vivo :

La phase d'initiation, conduit à la génération de faibles traces de thrombine à la surface de cellules exprimant du facteur tissulaire. La phase d'amplification, aboutit à l'accumulation de facteurs activés à la surface des plaquettes. La phase de propagation comporte l'assemblage de larges complexes enzymatiques à la surface des plaquettes, la génération explosive de fortes concentrations de thrombine induisant la formation d'un caillot stable.

➤ **Phase d'initiation :**

La coagulation est initiée par le complexe FT–FVIIa. Le FVIIa est le seul facteur existant à l'état de traces dans le plasma. La liaison du FVIIa au FT entraîne une modification conformationnelle du FVII, sans libération de peptide d'activation, générant encore du facteur VII activé. Le complexe [FT–FVIIa] peut activer le FIX et le FX.

L'activation directe du FX est faible car elle est limitée par un inhibiteur appelé tissue factor pathway inhibitor (TFPI). L'activation du FX par le FIXa est faible aussi car elle nécessite la présence d'un cofacteur non présent à cette phase : le FVIIIa. Cette phase d'initiation ne génère donc que des traces de thrombine. La quantité de thrombine générée ne suffit pas pour produire la fibrine nécessaire à la constitution du caillot, mais permet le déclenchement de la phase de propagation de la coagulation [16] (Fig.13).



**Figure 13 : Phase d'initiation de la coagulation [19].**

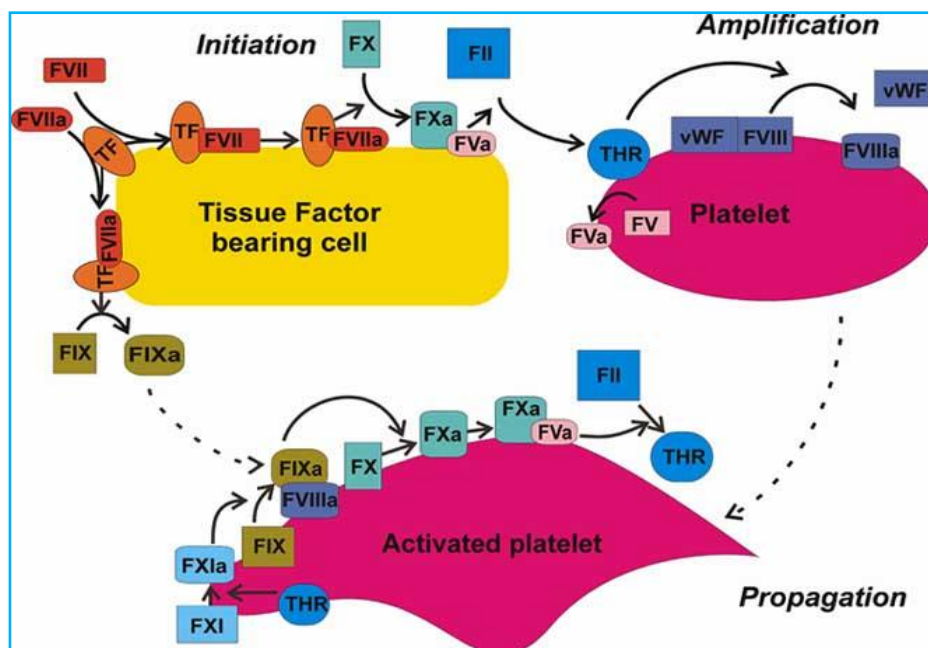
➤ **Phase d'amplification :**

Les traces de thrombine générées pendant la phase d'initiation permettent une activation supplémentaire des plaquettes, du facteur V et du facteur XI. Le facteur XI est lié à la glycoprotéine Ib/ IX des plaquettes activées, après son activation par la thrombine, il active à son tour le facteur IX. En outre, le facteur IX activé généré précédemment par le complexe facteur tissulaire–VIIa diffuse également à la surface des plaquettes activées et se lie à la membrane plaquettaire, le VWF est également lié à la glycoprotéine Ib/IX. Dans le plasma circulant, le VWF

est dans un complexe avec le facteur VIII, cependant, la thrombine libère le facteur VIII du VWF et l'active en facteur VIIIa. À la surface des plaquettes, le facteur VIIIa se lie au facteur IXa et le complexe, en présence d'ions calcium, active un facteur X supplémentaire, ce qui déclenche la phase de propagation de la coagulation [22].

➤ **Phase de propagation :**

A la surface des plaquettes, le complexe tenase génère des quantités importantes de FXa. L'activation du FX en FXa par le complexe tenase est 50 fois supérieure à celle du FX par le complexe [FT-FVIIa]. Le complexe prothrombinase clive la prothrombine en thrombine, mais après la phase d'amplification, la présence à la surface des plaquettes de concentrations élevées de facteurs activés permet la génération explosive de quantités importantes de thrombine (thrombin burst) qui aura de multiples effets : activation en boucle du facteur XI (FXI), du FVIII et du FV, activation des plaquettes et surtout protéolyse du fibrinogène en monomères de fibrine. La polymérisation spontanée de ces monomères crée la trame du réseau de fibrine qui structure le caillot. Ce caillot est consolidé par l'action du FXIII, lui-même activé par la thrombine.



**Figure 14 : Phases de la coagulation [25].**

### 3.4. Exploration de la coagulation :

#### a. Respect des étapes pré-analytique, analytique et post-analytique :

##### ➤ Etape pré-analytique :

- **La prescription de l'analyse :** Cette étape fait partie de la phase pré-analytique et contribue à la qualité de l'analyse, non pas sur le plan technique, mais plutôt en termes de pertinence et de conséquences diagnostiques ou thérapeutiques pour le patient.
- **Le recueil des renseignements cliniques :** Les données fournies présentent un intérêt significatif pour le biologiste, notamment l'âge, le sexe, le contexte de la demande (bilan préopératoire, bilan de thrombose, recherche de maladie hémorragique, suivi du traitement...), et l'état physiologique actuel (grossesse...). Groupe sanguin (notamment pour les facteurs VIII et Willebrand), pathologies connues (telles que lupus, hépatite, cirrhose, infections, insuffisance rénale), éventuels antécédents médicaux personnels et/ou familiaux, traitements coagulants, ou toute autre information pertinente pour la validation. Toutes les informations médicales recueillies doivent être soigneusement documentées afin de garantir la traçabilité.
- **Préparation du patient :** Les échantillons de sang sont généralement prélevés le matin, de préférence après un jeûne. L'alcool, le tabac et le café doivent être évités, de même que l'exercice physique. En effet, l'effort physique entraîne une activation de la coagulation et de la fibrinolyse. De plus, une alimentation riche en lipides peut interférer avec plusieurs paramètres tels que la réactivité plaquettaire, le taux de facteur VII et l'hypofibrinolyse. Le tabagisme stimule l'agrégation plaquettaire et la fibrinolyse. L'échantillon est prélevé sur un patient assis et au repos pendant cinq minutes. Pour certaines analyses, notamment pour l'étude de la fibrinolyse, il est recommandé de s'allonger pendant 20 à 30 minutes [26]. Pour les femmes, il faut éviter de doser le facteur de Willebrand, le facteur VIII de la coagulation ainsi que la protéine S pendant la grossesse, tout résultat anormal pendant la grossesse doit être contrôlé à distance (au moins deux mois après l'accouchement).

- **Méthodes de prélèvement** : Le prélèvement sanguin est généralement effectué par ponction veineuse directe au pli du coude (veine de grand calibre). Les tubes sous vide contenant du citrate de sodium (0,105 M) sont actuellement très utilisés. Le garrot ne doit être que légèrement serré pour éviter une stase prolongée et doit être relâché dans la minute qui suit pour éviter l'activation des cellules endothéliales et de la cascade de la coagulation. Il est conseillé de jeter les premiers millilitres de sang prélevé car ils peuvent contenir des débris tissulaires susceptibles d'activer la coagulation. Si d'autres bilans non destinés à l'hémostase sont à réaliser, il est recommandé de prélever les tubes d'hémostase en seconde position, mais aussi pas à la fin car la présence prolongée d'une aiguille dans la paroi endothéliale peut entraîner une activation de la coagulation par lésion de l'endothélium. Les tubes prélevés doivent être correctement remplis et immédiatement agités par quelques retournements lents. Des gestes sont à proscrire: prélèvement à la seringue ; prélèvement sur cathéter, si nécessaire, après rejet de 5 à 10 mL [27].
- **Le choix du tube** : Le tube utilisé pour les tests d'hémostase sera sous vide, en verre siliconé ou PET (polyéthylène-téréphtalate). L'anticoagulant sera préférentiellement du citrate de sodium 0,109 M (recommandé), la concentration à 0,129 M est cependant considérée comme. Le mélange CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole), utile au dosage des héparines non fractionnées et à l'étude des glycoprotéines membranaires des plaquettes en cytométrie de flux, doit être conservé à l'abri de la lumière. Tout autre anticoagulant est non conforme [28]. Pour le volume de l'anticoagulant il est primordial de respecter strictement le rapport 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang total. Il est recommandé que le tube soit rempli à plus de 90%, et pour un remplissage inférieur à 80%, il faut refuser le prélèvement.

- **Identification du prélèvement** : Une grande attention doit être portée à la procédure ; la vérification de l'identité du patient et l'étiquetage du tube doivent être effectués au moment du prélèvement. Il est important de confirmer que le nom et le prénom du patient correspondent à ceux figurant sur la demande d'analyse et sur l'étiquette qui sera apposée sur le tube. Les erreurs d'identification sont considérées comme rares, mais elles sont probablement sous-estimées car elles sont souvent inconnues [29].
- **Conditions de transport** : Lorsque le prélèvement n'est pas effectué au laboratoire, les tubes doivent être maintenus en position verticale pour éviter tout contact avec le bouchon. Il faut éviter les agitations et les vibrations qui peuvent entraîner une hémolyse.
- **Acheminement** : Les prélèvements doivent être rapidement acheminés au laboratoire et traités. L'idéal est un délai de 1 à 2h sans dépasser 4 h (maximum de 6 h est accepté pour le temps de Quick), Sinon, il faut séparer par centrifugation le plasma et le congeler jusqu'au moment de l'analyse. Il est à noter que :
  - Certains facteurs de coagulation sont particulièrement labiles (notamment les facteurs V et VIII) et le prélèvement doit être acheminé le plus rapidement possible sans excéder 3 h.
  - En cas de traitement par héparine, ce délai ne doit pas excéder 2 h en milieu citraté habituel, car l'héparine peut être neutralisée par le facteur 4 plaquettaire. Le prélèvement sur tube CTAD rend possible un délai de 4 h entre le moment du prélèvement et l'analyse.
  - Les tests fonctionnels plaquettaires sont effectués extemporanément, dans l'heure qui suit le prélèvement, sur un plasma riche en plaquettes. Il faudrait, dans les 3 à 4 h qui suivent le prélèvement que l'exploration des fonctions plaquettaires soit terminée. Pour l'étude des fonctions plaquettaires, un parcours supérieur à 1 h ou 1 h30 tout au plus rend nécessaire le déplacement du patient pour prélèvement au laboratoire d'hémostase.

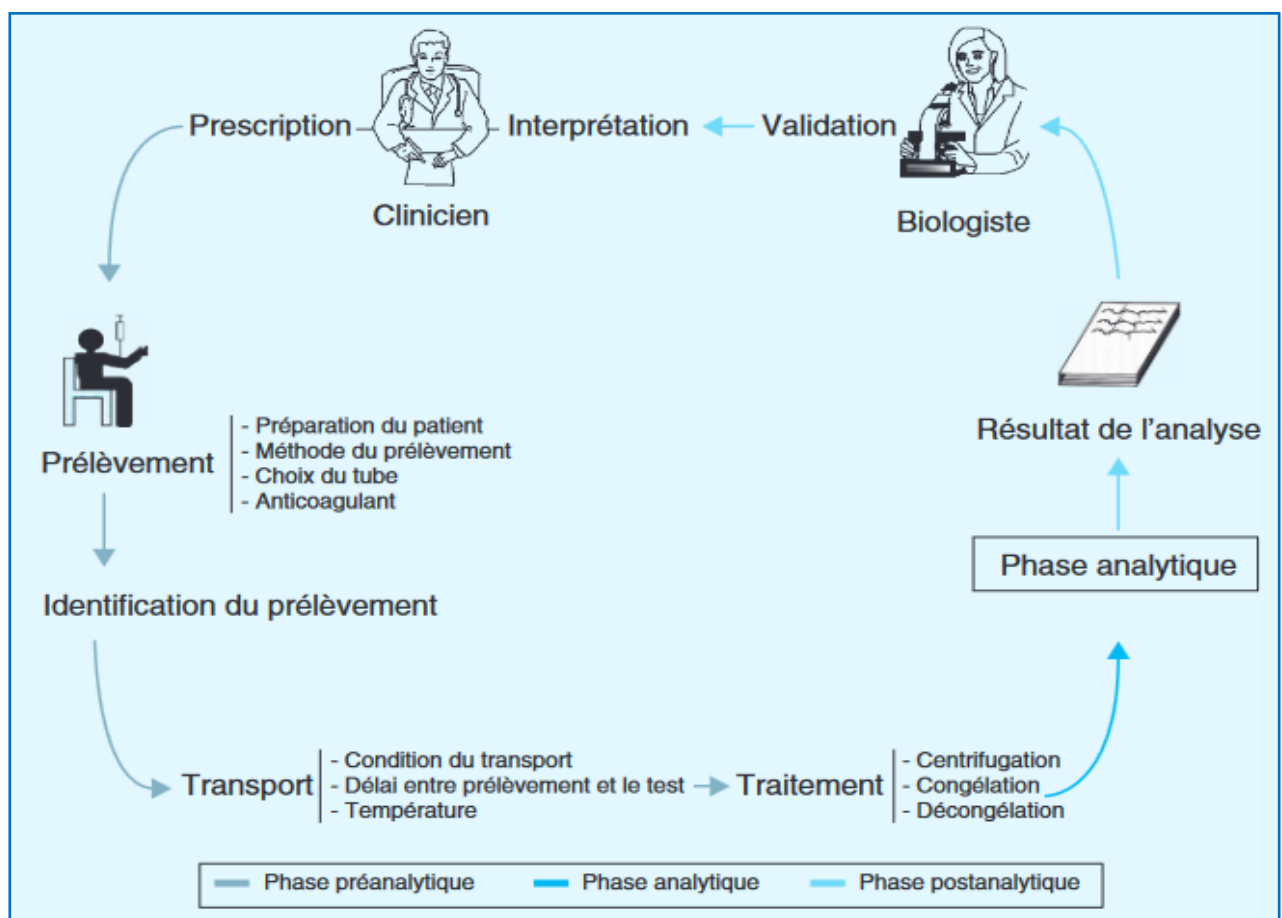
- Les composants du système fibrinolytique sont très labiles ; l'étude analytique de la fibrinolyse, en particulier les activateurs, est du ressort de laboratoires spécialisés qui organisent des conditions rapides et optimales de traitement et de conservation des échantillons pour les dosages différés [27].
- **Température** : Les prélèvements doivent être conservés à température ambiante pendant le transport jusqu'au moment de l'analyse. Le froid peut entraîner une altération irréversible des fonctions plaquettaires et une activation de certains facteurs de coagulation (facteurs VII, VIII et facteur de Willebrand). D'une manière générale, il est recommandé pour ces tests de maintenir une température comprise entre 18 et 22°C et d'éviter le grand froid autant que la chaleur excessive.
  - **Centrifugation** : Centrifuger 2500 g de plasma pendant 15 min à 20°C. Par ailleurs, une double centrifugation séparée par une décantation du plasma est nécessaire en cas de recherche de lupus anticoagulant, de recherche d'une résistance à la protéine C activée et de congélation du plasma pour des dosages différés. Ceci permet d'assurer un nombre de plaquettes résiduelles inférieur à 10 G/L. Cette décantation du plasma doit être faite avec soin, en évitant de se rapprocher du culot mais aussi de la couche superficielle du plasma qui peut être riche en débris membranaires. L'aspiration du plasma doit être douce pour ne pas mobiliser les plaquettes du culot.
  - **Congélation-décongélation** : Lorsque les tests doivent être différés, il faut recourir à la congélation. Cette dernière s'effectue dans les courts délais dans des tubes en plastique hermétiquement bouchés, en petits aliquots (500 à 1200L) de préférence à - 70°C (jusqu'à 6 mois), à défaut à - 20°C (pour une durée inférieure à 2 semaines, acceptable jusqu'à 30 jours). La décongélation doit être rapide au bain-marie à 37°C pendant 5 minutes. Une fois décongelé, le plasma doit être homogénéisé et immédiatement traité (afin d'éviter l'activation de la coagulation et la diminution des facteurs labiles V et VIII). Un plasma décongelé ne doit pas être recongelé, du moins pour les tests fonctionnels[27].

➤ Etape analytique :

Qui comprend des tests analytiques mesurant la quantité et l'activité des molécules mises en jeu au cours de la coagulation.

➤ Etape post-analytique :

Qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que la communication appropriée du résultat au prescripteur.



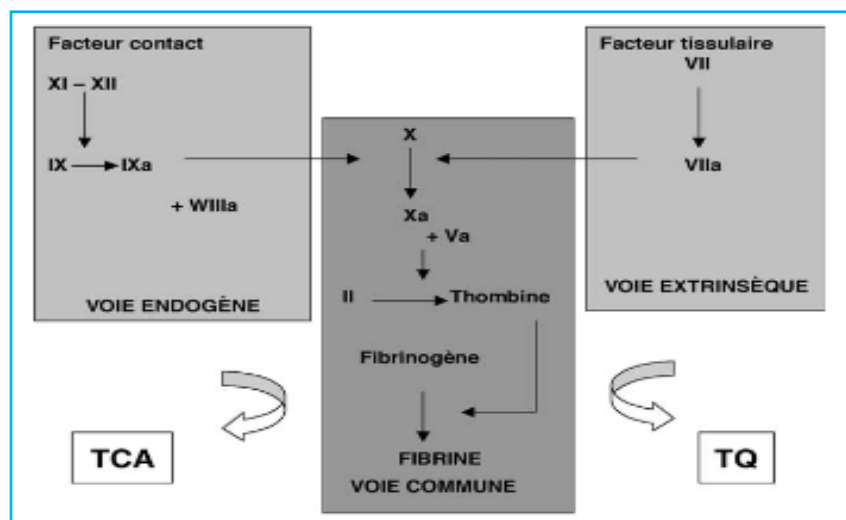
**Figure 15 : Représentation du circuit depuis la prescription jusqu'à l'interprétation de l'analyse**

[27].



**b. Tests d'orientation :**

Les tests de coagulation consistent à mesurer la vitesse de formation d'un caillot de fibrine dans diverses conditions. Deux tests simples, automatisables et peu coûteux, le temps de céphaline avec activateur (TCA) et le temps de Quick (TQ), font partie des examens de première intention, le TCA explore la voie dite endogène, et le TQ explore la voie extrinsèque, toutes les deux impliquant également la voie terminale commune (Fig.16). Les dosages des facteurs spécifiques sont effectués sur la base des résultats des tests précédents afin d'identifier un déficit isolé [5].



**Figure 16 : Exploration de la coagulation in vitro [5].**

➤ **Exploration de la voie extrinsèque : le temps de Quick (TQ) :**

C'est le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma en présence de thromboplastine (mélange de facteur tissulaire et de phospholipides) et de calcium, il explore la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation et peut être exprimé en secondes (TQ), en pourcentage (taux de prothrombine, ou TP) ou en INR (International normalized ratio, chez les sujets traités par antivitamine K AVK). Les valeurs normales du TP vont de 70 à 100%, correspondant généralement à un TQ compris entre 13 et 15 secondes. Quelle que soit l'intervention, il n'y a pas de risque hémorragique si le TP est supérieur à 60%.

Le temps de Quick est allongé par les déficits en facteurs VII, X, V, II et les diminutions marquées du fibrinogène fonctionnel ( $< 0,80$  g/l) [30].

- **Exploration de la voie intrinsèque : temps de céphaline avec activateur (TCA) :**

Le TCA évalue le temps de coagulation à 37°C du plasma en présence de phospholipides (céphaline), d'un activateur de la phase de contact (kaolin, acide ellagique, silice ou autre) et de calcium. Le temps obtenu est exprimé par rapport au temps du plasma témoin, dont la valeur moyenne varie entre 30 et 40 secondes selon les réactifs utilisés. Le résultat peut également être exprimé sous forme de ratio patient/témoin. Lorsque le temps de céphaline avec activateur (TCA) dépasse 6 à 8 secondes de la valeur de contrôle ou  $\text{ratio} > 1,2$  chez l'adulte et  $\text{ratio} > 1,3$  chez l'enfant, il est considéré comme allongé. Chez les patients sous héparinothérapie non fractionnée le TCA est 2 à 3 fois celui du témoin. L'allongement du TCA doit être interprété en fonction du contexte clinique (notion d'antécédents hémorragiques personnels et/ou familiaux, existence d'une maladie associée) et des résultats des examens de coagulation effectués parallèlement (TQ, etc). L'allongement du TCA peut être isolé ou associé à un allongement du temps de saignement ou à un allongement du TQ. Le TCA explore la voie de la coagulation déclenchée par le contact (voie dite « endogène ») et il est donc fonction de la concentration plasmatique de chacun des facteurs de coagulation impliqués : facteurs de la phase contact (facteurs XII, kininogène de haut poids moléculaire [KHPM], prékallikréine), facteurs XI, IX, VIII, X, V, II et fibrinogène. Il n'explore pas les plaquettes qui sont remplacées par la céphaline, ni le facteur VII. Le TCA est sensible :

- Aux déficits en facteurs « contact » (kininogène de haut poids moléculaire, prékallikréine, facteurs XII, XI), en facteurs IX, VIII, X, V, II et aux diminutions sévères du fibrinogène fonctionnel ( $< 0,80$  g/l).
- A la présence d'héparine non fractionnée.
- A la présence d'inhibiteurs acquis de la coagulation : anticoagulants circulants.

- **Temps de thrombine et dosage du fibrinogène :**

Le temps de thrombine est la mesure du temps de coagulation d'un plasma après apport d'une quantité connue de thrombine. La vitesse de coagulation est fonction de la quantité et de la qualité du fibrinogène et de la présence ou non d'inhibiteurs de la fibrino-formation (héparine non fractionnée [HNF], produits de dégradation de la fibrine...). Les résultats sont exprimés en secondes, par référence à un témoin. Une variante de ce test, utilisant des concentrations élevées de thrombine, permet de mesurer la concentration plasmatique de fibrinogène. Elle est normalement comprise entre 2 et 4 g/L.

*c. Tests de confirmation [30] :*

A partir des résultats de ces tests de base, les biologistes peuvent se trouver confrontés aux anomalies suivantes : Allongement isolé du temps de Quick, allongement isolé du TCA et allongement du temps de Quick et du TCA.

Allongement isolé du temps de Quick, cette anomalie biologique se rencontre lors de : insuffisance hépato-cellulaire modérée, hypovitaminose K quelle que soit son origine et exceptionnellement déficit isolé en facteur VII, constitutionnel ou acquis.

Allongement isolé du temps de céphaline avec activateur, cette anomalie biologique se rencontre lors de : traitement par héparine non fractionnée, déficit constitutionnel en facteurs explorés spécifiquement par le TCA (voie endogène ou intrinsèque) : facteurs du système contact (KHPM, PK, XII, XI) ; facteurs IX et VIII et présence d'un inhibiteur acquis de la coagulation, lupus anticoagulant ou plus rarement anticoagulant circulant spécifique de l'un des facteurs de la voie endogène.

Allongement de TQ et de TCA, les étiologies les plus fréquentes sont représentées par : l'hypovitaminose K thérapeutique (AVK) ou pathologique et l'insuffisance hépato-cellulaire. Plus rarement, il peut s'agir de : coagulopathies de consommation, déficit isolé en facteur X, V ou II, déficit isolé en fibrinogène ou dysfibrinogémie, certains anticoagulants circulants :

ACC "forts", ACC associés à un déficit acquis en prothrombine, inhibiteurs spécifiques des facteurs X, V ou II, ou inhibiteurs de la fibrinoformation et hémomodulation thérapeutique.

- **Exploration des inhibiteurs physiologiques de la coagulation :**

L'étude des systèmes de régulation de la coagulation est nécessaire pour identifier les facteurs de risque de thrombose. Actuellement, il n'existe pas de test satisfaisant pour évaluer de manière exhaustive le fonctionnement des inhibiteurs de la coagulation (équivalent du TQ et du TCA pour l'exploration des facteurs de coagulation). Chaque protéine plasmatique telle que l'antithrombine, la protéine C, la protéine S, etc est mesurée séparément. Dans un premier temps, seul le dosage fonctionnel est réalisé. S'il est anormal, le dosage antigénique doit être fait de façon à déterminer si l'anomalie est quantitative ou qualitative.

- **Recherche d'un anticoagulant circulant (ACC) :**

Les anticoagulants circulants sont des anticorps capables de perturber les tests de coagulations. Devant tout allongement de TCA le biologiste doit réaliser un « test de correction », qui consiste à mélanger à parties égales du plasma du patient et d'un pool de plasmas normaux, cette épreuve est appelée TCA du mélange (M+T). Elle permet d'orienter soit vers un déficit en un facteur de coagulation ou vers la présence d'un anticoagulant circulant (ACC).

En présence d'un déficit en facteur, le TCA (M+T) est dit « corrigé », c'est-à-dire que la valeur obtenue est proche de celle du témoin. Tandis qu'en présence d'un anticoagulant circulant, le TCA (M+T) n'est pas corrigé, c'est-à dire qu'il reste à une valeur éloignée de celle du témoin.

En pratique, la correction (ou la non-corrrection) du TCA est objectivée par le calcul de l'indice de Rosner :

$$\text{Indice de Rosner} = (TCA(m+t) - TCA(t)) / TCA(m) \times 100$$

Le résultat de l'indice de Rosner s'exprime en pourcentage : Au dessous de 12% : le résultat est en faveur d'un déficit en facteur, au dessus de 15% : le résultat est en faveur d'un (ACC) et Entre les deux valeurs le résultat reste douteux.

L'ACC peut être dirigé contre les phospholipides pro coagulants (antiphospholipides) ; des tests complémentaires faisant varier la concentration de phospholipides permettent de les identifier. L'ACC peut être spécifique d'un facteur de coagulation ; le dosage spécifique du facteur en cause permet le diagnostic.

- **Dosages spécifiques des de l'activité facteurs de coagulation :**
  - **Exploration des facteurs pro coagulants :** Les dosages des facteurs de coagulation ne sont effectués que lorsque les tests de dépistage (TCA ou TQ) sont anormaux. Tous les facteurs de coagulation peuvent être dosés individuellement. Le dosage est basé sur le pouvoir de correction par le plasma à tester du temps de coagulation d'un plasma dépourvu électivement du facteur de coagulation à mesurer. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la normale.
    - **Dosage des facteurs VII, II, V et X :** Elle est réalisée par une méthode chronométrique dans un système Quick-time à l'aide de réactifs dépourvus du facteur à mesurer.
    - **Dosage des facteurs VIII, IX, XI et XII :** Elle est réalisée par une méthode chronométrique dans un système TCA, avec des réactifs dépourvus du facteur à mesurer. La mesure du facteur VIII peut également être réalisée par une méthode colorimétrique.

#### 4. Fibrinolyse :

La formation d'un caillot sanguin est un mécanisme temporaire qui est dissous par le système fibrinolytique pour restaurer l'état vasculaire initial, sa décomposition favorisant la recanalisation du vaisseau endommagé. La lyse de la fibrine du caillot se fait principalement sous l'action protéolytique de la plasmine, présente dans le plasma sous forme d'un précurseur inactif, le plasminogène [31], dont l'activation peut être faite par la voie dépendant du facteur XII ou par les activateurs du plasminogène (PAs), divisés classiquement en deux groupes, les PAs endogènes et les PAs exogènes

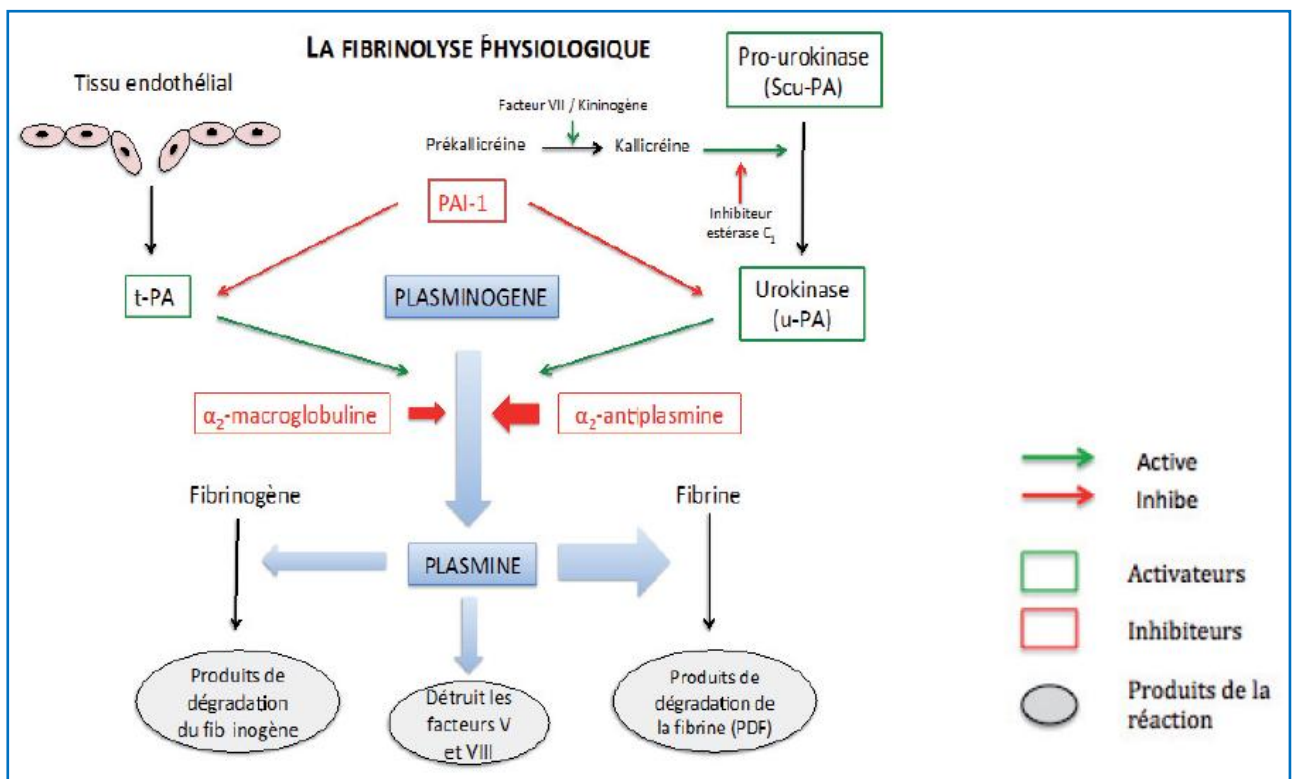
Parmi les PAs endogènes, l'activateur du plasminogène type tissulaire (t-PA) joue un rôle physiologique primordial, il est synthétisé principalement par l'endothélium. La thrombine stimule la libération de t-PA par les cellules endothéliales et le t-PA se fixe sur la fibrine du thrombus. Dans le thrombus, on trouve aussi du plasminogène qui s'est fixé sur la fibrine lors du processus de coagulation. La nouvelle fixation du t-PA sur la fibrine transforme le plasminogène en plasmine. La fibrine est donc un élément initiateur important du processus fibrinolytique qui aboutit à sa propre lyse. Les PAs du type urokinase (u-PA) sont synthétisés par différentes cellules, en particulier par des cellules qui ont la morphologie des fibroblastes mais aussi par les cellules épithéliales. Il est présent dans le plasma, l'urine et dans de nombreux tissus et organes, surtout dans les reins.

Parmi les PAs exogènes, la streptokinase (SK) est le plus connu. C'est un produit dérivé des streptocoques, qui peut jouer un rôle important dans certaines infections bactériennes.

Le plasminogène est transformé en plasmine qui dégrade la fibrine, ceci aboutit à la formation des produits de dégradation de fibrine (PDF), comme la fibrine D-dimère. Ces PDF constituent des anticoagulants faibles. Leur taux, et plus précisément celui de la fibrine D-dimère, est utilisé pour le diagnostic des embolies pulmonaires, de la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et de la thrombose veineuse profonde (TVP).

La plasmine, produite en excès pendant la lyse du caillot, est rapidement inactivée par son principal inhibiteur physiologique, l' $\alpha_2$ -antiplasmine. Ce dernier, synthétisé dans le foie, est présent dans le plasma et les plaquettes [32]. Les inhibiteurs des PAs (PAIs), comme le PAI-1 et le PAI-2, jouent également un rôle important dans la régulation de la fibrinolyse. Le PAI-1 est le plus important physiologiquement.

Normalement, la lyse du caillot ne survient pas avant 48 heures. Le système fibrinolytique évolue de façon synchrone avec la cicatrisation des tissus lésés. Ainsi, tout dérèglement de l'équilibre entre la lyse du caillot et la réparation des tissus lésés, comme dans l'hypercoagulabilité génétique ou acquise, peut provoquer des saignements secondaires qui retardent la cicatrisation de la brèche vasculaire. Le système fibrinolytique (ou thrombolytique) se révèle donc aussi complexe que le système de coagulation, il existe plusieurs types d'activateurs du plasminogène, ainsi que plusieurs inhibiteurs de ces activateurs [18].



**Figure 17 : Activateurs et inhibiteurs physiologiques de la fibrinolyse [33].**

## II. Rappels physiopathologiques :

### 1. Anticoagulants circulants :

#### 1.1. Définition :

Les anticoagulants circulants (ACC) désignent les inhibiteurs acquis pathologiques de la coagulation, à l'exclusion des inhibiteurs physiologiques. Ces inhibiteurs acquis sont divisés en deux groupes :

- Le premier groupe comprend les anticoagulants qui apparaissent après des transfusions répétées chez des individus présentant un déficit héréditaire en un facteur de coagulation particulier. Ces anticoagulants sont des allo-anticorps spécifiquement dirigés contre le facteur manquant. Ils touchent des patients atteints d'une maladie du sang établie de longue date et suivis dans des structures de soins spécialisées.
- Le deuxième groupe réunit les anticoagulants apparaissant chez des sujets sans troubles préexistants de l'hémostase. Ce sont des auto-anticorps qui se répartissent en deux sous groupes d'importance inégale et d'expression clinique différente :
  - Le premier réunit les anticorps dirigés contre un seul facteur de la coagulation qui expose généralement à des accidents hémorragiques.
  - Le second réunit les anticorps dirigés contre une phase de la coagulation qui expose plutôt à des accidents de thrombose.

Cette opposition schématique est cliniquement justifiée mais son intérêt didactique ne doit pas ignorer la possibilité d'exceptions : accidents hémorragiques dans le second sous-groupe, accidents thrombotiques dans le premier, et possibilité d'associer les deux types d'anticoagulants dans une même maladie, comme dans la maladie lupique [2].



**1.2. Classification :**

*a. ACC interférant avec une phase de coagulation : Anticoagulant circulant de type lupique :*

Anticoagulant circulant de type lupique ou LA. Le terme LA est porteur de plusieurs confusions. D'une part, il est appelé « lupus » en référence à son association fréquente avec le LES alors que cette association est inconstante et non spécifique. D'autre part, le qualificatif d'« anticoagulant » se rapporte à l'allongement des tests de coagulation qu'il provoque in vitro un milieu où ces phospholipides représentent un facteur limitant de la réaction de coagulation, notamment lors des étapes d'activation du facteur X et de la prothrombine, alors qu'in vivo, il est paradoxalement responsable de phénomènes thrombotiques [34].

Le terme de "lupus anticoagulant" retenu par les experts internationaux doit être préféré à celui d'"antiprothrombinase" couramment utilisé pour désigner ce type d'anticoagulants circulants. In vivo les phospholipides servant de support aux réactions de coagulation étant disponibles en quantité non limitée, les anticoagulants circulants lupiques n'ont pas d'effet à proprement parler anticoagulant et ne sont jamais responsables, à eux seuls, d'une tendance hémorragique. Cette dernière ne se manifeste que dans les rares cas où les ACC sont associés à un déficit acquis en prothrombine ou une thrombopénie sévère.

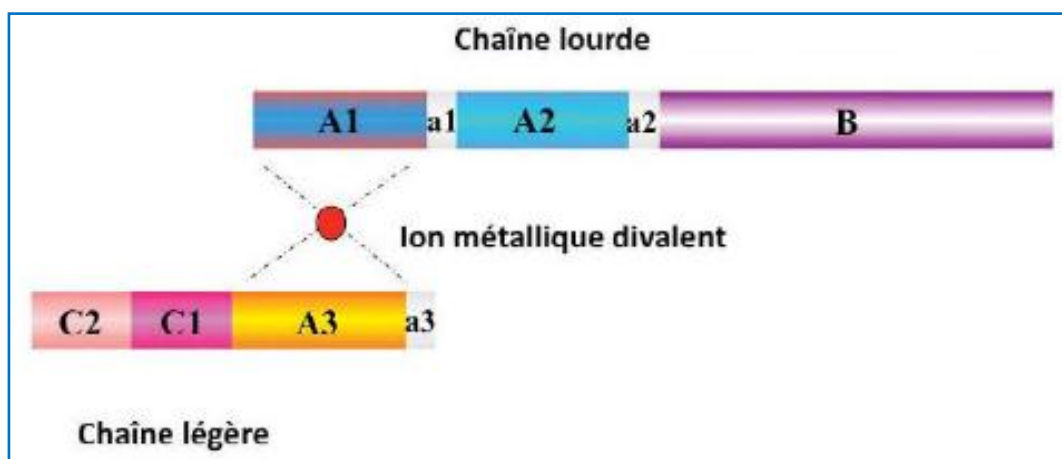
Les anticoagulants circulants lupiques peuvent appartenir à divers isotypes, le plus souvent IgG mais aussi IgM, IgA ou mixtes. De même que les anticorps anticardioline, les anticoagulants circulants lupiques sont classiquement considérés comme des antiphospholipides, dirigés contre des phospholipides anioniques (phosphatidylserine, phosphatidylinositol et acide phosphatidique) ou neutres, comme la phosphatidylethanolamine, notamment lorsqu'elle est présentée sous une configuration particulière en phase hexagonale [35].

*b. ACC dirigés contre un facteur de coagulation :*

Les ACC dirigés contre divers facteurs de la coagulation : Inhibiteurs du facteur VIII (VIIIc), inhibiteurs du facteur Willebrand, inhibiteurs du facteur IX, inhibiteurs du facteur V, inhibiteurs de la prothrombine et les inhibiteurs de la phase contact (facteur XI et facteur XII). les inhibiteurs de la fibrino-formation ont une place ambiguë et pourraient être étudiés dans le groupe des anticorps dirigés contre une phase de la coagulation l'ACC de type lupique spécifique de la phase d'activation de la prothrombine (ACC anti-prothrombinase) [36].

- Anticorps anti- facteur VIII :

- Structure du facteur VIII (F VIII) : Le facteur VIII (Fig.18) est une protéine de 2332 acides aminés, codée par un gène situé sur le chromosome X. Le FVIII est un hétérodimère composé d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère, reliées entre elles par un ion divalent et organisées en domaines. La chaîne lourde est composée des domaines A1, A2 et d'un domaine de longueur variable: le domaine B. Ce domaine B est clivé lors de l'activation du FVIII et n'intervient pas dans les fonctions pro-coagulantes du FVIII. La chaîne légère est composée des domaines A3, C1 et C2. Lors de son activation par la thrombine, le FVIII est transformé en un hétérotrimère A1-A2-A3C1C2. Il intervient en tant que cofacteur du FIXa dans le complexe ténase.



**Figure 18 : Structure du FVIII [36].**

- **Mécanismes d'action :** Les inhibiteurs anti-FVIII vont principalement compromettre l'interaction du FVIII avec ses différents partenaires (facteur von Willebrand, FIX, phospholipides ou FX) selon différents mécanismes (Fig.19). D'une manière générale, les Allo AC ont une cinétique de type 1, c'est-à-dire qu'ils inhibent complètement, de manière dose-dépendante, l'activité pro coagulante du FVIII. Les Auto AC anti-FVIII se caractérisent en général par une cinétique différente des Allo AC. En effet, ils possèdent une cinétique de type 2, c'est-à-dire qu'ils n'inhibent que partiellement l'activité pro-coagulante du FVIII. L'épitope reconnu par l'AC et sa localisation interviennent de manière importante dans le mécanisme d'inhibition. Les principaux épitopes reconnus par les inhibiteurs précisément identifiés sont situés au niveau des domaines C2, A2 et/ou a3A3 du FVIII.

Les AC anti-domaine C2 vont essentiellement compromettre la liaison du FVIII au facteur von Willebrand ainsi qu'aux phospholipides électronégatifs. Les AC anti-A2 vont compromettre l'interaction avec le FIXa. Certains AC dirigés contre le domaine A2 vont empêcher l'activation du FVIII par la thrombine. Enfin, les AC dirigés contre le domaine A3 vont essentiellement compromettre l'interaction avec le FIXa. Les AC anti-C2 semblent être les plus fréquemment identifiés parmi les inhibiteurs développés chez l'hémophile A. Une autre catégorie d'AC anti-FVIII est représentée par les AC catalytiques. Ces AC possèdent une activité enzymatique et catalytique directe sur le FVIII. Cette catégorie particulière d'AC serait présente chez plus de 50% des hémophiles A avec inhibiteurs. Ces anticorps catalytiques sont aussi décrits dans l'hémophilie acquise et sont capables de catalyser le FVIII mais aussi le FIX [36].

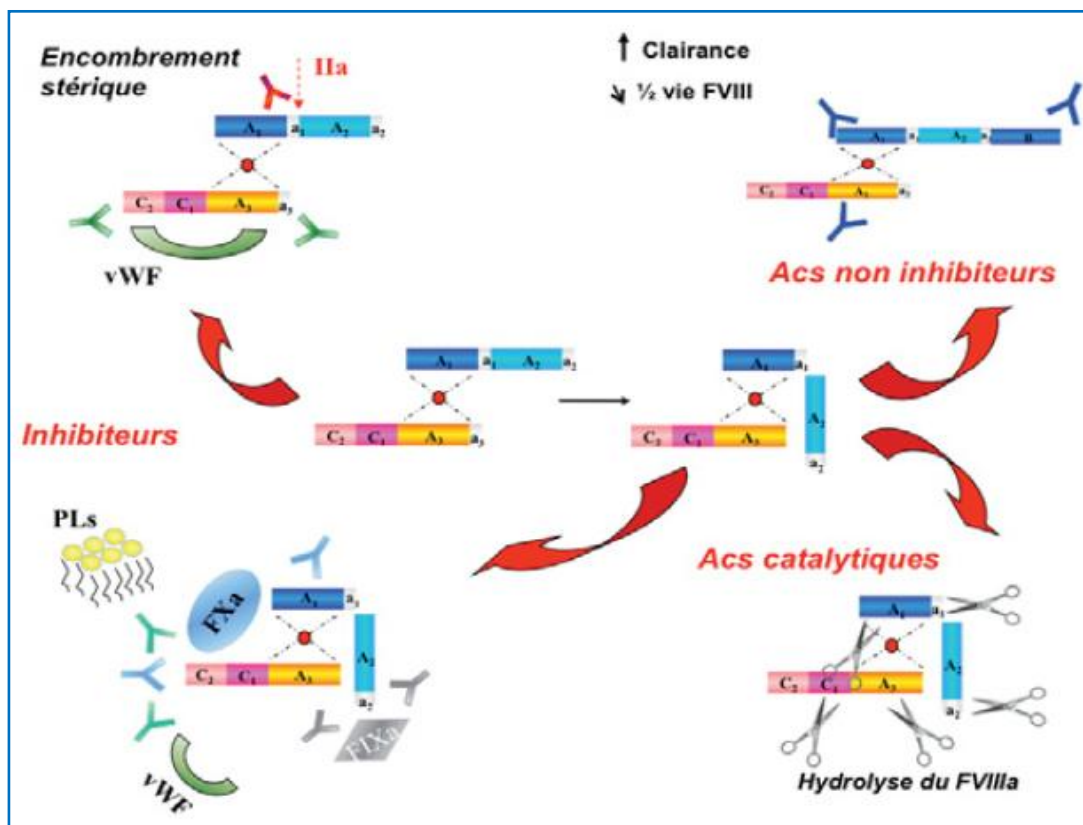


Figure 19 : Mécanismes d'action des anticorps anti-FVIII [36].

- **Auto-anticorps anti-facteur FVIII** [37] : Un déficit isolé et acquis en facteur VIII (FVIII) ne peut être dû qu'à des auto-anticorps inhibiteurs dirigés contre ce facteur de la coagulation. Bien que rare, c'est le plus fréquent des déficits auto-immuns et hémorragiques d'un facteur de la coagulation. Le terme d'« hémophilie acquise » est souvent utilisé bien qu'impropre puisque par définition l'hémophilie est un déficit constitutionnel, génétiquement déterminé.
- **Manifestations cliniques** : Classiquement, il s'agit de manifestations hémorragiques majeures, inattendues, d'apparition brutale, d'intensité inhabituelle chez un patient sans antécédents hémorragiques personnels ou familiaux connus, leur localisation est variable. Les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont : des échymoses localisées ou étendues des membres ou du tronc, des hématomes, des hématuries,

des hémorragies muqueuses. Plus rarement, il peut s'agir d'une hémorragie intra-abdominale, d'une hémorragie intracrânienne, d'une hémarthrose ou d'une hémorragie post-partum. Dans certains cas, il peut s'agir d'une hémorragie peropératoire. Certains phénomènes compressifs secondaires peuvent aggraver les signes fonctionnels ou vitaux : syndrome de Loges, obstruction des voies respiratoires. Étant donné la population concernée, souvent âgée, la présence d'un traitement anti-thrombotique de type AVK ou inhibiteur plaquettaire (aspirine, clopidogrel...) peut faire retarder le diagnostic (car les complications hémorragiques sont alors faussement attribuées au traitement anticoagulant). Rarement, le diagnostic est établi dans le cadre d'une évaluation préopératoire de la coagulation anormale.

- **Diagnostic biologique** : Le diagnostic est le plus souvent évoqué cliniquement, mais ne peut être affirmé que par un allongement isolé (et acquis) du temps de céphaline avec activateur (TCA) avec un déficit isolé en FVIII. Le diagnostic repose sur l'identification d'un anticorps anti-FVIII [38].
- **Allongement du TCA** : Un TCA allongé (temps de Quick normal, fibrinogène normal, temps de thrombine normal) avec une symptomatologie hémorragique nécessite une mesure des facteurs de la voie endogène : au minimum du FVIII, FIX et FXI. La mesure du FXII, même si elle est souhaitable, n'est pas indispensable puisqu'un déficit en FXII, même sévère, ne saurait expliquer la symptomatologie hémorragique. La recherche d'un anticoagulant circulant (ACC) de type anti prothrombinase (lupique), doit également être effectuée.

- **Déficit isolé en FVIII :** En cas d'un déficit isolé en FVIII, la recherche d'un déficit en facteur Willebrand (VWF) doit être réalisée. Cette recherche peut associer la réalisation d'un temps d'occlusion sur PFA-100® (Siemens) et un dosage d'activité du facteur Willebrand (VWF). En cas d'une « hémophilie acquise », la concentration plasmatique de VWF est normale voire élevée. Il existe alors un déficit relatif en FVIII (rapport FVIII/VWF < 0,7). Attention un anticoagulant circulant (ACC) de type antiprothrombinase peut interférer avec la mesure des facteurs VIII, IX, XI et XII.
- **La recherche d'un ACC :** Le test dit «mélange malade + témoin » doit être systématiquement effectué devant un TCA allongé, en cas de déficit en facteurs VIII, IX, XI ou XII, le TCA (M+T) est corrigé. Les ACC type anti-FVIII (ou auto-anticorps anti-FVIII) sont dépendants de la durée et de la température d'incubation de ce mélange. Ainsi, devant un TCA allongé avec un déficit en facteur VIII isolé et quel que soit le résultat du mélange (M+T), la présence d'un auto-anticorps anti-FVIII doit être évoquée. Seule la recherche spécifique d'un auto-anticorps anti-FVIII par dosage du FVIII après une incubation du mélange (M+T) pendant 2 heures à 37° C permettra de confirmer ou d'infirmer le diagnostic. En cas de dépistage positif, l'auto-anticorps anti-FVIII doit être titré par technique de Bethesda (Fig.20).
- **Le titrage de cet inhibiteur :** Est très difficile et il a essentiellement un intérêt dans le diagnostic et le suivi biologique puisqu'il a été démontré que cette valeur n'est pas prédictive du risque hémorragique. En cas de tableau clinique et de résultats biologiques évocateurs, il s'avère donc indispensable de rechercher cet inhibiteur à plusieurs reprises.

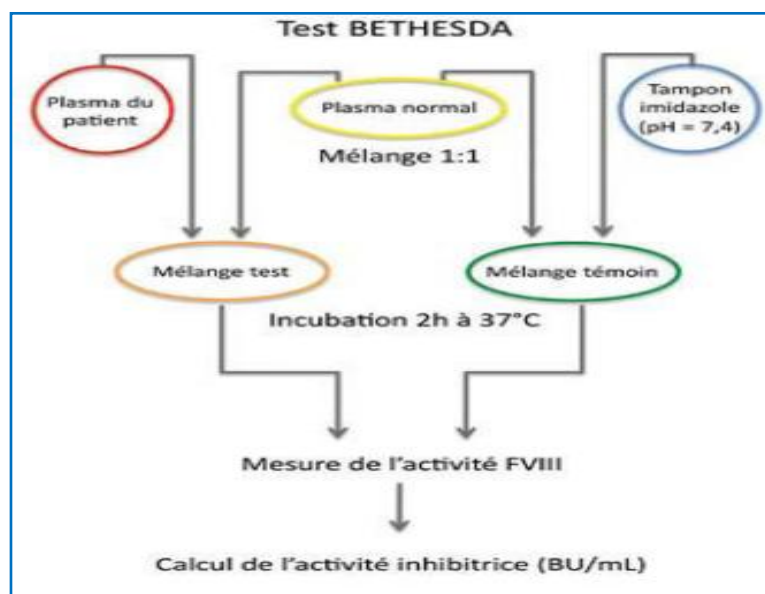
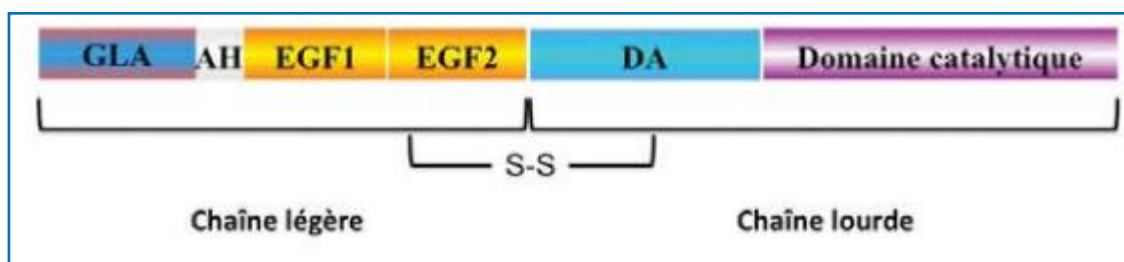


Figure 20 : Méthodes de détection et de titrage des anticorps anti-FVIII par la méthode Bethesda

[36].

- **Anticorps anti facteur IX :**

- **Structure du facteur IX :** Le FIX (Fig.21) est une serine protéase de 415 acides aminés également codée par un gène situé sur le chromosome X. Le FIX est organisé en plusieurs domaines. A l'extrémité N-terminale se trouve le domaine GLA comportant de nombreux résidus d'acide glutamique, permettant la liaison aux phospholipides électro-négatifs par l'intermédiaire d'un ion calcium. Ce domaine est commun à tous les facteurs vitamine K dépendants car il nécessite une gamma carboxylation vitamine K dépendante pour être fonctionnel. Le FIX possède également 2 domaines de type EGF *like* (*epidermal growth factor*) : EGF1 et EGF2. Vers l'extrémité C-terminale, 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 serine protéase permettant l'activation du FX en FXa au niveau du domaine catalytique. Cette réaction est augmentée d'un facteur 50 en présence de FVIIIa [36].



**Figure 21 : Structure du facteur IX [36].**

- **Allo Anticorps anti-FIX** : Les Allo AC anti-FIX sont relativement rares. Ils se développent chez 1 à 3% des hémophiles B. Une des hypothèses retenues afin d'expliquer la plus faible incidence des anti-FIX, par rapport aux anti-FVIII, est la plus forte proportion de patients ayant un taux circulant de FIX antigène détectable supérieur au taux de FIX activité. Le type de mutation (ponctuelle surtout) est directement responsable de ce phénotype et est donc directement lié au risque de développement d'un Allo AC anti-FIX. De plus, le FIX semble moins immunogène que le FVIII en raison de sa taille et de ses nombreuses homologies de séquence avec les autres facteurs vitamine K dépendants, conférant probablement une tolérance vis-à-vis de la réponse immunitaire. L'éthnie, le génotype de l'IL-10 ou du TNF alpha, le type de produit ne semblent pas être des facteurs de risque particuliers de développement d'un inhibiteur anti-FIX. L'apparition d'un Allo AC anti-FIX est souvent reliée à une manifestation allergique ou anaphylactoïde sévère. Le mécanisme de cette réaction n'est pas bien connu à l'heure actuelle, témoignant d'une réponse immunitaire particulière.

La réponse immunitaire anti-FIX semble polyclonale et cible plus particulièrement les domaines GLA et serine protéase. Les domaines EGF et le peptide d'activation ne semblent pas être la cible de ces AC. Ces AC bloquent l'interaction du FIXa avec le FVIIIa nécessaire à l'activation du FX via une interférence avec les phospholipides ou la chaîne légère du FVIII. Il n'existe pas de recommandations particulières pour la détection de ces AC.



L'épreuve du mélange du TCA avec calcul de l'indice de Rosner peut être un premier test de dépistage. La méthode permettant la détection et le titrage des inhibiteurs anti-FIX est la méthode Bethesda en utilisant du plasma déficient en FIX, mais sans validation comparable à celle appliquée aux AC anti-FVIII. Les faibles incidences de l'hémophilie B et, qui plus est, du développement des AC anti-FIX font que ces AC sont peu étudiés et donc peu d'outils sont disponibles afin d'étudier leurs caractéristiques[36].

- **Auto Anticorps anti-FIX :** Le développement d'Auto Ac anti-FIX chez des patients indemnes de coagulopathie définit l'hémophilie B acquise. L'incidence de l'hémophilie B acquise est tellement rare (quelques cas seulement décrits dans la littérature). Elle est le plus souvent responsable d'un syndrome hémorragique parfois brutal. L'hémophilie B acquise peut être associée à des maladies auto-immunes, des néoplasies ou bien être idiopathique, sans étiologie associée. Les méthodes de détection sont identiques à celles utilisées pour la détection des Allo AC anti-FIX [39].

- **Anticorps anti-facteur de von Willebrand :**

Le VWF a deux grandes fonctions : Il intervient dans l'hémostase primaire. Il permet l'adhérence des plaquettes à la paroi vasculaire lésée grâce à des sites de liaison pour la GPIb plaquettaire et le collagène. Il facilite également l'agrégation des plaquettes entre elles grâce à son interaction avec la GPIIb/IIIa. Ce rôle est primordial dans la microcirculation et il intervient aussi dans la coagulation plasmatique. Il assure le transport du facteur VIII (FVIII : protéine déficiente dans l'hémophilie A) dans la circulation et le protège d'une dégradation enzymatique. La demi-vie du facteur VIII passe ainsi de 2 heures (en l'absence de VWF) à 12-20 heures (en présence de VWF).

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 rare et survient généralement après 50 ans chez un sujet sans antécédents personnels ou familiaux. L'expression hémorragique spontanée est généralement modérée, mais les saignements postopératoires peuvent être majeurs. La présentation biologique est de type 1 ou 2A. Il est surtout observé dans des contextes cliniques particuliers tels que les syndromes lympho ou myéloprolifératifs, les gammopathies monoclonales, les néoplasies, les maladies auto-immunes. Les auto-anticorps anti-VWF, détectés par ELISA, induisent généralement une clairance rapide des complexes immuns VWF-anti-VWF. Les trois arguments principaux pour retenir le diagnostic sont l'absence d'antécédents personnels ou familiaux, la connaissance ou découverte d'une pathologie pouvant y être associée et la disparition du symptôme après traitement de cette affection. Les complications hémorragiques pouvant être graves et difficiles à maîtriser, elles nécessitent une prise en charge multidisciplinaire en milieu spécialisé.

On distingue deux types [40] : 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 et les anticorps non-neutralisants qui se lient au niveau des sites non fonctionnels de la protéine comme les sites de clivage des HPM. Ils n'entraînent pas toujours une perte d'activité du VWF mais favorisent sa clairance.

- **Anticorps anti-facteur XI :**

Le facteur XI est une glycoprotéine synthétisée par le foie, zymogène d'une sérine protéase. Sa demi-vie plasmatique est de 40 à 80 heures. Le taux minimal pour assurer une hémostase normale est de 30 à 45%. Le facteur XI participe à la phase contact qui initie la voie intrinsèque de la coagulation. Il est activé par le facteur XIIa en facteur XIa qui va lui-même activer le facteur IX en présence d'ions calcium. Il s'agit d'un dosage de seconde intention pour le diagnostic d'un déficit constitutionnel ou acquis en facteur XI, évoqué devant un allongement isolé du temps de céphaline avec activateur.

Les déficits acquis en facteur XI sont associés à la présence d'auto-anticorps anti-facteur XI dans le plasma, parfois rencontrés chez des patients ayant reçu du facteur XI ou au cours de pathologies auto-immunes (lupus érythémateux systémique...), néoplasies, hémopathies ou au cours du psoriasis.

- **Anticorps anti-facteurs V :**

Ces inhibiteurs qui sont des immunoglobulines de type IgG dont un seul était monoclonal IgG4 surviennent dans les deux sexes et à tout âge (7 à 79 ans) [41]. Le facteur V circule dans le plasma sous la forme d'une protéine à chaîne unique composée de plusieurs domaines définis par la séquence primaire d'acides aminés et disposés de la manière suivante : A1-A2-B-A3-C1-C2 [42].

Les inhibiteurs du facteur V peuvent se développer sous forme d'auto-anticorps spontanés, d'allo-anticorps après exposition à des préparations de thrombine bovine, ou chez des patients déficients en facteur V après exposition au plasma. Ou chez les patients déficients en facteur V après une thérapie plasmatique. Les manifestations cliniques vont d'anomalies asymptomatiques à l'hémorragie menaçant le pronostic vital.

## **2. Anticorps antiphospholipides :**

### **2.1. Définition :**

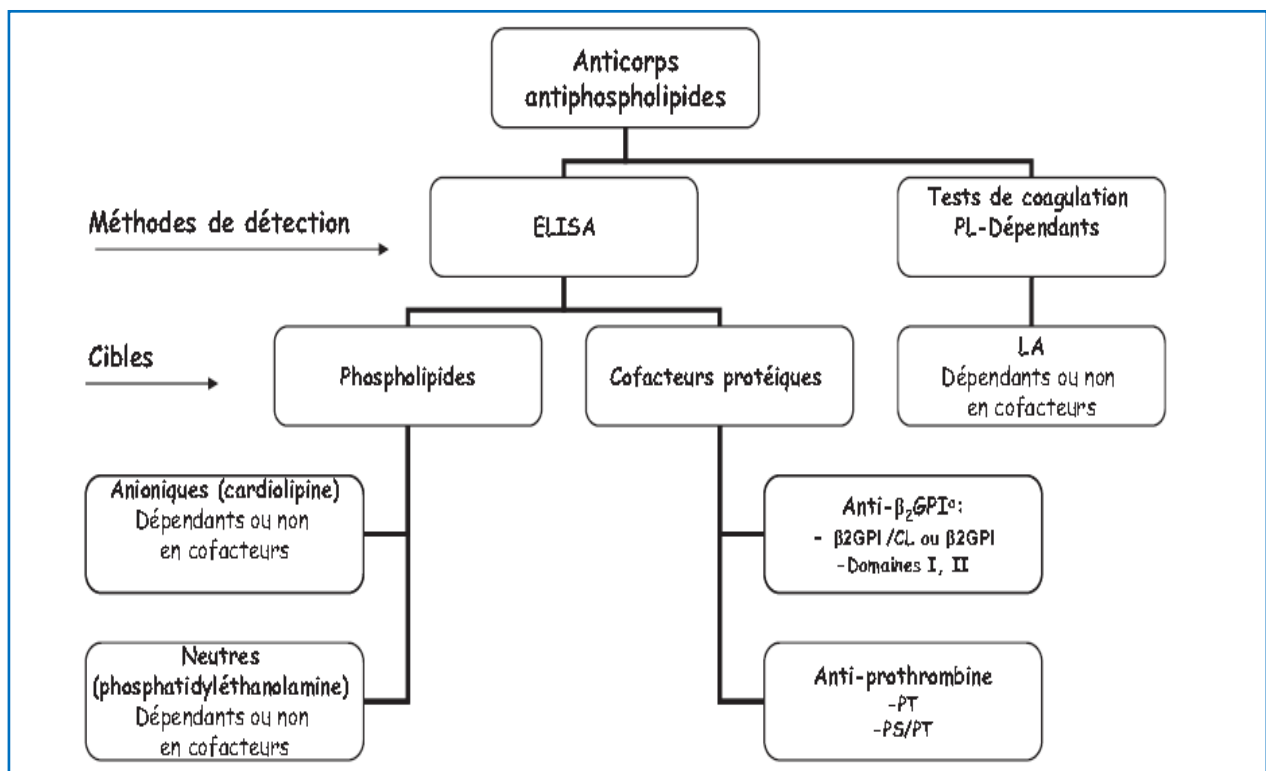
Les anticorps antiphospholipides (aPL) sont une famille très hétérogène d'anticorps dirigés contre des phospholipides anioniques (cardiolipine, phosphatidylsérine) ou neutres (phosphatidyléthanolamine) et/ou des protéines plasmatiques liant ces PL comme la b2GPI et la prothrombine voire même des protéines seules [43].

Ces anticorps ne sont pas spécifiques du SAPL mais peuvent être rencontrés au cours de nombreuses autres situations cliniques telles que des infections diverses (dont la syphilis, la lèpre, les hépatites virales et l'infection par le VIH ou l'EBV, par exemple), certains traitements médicamenteux (chlorpromazine, béta-bloquants et quinidiniques), des néoplasies

(hémopathies malignes et tumeurs solides), voire chez des individus sains. Ces aPL sont généralement transitoires et ne prédisposent pas à un risque thrombotique, contrairement à ceux détectés chez les patients avec SAPL [44].

Les Ac aPL posent un problème d'identification. De ce fait la standardisation des méthodes de recherche reste tributaire des kits utilisés et des Ac aPL recherchés. Outre la grande hétérogénéité qui caractérise les aPL, cette famille d'anticorps présente une autre particularité remarquable qui se traduit par un allongement paradoxal des temps de coagulation in vitro. Ce sous-type d'aPL, caractérisé par sa capacité à allonger les tests de coagulation dépendants de la présence de PL, se dénomme anticoagulant circulant de type lupique, ou lupus anticoagulant (LA).

La présence de LA ne s'accompagne pourtant pas d'un risque hémorragique comme pourrait le laisser croire l'allongement des temps de coagulation observé in vitro. 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. Parmi les aPL, ceux qui semblent être principalement responsables des manifestations thrombotiques, sont donc dirigés contre la  $\beta$ 2GPI et les PL anioniques comme la phosphatidylsérine. La recherche d'anticoagulant circulant de type lupique ou lupus anticoagulant (LA) effectuée par des tests de coagulation alors que la recherche des anticorps anticardiolipine (aCL) et des anticorps anti  $\beta$ 2GPI détectés par des tests immunologiques (Fig.22).



**Figure 22 : Hétérogénéité des anticorps antiphospholipides [3].**

Certains d'entre eux sont dits « aPLS conventionnels » et reconnus comme critères biologiques du syndrome des antiphospholipides (SAPL) : les anticorps anticardiolipine et anti-bêta2- glycoprotéine I et le lupus anticoagulant par opposition à d'autres anticorps non reconnus comme critères du SAPL mais pour lesquels certaines études ont montré une association avec les anomalies cliniques de ce syndrome [3].

Actuellement, on distingue : les anticoagulants lupiques appelés également anticoagulants circulants qui sont des anticorps reconnaissant des phospholipides anioniques liés à des cofacteurs protéiques qui sont la prothrombine et la bêta-2- glycoprotéine 1 [45] .

Ces anticorps sont définis par leur capacité à prolonger les tests de coagulation dépendant des phospholipides, ce qui explique qu'ils soient recherchés par de simples tests d'hémostase (allongement spontané du temps de céphaline avec activateur), les anticorps anticardioline qui reconnaissent la cardioline, généralement couplée à leur principal cofacteur qui est aussi la bêta-2-glycoprotéine (anti- $\beta$ 2GPI) [46], les anticorps antiphosphatidyl-éthanolamine (aPE) qui reconnaissent un phospholipide neutre, parfois couplé à leur cofacteur plasmatique (kininogène, prékallicréine, facteur XI) [47] et les anticorps antifacteurs protéiques qui reconnaissent directement les protéines cofacteurs, en particulier la  $\beta$ 2GPI, la prothrombine mais aussi l'annexine V et la protéine S.

## **2.2. Historique :**

Pour mieux comprendre l'hétérogénéité des antiphospholipides (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 diversifiées [3].

Dans les années 1940, l'école de médecine de l'université de Californie rapporte le cas d'un jeune homme présentant une affection mortelle associant thrombopénie modérée et temps de coagulation prolongés avec hémorragies et thromboses périphériques et intracrâniennes. Bien que l'allongement des temps de coagulation fût attribué à la thrombopénie et que les tests disponibles à l'époque ne démontrèrent pas un inhibiteur de la coagulation, cette description est considérée comme le premier cas de lupus anticoagulant décrit [48].

Dans les années 1950, un allongement des temps de coagulation fut à nouveau décrit par Ley et al [49] chez un jeune homme atteint de saignements anormaux, d'arthralgies et de thrombose veineuse de la jambe. L'autopsie montra des saignements des tissus, des infarctus cérébraux et des signes rénaux évoquant un lupus érythémateux systémique (LES).

C'est dans les années 1950 que la prise de conscience de la présence d'un facteur anticoagulant circulant chez certains patients atteints de lupus érythémateux disséminé (LED) est devenue évidente. Conley [50], de Johns Hopkins, a écrit un bref rapport sur deux patients atteints de lupus et d'un «trouble hémorragique particulier » avec des temps de coagulation et des temps de Quick (TQ) allongés et une preuve claire d'un facteur anticoagulant dans les études de mélange de plasma. Il est intéressant de noter que les deux patients ont eu des tests biologiques faussement positifs pour la syphilis.

Moore et al. décrivent chez des patients souffrant de LES, une sérologie faussement positive à la syphilis, un test basé sur la détection d'anticorps contre des phospholipides (PL) extraits de cœur de bœuf appelés cardiolipine [51]. Dans le même temps, plusieurs équipes mettent en évidence la présence d'une activité plasmatique anticoagulante, qu'ils dénomment «anticoagulant circulant » chez des patients lupiques avec des sérologies faussement positives à la syphilis : le concept de pathologie immune est alors évoqué [50].

En 1959, Loeliger a décrit un patient atteint de lupus présentant un anticoagulant circulant et une hypoprothrombinémie, l'ajout de plasma normal au plasma du patient a augmenté le temps de coagulation [52]. Cela a conduit Loeliger à supposer que le TP était un cofacteur de l'anticoagulant circulant dans le lupus. Au cours de la même période, des rapports ont fait état d'une augmentation de l'activité inhibitrice d'un composant plasmatique normal, le composant plasmatique normal appelé "cofacteur du lupus" [53].

Dans les années 1960, Bowie et al démontrent que ce phénomène d'anticoagulation in-vitro dans le LES est plus associé à des événements thrombotiques qu'à des événements hémorragiques : la présence de cet anticoagulant circulant fut rapportée chez huit patients sur onze atteints de LES, dont trois souffraient de thromboses veineuses profondes et un d'ulcères ischémiques des jambes et de livedo reticularis.

Le terme de lupus anticoagulant (LA) fut introduit par Feinstein [54] en 1972 pour décrire un inhibiteur de la coagulation retrouvé chez les patients avec un LES. D'autres recherches mirent en évidence que cet inhibiteur était dirigé contre les PL [55].

En 1975, Nilson et al [56] publient un case-report d'une jeune femme présentant des fausses couches à répétition chez laquelle un anticoagulant circulant fut retrouvé. D'autres complications obstétricales associées à un LA furent à nouveau décrites chez d'autres femmes, quelques années plus tard [57].

Au même moment, Manoharan et al [58] présentent des cas d'association de LA et de thromboses veineuses récurrentes en l'absence de LES ou d'autres connectivites. Bien que la relation entre thromboses et présence de ce phénomène d'anticoagulation in-vitro soit déjà décrite dans les années 60, il faut attendre 1980 pour que cette association entre LA et thromboses soit largement reconnue [59].

En 1980, l'association de fausses couches répétées et de thromboses en présence d'un anticoagulant circulant de type lupique est décrite par Soulier et Boffa. Ces associations cliniques conduisent Harris à développer des méthodes plus sensibles de détection des aPL, et, en 1983, il met au point une technique radio-immunologique utilisant le cardiolipide immobilisé sur microplaque, cette même équipe décrit en 1985 un test immuno-enzymatique : ELISA anticardiolipine. Grâce à ce nouvel outil diagnostique, de très nombreux travaux, entre 1983 et 1987, vont aboutir à l'individualisation d'une nouvelle entité clinico-biologique dénommée syndrome des antiphospholipides (SAPL) [1].

En 1983, Hughes et al [60] proposent l'appellation « syndrome des anticardiolipines » pour l'association de thromboses inexplicables, de pertes fœtales répétées, d'affection cérébrale et d'anticoagulant lupique positif, quel que soit le contexte pathologique, qui sera par la suite renommé en « syndrome des antiphospholipides » [61]. Au même moment, des cas d'épisodes vaso-occlusifs multi-organes aigus et graves associés à des tests positifs sont recensés, ce sont les premières descriptions du « syndrome catastrophique des antiphospholipides ».

La présence de faux-positifs des tests de syphilis conduit à l'établissement d'une association entre anticorps anticardiolipines et thromboses et au développement d'un test immunologique à la recherche d'anticorps anti-cardiolipines [62].



En 1985, Gastineau et al. ont séparé les affections associées à l'LA en trois groupes : celles avec LED, celles sans LED et celles avec LA d'origine médicamenteuse [63].

En 1986, Thiagarajan et al ont décrit le temps dilué du venin de vipère de Russell (dRVVT) qui semble être une méthode simple, reproductible, sensible et relativement spécifique pour la détection de LA [64].

Dans les années 1990, trois rapports améliorent considérablement la compréhension de la nature des anticorps antiphospholipides, en confirmant que la  $\beta$ 2-glycoprotéine, membre de la famille du contrôle du complément, est une cible des anticorps plutôt que les PL [65] [66].

Depuis 1990, plusieurs équipes ont montré que les anticorps les plus pathogènes n'étaient pas dirigés uniquement contre les phospholipides anioniques mais contre les protéines plasmatiques liant ces phospholipides appelés cofacteurs protéiques : la Beta-2 glycoprotéine 1 et la prothrombine, principalement. D'autres cofacteurs protéiques, comme les protéines C et S, l'annexine V et le kininogène de haut poids moléculaire peuvent être plus rarement impliqués [1].

En 1992, Asherson (de Cape Town, Afrique du Sud) a inventé le terme SAPL catastrophique (CAPS) [67]. Il est devenu clair que le CAPS est une forme rare de thrombose microangiopathique qui partage des caractéristiques avec le purpura thrombotique thrombocytopénique, la coagulation intravasculaire disséminée, le syndrome systémique et le syndrome de réponse inflammatoire comme on le voit dans le sepsis.

Ce n'est qu'en 1999 qu'une réunion de consensus international a formulé des critères de classification, réévalués en 2006.

La nature complexe des ACC et leur importance ont été mises en évidence au cours des découvertes de ces dernières années et nos connaissances des mécanismes physiopathologiques ont connu une avancée considérable. Cependant, les LA restent encore aujourd'hui énigmatiques. Les futurs challenges reposent sur une meilleure compréhension de la physiopathologie et une meilleure approche diagnostic, avec la mise au point de tests biologiques plus prédictifs du risque thrombotique.

## Les anticoagulants circulants : Méthodologie diagnostique au laboratoire et implications cliniques (expérience de laboratoire d'hématologie HMA)

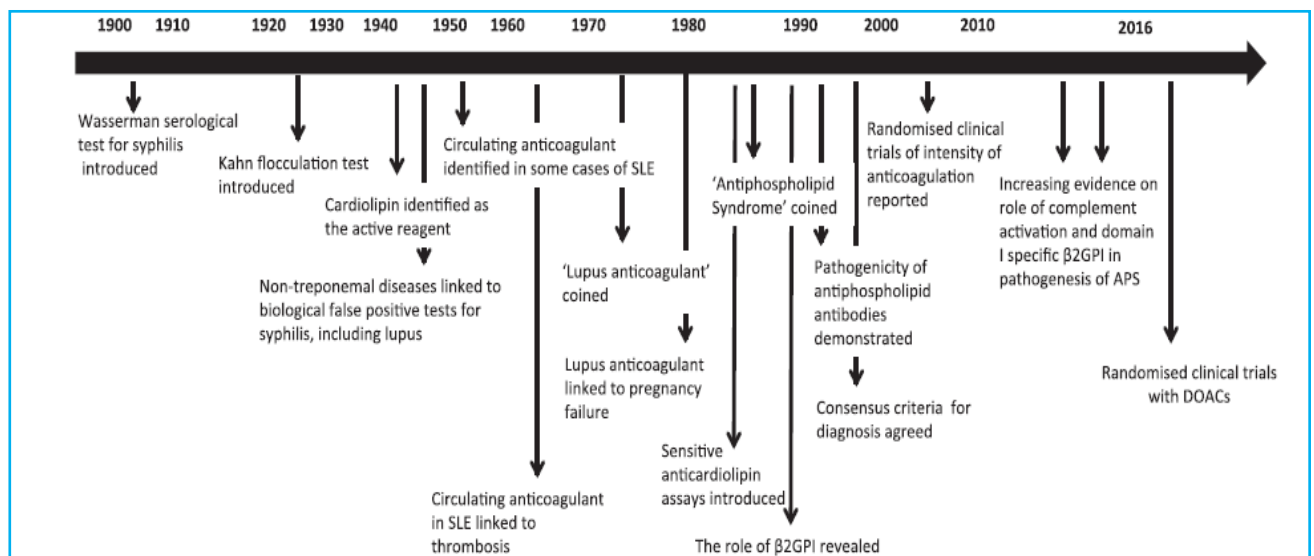


Figure 23 : Dates clés dans l'histoire du SAPL [68].

### 2.3. Classification :

#### a. 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 immunoenzymatiques, essentiellement l'Elisa : c'est le cas des aCL et des anticorps anti- $\beta$ 2-glycoprotéine I. 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. L'isotype IgM est rare; on le détecte le plus souvent au cours de maladies infectieuses, mais une étude récente a rapporté la présence aCL d'isotype IgM sans IgG chez des femmes ayant des complications obstétricales évocatrices d'un SAPL [69]. Quant à l'isotype IgA, il est rare et sa recherche ne présente aucun intérêt devant une suspicion de SAPL car aucune différence statistiquement significative de la prévalence des IgA-aPLS n'a été observée entre les patients ayant un SAPL et la population normale.

➤ **Anticoagulant circulant de type lupique :**

Voir le chapitre (anticoagulants circulants).

➤ **Anticorps anti-cardiolipine :**

La cardiolipine est un phospholipide anionique présent dans la membrane interne des mitochondries où elle aurait pour rôle de rendre cette dernière imperméable aux ions mais absent sur la membrane des plaquettes et des cellules endothéliales. Le nom dérive de sa description initiale dans les mitochondries des cellules cardiaques. La cible antigénique des anticorps anti-cardiolipine est en réalité un complexe cardiolipine-cofacteur(s) sérique(s). La  $\beta$ 2GPI ou apolipoprotéine H, est le principal cofacteur des anticorps anticardiolipine [70].

Les anticorps anti-cardiolipine sont recherchés en première intention dans le diagnostic du SAPL pour des raisons historiques : les anti-cardiolipines ont été les premiers anticorps antiphospholipides décrits pour la description du SAPL [62]. De plus, les premiers tests par Elisa mis au point pour mettre en évidence la présence d'anticorps antiphospholipides avaient pour antigène cible la cardiolipine. Enfin, les différentes tentatives de standardisation sont pratiquées en utilisant la cardiolipine comme antigène cible.

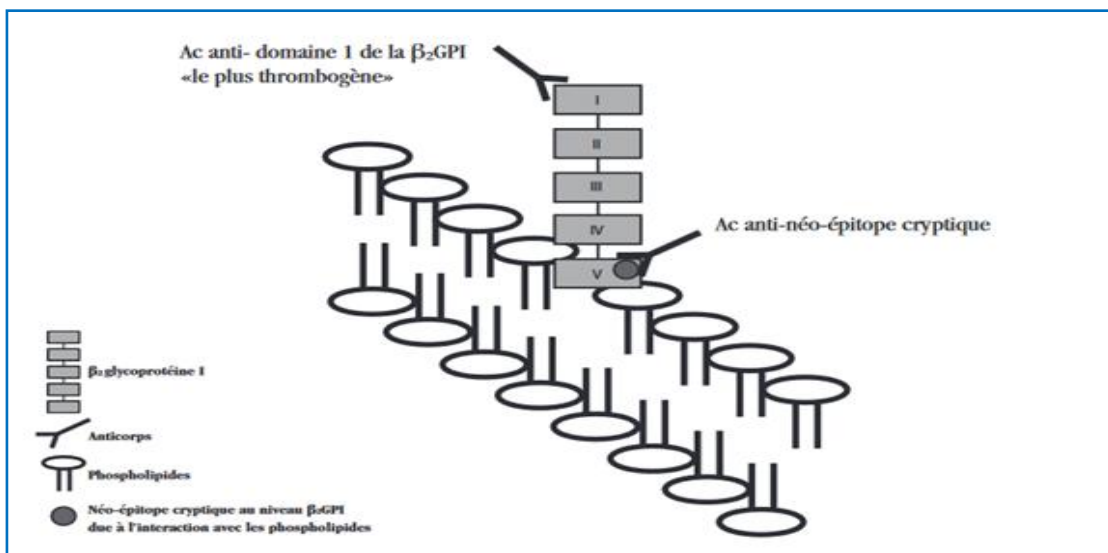
➤ **Anticorps anti- $\beta$ 2 glycoprotéine I :**

La  $\beta$ 2GPI est une protéine cationique (apolipoprotéine H) présente dans le plasma de sujets normaux avec une concentration moyenne de 200  $\mu$ g/ml, 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, ce qui suggère la possibilité que ces organes puissent être affectés par les a $\beta$ 2GPI. Cette protéine est très conservée entre les espèces (homologie de 89% entre  $\beta$ 2GPI bovine et humaine), c'est la raison pour laquelle le sérum de veau fœtal est souvent utilisé pour la détection des aCL dépendants de  $\beta$ 2GPI. La  $\beta$ 2GPI possède plusieurs fonctions anticoagulantes démontrées in vitro, elle inhibe l'agrégation plaquettaire, la voie de la

protéine C, l'interaction entre la protéine S et la C4b binding protéine et l'activité du facteur tissulaire. Toutefois l'activité anticoagulante naturelle de cette glycoprotéine n'est pas démontrée in vivo [71]. Elle est constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 326 acides aminés organisée en cinq structures répétitives ou « domaines sushi » de 60 acides aminés. C'est sur le cinquième domaine que se situe le site principal de liaison aux phospholipides anioniques [70] et le domaine I contient une portion hydrophile hautement immunogène. Suite à la fixation de la  $\beta$ 2GPI aux PL anioniques, les 2 molécules subissent un changement de leur conformation qui entraîne l'exposition d'épitopes cryptiques de la  $\beta$ 2GPI et amplifie la fixation des Ac anti- $\beta$ 2GPI [72].

Le rôle du domaine de la molécule de  $\beta$ 2GPI contre lequel l'Ac est dirigé semble être primordial dans ce contexte, les Ac dirigés particulièrement contre le domaine I de la  $\beta$ 2GPI sont retrouvés de façon plus significative chez les patients ayant des antécédents de thromboses. La  $\beta$ 2GPI fixe d'autres structures chargées négativement : héparine, ADN, lipoprotéine de faible densité oxydée (LDL ox), cellules trophoblastiques syncytiales, plaquettes activées, cellules endothéliales.



**Figure 24 : Sites épitopiques reconnus par les anticorps anti- $\beta$ 2 glycoprotéine I [72].**

➤ Anticorps anti-cardiolipine et anti  $\beta$ 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 [73]. En effet, les aCL d'isotype IgA sont rarement présents de façon isolée. Les aCL d'isotype IgA ne peuvent donc être utilisés à des fins diagnostiques.

Concernant les anti-  $\beta$ 2GPI d'isotype IgA, les données de la littérature ne permettent pas de déterminer si la présence d'IgA anti-  $\beta$ 2GPI de façon isolée (en l'absence d'anti-  $\beta$ 2 GPI d'isotype IgG et IgM) est un facteur de risque indépendant d'événements thrombotiques dans le SAPL [74]. En l'état actuel des connaissances, la recherche d'IgA anti- $\beta$ 2GPI n'est donc pas recommandée.

Principalement en raison de l'hétérogénéité de la littérature causée par différents modèles d'étude et l'utilisation de divers tests non standardisés. Depuis la positivité isolée des IgA aCL (en l'absence d'IgG et/ou d'IgM aCL) est rare, le test des IgA aCL peut être recommandé dans les cas pour lesquels il existe une forte suspicion d'APS mais d'autres tests aPL sont négatifs.

Les IgA anti- $\beta$ 2GPI semblent être l'isotype prédominant et être associés à des événements thrombotiques chez les patients atteints de LED, ce qui en fait un test pertinent dans ce groupe de patients, en particulier pour ceux qui pourraient avoir isolé une positivité aux IgA comme le seul marqueur pour l'APS [75].

*b. Antiphospholipides non conventionnels :*

D'autres anticorps antiphospholipides ont été décrits, comme les anticorps anti-phosphatidylethanolamine (aPE), anti-prothrombine, anti-annexine V, anti-protéine S, anti-protéine C, etc...Ces différentes spécificités constituent le puzzle des antiphospholipides. Certains de ces anticorps sont anecdotiques alors que d'autres, en particulier les anticorps anti-prothrombine et les aPE, parce qu'ils sont très associés aux complications cliniques du SAPL, peuvent apporter une aide au diagnostic. Comme dans le cas des aPLS conventionnels, les deux isotypes 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.

➤ **Anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) :**

La phosphatidyléthanolamine est un phospholipide neutre constitutif des membranes biologiques, localisé principalement sur le versant intracellulaire des membranes intactes. La présence d'anticorps anti-phosphatidyléthanolamine semble être associée aux complications obstétricales et aux événements thrombotiques. Il n'y a pas de standardisation des Elisa-aPE et ils n'ont actuellement pas de place dans le diagnostic de SAPL « conventionnel ». Cependant, la recherche d'anticorps anti-PE peut être indiquée chez les patients avec des manifestations cliniques très évocatrices du SAPL avec une recherche répétée d'anticorps antiphospholipides conventionnels négatifs. En effet, certains patients ayant des aPE positifs isolément (LA-, aCL-,  $\beta$ 2GPI-) peuvent présenter des signes cliniques de SAPL [76]. 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 reconnaîtraient des épitopes générés par la formation d'un complexe PE-KHPM. D'autres protéines plasmatiques ont été proposées comme cofacteurs des aPE, en particulier, le facteur XI et la prekallikrein [77].

➤ **Anticorps antiprothrombine (aPT) :**

La prothrombine humaine, ou facteur II, fait partie du complexe prothrombinase avec les facteurs Va, Xa et la phosphatidylserine en présence de calcium. C'est sur la partie N terminale de la prothrombine (domaine GLA) que se trouve le site de liaison aux phospholipides anioniques. 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 [78]. Ces observations suggèrent une reconnaissance d'épitopes non conservés dans l'évolution. Comme les a $\beta$ 2GPI, les anticorps anti-prothrombine sont hétérogènes quant à leur spécificité antigénique et certains reconnaîtraient des épitopes natifs alors que d'autres reconnaîtraient des néo-épitopes.

De même, leur réactivité avec la protéine cible nécessite aussi qu'elle soit liée à une surface anionique afin de permettre l'expression d'épitopes cryptiques et d'augmenter sa densité sur la surface in situ. De plus, la mise en évidence de ces anticorps par Elisa a permis d'identifier deux populations d'anticorps anti-prothrombine : ceux dirigés contre la prothrombine (aPT) et ceux dirigés contre le complexe phosphatidylserineprothrombine (aPS/PT). 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 d'anticoagulant circulant lupique que les aPT [79]. La présence de ces anticorps ne semble pas être associée à un risque thrombotique accru. Ils seront à rechercher essentiellement lors de l'association d'un anticoagulant circulant lupique avec une hypoprothrombinémie.

➤ **Anticorps antiphosphatidylcholine (aPC) :**

Ce sont des anticorps de type IgM dont la détection ne semble pas dépendre de la présence de la  $\beta 2$  glycoprotéine I. Ces anticorps seraient associés aux anémies hémolytiques autoimmunes idiopathiques ou secondaires au lupus.

➤ **Anticorps anti-annexine V :**

L'annexine est une protéine placentaire retrouvée en faible quantité dans le plasma. In vitro, elle exerce une puissante activité anticoagulante, mais ses fonctions physiologiques ne sont pas connues. C'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 vitamine K dépendantes.

Quelques études ont décrit la présence d'anticorps anti-annexine V chez des patients présentant des événements cliniques évocateurs d'un SAPL, thromboses et/ou pertes fœtales. Cependant, leur prévalence dans ces contextes cliniques est faible et les études étant peu nombreuses et parfois contradictoires, leur valeur clinique est loin d'être établie [80] est donc la recherche d'anticorps anti-annexine V devrait être réservée à des patients ayant fait une

thrombose de localisation inhabituelle et aux situations cliniques dans lesquelles l'expression clinique du SAPL est récurrente chez le patient [81].

➤ **Anticorps dirigés contre la protéine C ou la protéine S :**

Ces anticorps ne sont actuellement étudiés que par quelques équipes très spécialisées. Une étude récente a étudié les prévalences respectives des anticorps dirigés contre la protéine C, la protéine S chez des patients lupiques en fonction des complications cliniques de ces patients. Les résultats de cette étude montrent que les anticorps anti-protéine S et anti-protéine C constitueraient un facteur de risque de thrombose veineuse.

Les anticorps anti-protéine S peuvent être notamment étudiés par deux types de techniques : d'une part des techniques ELISA et, d'autre part, une technique très spécialisée la résonance plasmonique de surface. L'utilisation de cette dernière technique pourrait permettre de distinguer la présence d'anticorps anti-protéine S associés à un risque thrombotique d'anticorps anti-protéine S non associés à ce risque [81].

**2.4. Mécanisme d'action des anticorps antiphospholipides :**

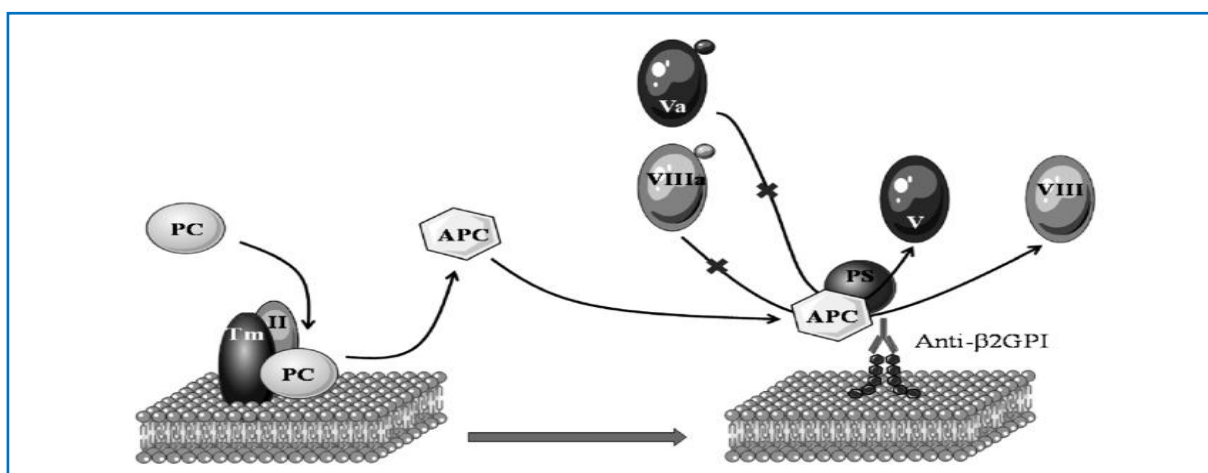
*a. Diminution de l'activité des inhibiteurs physiologiques de l'hémostase :*

➤ **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 protéine C activée (APC) 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 alors que d'autres études ont ensuite montré que les aPL, comme les anti- $\beta$ 2GPI, perturbaient plutôt la formation du complexe entre protéine C activée et facteurs Va et VIIIa (Fig.25) étant ainsi à l'origine d'une résistance acquise à la protéine C activée [82]. Les anti-



$\beta$ 2GPI seraient également capables d'induire un déficit fonctionnel en protéine S en empêchant la  $\beta$ 2GPI de déplacer la liaison entre la protéine S et son inhibiteur plasmatique, la C4binding protein (C4bBP), et en diminuant ainsi le taux de protéine S libre [83]. 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. Bien que les mécanismes par lesquels les aPL interfèrent avec la voie de la protéine C ne soient pas encore complètement élucidés, l'effet procoagulant qui en résulte permet en partie d'expliquer la survenue d'événements thromboemboliques veineux chez les patients atteints de SAPL [44].



**Figure 25 : Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par les anti-  $\beta$ 2GPI [44].**

➤ **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 PL anioniques permet le recrutement des facteurs de coagulation vitamine K-dépendant via leur résidu Gla en présence de calcium.

Cet assemblage de facteurs de la coagulation à la surface des plaquettes, notamment au niveau des complexes « tenases » qui vont activer le facteur X et « prothrombinases » qui vont transformer la prothrombine en thrombine, est indispensable à la coagulation plasmatique.

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 [84]. La dimérisation de la  $\beta$ 2GPI par les anticorps reconnaissant le domaine I de la  $\beta$ 2GPI augmente son affinité pour les PL anioniques empêchant ainsi la mise en place du bouclier protecteur d'annexine A5 inhibant alors ses propriétés anticoagulantes [85]. Ce blocage de l'annexine A5 par les aPL serait corrélé à des manifestations thrombotiques et obstétricales. 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- $\beta$ 2GPI à la bicouche phospholipidique des membranes plasmiques et rétablir l'activité anticoagulante de l'annexine A5 in vitro à des concentrations utilisables en thérapeutique [86].

➤ **Inhibition du tissue factor pathway inhibitor type I (TFPI) :**

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 pathway 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. Cet effet serait lié à la présence d'anticorps dirigés directement contre le TFPI ou bien à une activité inhibitrice des anti- $\beta$ 2GPI sur le TFPI [87].

*b. Inhibition de la fibrinolyse :*

La fibrinolyse correspond au processus de dégradation du caillot de fibrine par la plasmine. La conversion du plasminogène en plasmine est un mécanisme finement régulé dans lequel interviennent des inhibiteurs dont le plasminogen activator inhibitor (PAI) et des activateurs comme le tissu plasminogen activator (tPA). En outre, la plasmine peut cliver une fraction minoritaire de la  $\beta$ 2GPI au niveau du domaine V. Cette  $\beta$ 2GPI tronquée de son domaine V porte le nom de nicked  $\beta$ 2GPI et peut, sous cette forme, se lier au plasminogène et offrir un mécanisme de régulation de la fibrinolyse en diminuant la génération de plasmine.

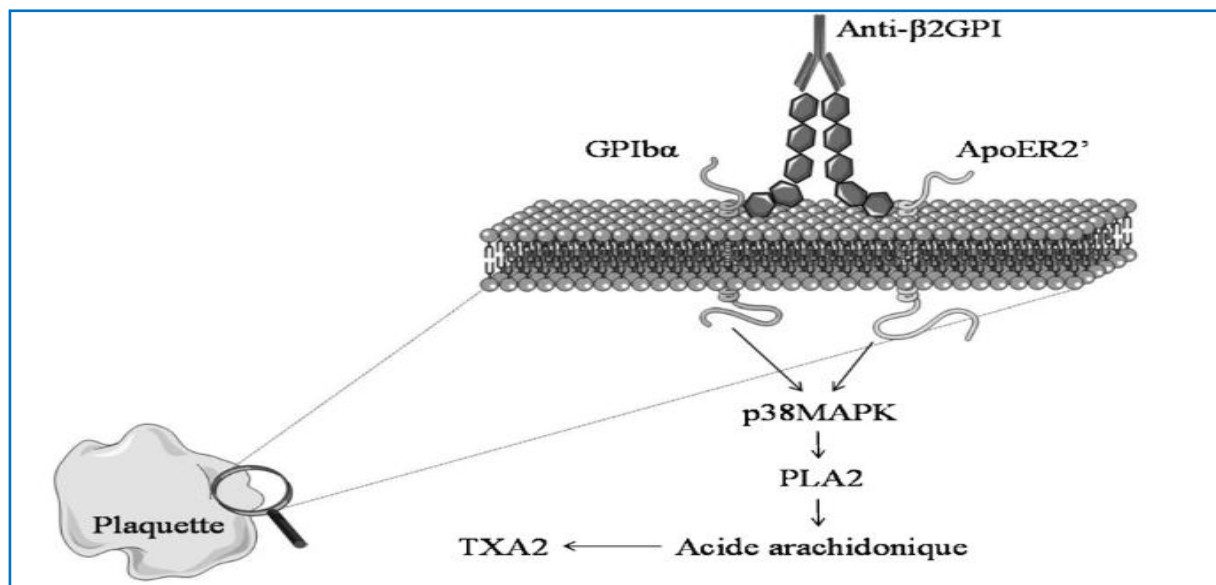
Plusieurs études ont permis de montrer que la présence de certains anticorps chez les patients atteints de SAPL contribuerait à inhiber le système fibrinolytique. Des anticorps dirigés contre la plasmine ont, par exemple, été décrits même si le rôle précis de ces anticorps dans le risque thrombotique reste encore méconnu. De plus, l'annexine A2 est un récepteur endothélial capable de lier la  $\beta$ 2GPI et qui a une activité profibrinolytique en liant également le tPA et en favorisant ainsi la génération de plasmine à la surface des cellules endothéliales. Chez les patients avec SAPL, le complexe  $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI se fixe à l'annexine A2 au niveau des cellules endothéliales et empêche ainsi l'activation du plasminogène en plasmine par le tPA. La même équipe a récemment montré que la présence d'anticorps se fixant à l'annexine A2 était significativement corrélée à un risque accru de thromboses veineuses cérébrales [88].

*c. Activation cellulaire :*

➤ Activation des plaquettes :

Une thrombopénie avec une numération plaquettaire inférieure à 100 G/l est observée chez environ 30% des patients avec SAPL. 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 [89] comme dans le purpura thrombopénique immunologique (PTI). Au cours du SAPL, l'activation des plaquettes aboutit surtout à un effet prothrombotique principalement dû à

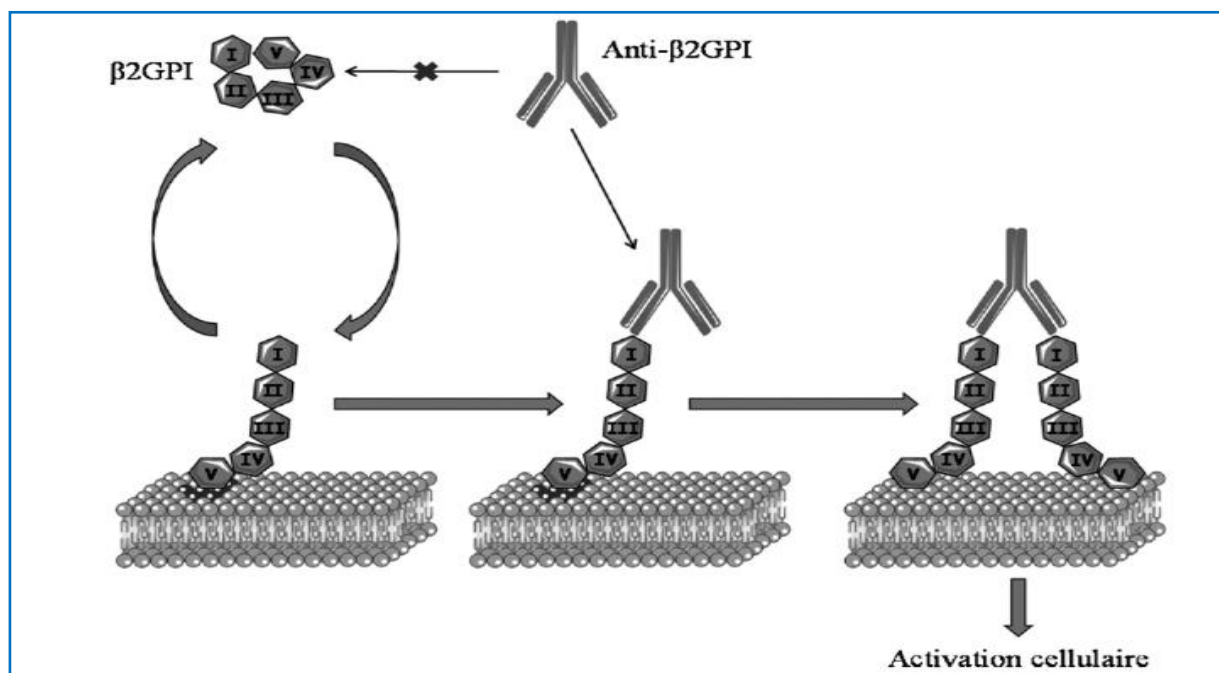
l'interaction du complexe  $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI avec deux récepteurs présents à la surface des plaquettes, le récepteur 2' de l'apolipoprotéine E (ApoER2') et la glycoprotéine Ib (GPIbA) (Fig.26). Le récepteur ApoER2' fait partie de la famille des récepteurs des lipoprotéines et la GPIbA est l'un des membres du complexe GPIb-IX-V qui lie entre autres le facteur de von Willebrand (VWF).



**Figure 26 : Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par les anti  $\beta$ 2GPI [44].**

Les événements intracellulaires impliqués ensuite dans l'activation plaquettaire ne sont pas complètement élucidés mais il semble que la stimulation de ces deux récepteurs partagerait des effecteurs intracellulaires communs qui aboutissent à l'activation de la p38MAPK. Cette kinase est capable de phosphoryler de nombreux substrats dont la phospholipase A2 (PLA2) qui conduit à la libération d'acide arachidonique, puis de thromboxane A2 (TXA2). Il a d'ailleurs été montré que les patients avec SAPL avaient une excrétion urinaire des métabolites du TXA2 plus importante que des individus sains. Contrairement à la TIH de type II où les anticorps dirigés contre le complexe PF4-héparine activent le récepteur Fc $\gamma$ RII plaquettaire via leur fragment Fc, l'effet des anti- $\beta$ 2GPI est dicté par leur fragment Fab qui permet la dimérisation de la  $\beta$ 2GPI et l'augmentation de son affinité pour les membranes plasmiques (Fig.27).

Selon les études, entre 4 et 57% des patients avec SAPL présentent des anticorps anti-PF4-héparine détectés par Elisa et ce, pour certains patients, en l'absence de toute exposition à l'héparine. Il s'agit en fait très probablement d'autoanticorps qui n'induisent pas de positivité des tests fonctionnels de la TIH potentiellement dus, entre autres, à une réaction croisée entre les anti- $\beta$ 2GPI et les anti-PF4-héparine due à l'interaction récemment décrite entre ces deux protéines [90].



**Figure 27 : Modèle général d'activation cellulaire par les anti-  $\beta$ 2GPI [44].**

➤ **Activation des cellules endothéliales :**

Physiologiquement, les cellules endothéliales ont des propriétés anticoagulantes empêchant la formation inappropriée d'un caillot dans la lumière vasculaire. Plusieurs études ont montré que les aPL étaient capables d'abolir cet effet anticoagulant en activant les cellules endothéliales pour leur conférer un phénotype procoagulant en l'absence de toute brèche vasculaire [91].

Les anti- $\beta$ 2GPI peuvent, en effet, induire une surexpression de FT et de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales. Comme pour les plaquettes, l'ensemble des effecteurs cellulaires en jeu dans l'activation des cellules endothéliales n'est pas identifié. Il a, cependant, été montré que le complexe trivalent anti- $\beta$ 2GPI/dimère de  $\beta$ 2GPI interagissait avec l'annexine A2 au niveau de la membrane des cellules endothéliales [92]. D'autres effecteurs semblent également intervenir, à ce niveau, comme les récepteurs TLR2 et TLR4, récepteurs des endotoxines bactériennes de la famille des toll-like récepteur (TLR) et le myeloid differentiation factor 88 (MyD88) qui est une molécule adaptatrice des TLR. La cascade de signalisation se poursuit par l'activation de la p38MAPK qui va phosphoryler de nombreux substrats aboutissant à l'augmentation de l'expression de FT et de molécules d'adhésion dont intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular-cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) et la sélectine E (Fig.28).

Il a récemment été proposé que le complexe anti- $\beta$ 2GPI/  $\beta$ 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-  $\beta$ 2GPI/  $\beta$ 2GPI et le récepteur ApoER2' serait ainsi capable d'activer la phosphatase protéine phosphatase 2A (PP2A) qui inhiberait à son tour l'isoforme endothéliale de la NO synthase (eNOS). La réduction de la libération de NO s'accompagne d'un dysfonctionnement majeur de l'endothélium en altérant ses interactions avec les leucocytes et en favorisant ainsi la formation de thromboses [44].

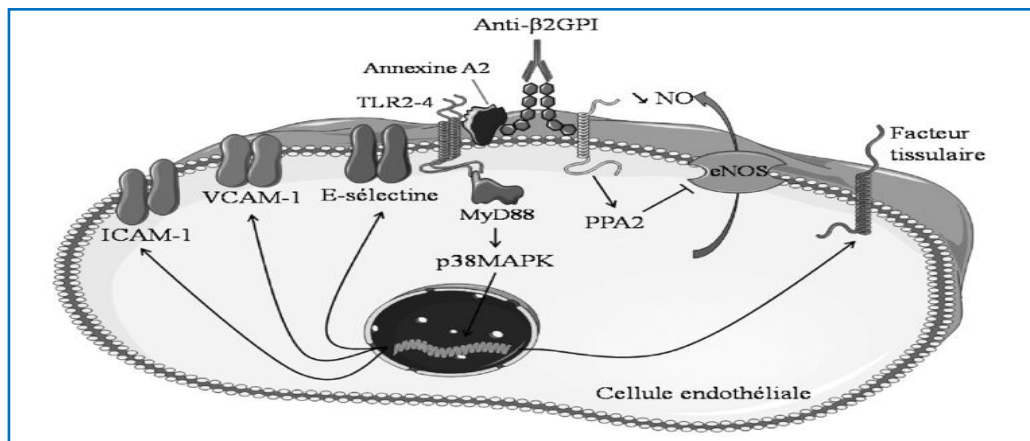


Figure 28 : Modèle d'activation des cellules endothéliales par les anti- β2GPI [44].

➤ Activation des monocytes :

Au niveau des monocytes, l'activation cellulaire induite par les aPL s'accompagne d'une surexpression de FT [93] et de cytokines pro-inflammatoires dont le TNFα. Cette tendance procoagulante et pro-inflammatoire des monocytes participe activement à la formation de thromboses retrouvées dans le SAPL. Les voies de signalisation impliquées dans l'activation des monocytes et des cellules endothéliales par les aPL partagent de nombreux effecteurs communs. Ainsi, les complexes anti- β2GPI/ β2GPI qui se fixent à la surface des monocytes vont activer le complexe TLR24/annexine A2 et la transduction du signal va se poursuivre par l'activation de la p38MAPK, puis par l'expression de FT et de TNFα (Fig.29).

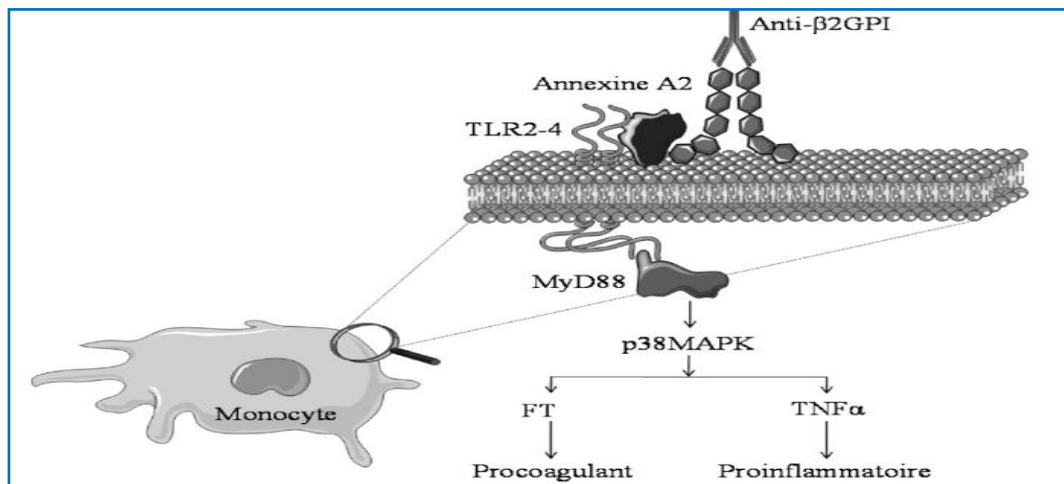


Figure 29 : Modèle d'activation des monocytes par les anti- β2GPI [44].

### III. Syndrome des antiphospholipides (SAPL) :

#### 1. Définition :

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une affection auto-immune caractérisée au plan clinique par des événements thrombotiques ou obstétricaux et au plan immunologique par la présence d'auto-anticorps favorisant la thrombose [94].

Ce syndrome peut être primaire, s'il n'est rattaché à aucune maladie définie, ou secondaire, au cas où il s'associe avec une autre pathologie telle que les maladies auto-immunes (le plus souvent un lupus systémique (SAPL associé)) ou d'autre nature.

Les critères de classification du SAPL établis en 2005 lors de la conférence de consensus de Sydney, mettant à jour ceux de Sapporo (1999), indiquent la nécessité d'objectiver la présence d'au moins un des auto-anticorps parmi les suivants : anticoagulant circulant lupique ou lupus anticoagulants (LA), anticorps anticardiolipine (aCL) et anticorps anti- $\beta$ 2 glycoprotéine I ( $\beta$ 2GPI), chez un malade donné présentant des manifestations cliniques thrombotiques ou obstétricales pour définir un SAPL.

La présence d'un de ces auto-anticorps doit être confirmée après un intervalle d'au moins 12 semaines. Cela est justifié par la possibilité pour un malade donné de développer des anticorps antiphospholipides de façon transitoire dans d'autres circonstances cliniques, notamment lors d'infections (maladie de Lyme, fièvre Q, syphilis, infection à VIH, etc.). La présence de ces anticorps n'est alors en général pas accompagnée de thrombose et ne correspond donc pas à un diagnostic défini de SAPL [70].

La classification de Sydney a introduit une sous-classification des patients en fonction des auto-anticorps détectés. Ainsi, les patients présentant plusieurs auto-anticorps sont classés en catégorie I tandis que ceux avec un anticoagulant circulant lupique seul, un aCL seul ou un anti- $\beta$ 2GPI seul sont classés respectivement en catégorie IIa, IIb et IIc. Cette sous-classification a été justifiée par les experts par la fréquence accrue d'événements cliniques chez les patients



présentant plusieurs auto-anticorps (catégorie I) par rapport à ceux qui n'en présentent qu'un seul (catégorie II) [95]. La difficulté du diagnostic du SAPL réside dans l'association de critères cliniques et biologiques. La définition des critères cliniques est relativement facile, en revanche celle des critères biologiques est loin d'être aisée et ce pour plusieurs raisons : d'une part, la présence des aPL n'est pas spécifique du SAPL, et d'autre part, les tests utilisés pour détecter les aPL conventionnels ne sont pas encore standardisés, ne permettant pas de distinguer les APL spécifiques du SAPL des non spécifiques, et ne détectent pas tous les aPL.

Toutefois, au fil des années, les limites de ces critères ont été révélées par la diversité des manifestations décrites chez les patients, ainsi que par l'hétérogénéité du pronostic et la variabilité de la réponse au traitement anticoagulant. C'est ainsi qu'en septembre 2023 ont été publiés de nouveaux critères de classifications du SAPL, suivant une méthodologie de référence recommandée par les sociétés savantes européennes et américaines (European League Against Rheumatism (EULAR) et l'American College of Rheumatology [ACR]) [96].

## **2. Critères diagnostiques : Cliniques et biologiques.**

### **2.1. Critères de classification révisés de Sapporo du SAPL (2006) [94]:**

#### **a. Critères biologiques :**

Au moins un des critères biologiques doit être mis en évidence :

- Présence d'un lupus anticoagulant à 2 reprises au moins, à 12 semaines d'intervalle au moins, mis en évidence en suivant les recommandations de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis.
- Anticorps anti-cardiolipide (aCL) d'isotype IgG ou IgM dans le sérum ou le plasma, avec un titre moyen ou élevé (> 40UGPL ou UMPL, ou > 99<sup>e</sup> percentile), présents à 2 reprises à 12 semaines d'intervalle au moins, par Elisa standardisé.
- Anticorps anti-  $\beta$ 2 glycoprotéine I d'isotype IgG ou IgM dans le sérum ou le plasma, avec un titre moyen ou élevé (> 99<sup>e</sup> percentile), présents à 2 reprises à 12 semaines d'intervalle au moins, par Elisa standardisé.

Classification biologique : Catégorie I : plusieurs critères biologiques présents (quelle que soit la combinaison de critères biologiques positifs). Catégorie IIa : anticoagulant circulant lupique seul. Catégorie IIb : aCL seul. Catégorie IIc : anti-  $\beta$ 2-glycoprotéine I seul

*b. Critères cliniques :*

➤ **Thromboses vasculaires :**

La survenue de thrombose domine la symptomatologie associée au SAPL et en fait sa gravité. La thrombose veineuse profonde est la manifestation thrombotique la plus souvent rapportée [97], mais les événements thrombotiques peuvent survenir dans les vaisseaux de tous types, de tous calibres et de toutes localisations. La présence d'au moins un épisode clinique de thrombose artérielle, veineuse ou de petits vaisseaux quel que soit le tissu ou l'organe, à l'exclusion des thromboses veineuses superficielles, est ainsi retenue comme un critère clinique du SAPL.

La thrombose doit être confirmée par des critères objectifs validés : aspect sans équivoque à l'imagerie ou à l'examen histopathologique qui ne doit pas montrer de signes de vascularite.

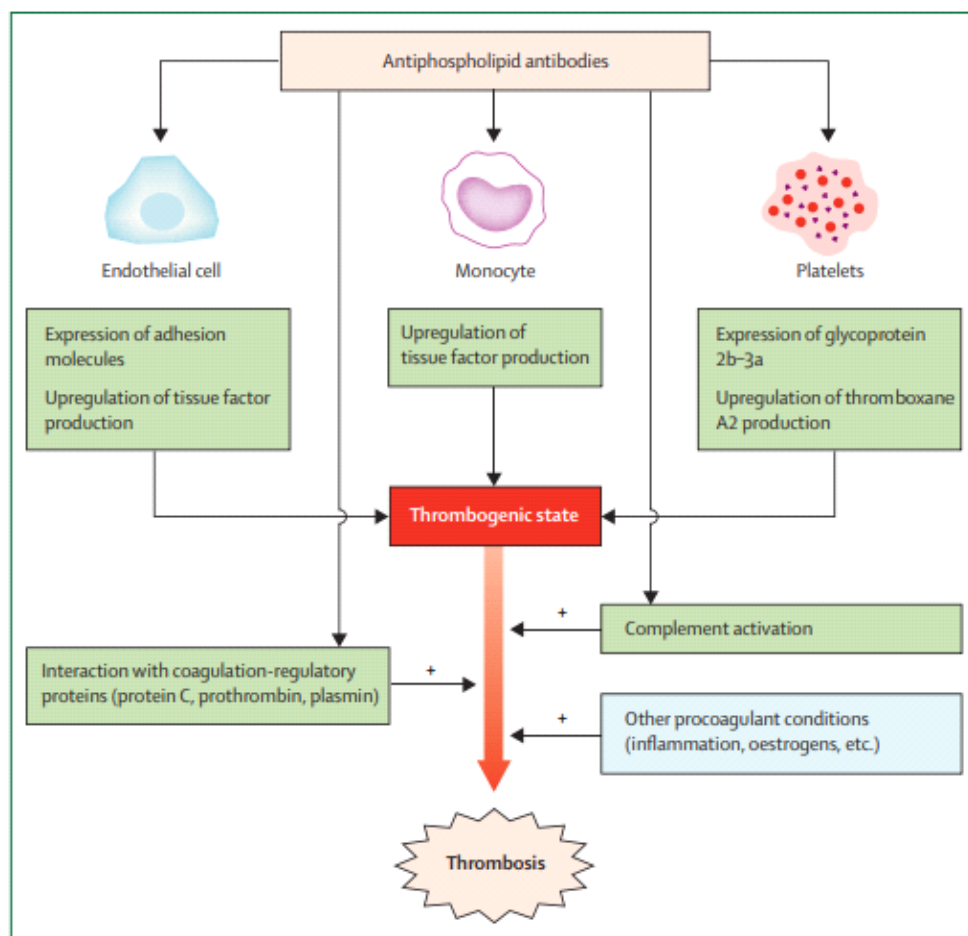


Figure 30 : Physiopathologie des thromboses veineuses et artérielles dans le SAPL [98].

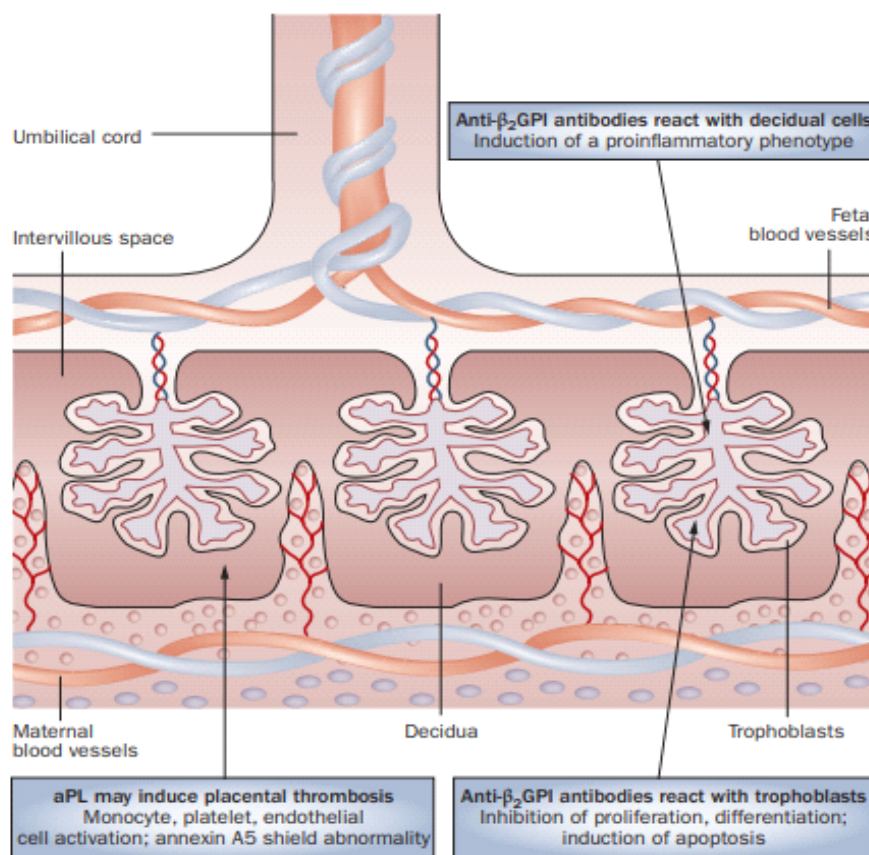
➤ Complications obstétricales [34] :

Trois grands types de complications obstétricales sont retenus comme critères cliniques du SAPL :

- Au moins une mort fœtale inexpliquée survenue au-delà de la 10e semaine de gestation et sur un fœtus morphologiquement normal à l'échographie ou à l'examen anatomopathologique. Ce critère semble être le critère obstétrical le plus spécifique du SAPL.
- Au moins une naissance prématurée d'un nouveau-né morphologiquement normal né avant la 34e semaine de gestation en raison d'une éclampsie, d'une pré-éclampsie sévère ou d'une insuffisance placentaire. Ce critère est plus complexe à apprécier à cause du

manque de définition bien établie de l'insuffisance placentaire et de l'absence de lésion histologique pour la caractériser. Il faut donc prendre en compte plusieurs critères pour évoquer l'insuffisance placentaire comme des anomalies des tests de surveillance fœtale, une anomalie du doppler de l'artère utérine (aspect de « notch »), un oligohydramnios ou un poids de naissance < 10e percentile.

- Au moins 3 fausses couches spontanées consécutives survenues avant la 10e semaine de gestation, sans cause maternelle anatomique ou hormonale et sans anomalie caryotypique parentale. Ce troisième critère clinique est le plus sensible mais le moins spécifique du SAPL à cause de la très grande fréquence des fausses couches précoces chez des femmes indemnes de tout SAPL.



**Figure 31 : Physiopathologie dans les complications obstétricales du sapl [99].**

Un délai de plus de 5 ans entre les manifestations cliniques et la positivité des antiphospholipides ne permet pas non plus de retenir le diagnostic de SAPL [96].

Les manifestations cliniques du SAPL peuvent être subdivisées en six types (Tableau VI). Le SAPL est habituellement découvert chez le sujet jeune (moins de 65 ans) [81].

**Tableau V: Classification cliniques du SAPL [100].**

Syndrome de type I	Thrombose veineuse profonde associée ou non à une embolie pulmonaire
Syndrome de type II	Thrombose coronaire Thrombose artérielle périphérique Thrombose aortique Thrombose carotidienne
Syndrome de type III	Thrombose de l'artère rétinienne Thrombose de la veine rétinienne Thrombose cérébrale Accidents ischémiques cérébraux transitoires
Syndrome de type IV (rare)	Association des types I, II et III
Syndrome de type V (pertes fœtales)	Thrombose placentaire Pertes fœtales fréquentes au 1 <sup>er</sup> trimestre Pertes fœtales possibles aux 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> trimestre Thrombopénie maternelle (rare)
Syndrome de type IV	Présence d'anticorps antiphospholipides sans manifestations cliniques

**2.2. Nouveaux critères ACR/EULAR du SAPL publiés en septembre 2023 [101] :**

Ils mettent l'accent sur les manifestations non-thrombotiques du SAPL en incluant de nouvelles manifestations cliniques réparties en trois nouveaux domaines : valves cardiaques, thromboses microcirculatoires, et les thrombopénies (Fig.32). Une autre nouveauté est la pondération des thromboses macrovasculaires veineuses ou artérielles en fonction de la présence ou non d'autres facteurs de risque (FDR) au moment de l'évènement thrombotique (plus un évènement survient en l'absence d'autre FDR, plus le lien de causalité avec les aPL est probable). Les complications obstétricales ont également été pondérées, diminuant le poids des

fausses couches précoces ou tardives isolées en l'absence de preuve d'insuffisance vasculoplacentaire. Du côté des critères immunologiques, il n'a pas été ajouté d'autres spécificités aPL mais le poids des isotypes IgM par rapport aux IgG pour les aCL et a $\beta$ 2GPI a été réduit. Pour classer le patient comme atteint d'un SAPL, il doit avoir au moins 3 points dans les domaines cliniques et 3 points dans les domaines immunologiques. La durée entre l'évènement clinique et la découverte des aPL a été raccourcie de 5 à 3 ans. En pratique, un patient ayant présenté un AVC ischémique en présence de plusieurs FDR cardiovasculaires conventionnels et une positivité (même à taux très élevés) pour les aCL et ab2GPI d'isotype IgM isolé persistant, n'est plus classé comme porteur d'un SAPL alors qu'il l'était dans les critères de Sapporo. Ces modifications ont permis d'augmenter la spécificité des critères de 86% à 99%, au prix d'une baisse de sensibilité de 99% à 84% par rapport aux anciens critères de classification. Cette approche hiérarchisée, pondérée et intégrant un plus large panel de manifestations cliniques est plus en phase avec la conception actuelle du SAPL et permet de mieux différencier les patients « immuns » chez qui la responsabilité des aPL est au premier plan dans les manifestations cliniques, des patients plus « vasculaires » cumulant les autres facteurs de risques, chez qui le poids des aPL est moindre. Néanmoins, il est primordial de garder à l'esprit que ces critères ont été développés à des fins de classification pour la recherche clinique et non pas à des fins diagnostiques en pratique clinique. De façon pragmatique, ces critères sont une aide pour le clinicien, mais devant un tableau clinique compatible avec un SAPL selon l'expert, il ne faut pas se limiter aux critères pour poser un diagnostic et mettre en œuvre des mesures thérapeutiques adaptées.

Les anticoagulants circulants : Méthodologie diagnostique au laboratoire et implications cliniques  
(expérience de laboratoire d'hématologie HMA)

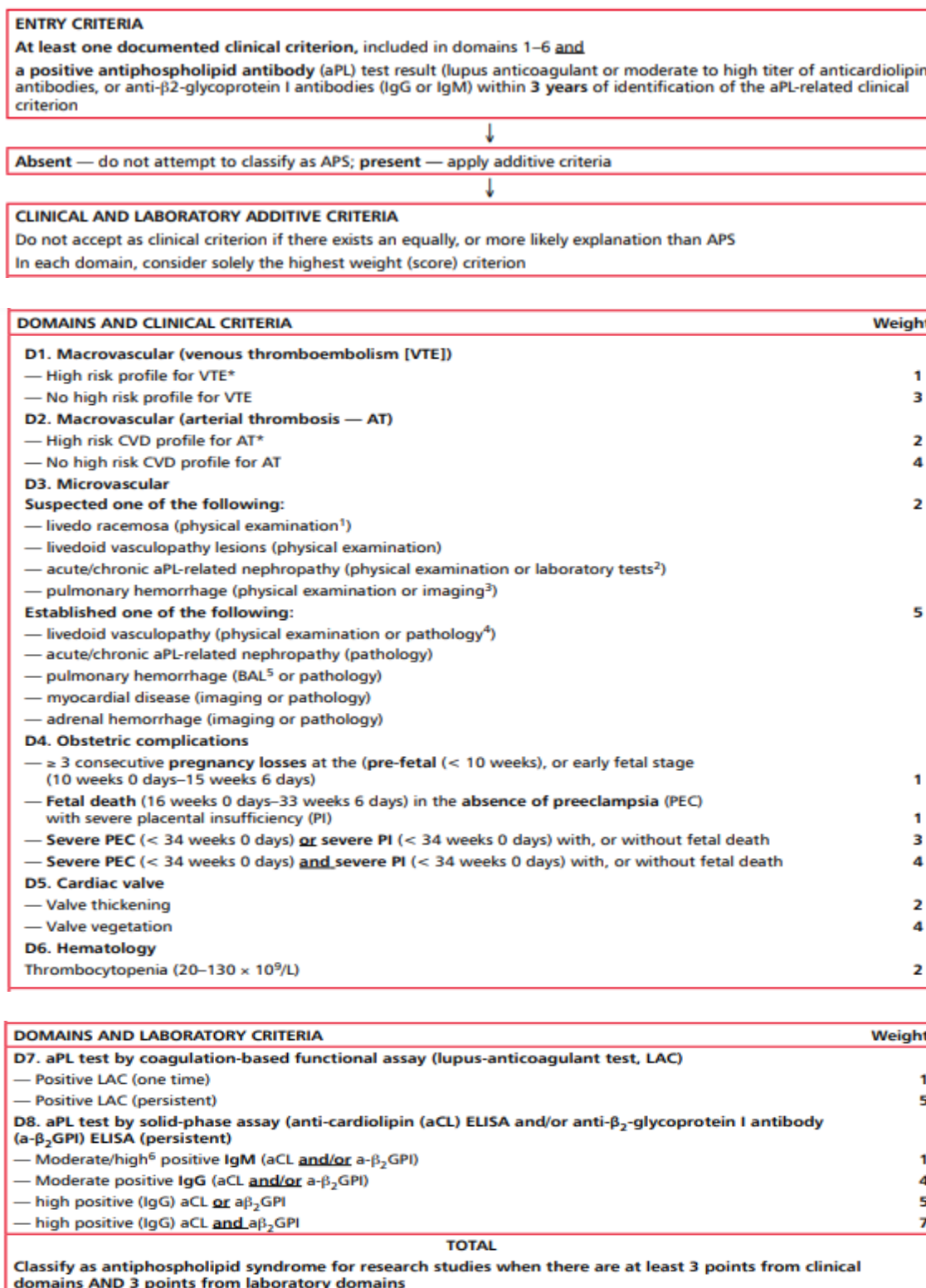


Figure 32 : Critères de classification ACR/EULAR du SAPL[102].

### 3. Autres manifestations hors critères:

Le SAPL peut également se présenter sous un grand nombre de formes différentes. Les manifestations cliniques dites associées au SAPL doivent être distinguées des véritables critères cliniques du SAPL. Elles sont donc trop peu spécifiques pour être retenues seules comme critère diagnostique, mais doivent cependant être connues du clinicien, car elles peuvent amener à suspecter ou à conforter le diagnostic de SAPL. Ces manifestations incluent des atteintes :

- **Neurologiques** : Convulsions, chorée, altération des fonctions cognitives, démence vasculaire, myélopathie transverse et hypersignaux de la substance blanche cérébrale...
- **Cardiologiques** : Maladie coronaire précoce, dysfonction diastolique ou systolique associée à une hypertrophie de la paroi ventriculaire gauche ou au contraire à une dilatation des cavités cardiaques, hypertension pulmonaire...
- **Dermatologiques** : Purpura nécrotique, ulcérations cutanées, gangrène sèche, hémorragies sous-unguéales en flammèches, atrophie blanche souvent très douloureuse, anéodermie...
- **Hématologiques** : Anémie hémolytique mécanique ou autoimmune, exceptionnellement nécrose de la moelle osseuse avec pancytopenie centrale...
- **Ostéo-articulaires** : Ostéonécrose aseptique, perforation de la cloison nasale [103]...



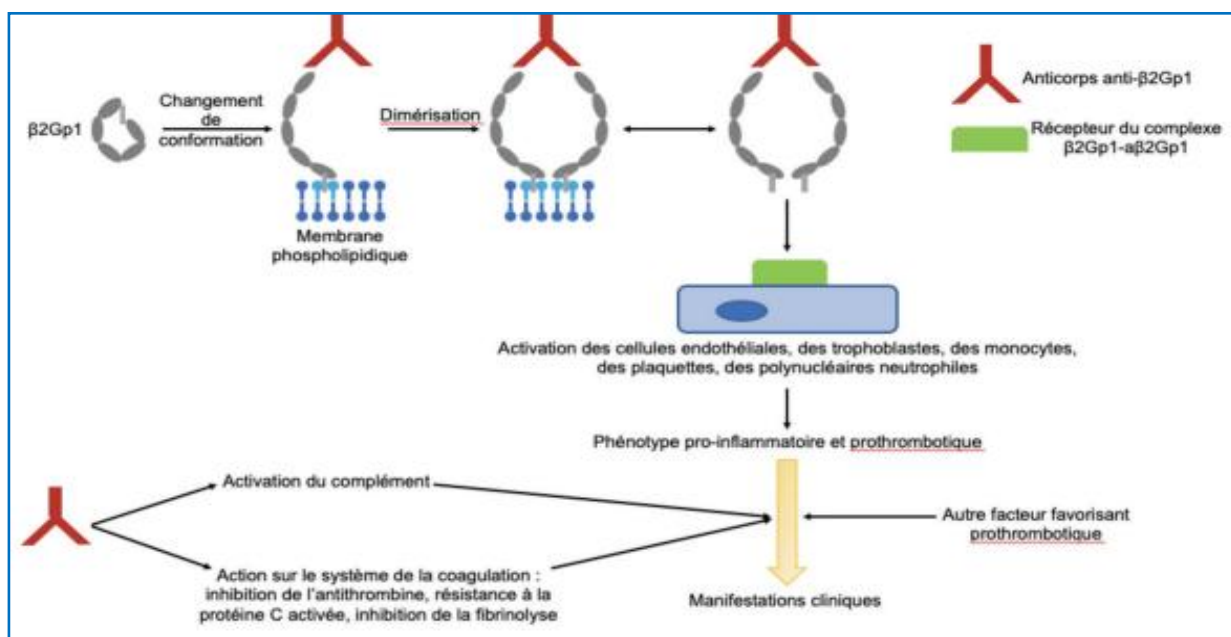


Figure 33 : Mécanismes impliqués dans les manifestations cliniques du SAPL [4].

#### 4. Syndrome catastrophique des anticorps antiphospholipides CAPS :

Le SAPL peut exceptionnellement se présenter sous une forme rapidement évolutive responsable de thromboses multiples souvent synchrones, pouvant être responsable d'une défaillance multiviscérale menaçant le pronostic vital, appelée « syndrome catastrophique des anticorps antiphospholipides ».

Le SAPL catastrophique est la forme la plus grave du SAPL avec :

- Des signes cliniques d'atteinte de plusieurs organes se développant sur une courte période de temps (comme la survenue en moins de 7 jours, d'au moins 3 atteintes d'organes/tissus/systèmes), un tableau de défaillance multiviscérale peut associer un syndrome de détresse respiratoire, une atteinte rénale avec hypertension artérielle sévère, une atteinte neurologique centrale, une myocardopathie et des manifestations digestives ou cutanées.
- Preuves histopathologiques d'occlusions de petits vaisseaux.

- Confirmation en laboratoire de l'aPL (test d'anticoagulant lupique (LA); test immunoenzymatique (ELISA) d'anticorps anticardiolipine (aCL) et ELISA d'anticorps anti- $\beta$ 2-glycoprotéine-I (a $\beta$ 2GPI)).

Le CAPS complique moins de 1% des syndromes des antiphospholipides (SAPL), qu'ils soient primaires ou associés à un lupus systémique. Il peut être inaugural et donc révélateur du SAPL (50% des cas environ), ou survenir en cours d'évolution. La survenue du CAPS est volontiers favorisée par une infection, un geste chirurgical ou un arrêt transitoire de l'anticoagulation. La mortalité à court terme du CAPS a diminué au cours de la dernière décennie et est actuellement inférieure à 30% [104].

**Tableau VI : Critères de classification du CAPS [104].**

- 
1. Atteinte d'au moins 3 organes, systèmes ou tissus
  2. Développement des symptômes simultanément ou en moins d'une semaine
  3. Confirmation anatomopathologique d'une occlusion de petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissu
  4. Confirmation biologique de la présence d'anticorps antiphospholipides (présence d'un anticoagulant circulant de type lupique ou d'un anticorps anti-cardiolipine)

*CAPS certain : présence des 4 critères*

*CAPS probable :*

- Présence des critères 2, 3 et 4 mais atteinte de seulement 2 organes, systèmes ou tissus
- Présence des critères 1, 2 et 3, mais absence de confirmation biologique à au moins 6 semaines d'intervalle, due au décès précoce d'un patient jamais testé pour la présence d'anticorps antiphospholipides avant la survenue du CAPS
- Présence des critères 1, 2 et 4
- Présence des critères 1, 3 et 4, avec développement du 3<sup>e</sup> événement clinique une semaine à un mois après le début du CAPS, en dépit du traitement anticoagulant.

---

L'atteinte rénale est définie par une augmentation de 50% de la créatininémie, une HTA sévère (> 180/100 mmHg) ou une protéinurie > 0,5 g/24 heures. Notons que l'atteinte hématologique ne compte pas comme un « organe » atteint [8]. En 2010, ces critères ont été en partie revus par un groupe d'expert lors du 13<sup>e</sup> congrès sur le SAPL (Galveston, États-Unis). Par analogie aux modifications des critères du SAPL, le critère biologique du CAPS (critère 4) inclus maintenant les anticorps anti- $\beta$ 2GPI et nécessite un contrôle de la biologie antiphospholipides après au moins 12 semaines

## IV. Exploration au laboratoire :

### 1. Anticoagulant circulant de type lupique :

Pour affirmer le diagnostic d'un anticoagulant circulant de type lupique, quatre conditions doivent être remplies (Fig.34) selon les recommandations de ISTH :

- **Dépistage** : Allongement de tests de coagulation dépendant des phospholipides.
- **Mise en évidence d'une activité inhibitrice** : Absence de correction des tests de dépistage qui permet d'affirmer la présence d'un inhibiteur de la coagulation.
- **Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur** : Correction de l'allongement du test de dépistage en présence d'un excès de phospholipides saturant l'aPL présent.
- **Exclusion d'une anomalie associée** : Absence d'un déficit ou d'un inhibiteur spécifique d'un facteur de la coagulation masqué initialement par la présence de l'aPL.

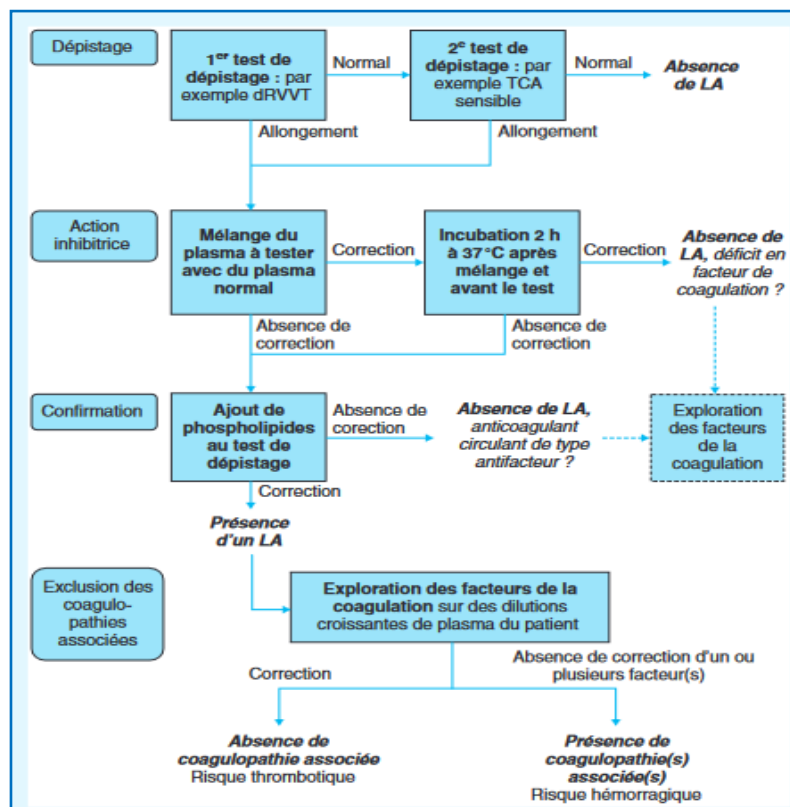


Figure 34 : Algorithme décisionnel pour mettre en évidence un lupus anticoagulant [34].

**1.1. Etape 1 : Dépistage :**

Le dépistage d'un allongement de tests de coagulation dépendant des phospholipides compte tenu de la grande hétérogénéité des ACC, aucun test ne permet à lui seul, de détecter l'ensemble des LA, il est donc recommandé d'effectuer au moins deux tests explorant deux segments différents de la cascade classique de la coagulation Le dépistage de l'anticoagulant circulant lupique sera considéré comme positif si au moins un des deux tests est allongé.

La réalisation de plus de deux tests est à proscrire car cela augmente sensiblement le nombre de faux positifs [43] : Voie intrinsèque : temps de céphaline avec activateur (TCA), La sensibilité du TCA aux ACC est variable selon les réactifs. Un TCA normal n'élimine pas la présence d'un ACC. Voie extrinsèque : temps de thromboplastine diluée (TTD). Voie finale commune : temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT), temps de textarine et d'écarine et le temps de venin de vipère Taipan.

Les deux tests actuellement recommandés sont le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) et un temps de céphaline avec activateur (TCA) utilisant un réactif sensible aux ACC.

***a. Le temps de céphaline avec activateur (TCA) :***

La sensibilité du TCA aux ACC est extrêmement variable et est comprise entre 50 et 70%. Elle dépend du réactif utilisé et, plus précisément, de sa richesse et de sa composition en phospholipides, ainsi que de l'activateur employé avec par ordre décroissant de sensibilité : la silice, l'acide ellagique, le kaolin, la celite. La sensibilité du TCA est affectée par toute augmentation significative du facteur VIII ou du fibrinogène (inflammation, grossesse). De même, des résultats faussement positifs des TCA avec les plasmas ayant une concentration élevée en CRP (C-reactive protein) dans les syndromes inflammatoires sont rapportés [105]. Un TCA normal n'élimine pas la présence d'un ACC. Il est recommandé d'utiliser des réactifs pour TCA pauvres en PL, en particulier phosphatidylserine, et dont la sensibilité a été prouvée par des études.

***b. Le temps de thromboplastine diluée (TTD) :***

Explore les anticoagulants circulants actifs sur la voie extrinsèque de la coagulation. Il consiste à utiliser un réactif thromboplastine dilué dans des proportions et des conditions variables selon les réactifs de manière à diluer les phospholipides du réactif et, ainsi, à sensibiliser le test à la présence d'anticorps antiphospholipides éventuellement contenus dans le plasma à étudier. La sensibilité du test dépend de la thromboplastine et de la dilution utilisée.

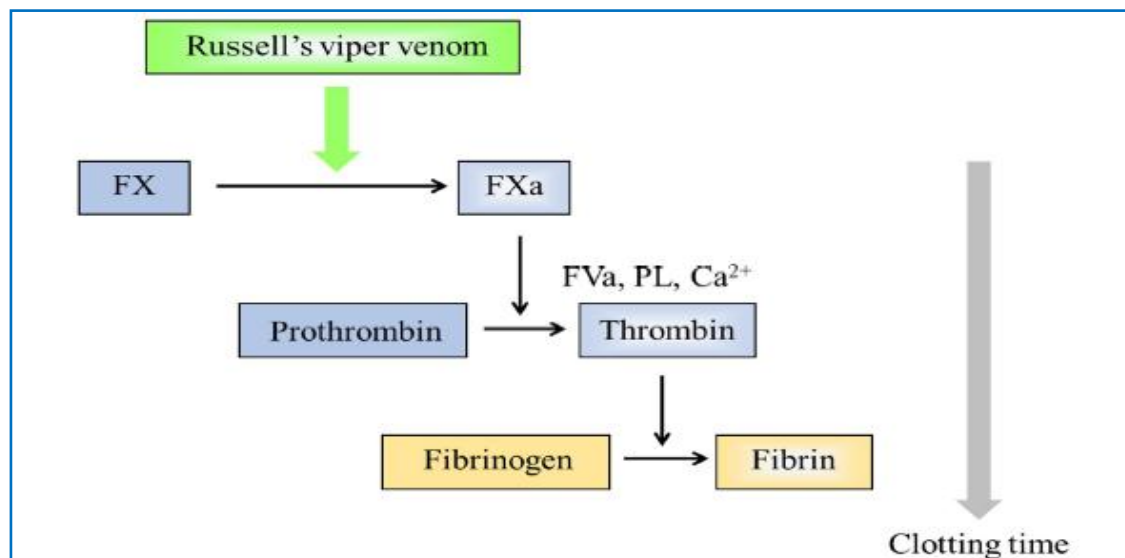
Le TTD est un test très sensible à la présence d'anticoagulants circulants, mais il est également très sensible à la présence d'héparine. Comme le KCT, c'est un test de dépistage et il n'existe pas de test de confirmation par neutralisation par les phospholipides standardisés. Plusieurs dilutions de la thromboplastine, correspondant à différentes concentrations de phospholipides, peuvent être utilisées. Comme pour le TCA, tous les réactifs n'ont pas la même sensibilité vis-à-vis des anticoagulants circulants. L'interprétation des résultats repose sur le rapport temps de coagulation du plasma du malade / temps de coagulation du mélange à parts égales du plasma à tester et d'un pool témoin.

***c. Le temps de venin de vipère Russel dilué (dRVVT) [70] :***

Un test de coagulation explorant la phase finale commune de la coagulation. Ce test a été proposé pour le diagnostic des anticoagulants circulants de type lupique en 1986. La sensibilité du test est de l'ordre de 95 à 100% et la spécificité aux alentours de 60%. Le test est insensible aux inhibiteurs spécifiques dirigés contre les facteurs VIII, IX et XI (Ce test est basé sur l'utilisation d'un venin capable d'activer directement le facteur X en présence de phospholipides et n'est donc pas influencé par les déficits en facteurs VIIIc, IX ou en facteurs du système contact ou par les inhibiteurs dirigés contre ces facteurs).

En revanche, il est sensible aux anticorps dirigés contre le facteur V. La qualité des réactifs dépend notamment de l'origine géographique et de la saison de récolte des venins. Les réactifs comportent un réactif de dépistage et un réactif de confirmation mettant en jeu des phospholipides d'origine variée. Enfin, certains réactifs comportent un inhibiteur de l'héparine

permettant de réaliser le test chez des patients recevant de l'héparine, tout au moins tant que l'activité anti-Xa reste modérée. D'autres tests moins courants, mettant également en jeu des venins de serpent, comme le temps de textarine, le temps d'écarine ou le temps de venin de vipère Taïpan, peuvent être utilisés en remplacement du temps de venin de vipère Russell dilué.



**Figure 35 : Principe du test dRVVT [106].**

### **1.2. Étape 2 : La mise en évidence d'une activité inhibitrice [34].**

Devant l'allongement d'au moins un des deux tests de dépistage, la présence d'une activité inhibitrice doit être recherchée par une épreuve de correction. Le plasma à tester est mélangé à un pool de plasmas normaux strictement déplaquettés par la même procédure que le plasma à tester. Des plasmas lyophilisés disponibles dans le commerce peuvent être utilisés sous réserve qu'ils aient été validés et certifiés pour la recherche des ACC.

L'épreuve de correction consiste à mélanger à parties égales le plasma à tester avec un pool de plasmas normaux (témoin), puis à faire un nouveau TCA sur ce mélange. En présence d'un anticoagulant circulant, le TCA obtenu sur le mélange (malade + témoin) n'est pas significativement plus court que le temps initialement obtenu sur le plasma à tester. Au contraire, si le TCA obtenu sur le mélange (malade + témoin) est significativement plus court que celui initialement obtenu sur le plasma à tester, un déficit en facteur doit être évoqué.

Pour objectiver la correction ou la non-corrrection du TCA obtenue par l'épreuve de mélange (malade + témoin) il est possible de calculer l'indice de Rosner, selon la formule suivante : Indice de Rosner :

$$IR = \frac{\text{Temps du mélange ( M+T ) - Temps du Témoin( T )}{\text{Temps du Malade ( M )}} \times 100$$

Plus la valeur obtenue pour cet indice, exprimée en pourcentage, est élevée, plus la suspicion d'anticoagulant circulant est forte.

En pratique, l'interprétation est la suivante : Selon les critères du Collège français d'hématologie : un indice de Rosner supérieur à 13% est en faveur de la présence d'un anticoagulant circulant, tandis qu'un indice de Rosner inférieur à 13% signe l'absence d'anticoagulant circulant de titre significatif et selon les critères de la Société internationale d'hémostase et thrombose (ISTH) un indice de Rosner supérieur à 15% est en faveur de la présence d'un anticoagulant circulant, et un indice de Rosner inférieur à 12% est en faveur de l'absence d'anticoagulant circulant, tandis qu'entre 12 et 15%, le résultat du test est douteux. La réalisation de mélange mettant en jeu des proportions différentes de plasma à tester et de pool de plasmas normaux (par exemple 4 volumes de plasma du patient pour 1 volume de pool de plasma normal).

En règle générale, les anticorps antiphospholipides sont des anticorps d'action rapide : le mélange plasma à étudier – pool de plasmas normaux peut donc être testé immédiatement pour mettre en évidence l'activité inhibitrice liée aux anticoagulants circulants antiphospholipides. Néanmoins, certaines études ont montré que certains anticoagulants circulants pouvaient être d'action lente, comme le sont les inhibiteurs spécifiques dirigés contre le facteur VIII, la variation de pH observée pendant une incubation d'une heure ou deux heures à 37 °C du mélange du plasma à tester et d'un pool de plasmas normaux entraînait une modification du pH potentiellement responsable d'un allongement du TCA sans rapport avec la présence d'un

anticoagulant circulant et pouvait conduire à des faux positifs dans la recherche d'anticoagulant circulant. L'utilisation d'un tampon type HEPES pourrait permettre d'éviter ces modifications de pH et faciliter l'interprétation des résultats des tests réalisés après incubation. Cependant, l'intérêt de réaliser un test d'incubation est discuté, en dehors du cas particulier d'un inhibiteur spécifique dirigé contre le facteur VIII. Une méthode diagnostique basée sur l'utilisation de deux TCA incubés respectivement 1 et 10 minutes a également été proposée pour le diagnostic des anticoagulants circulants.

**Tableau VII: Interprétation des valeurs selon le test utilisé [107].**

Test	Formule	Interprétation
TCA	Indice de Rosner= $100 \times [(TCA_{\text{mélange}} - TCA_{\text{témoin}}) / TCA_{\text{patient}}]$	<12 : négatif 12-15 : douteux ≥15 : positif
TTD	Temps du mélange/temps du témoin	<1,10 : négatif 1,10-1,20 : douteux ≥1,20 : positif
DRVVT	Temps du mélange/temps du témoin	<1,10 : négatif 1,10-1,20 : douteux ≥1,20 : positif

**1.3. Etape 3 : La confirmation de la dépendance en phospholipides :**

Ils ont pour but de démontrer la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur, assurant ainsi un diagnostic différentiel entre les ACC et les inhibiteurs anti-facteurs. Le critère requis à ce stade de la démarche diagnostique est la spécificité, pour cela, la meilleure procédure consiste à reprendre le(s) test(s) de dépistage initialement perturbé en augmentant la teneur en phospholipides du réactif, afin de "neutraliser" ou de diminuer significativement l'effet de l'inhibiteur, s'il s'agit bien d'un ACC [108]. Les phospholipides apportés doivent être en bicouches ou en phase hexagonale et l'utilisation d'extraits plaquettaires comme source de phospholipides est à proscrire car peu reproductible.



Si l'inhibiteur présent est bien un ACC, on observe une correction au moins partielle de l'allongement du test. Le résultat est exprimé en pourcentage de correction : [(dépistage – confirmation) / dépistage] x 100 ou, plus simplement, en ratio normalisé (dépistage/confirmation). Dans tous les cas la valeur limite du test doit être déterminée localement par le calcul du 99e percentile.

**1.4. Étape 4 : Exclusion d'une anomalie de la coagulation associée.**

Une fois la présence d'un ACC affirmée, il est nécessaire d'éliminer une autre cause d'allongement des tests de dépistage possiblement présente et masquée par les ACC. Devant un allongement très marqué du TCA ou du dRVVT il est donc nécessaire d'explorer respectivement les facteurs de la voie endogène (VIII, IX, XI et XII) ou les facteurs du complexe prothrombinique (II, V, VII et X).

La présence d'un ACC peut interférer avec les dosages chromométriques des facteurs explorés par le TCA entraînant un déficit apparent en un seul ou, plus fréquemment, en plusieurs facteurs. Ceci doit conduire à la réalisation de dosages des facteurs du TCA sur des dilutions croissantes du plasma testé en appliquant au résultat le facteur de correction lié à la dilution. Si l'abaissement du taux des facteurs est induit par l'ACC on observe alors une normalisation du taux des facteurs au fur et à mesure des dilutions. En cas de doute, notamment et surtout pour le dosage du facteur VIII pour lequel cette méthode de dilution ne suffit pas toujours, le recours à des méthodes de dosage chromogéniques non influencées par l'ACC doit être envisagé [109].

Devant un allongement concomitant du temps de Quick et du TCA, on doit exclure l'éventualité rare d'un déficit acquis en prothrombine associé à la présence d'un anticoagulant circulant lupique, qui peut s'accompagner d'un grave syndrome hémorragique «LA-hypoprothrombinaemia syndrome» qui est dû à la présence d'anticorps anti-prothrombine non neutralisants mais responsables d'une épuration rapide des complexes antigène-anticorps.

Il faut noter que si la détection d'anticoagulant circulant lupique suit une démarche qui est bien standardisée, il n'existe actuellement aucun moyen de les quantifier. Le résultat rendu est donc strictement qualitatif (présence ou absence de lupus anticoagulant). Il n'existe aucune procédure de standardisation permettant de comparer un échantillon par rapport à un autre [110].

## **2. Autres anticorps antiphospholipides :**

Notre laboratoire d'hématologie est spécialisé dans la recherche des anticoagulants circulants de type lupique, tandis que les autres antiphospholipides sont détectés dans le laboratoire d'immunologie à l'aide de la méthode Elisa.

### **2.1. Anticorps anti-cardiolipine :**

Les tests Elisa détectent les aCL d'isotype IgG (quantifiés en unité GPL, isotype G phospholipid) et IgM (quantifiés en unités MPL, isotype M phospholipid) en fonction du standard proposé par Harris et al [111].

Du fait que les aCL au cours du SAPL reconnaissent un complexe cardiolipine/cofacteurs, les tests Elisa doivent utiliser des solutions de saturation ou de dilution des échantillons contenant du sérum ou du plasma d'origine animale afin d'apporter les cofacteurs nécessaires à la réactivité de ces anticorps. Cela est nécessaire pour éviter des faux négatifs. Néanmoins, il faut noter que les aCL observés, le plus souvent de façon transitoire, au cours de pathologies infectieuses ne sont pas dépendants de la présence de cofacteurs dans le milieu réactionnel, et réagissent avec la cardiolipine seule [112]. De ce fait, les tests Elisa-aCL ne permettent pas de distinguer les aCL dépendants en cofacteur présents au cours du SAPL des aCL induits au cours de pathologies infectieuses. Cela souligne la nécessité de réaliser d'autres tests dont la recherche d'anticorps anti  $\beta$ 2GPI et de répéter les tests à 12 semaines d'intervalle afin de confirmer au plan biologique le SAPL.

Malgré l'utilisation des standards de Harris, les réactifs utilisés pour le dosage des aCL par Elisa ne sont pas standardisés, en raison notamment de l'utilisation de différents tampons dans la mise au point de ces réactifs. Ainsi, il persiste de grandes variabilités entre les réactifs commercialisés et les lots d'un même réactif. Il est important de tenir compte de cette variabilité pour interpréter des modifications de taux chez un même malade ou pour interpréter des valeurs proches du seuil de positivité. Il est donc recommandé que le suivi biologique, notamment la surveillance de la présence d'aCL, soit réalisé dans le même laboratoire et si possible avec le même réactif [113].

Les tests Elisa aCL conventionnels ou les tests immunologiques plus récents (chimioluminescence), mettent en évidence, sans permettre de les distinguer, au moins trois types d'anticorps [76] (Fig. 36) :

- Ceux qui reconnaissent le domaine 1 de la  $\beta$ 2GPI qui sont les plus pathogènes et se rencontrent dans le syndrome des antiphospholipides associés ou non au lupus érythémateux systémique (LES). Ces anticorps sont essentiellement d'isotype IgG, de sous classe IgG2, pouvant être associés à la présence d'IgM, et leur présence est durable. La présence isolée d'aCL d'isotype IgM dans le SAPL est une situation peu fréquente, rencontrée chez 12,2% des 1000 patients avec SAPL de la cohorte européenne.
- Ceux reconnaissant les autres domaines de la  $\beta$ 2GPI dont la signification pathologique n'est pas établie.
- Ceux reconnaissant uniquement la cardiolipine de façon indépendante de la  $\beta$ 2GPI (« vrais » aCL) qui sont observés dans les infections. Ils sont d'isotype IgM ou IgG de sous-classe IgG3 et présents de façon transitoire (disparaissent en 8 à 10 semaines). Certaines infections chroniques (infection par le VIH, lèpre) peuvent s'accompagner d'aCL persistants dans le temps. Des aCL reconnaissant la  $\beta$ 2GPI s'observent dans deux infections : la lèpre et l'infection par le parvovirus B19.

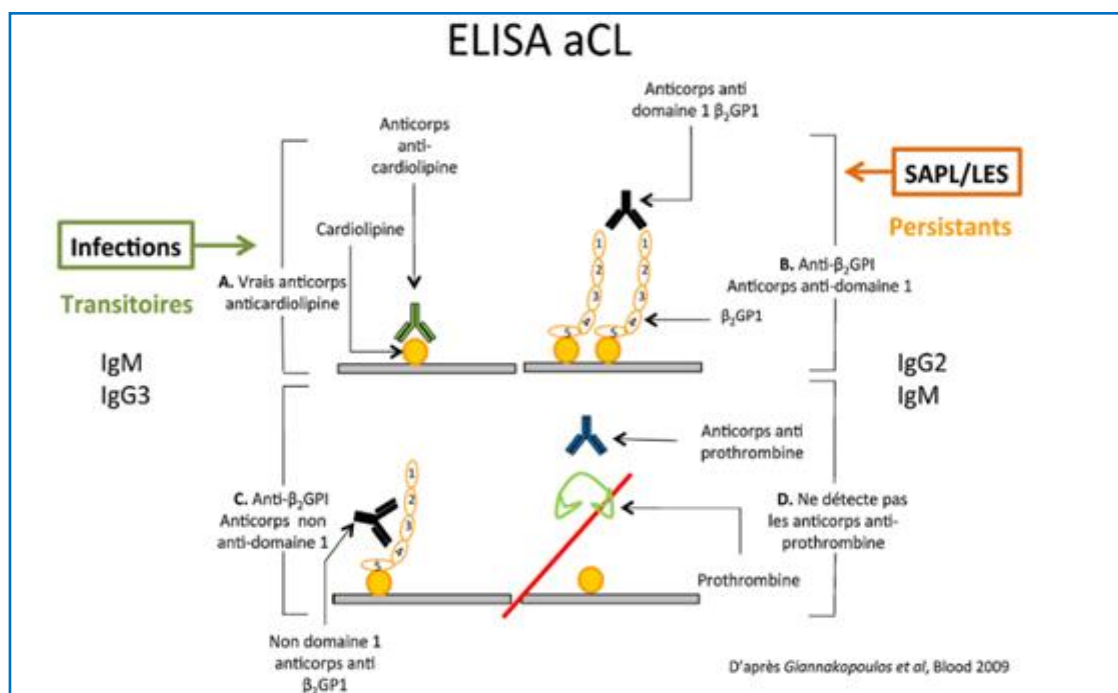


Figure 36 : Anticorps détectés par l'Elisa aCL [76].

## 2.2. Anticorps anti-β<sub>2</sub>GPI :

La possible détection directe des anticorps anti-β<sub>2</sub>GPI, en l'absence de phospholipides (β<sub>2</sub>GPI-Elisa) a été décrite par plusieurs équipes au début des années 1990 [114]. Cette détection impose l'utilisation de microplaques particulières, constituées de polystyrène irradié ou de chlorure de polyvinyle. L'irradiation des plaques, en créant des résidus carbonyle chargés négativement, mime le changement conformationnel de la β<sub>2</sub>GPI induit par leur liaison aux PL, et surtout augmente la densité antigénique au fond des puits permettant une meilleure fixation des anticorps qui ont une faible affinité. L'antigène immobilisé sur la plaque irradiée est de la β<sub>2</sub>GPI humaine purifiée et le tampon de saturation et de dilution des échantillons ne contiendra pas de β<sub>2</sub>GPI, le PBS peut par exemple être utilisé. Malgré son apparente plus grande simplicité, ce β<sub>2</sub>GPI ELISA souffre du même manque de standardisation que son aîné, le CL-Elisa, et un effort de standardisation de cet Elisa a été entrepris et se poursuit dans le cadre du forum européen sur les anticorps antiphospholipides qui recommande l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-β<sub>2</sub>GPI comme standards de calibration.

L'étude menée par le forum européen a montré que la cause principale de variabilité est la qualité de la préparation de la  $\beta_2$ GPI dont les étapes de purification peuvent induire des modifications structurales modifiant l'expression des épitopes. Elle existe sous deux états conformationnels, l'un circulaire et circulant dans le plasma et l'autre ouvert et lié aux PL (Fig.37).

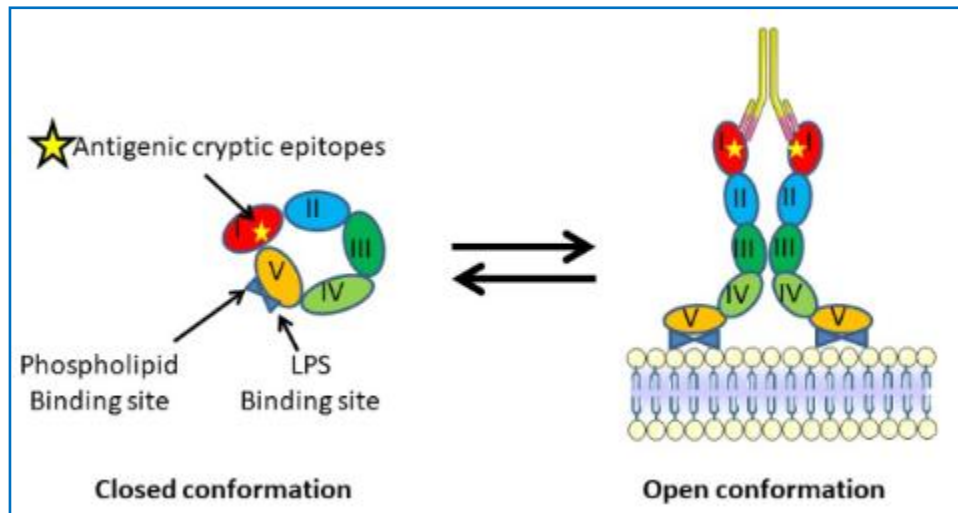


Figure 37 : Deux formes de la protéine bêta 2-glycoprotéine I ( $\beta_2$ GPI) [115].

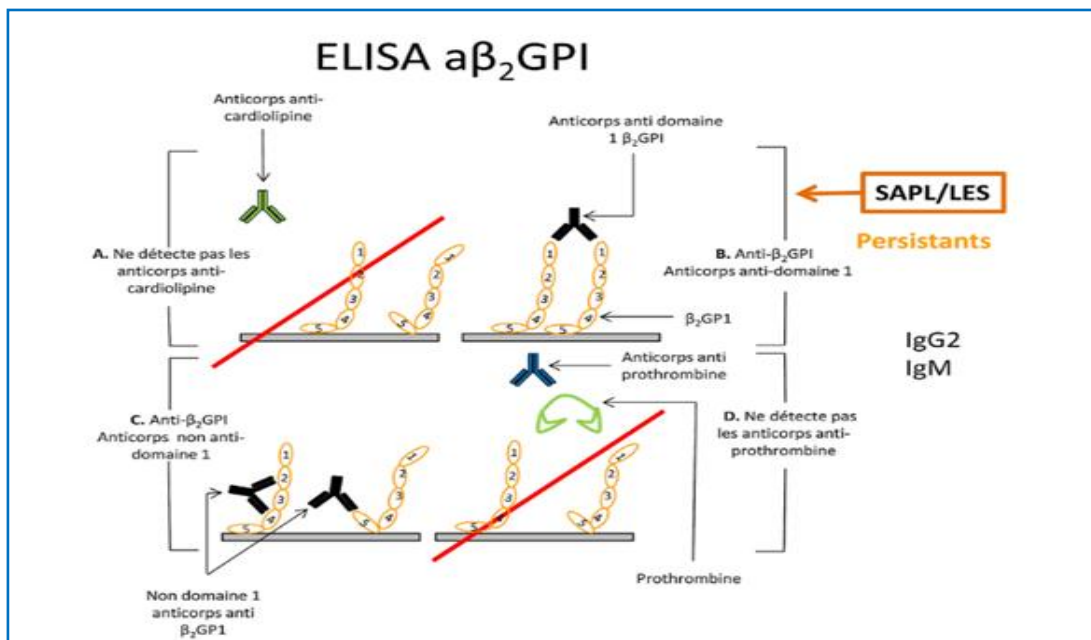


Figure 38 : AC détectés par Elisa  $\beta_2$ GPI [76].

## Partie II : Discussion de nos résultats:

### I. Données épidémiologiques :

#### 1. Sexe :

Dans la littérature (Tableau VIII), plusieurs études ont démontré une nette prédominance féminine. Une étude rétrospective a été réalisée entre juin 2016 et mai 2018 par Pramod Pamu [116] en Inde sur une population de 311 patients ACC positifs a montré que les femmes constituaient la majorité des patients avec un sex-ratio homme/femme de 0,35.

Dans une autre étude rétrospective réalisée en 2017 par Posch et ses collègues [117] chez 150 patients porteurs d'ACC, le sex-ratio homme/femme était de l'ordre de 0,22.

En service de rhumatologie à l'université de Padoue en Italie, Mattiaa et all [118] ont réalisé une étude comprenant 180 sujets testés positifs à l'anticoagulant circulant lupique (144 femmes et 36 hommes) : le sex-ratio homme/femme était de 0,25.

M.Morgan et all [119] ont montré que, sur les 125 patients ACC positifs, 55,2% étaient des femmes, le sex-ratio homme/femme était de l'ordre de 0,81.

Au sein d'une vaste cohorte rétrospective de patients chinois ACC positifs, les femmes constituaient 81% de l'ensemble de la population étudiée avec un sex ratio homme/femme de 0,23 [120].

Dans notre série, nous avons trouvé une prédominance masculine à 55,5% contre 44,5% des femmes. Le sex-ratio homme/femme est de l'ordre de 1,25, ce qui est discordant avec les données de la littérature où nous constatons une nette prédominance féminine. Ceci est probablement dû à un biais de sélection, car l'étude était faite à l'hôpital militaire, où le recrutement est majoritairement masculin.

**Tableau VIII : Comparaison selon le sexe dans notre série et d'autres séries de la littérature.**

Série	Pays	Femmes	Hommes
E. Mattiaa et all [118]	Italie	80%	20%
M. Morgan et all [119]	Australie	55,2%	44,8%
Posch et all [117]	Autriche	81,3%	18,7%
Tang et all [120]	Chine	81%	19%
Lambert et all [121]	France	75,33%	24,67%
Pengo et all [122]	Italie	63,9%	36,1%
Pamu [116]	Inde	67,24%	32,76%
Averina et all [123]	Norvège	82%	18%
L.Moschetti [124]	France et Italie	67,20%	32,80%
Gebhart et all [125]	Autriche	82%	18%
N. Magy et all [126]	France	52%	48%
Notre série	Maroc	44,5%	55,5%

## 2. Âge :

Selon l'étude menée par Mattiaa et ses collègues [118] l'âge moyen de la population était de 47,7 ans. L'âge moyen de la population dans la cohorte de Tang et ses collaborateurs [120] était de 34,6 ans. Dans les études de Averina et all [123], L.Moschetti et all [124], Gebhart et all [125], N. Magy et all [126], Posch et all [117], Lambert et all [121] et Pengo et all [122], l'âge moyen de la population était respectivement de 43 ans, 36 ans, 45,6 ans, 54 ans, 41,3 ans, 46 ans et 46,1 ans.

Dans notre série, comme dans la littérature, notre population ACC positif était relativement jeune, l'âge moyen des patients était de 40,37 ans, avec des extrêmes allant de 20 ans à 58 ans. 66,66% des patients étaient âgés entre 30 et 50 ans.

**Tableau IX : Comparaison selon l'âge moyen dans notre série et les autres séries de la littérature.**

Série	Pays	Âge moyen
Averina et all [123]	Norvège	43 ans
L.Moschetti [124]	France et Italie	36 ans
Gebhart et all [125]	Autriche	45.6 ans
N. Magy et all [126]	France	54 ans
E. Mattiaa et all [118]	Italie	47,7 ans
M. Morgan et all [119]	Australie	51 ans
Posch et all [117]	Autriche	41,3 ans
Tang et all [120]	Chine	34,6 ans
Lambert et all [121]	France	46 ans
Pengo et all [122]	Italie	46,1 ans
Notre série	Maroc	40,37 ans



## II. Antécédents :

Dans notre série, les antécédents les plus fréquents chez les patients qui sont testés positifs pour l'anticoagulant circulant lupique étaient : les thromboses veineuses et artérielles 70,37%, les maladies auto-immunes 29,62% (Behçet 14,82%, lupus 7,40%, syndrome de Gougerot-Sjögren 3,70% et thyroïdite auto-immune 3,70%) et les fausses couches à répétition 14,81%.

Dans une étude observationnelle prospective sur des personnes ACC positifs, 65,56% des patients avaient une maladie thromboembolique, 26,50% des patients avaient des antécédents de complications de grossesse [124].

En Australie, une étude rétrospective faite sur des patients avec un ACC positif a trouvé que 34% des patients avaient un LED, 13% avaient des maladies vasculaires cérébrales (infarctus ou accidents ischémiques transitoires) et 32% avaient des thromboses veineuses [119]

En 2017, une étude en Autriche [117] a trouvé que 14% de la population ACC positif avaient des thromboses artérielles, 56% avaient des thromboses veineuses, 42,6% avaient des complications de grossesse, 32% avaient des maladies rhumatismales auto-immunes (lupus érythémateux disséminé (LED) dans 19,3% des cas et des maladies de type lupique dans 12,7% des cas).

Une étude menée aux États-Unis entre le 1er juillet 2013 et le 30 mai 2015 sur des patients ACC positifs a montré que les étiologies les plus fréquemment observées chez la population étudiée sont les thromboses dans 30,5% des cas et les complications de grossesse dans 2,60% des cas [127].

Dans une étude chinoise réalisée sur 353 patients présentant un anticoagulant circulant lupique positif, 49,3% des patients avaient un LED [120].

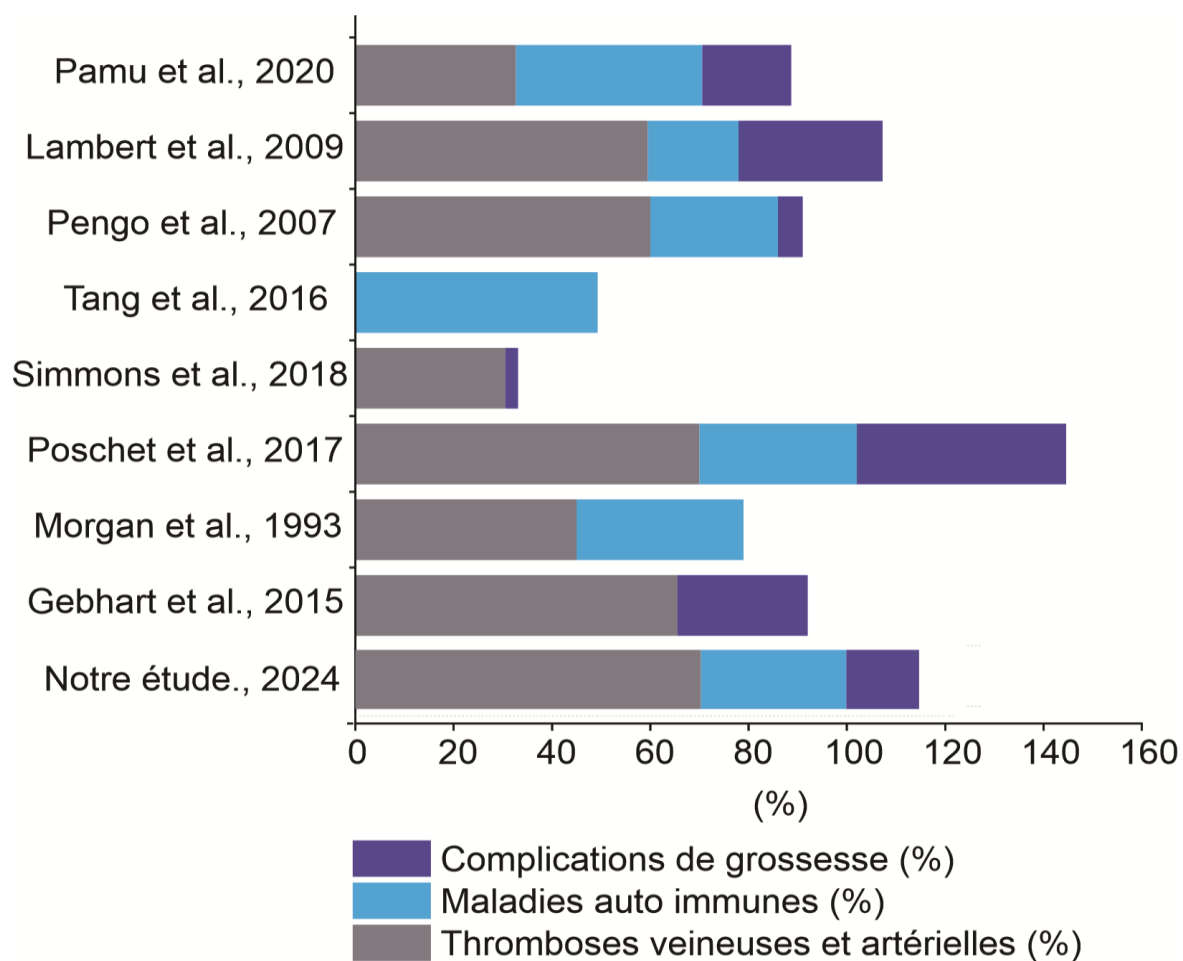
Dans une étude multicentrique en Italie, 29 centres ont participé et ils ont fourni des échantillons de plasma provenant de 302 patients ACC positifs, 60% des patients avaient eu un épisode de thromboembolie, 5% des complications obstétricales, 18% un lupus érythémateux disséminé et 8% des connectivites [122].

Dans une étude de 227 patients ACC positifs, 51,10% avaient un SAPL avec ces manifestations suivantes [thrombose artérielle (25,86%), thrombose veineuse (33,62%), thromboses artérielles et veineuses (11,20%), événements obstétricaux (29,31%)], alors que 12,33% des patients avaient un LED et 6,16% souffrant d'autres maladies auto-immunes [121].

Une étude indienne sur 116 patients ACC positifs a révélé que 37,9% de la population avait un lupus, 18,1% avait une fausse couche à répétition, 21,5% avait une thrombose veineuse profonde et 11,2% avait un AVC [116].

Une étude rétrospective observationnelle au centre hospitalier universitaire St Thomas de Londres a montré que 71,42% des fausses couches récurrentes, 85,71% des pertes fœtales tardives ou accouchement précoce en raison d'un dysfonctionnement placentaire et 85,36% des SAP thrombotiques sont survenus chez des patientes avec un ACC [128].

Nos résultats sont donc concordants avec les données de la littérature, qui montrent que les thromboses veineuses et artérielles et les maladies auto-immunes figurent parmi les antécédents les plus fréquents chez les patients diagnostiqués avec un ACC.



**Graphique 21 : Antécédents les plus fréquemment observés dans notre série et dans la littérature.**

### III. Indications de recherche des ACC :

En 2020, le Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis recommande d'effectuer un test pour l'anticoagulant circulant lupique ainsi que le test pour l'aCL et pour l'a $\beta$ 2GPI, afin d'évaluer le profil de risque chez les patients susceptibles d'être atteints d'un SAPL [129,130] :

- Les patients plus jeunes (< 50 ans) présentant une thromboembolie veineuse (TEV) non provoquée.
- TEV dans des sites inhabituels.
- Les patients plus jeunes (< 50 ans) ayant subi un accident ischémique, un accident ischémique transitoire (AIT) ou d'autres signes d'ischémie cérébrale.
- Thrombose artérielle dans d'autres sites chez des patients plus jeunes (<50 ans).
- Thrombose microvasculaire.
- MTEV (maladie thromboembolique veineuse) récurrente inexpiquée par une anticoagulation sous-thérapeutique, l'inobservance du traitement par le patient ou par une tumeur maligne.
- Morbidité maternelle : perte fœtale après 10 semaines, fausses couches précoces récurrentes (premier trimestre), prématurité (< 34 semaines de gestation) associée à une (pré)éclampsie sévère, syndrome HELLP, insuffisance placentaire (retard de croissance fœtale).
- Lupus érythémateux disséminé : le dépistage de l'anticoagulant circulant lupique fait partie des critères de diagnostic et contribue à l'évaluation du risque [131].

Le test de l'anticoagulant circulant lupique peut être envisagé aussi dans les situations suivantes selon les recommandations de ISTH/SSC 2020 [129] :

- Thrombocytopénie immunitaire, en particulier en présence d'arthralgies ou d'arthrite, perte de cheveux, sensibilité au soleil, aphtes, éruption cutanée, thromboembolie.
- Livedo reticularis, en particulier en présence de symptômes d'autres maladies auto-immunes systémiques, ou d'une légère thrombocytopénie.
- Les patients plus jeunes (< 50 ans) avec des manifestations cliniques hors critères, c'est-à-dire celles qui ne sont pas incluses dans les critères de Sydney : par exemple dysfonctionnement cognitif, cardiopathie valvulaire avec présence de signes d'autres maladies auto-immunes systémiques.
- Les patients plus jeunes (<50 ans) à la suite d'une MTEV provoquée lorsque le facteur environnemental provocant est disproportionnellement faible.
- Les patients présentant un allongement inexpliqué du temps de céphaline avec activateur (TCA) en tant que découverte fortuite.

Dans le cadre d'une étude, Averina et ses collaborateurs [123] ont évalué la présence d'un anticoagulant circulant lupiques dans une population qui présentait ces manifestations cliniques :

- Événements thromboemboliques non provoqués et non expliqués.
- Complications obstétricales (éclampsie, pré-éclampsie, avortements spontanés multiples, décès d'un fœtus morphologiquement normal).
- Lupus érythémateux disséminé et polyarthrite rhumatoïde.

Au sein du service de rhumatologie en Italie, Mattiaa [118] avait effectué une recherche des ACC chez des patients :

- Susceptibles d'être atteints d'un SAPL (2,22% ont subi des pertes fœtales, 1,11% des naissances prématurées, 1,11% des avortements spontanés consécutifs inexplicés, 18,88% une thrombose artérielle, 12,75% une thromboembolie veineuse, 8,90% thrombose veineuse et artérielle et 11,69% ont présenté à la fois des événements vasculaires et obstétriques).

- Avec des maladies auto-immunes.
- Ayant un rhumatisme psoriasique/psoriasis.

Comme dans la littérature et suivant les recommandations de l'ISTH /SSC, le motif de détection des ACC dans notre population étudiée était :

- Thromboses veineuses ou artérielles non provoquées et non expliquées chez 57,89%.
- Maladie auto immune (LES et thyroïdite auto-immune) chez 18,43%.
- Fausses couches spontanées précoces multiples chez 10,52%.
- Accouchement prématuré chez 5,27%.
- Allongement inexpliqué du TCA chez 7,89%.

#### **IV. Diagnostic des ACC : Etape pré-analytique.**

La Société internationale de thrombose et d'hémostase (ISTH) et l'Institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI) ont élaboré des lignes directrices qui fournissent des informations détaillées sur la phase préanalytique des bilans des ACC [129,132].

Le sang veineux doit être prélevé dans 0,109 mmol/L de citrate de sodium avec un rapport sang/anticoagulant de 9/1. La concentration en citrate est très puissante pour modifier le temps de coagulation, et il est donc nécessaire de respecter strictement la même concentration pour pouvoir interpréter correctement les résultats au fil du temps [133].

Le patient doit idéalement être prélevé avant toute mise sous anticoagulants. Les anticoagulants de toutes espèces sont capables d'allonger les temps de coagulation des tests PL-dépendants, ce qui rend difficile l'interprétation des résultats des tests des ACC. Plusieurs médicaments (les antibiotiques comme l'amoxicilline, la pénicilline et la streptomycine, les antiarythmiques, la chlorpromazine, les immunosuppresseurs, les antihypertenseurs comme l'acébutolol et le propranolol) et vaccins (hépatite B) peuvent occasionnellement être associés à une positivité de l'anticoagulant circulant lupique [134, 135].

Les tests des ACC sur des échantillons hémolysés doivent être évités. D'après une étude, 53,9% des membres inscrits au SSC de l'ISTH ont déclaré qu'ils restreindraient les tests si l'échantillon est hémolysé, 37% parmi eux rejetteraient tout échantillon présentant une hémolyse visible, tandis que le reste fixe des limites basées sur la concentration d'hémoglobine plasmatique. 29,1% ont déclaré qu'ils limiteraient les tests de l'anticoagulant circulant lupique si l'échantillon est lipémique, alors que 18% si l'échantillon est ictérique [136].

Le délai d'analyse après le prélèvement et la centrifugation du sang peut être un autre facteur crucial pour la qualité des résultats. Des observations suggèrent que les tests devraient être effectués sur du plasma frais (dans les 4 heures suivant le prélèvement) [133].

Le prélèvement doit être rendu pauvre en plaquettes (numération plaquettaire finale  $< 10 \times 10^9/L$ ) par double centrifugation (2000g pendant 15 min) à température ambiante. La présence de plaquettes dans le plasma peut affecter l'interprétation des tests des ACC et peut conduire à un résultat faussement négatif en raison de la présence de phospholipides anioniques à la surface des plaquettes. L'ultracentrifugation (5000g) peut générer des microparticules, qui peuvent également interférer avec le test de l'anticoagulant circulant lupique, c'est pourquoi elle est également déconseillée. Auparavant, la filtration de l'échantillon de plasma sur des filtres de 0,22m pour éliminer les plaquettes était une procédure mise en œuvre pour contourner le problème de la contamination de l'échantillon de plasma par les plaquettes. Cette procédure peut entraîner une perte de FVW et par conséquent, de facteur VIII, ce qui conduit à un allongement des tests de coagulation sensibles au facteur VIII à savoir le TCA [137]. C'est pour cette raison que la filtration sur des filtres en acétate de cellulose n'est pas recommandée, bien qu'elle soit très performante pour l'élimination des plaquettes [138].

Une centrifugation correcte est donc essentielle pour la réussite des tests, en particulier avec des anticorps de faible titre [139].

Dans des situations, où le bilan est déferé, nous pouvons avoir recours à la congélation, mais ce problème peut être exacerbé par l'utilisation de plasma congelé (dans les situations où l'analyse immédiate de l'échantillon n'est pas possible), car les cycles répétés de congélation/décongélation peuvent perturber la membrane plaquettaire, libérant un excès de PL [140]. C'est pourquoi les lignes directrices de l'ISTH ne suggèrent qu'un seul cycle de congélation et de décongélation. En congelant le plasma dans les 4 heures qui suivent le prélèvement, en le décongelant rapidement à 37 °C pendant 5 minutes dans un bain d'eau par immersion totale, et en l'analysant dans les 4 heures [129], C'est la méthode utilisée dans notre laboratoire où la décongélation est effectuée le jour où le test sera réalisé. Selon les directives du CLSI, le plasma congelé peut être conservé pendant 14 jours à -20 °C et pendant 6 mois à -70 °C [132]. Une étude récente a rapporté la persistance du même résultat du dRVVT et du TCA avant et après une congélation/décongélation [140]. Contrairement à une autre étude, l'effet de la congélation-décongélation sur le dRVVT conduit à des résultats faussement négatifs [141].

L'ISTH met l'accent sur la nécessité de réaliser des tests systématiques avant de débiter une recherche de l'anticoagulant circulant lupique : le temps de Quick, le TCA, le TT et le fibrinogène pour obtenir des informations sur l'état de l'anticoagulation ou la coagulopathie et de mesurer l'activité anti-FXa en même temps que le test de l'anticoagulant circulant lupique chez les patients dont on sait qu'ils prennent une HBPM ou une HNF (L'incorporation d'informations sur l'anticoagulation du patient dans la demande est obligatoire).

Dans notre série les échantillons de sang ont été prélevés dans un tube contenant du citrate trisodique 0,109 M (1 volume de citrate pour 9 volumes de sang). Tous les échantillons ont été mélangés de manière adéquate et ont été traités dans les 4 heures qui ont suivi la ponction veineuse. Le plasma pauvre en plaquettes a été préparé par centrifugation à 2500 g pendant 5 minutes à 20 °C.

L'activité anti-FXa n'a pas été mesurée chez les patients recevant une HBPM.



## V. Diagnostic des ACC : Etape analytique.

### 1. Précautions et algorithmes :

L'anticoagulant lupique est l'un des trois critères biologiques pour l'identification du syndrome des antiphospholipides (SAPL) [142]. L'évaluation précise de l'anticoagulant circulant lupique est essentielle pour le diagnostic et la prise en charge des patients atteints de SAPL.

La détection de l'anticoagulant lupique est basée sur des tests de coagulation fonctionnels dépendant des phospholipides (PL). Le diagnostic au laboratoire des anticoagulants circulants lupiques est difficile, cela est dû en grande partie à l'hétérogénéité des anticoagulants circulants lupiques qui réagissent avec des épitopes mal caractérisés sur des protéines associées à des phospholipides chargés négativement.

L'analyse des anticoagulants lupiques est entravée par l'absence de référence et exacerbée par l'hétérogénéité des anticorps, la variabilité des réactifs et les incohérences dans l'interprétation des données brutes [143], les interférences, par exemple entre la thérapie anticoagulante et certaines protéines de réponse à la phase aiguë [144] compliquent la méthodologie du diagnostic et entravent l'interprétation des résultats, aucun test n'est capable de détecter tous les anticoagulants circulants lupiques. En effet, les enquêtes réalisées principalement en Europe et en Australie au cours des 10 dernières années ont montré une sensibilité et une spécificité variables des tests des anticoagulants circulants lupiques [145].

#### 1.1. Moment du test des ACC :

Le moment choisi pour effectuer les tests est un point crucial pour éviter les situations potentiellement propices à une mauvaise interprétation des résultats [132].

Les directives actuelles recommandent d'éviter le test de l'anticoagulant circulant lupique pendant un événement thrombotique aigu ou un épisode infectieux aigu [129]. Et s'ils sont effectués pendant la phase aiguë doivent être interprétés avec prudence [146].

En raison des interférences, les niveaux élevés de FVIII donnent un raccourcissement du TCA [147], la protéine C-réactive (CRP) interfère avec les PL dans le réactif et allonge les tests de coagulation dépendant des PL [105]. Le premier peut masquer l'anticoagulant circulant lupique et le second peut donner des résultats faussement positifs.

Néanmoins, les tests pendant la phase aiguë peuvent s'avérer nécessaires, par exemple chez les patients suspectés d'avoir un SAPL catastrophique [148]. La recherche de l'anticoagulant circulant lupique peut également être utile chez les nouveaux patients victimes d'un AVC chez qui un SAPL est cliniquement suspecté, afin de décider si le patient bénéficierait d'un traitement anticoagulant plutôt que d'un traitement antiplaquettaire pour prévenir les accidents vasculaires cérébraux récurrents [149].

Pendant la grossesse, de nombreux facteurs de coagulation sont physiologiquement augmentés (en particulier le facteur VIII) [150], ce qui rend l'interprétation des résultats difficile, l'ISTH recommande que dans ce contexte les résultats soient pris en compte avec prudence [129]. Une étude a suggéré que le test LA au cours du premier trimestre est fiable et suffisant pour évaluer le risque [151], une autre suggère que le test doit être effectué après l'accouchement afin d'établir le statut réel de l'aPL, même si le moment optimal du test après l'accouchement n'a pas été établi. Dans une étude, les augmentations des taux de facteurs de coagulation sanguine induites par la grossesse ont été signalées comme disparaissant dans les 6 semaines suivant post-partum, et les résultats de l'anticoagulant circulant lupique sont revenus à leur niveau de base trois mois après l'accouchement [151].

Le test de l'anticoagulant circulant lupique devrait être effectué chez des patients ne prenant aucun anticoagulant. La recherche des ACC chez les patients anticoagulés fait actuellement l'objet d'un grand débat. Une directive récente du comité scientifique et de normalisation de l'ISTH pour les anticorps anticoagulants/antiphospholipides du lupus a répondu à cet argument [152], concluant que la détection des ACC pendant l'anticoagulation reste un défi et selon les recommandations de l'ISTH 2020 [129], le test de l'anticoagulant circulant lupique peut être cliniquement souhaitable chez les patients anticoagulés en respectant les points suivants:

- Chez les patients traités par AVK, l'interprétation des résultats des ACC est difficile en raison de l'allongement du temps de coagulation basal. Dans la mesure du possible, effectuer le test de l'anticoagulant circulant lupique 1 à 2 semaines après l'arrêt de l'AVK, en tenant compte de la transition vers l'HBPM.
- Si les patients sont testés au cours d'un traitement par l'HBPM, les échantillons doivent être prélevés, dans la mesure du possible, au moins 12 heures après l'administration de la dernière dose d'HBPM, et le plus près possible de la dose suivante, les niveaux d'activité anti-FXa étant vérifiés en même temps que le test d'anticoagulant circulant lupique.
- Si possible, interrompre temporairement l'anticoagulation par AOD (sur une base pragmatique et empirique, au moins 48 heures après la dernière dose, et plus longtemps chez les patients souffrant d'insuffisance rénale), le test d'anticoagulant circulant lupique peut être effectué, le taux de l'AOD étant vérifié en même temps que le test.

Un questionnaire d'enquête a été élaboré [136] pour tous les membres inscrits au SSC de l'ISTH qui ont été invités à donner leur avis sur le test d'anticoagulant circulant lupique. Les réponses au questionnaire n'ont pas permis de dégager un consensus sur le moment du test en cas d'événement thrombotique. Les réponses les plus fréquentes étaient les suivantes : effectuer le test à tout moment après un événement thrombotique (37,6%), tandis que 33,7% ont déclaré que le moment dépendait de la situation clinique, alors que 13,8% ont déclaré qu'ils ne savaient pas ou étaient incertains. En ce qui concerne le moment du test par rapport à la grossesse, la majorité (60%) a déclaré que le test de l'anticoagulant circulant lupique pouvait être effectué à tout moment de la grossesse, 20% d'entre eux ont indiqué que le dépistage des ACC devait être reporté à au moins 6 semaines après la grossesse, alors que 16,7% ont déclaré ne pas savoir ou être incertains.

Dans notre laboratoire, la plupart des demandes de tests étaient faites au moment de l'hospitalisation des patients dans différents services, y compris les patients hospitalisés pour des événements thrombotiques. Lorsque nous demandons que le test soit effectué à distance de l'événement thrombotique, les conditions ne le permettaient pas. Par conséquent, nous adoptons une stratégie consistant à effectuer le test à tout moment pendant l'événement thrombotique et à interpréter les résultats avec prudence.

Dans notre série, les patients sous HBPM ont été prélevés 12 heures après l'administration de la dernière dose. Pour les patients sous AOD et sous AVK, nous manquons d'informations pour savoir si les patients ont temporairement interrompu leur traitement avant que le test de l'anticoagulant circulant lupique ne soit effectué.

#### **1.2. Choix des tests :**

Il existe de nombreuses preuves que l'association du dRVVT avec un TCA adéquat permet d'obtenir des taux de détection élevés, ce qui confirme les recommandations de toutes les directives [129,136,153,154]. Le dRVVT est recommandé pour sa spécificité et sa robustesse et le TCA pour sa sensibilité [155].

Les lignes directrices les plus récentes de l'ISTH 2020 [129] recommandent d'utiliser au moins deux tests basés sur des principes différents :

- Un test sensible aux ACC dérivé du TCA (composition PL appropriée et faible concentration et de préférence de la silice comme activateur).
- Le dRVVT.

L'ISTH indique aussi que l'anticoagulant circulant lupique doit être considéré comme positif si l'un des deux tests donne un résultat positif au cours des trois étapes (dépistage–mélange–confirmation). La position en faveur de l'utilisation exclusive du dRVVT et du TCA découle principalement de la possibilité d'une augmentation des résultats faussement positifs en raison de l'utilisation d'un plus grand nombre de tests, ce qui a pour effet de promouvoir des pratiques communes et de réduire la variabilité inter–laboratoires [156].

Dans le cadre de ce processus, il faut reconnaître qu'il existe une variation inter-réactifs des préparations de dRVVT et de TCA provenant de différents fabricants, en particulier pour le TCA, ce qui peut entraîner une variabilité dans les résultats en fonction des fabricants [157].

Le choix de l'activateur du TCA a été limité à la silice. Il a été démontré par la suite que l'acide ellagique en tant qu'activateur du TCA peut présenter une sensibilité acceptable, du moins avec certains réactifs du TCA, bien qu'avec des rapports normalisés plus faibles pour l'étape de dépistage [158].

Les variations de performance des réactifs sont principalement dues aux différences de composition des PL [159], bien que des différences puissent être apparentes lorsque l'on utilise différents types d'analyseurs [160], et que l'hétérogénéité du venin peut affecter le dRVVT [161].

D'autres tests pour la détection des anticoagulants circulants lupiques n'ont pas été recommandés dans les lignes directrices de l'ISTH-SSC en raison de la variabilité des réactifs (temps de thromboplastine diluée TTD), d'une insensibilité au ACC (temps de coagulation au kaolin), ou de la non-disponibilité de tests commerciaux standardisés (tests basés sur le venin de serpent Taipan/Ecarin) [159].

Une étude pour évaluer les performances et les pratiques des laboratoires cliniques en Amérique du nord en matière de tests des ACC a conclu que le temps de céphaline avec activateur (TCA) et le temps de venin de vipère Russell (dRVVT) constituaient les principales méthodes d'analyse [145].

Dans notre série, la recherche de l'anticoagulant circulant lupique a été effectuée par le test dRVVT et le TCA.

### **1.3. Etapes des tests :**

Classiquement la recherche d'ACC était structurée par la séquence des procédures de dépistage, de mélange et de confirmation, a récemment fait l'objet d'un débat en raison des pièges des tests de mélange, qui remettent en question le rôle central de ce test dans le bilan diagnostique des ACC [162].

La principale limitation concernant le test de mélange est l'effet de dilution inévitable sur le taux d'anticorps, qui dans certains cas peut rendre l'anticoagulant circulant lupique indétectable, ce qui conduit à des résultats faussement négatifs [163]. Le mélange d'échantillons d'anticoagulants lupiques "faibles" peut entraîner une perte de l'activité anticoagulante du lupus et donner lieu à une "fausse négativité de l'anticoagulant lupique" et sert donc d'argument pour ne pas effectuer de tests de mélange [164].

Les tests de mélange faussement négatifs peuvent également survenir pour des raisons autres que la dilution, comme la sensibilité et la spécificité des réactifs pour les ACC. certains ACC positifs dans les tests de dépistage avec le TCA et le dRVVT, présentent une positivité dans le mélange pour un test mais pas pour l'autre [162].

Les caractéristiques des PNP (Pooled normal plasma) peuvent influencer les résultats des tests de mélange, car certains PNP ont des temps de coagulation plus courts, nécessitant un anticoagulant circulant lupique plus fort pour qu'un test de mélange soit positif.

La North American Specialized Coagulation Laboratory Association (NASCOLA) a mentionné que la qualité du pool de plasma normal utilisé a un impact sur le résultat du test de mélange [145].

Des opinions divergentes sont présentes dans la littérature sur le test de mélange. De nombreuses études ont mis en évidence l'importance de réaliser un test de mélange, car il ne se limite pas seulement à l'identification d'un élément "inhibiteur", mais il permet de neutraliser efficacement l'effet du traitement par AVK et de "diluer" les effets potentiels d'autres anticoagulants tels que l'héparine non fractionnée et les AOD. Il y a une autre catégorie de patients pour lesquels les études de mélange sont cruciales pour identifier précisément les ACC, il s'agit des patients présentant des ACC très fortes, pour lesquels des faux négatifs peuvent survenir si les études de mélange ne sont pas effectuées, bien que potentiellement rares [165], dans certains cas, le comportement de l'anticoagulant circulant lupique est particulier et il ne peut pas être individualisé si le mélange n'est pas effectué, le phénomène du "cofacteur lupique"

identifie un contexte dans lequel l'anticoagulant circulant lupique a besoin d'un cofacteur plasmatique (probablement la prothrombine) pour exprimer son activité inhibitrice, si le cofacteur n'est pas fourni par le PNP, le diagnostic de l'anticoagulant circulant lupique ne peut être posé [166]. Actuellement, l'incidence de ce phénomène n'est pas exactement connue, mais elle est rare. Ces cas donnent à réfléchir sur l'importance des études de mélange pour certains patients.

Selon Favaloro, il est essentiel de réaliser des études de mélange au moins à chaque fois que les tests de dépistage du dRVVT sont allongés, car un résultat faussement négatif concernant l'anticoagulant lupique peut être dû à l'échec du test de confirmation par le réactif dRVVT, ce qui entraîne des rapports dRVVT normaux [164].

D'après une analyse rétrospective évaluant l'impact du test de mélange sur les résultats de dRVVT menée par Devreese, l'expression d'une véritable positivité de l'anticoagulant circulant lupique dans le système de test dRVVT dépend de l'inclusion d'un test de mélange pour éviter les faux positifs [167]. Alors que Pennings et al [168] suggèrent que les tests de mélange ne sont peut-être pas nécessaires pour obtenir des résultats fiables avec un système de venin de vipère (dRVVT) dans les tests des ACC, même dans le cas de patients sous AVK.

Selon A. Krilis et Bill Giannakopoulos, si les tests de dépistage et de confirmation sont positifs dans un contexte où les autres types de troubles de la coagulation ont été exclus par un test de dépistage de routine de la coagulation, y compris le temps de Quick, le temps de thrombine et le TCA à l'aide d'un réactif de TCA ne réagissant pas aux ACC, il est possible de ne pas demander de test de mélange, car même si les tests de mélange sont négatifs, l'échantillon est considéré comme positif [169].

Une grande cohorte rétrospective [170] effectuée chez 5832 personnes a révélé qu'aucun autre test de mélange ni l'IR n'ont présenté d'avantage pour le diagnostic des ACC et que l'utilisation de l'indice de l'anticoagulant circulant (ICA) n'a pas amélioré le pouvoir diagnostique des tests de mélange.

Aussi, de nombreuses études ont mis en évidence des niveaux inacceptables d'études de mélange faussement négatives dans les tests de l'anticoagulant circulant lupique, certaines concluant qu'un changement d'attitude et d'orientation s'impose [171,172,173].

Les agences d'assurance qualité externe signalent que les tests de mélange faussement négatifs sont une cause fréquente de classification erronée des anticoagulants circulants lupiques faibles [174].

Selon une étude, le nombre d'échantillons classés comme ACC positifs diffère de manière significative en fonction de la méthode de détection utilisée. Devreese et al ont rapporté que sur 267 échantillons, 170 ont été identifiés avec un anticoagulant circulant lupique positif en utilisant la procédure en trois étapes, tandis que 235 ont été diagnostiqués en utilisant la procédure en deux étapes [163].

Bien que les études ne préconisent pas la suppression totale des tests de mélange, mais soulignent plutôt une limitation de ce test. Les tests de mélange peuvent également être omis dans les circonstances suivantes :

- L'anticoagulant circulant lupique exclue parce que les tests de dépistage sont normaux, ce qui nécessite essentiellement que deux tests basés sur des principes différents (par exemple, TCA et dRVVT) soient tous les deux normaux.
- L'anticoagulant circulant lupique identifié sur le plasma pur du patient par la prolongation du test de dépistage (contenant un faible taux de phospholipides) avec normalisation du test de confirmation (contenant un taux élevé de phospholipides) [175].
- **Les lignes directrices 2009 de l'ISTH-SSC** préconisent d'effectuer l'étape de mélange après avoir constaté un test de dépistage allongé, et si le test de mélange suggère la présence des ACC, il convient de réaliser un test de confirmation [163].



- **Les directives de la British Society of Hematology(BSH)** [159] indiquent que les tests de mélange améliorent la spécificité et, en l'absence d'autres causes d'allongement des temps de coagulation, les échantillons qui donnent des résultats positifs dans les tests de dépistage et de confirmation sur des échantillons non dilués doivent être considérés comme positifs.
- **Les lignes directrices du clsi (Clinical and laboratory standards institute)** [154] donnent un nouvel ordre aux trois étapes : dépistage, confirmation, puis mélange. CLSI donne la priorité au test de confirmation plutôt qu'au test de mélange, en omettant le test de mélange uniquement lorsqu'il n'y a pas d'autres causes de temps de coagulation élevés ou si la dépendance au PL est déjà démontrée par la combinaison d'un test de dépistage et d'un test de confirmation. Pour ces raisons, donc il est conseillé d'effectuer un dépistage suivi d'un test de confirmation simultané dans tous les échantillons avec un test de dépistage allongé. Les résultats sont évocateurs de la présence de l'anticoagulant lupique lorsque le résultat de l'étape de dépistage et le résultat de l'étape de mélange sont supérieurs à la valeur seuil locale, et que l'étape de confirmation montre une correction. Si les étapes de dépistage et de confirmation sont positifs avec une étape de mélange négative la présence d'anticoagulants est exclue [129].
- **Les lignes directrices de l'isth 2020** [129] recommandent que les études de mélange soient considérées comme un élément essentiel de la voie diagnostique des ACC.

Dans notre laboratoire, tous les patients avec un test TCA de dépistage positif ont été soumis à un test de mélange.

Pour le test de dRVVT, notre laboratoire a limité la détection des ACC à deux étapes : une étape de dépistage suivie d'une étape de confirmation sans effectuer de mélange.

#### 1.4. Algorithmes de détection des ACC :

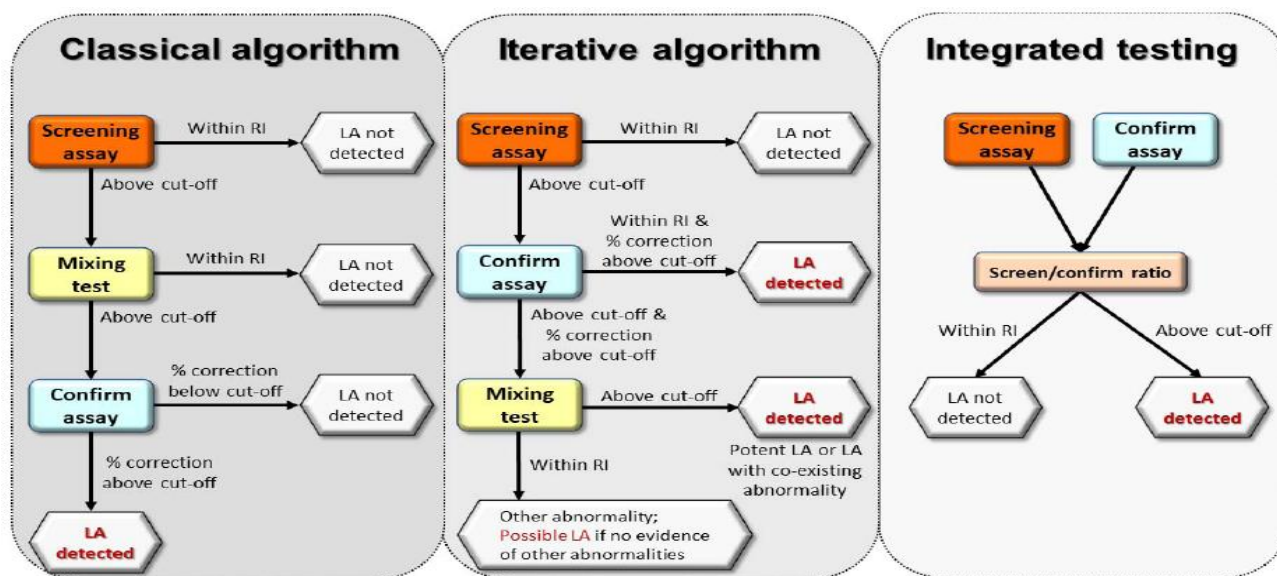
Il n'existe pas de solution algorithmique unique pour le dépistage des ACC.

- **L'algorithme classique :** Présente une logique claire, le test de dépistage révèle une anomalie par un temps de coagulation élevé, le test de mélange met en évidence la nature inhibitrice de l'anomalie et le test de confirmation démontre sa PL-dépendance. Cela place le test de mélange à un moment crucial du diagnostic [175].
- **L'algorithme intégré [162] :** Les tests intégrés réalisent des tests de dépistage et de confirmation au cours de la même procédure. Les résultats sont exprimés sous la forme d'un rapport entre les tests de dépistage et les tests de confirmation (plus élevé au seuil pour les ACC, inférieur au seuil pour les déficits en facteurs). De nombreux laboratoires adoptent actuellement ces tests intégrés, en omettant les tests de mélanges. L'avantage de cette approche est la standardisation des tests, ce qui réduit considérablement l'intervention de l'opérateur. Le test intégré a une valeur supplémentaire en ce sens qu'il détecte les anticorps plus faibles lorsque l'élévation du temps de coagulation au-dessus de la ligne de base du patient est insuffisante pour dépasser le seuil, mais la discordance du dépistage et de la confirmation révèle la présence de l'anticoagulant circulant lupique [176]. Certains soutiennent que la discordance entre le dépistage et la confirmation permet de détecter avec précision l'anticoagulant circulant lupique même si le test de confirmation est élevé [177].
- **L'algorithme itératif [178] :** Comme les algorithmes classiques utilisent le test de dépistage seul comme point de départ, un résultat normal indiquant qu'aucun anticoagulant circulant lupique n'a été détecté avec ce test de dépistage. En cas de test de dépistage élevé, l'algorithme itératif procède au test de confirmation pour évaluer immédiatement la dépendance aux phospholipides, cette approche place l'étude de mélange à un stade plus avancé.

La reconnaissance du fait que les anticoagulants circulants lupiques peuvent être détectés sans mélanger les tests a entraîné une augmentation de l'utilisation des tests intégrés, où les tests de dépistage et de confirmation sont effectués en parallèle et évalués directement pour la concordance ou discordance, généralement avec le ratio LA normalisé [178].

Afin de repérer les ACC à l'aide du TCA, notre laboratoire a utilisé l'algorithme classique qui implique la réalisation de l'étape de dépistage, de mélange puis de confirmation. Cependant, notre laboratoire a omis la troisième étape en raison de l'indisponibilité du réactif. Lorsque nous observons un allongement du TCA et une absence de correction du test de mélange, nous concluons que le patient présente une positivité aux ACC.

Notre laboratoire a opté pour un algorithme intégré pour la recherche des ACC par le test dRVVT. Nous effectuons simultanément des procédures de dépistage et de confirmation sur les échantillons de plasma étudiés de notre série, que le test de dépistage soit élevé ou non. La positivité de l'anticoagulant circulant lupique a été constatée lorsque le ratio normalisé est élevé.



**Figure 39 : Différentes algorithmes possibles pour la détection de l'anticoagulant circulant lupique [179].**

## 2. Exploration en fonction des 3 voies de la coagulation :

### 2.1. Exploration de la voie intrinsèque de la coagulation :

#### a. Test de dépistage : Temps de céphaline avec activateur :

Les résultats des tests de dépistage sont évocateurs de la présence d'un ACC (ou d'un déficit en facteurs de coagulation) si le rapport du TCA du patient sur le TCA du témoin est supérieur au seuil ( $>1,2$ ) [132].

Dans notre série, 28,95% de la population totale avait un TCA allongé, tandis que 71,05% avait un TCA normal.

Nos résultats concordent avec les données obtenues dans l'étude réalisée par FERREIRA et ses collaborateurs, où il a été constaté que sur un total de 605 demandes de recherche des ACC, l'allongement du TCA a été observé dans 219 cas, ce qui représente 36,19% [180]. Alors que dans l'étude de Depreter, le TCA était allongé chez 90,5% des cas lors de la détection des ACC [181]. Selon une autre étude, le TCA a permis de détecter 60% des anticoagulants lupiques [110].

#### b. Mise en évidence d'un inhibiteur (test de mélange) :

Les tests de mélange, comme le terme l'indique, sont des tests effectués sur un mélange de plasma du patient et de pool de plasma normal [182].

Les tests de mélange sont indiqués lorsque les résultats du TCA se prolongent de manière inattendue. Selon les recommandations de l'ISTH 2020 le test de mélange doit être obtenu en utilisant une proportion 1:1 de plasma du patient et de pool de plasma normal (PNP), dans un délai de 30 minutes, sans incubation [129].

Il est important à noter que l'effet inhibiteur du Lupus anticoagulant est de type immédiat dans la majorité des cas contrairement aux inhibiteurs spécifiques du FVIII dont l'activité inhibitrice dépend du temps (2 h d'incubation à 37 °C) [183].

La raison pour laquelle certains laboratoires effectuent le test de coagulation après une incubation de l'échantillon mélangé à 37°C pendant une ou deux heures, afin d'augmenter la sensibilité de détection des inhibiteurs spécifiques aux facteurs, tels que les inhibiteurs du facteur VIII (FVIII) et les anticoagulants lupiques temps/température dépendants [184]. En effet, une étude a montré que l'allongement du test de mélange après incubation n'est pas spécifique aux anticoagulants anti-facteurs, environ 15% des anticoagulants lupiques sont temps/température dépendants et une activité inhibitrice progressive peut être détectée par incubation du mélange 2 h à 37 °C, et cela est probablement dû au changement de pH pendant l'incubation [185]. Entre juillet et septembre 2022, une étude a été menée afin d'évaluer les étapes analytiques dans les laboratoires cliniques en Corée. Les résultats ont révélé que le temps d'incubation était de 1 heure dans 60% des laboratoires et de 2 heures dans 30% [186].

Le PNP est très important pour la standardisation du test de mélange, il doit être dépourvu de plaquettes, sa composition en chaque facteur de coagulation doit être proche de 100% et il doit être obtenu à partir d'au moins 40 donneurs sains (hommes et femmes) [129,154]. L'absence de l'anticoagulant circulant lupique dans le PNP doit être documentée [175].

Le PNP peut être préparé "en maison", en mélangeant des plasmas normaux dans un récipient en plastique, en divisant le mélange en petites aliquotes. Les aliquotes seront ensuite rapidement congelées pour être stockés à -70 ° C (une température qui garantit la stabilité de chaque facteur de coagulation pendant environ 6 mois). Les aliquotes de PNP peuvent être décongelées juste avant de réaliser le test en les exposant rapidement à une température de 37° C dans un bain thermostatique légèrement incliné et en les utilisant dans les 2 heures qui suivent [132]. Il existe plusieurs plasmas lyophilisés commerciaux qui présentent les mêmes caractéristiques que les PNP faits maison et peuvent être utilisés pour réaliser le test de mélange [187].

➤ **Interprétation [175] :**

Il existe en fait plusieurs méthodes pour interpréter les études de mélange comme étant soit "corrigées" (suggérant une déficience en facteur) soit "non corrigé " (suggérant un inhibiteur de facteur) [182,188]. Cependant, cette perception de la correction ou de l'absence de correction demeure subjective, c'est pourquoi diverses méthodes ont été employées pour interpréter le test de mélange, telles que [189] :

• **Indice de Rosner :**

Une méthode couramment utilisée, également connue sous le nom d'indice de l'anticoagulant circulant (IAC). L'IR est identifié par la formule suivante [182] :

$$IR = [(TCA \text{ mélange} - TCA \text{ témoin}) / TCA \text{ patient}] \times 100$$

Nous estimons que le TCA est corrigé si l'indice de Rosner est inférieur à 12%. Il n'est pas corrigé si l'indice de Rosner est supérieur à 15%. Il existe une zone grise, une zone douteuse entre 12 et 15% où le test doit être refait. La correction du TCA lors de l'épreuve du mélange est en faveur d'un déficit en facteur de la coagulation. La non-corrrection du TCA oriente plutôt vers un ACC.

• **Valeur seuil locale :**

L'interprétation des études de mélange est maintenant bien définie en considérant une valeur seuil locale calculée par le 99e percentile d'une population normale [190] exprimée sous forme de ratio normalisé [129].

• **Méthode de pourcentage de correction :**

La méthode de pourcentage de correction, parfois également appelée "méthode Chang" [191], reflète une autre méthode couramment utilisée. Le pourcentage de correction est identifié par la formule :

$$\% \text{ de correction} = [(TCA \text{ patient} - TCA \text{ mélange}) / (TCA \text{ patient} - TCA \text{ témoin})] \times 100$$

La valeur seuil se situe entre 65 et 80% [182,191]. Nous estimons que le TCA est corrigé si la valeur calculée est supérieur à la valeur seuil et il n'est pas corrigé si la valeur calculé est inférieur à la valeur seuil.

L'étude de mélange 4 :1 du TCA : Si les inhibiteurs sont à des niveaux faibles, une étude de mélange 1:1 donnerait une fausse valeur « corrigée » et donc un diagnostic erroné de déficit en facteurs de coagulation. La dilution 1:1 par le PNP diluera les inhibiteurs, ce qui ne suffira pas à provoquer un TCA allongé. C'est pourquoi Chang et al ont mené une étude de mélange 4:1 afin d'améliorer la sensibilité de détection [192].

**Tableau X : Méthode de pourcentage de correction [189].**

Index	Formula	Cutoff value
1:1 percent correction	$[(a-c)/(a-d)] \times 100$	72
4:1 percent correction	$[(a-b)/(a-d)] \times 100$	50

Each index was calculated, in which a, b, c, and d represent the APTT values (seconds) of neat test plasma, mixture of 4 parts test plasma to 1-part NPP, 1:1 mixture, and NPP, respectively. d represents average in repeated measurements of NPP (n = 40).

Abbreviations: APTT, activated partial thromboplastin time; ICA, index of circulating anticoagulant; Mix, 1:1 mixture; NPP, normal pooled plasma.

- **Résultat du test de mélange dans le cadre de la méthode NRI (intervalle de référence normal) :**

Une méthode couramment utilisée consiste à déterminer si le mélange fournit un résultat de test qui se situe dans le NRI, auquel cas on dit qu'il y a eu "correction". C'est l'option recommandée par les lignes directrices du CLSI pour la recherche d'ACC. Le principal avantage de cette méthode est qu'elle est facile à appliquer et à vérifier et qu'elle ne nécessite pas la création de méthodes alternatives ou de valeurs seuils exigeant une vérification supplémentaire. Le principal échec de cette méthode se produit lorsque le résultat "anormal" du TCA du patient se situe juste au-dessus de NRI. Le résultat probable dans ce cas est que tout mélange produira un résultat dans NRI, que le plasma du patient contienne des déficits en facteur ou des inhibiteurs. C'est pourquoi les laboratoires qui utilisent cette méthode n'effectuent souvent pas de tests de mélange à moins que le TCA ne soit plus que légèrement allongés (par exemple 5 secondes pour le TCA).

- **Ratio du test de mélange :**

Il existe trois façons de déterminer le rapport de mélange [193] (Tableau XI) :

- Ratio I : le résultat de l'étude de mélange divisé par la moyenne de l'intervalle de référence local.
- Ratio II : le résultat de l'étude de mélange divisé par la moyenne du test des donneurs + la moyenne du PNP.
- Ratio III ou ratio normalisé du test de mélange : le résultat de l'étude de mélange divisé par la valeur PNP.

- **Méthodes de soustraction :**

Trois méthodes de soustraction différentes ont été utilisées [193] (Tableau XI) :

- La soustraction I : a évalué le résultat de l'étude de mélange par rapport à la limite supérieure de l'intervalle de référence local, les résultats de mélange qui sont inférieurs à cette limite étant considérés comme « une correction » et ceux qui sont supérieurs à cette limite étant considérés comme une « non-correction ».
- La soustraction II : a comparé les résultats de l'étude de mélange avec la limite supérieure de l'intervalle de référence, mais cette limite supérieure a été calculé à l'aide de la moyenne + 2 écarts types dérivés des plasmas des donneurs normaux mélangés à la PNP.
- La soustraction III : a comparé le résultat de l'étude de mélange avec le résultat de la PNP.



**Tableau XI : Méthodes de soustraction et de ratio utilisées dans l'interprétation du test de mélange [193].**

Method ID	Formula	Explanation	Target Correction
Subtraction I	Test Result – URI	URI used for patient reporting subtracted from test result	Within local RI
Subtraction II	Test Result – Donor Mix URI	Donor mix URI (derived from donor plasma samples after mixing with NPP) subtracted from the test result	< Donor mix URI
Subtraction III	Test Result – NPP	NPP result (run concurrently) subtracted from test result	≤ NPP
Ratio I	Test Result/Local Mean RI	Test result divided by the site provided mean used for patient reporting	≤ 1.1 and ≤ 1.2
Ratio II	Test Result/Local Normal Donor + NPP RI	Test result divided by the locally determined mean from NPP + provided donor samples	≤ 1.1 and ≤ 1.2
Ratio III	Test Result/NPP	NPP value from run	≤ 1.1 and ≤ 1.2

Abbreviations: NPP, normal pooled plasma; RI, reference interval; URI, upper reference interval.

Selon Moore [178] et Molinari [132] la méthode la plus couramment employée pour interpréter le test de mélange est l'indice de Rosner. Cependant, il a été récemment démontré que l'IR est moins sensible au ACC qu'un seuil spécifique du test de mélange [181,194]. C'est pourquoi les lignes directrices de l'ISTH 2020 recommandent un seuil spécifique au test de mélange plutôt que l'IR, parce qu'elle produit moins de résultats de tests de mélange faussement négatifs.

Il est nécessaire que chaque laboratoire confirme ou au moins vérifie la performance de leur méthode d'interprétation de l'étude de mélange en utilisant des échantillons bien caractérisés, dont on attend des interprétations corrigées et non corrigées, avant de rapporter les résultats des tests de mélange cliniquement. Comme aucune méthode unique pour les interprétations des études de mélange n'a permis d'éviter toute erreur de prédiction, il est essentiel d'établir une corrélation clinique avec les résultats de laboratoire [193].

Dans notre série, nous avons calculé l'indice de l'anticoagulant circulant, pour interpréter les résultats du test de mélange. Tous les patients avec un TCA allongé ont subi un test de mélange, l'indice de Rosner était supérieur à 15% chez 63,64% des cas et était favorable d'un ACC.

Selon la littérature, une étude a révélé que 53,42% des échantillons avec un TAC allongé ont donné une correction du test de mélange [180]. Tandis que, Moore a trouvé que 55,2% des patients ACC positifs par le TCA ont montré une correction du test de mélange [195].

*c. Test de neutralisation :*

Nous n'avons pas procédé à un test de neutralisation, en raison de l'indisponibilité de réactif de confirmation pour le test TCA.

**2.2. Exploration de la voie extrinsèque de la coagulation :**

*a. Temps de Quick (TQ) :*

Dans notre série le temps de Quick était allongé chez 7 patients, ce qui représente 18,43% de la population totale et 25,92% de la population ACC positif. Ce qui est discordant avec les résultats d'une étude rétrospective portant sur des patients présentant un temps de Quick allongé et ne recevant pas d'anticoagulation : seulement 17 patients sur 400 (4,3%) présentaient un temps de Quick allongé en présence d'un anticoagulant lupique [196]. Cette discordance peut être expliquée par l'inclusion des patients sous AVK dans notre série.

La prévalence rapportée du taux de prothrombine (TP) affecté par les ACC varie entre les études [197], est largement attribuée à la variabilité des réactifs. La variation de la sensibilité aux ACC entre les réactifs de thromboplastine est considérée comme étant due principalement à des différences dans la composition des phospholipides, il a été rapporté que la thromboplastine Innovin, préparée à partir de facteur tissulaire recombinant et de phospholipides synthétiques, est plus sensible à la présence des ACC [196].

En outre, selon le travail français de A. Robert et coll [198], tous les réactifs ne seraient pas également sensibles à l'influence des ACC sur le TQ et sur l'INR. Cette équipe a comparé les valeurs du TQ et d'INR obtenues avec les plasmas de deux groupes de patients traités par AVK, un groupe de patients chez qui un ACC de type lupique avait été mis en évidence, l'autre groupe étant considéré comme témoin. L'INR et le TQ ont été mesurés avec huit réactifs thromboplastine différents sur le même appareil de coagulation. Les résultats montrent que le réactif Innovin est particulièrement sensible à l'effet de l'anticoagulant lupique, conduisant à une surestimation du TQ et de l'INR (le patient est alors sous-dosé en AVK). Toutefois, cet effet est restreint, dans cette étude, à un sous-groupe parmi les patients porteurs d'ACC (6/43). Or, chez les patients ayant un ACC, certains ont un TQ allongé et d'autres non. Il est donc évident que le patient ayant initialement un TQ allongé du fait de l'anticoagulant circulant lupique, subira, une fois sous traitement anticoagulant, le même phénomène. Cette surestimation de l'INR dû aux ACC peut conduire à des erreurs d'interprétation car elle ne traduit plus une protection contre la thrombose. Actuellement, il importe de prendre conscience de ce problème. Pour certains auteurs, tous les réactifs seraient concernés, pour d'autres, seuls certains réactifs seraient sensibles à cet effet. En pratique, il serait souhaitable que les fabricants indiquent la sensibilité de chaque réactif thromboplastine à l'effet d'un ACC.

***b. Temps de Thromboplastine Diluée (TTD) :***

Une baisse du taux de prothrombine (TP) standard par les ACC est rare, car les réactifs de thromboplastine contiennent des concentrations élevées de phospholipides qui compensent les effets des ACC [196]. La thromboplastine diluée permet de réduire la concentration en phospholipides et les ACC peuvent interférer avec la coagulation, ce qui est le principe du TTD en tant que test de dépistage.

Différentes contraintes font qu'il y a un manque de standardisation, ce qui rend ce test peu utilisable dans la pratique courante. Les problèmes de standardisation existent pour deux raisons principales, la première étant la variation inhérente de la thromboplastine entre les espèces et entre les fabricants. Deuxièmement,

il n'existe pas de réactifs préparés commercialement pour la détection des ACC disponibles. Les rapports du Service national d'évaluation externe de la qualité au Royaume-Uni ont révélé dans une enquête qu'il y a pas eu deux laboratoires qui ont réalisé le TTD de manière identique [199].

Dans notre série, comme dans la littérature, le dépistage des ACC à l'aide du TTD est non fait car cette technique est peu spécifique. Cependant, une étude a montré que ce problème peut être surmonté grâce à l'utilisation du TTD dans un système de dépistage et de confirmation des ACC entièrement intégré [200]. Dans une analyse rétrospective de 44 mois, seuls 2,6% des ACC présentaient une positivité isolée dans le système basé sur le TTD. La comparaison entre le système basé sur le TTD et le système basé sur le dRVVT a montré son utilité dans l'identification des résultats dRVVT faussement positifs dus à l'anticoagulation. La recherche de l'anticoagulant lupique par le TTD est rarement la seule preuve fonctionnelle de laboratoire, mais lorsqu'il est combiné avec le dRVVT, le TTD peut servir de dépistage efficace [201].

### **2.3. Exploration de la voie commune de la coagulation :**

#### **a. dRVVT screen :**

Dans notre étude le dRVVTs était positif avec un ratio  $>1,2$  chez 89,48% de la population totale. Tous les patients dont le test d'ACC s'est révélé positif avaient un dRVVTs supérieur à la valeur du témoin et un ratio dRVVTs supérieur à 1,2.

Comme dans la littérature, Kyaw et ses collègues [202] ont trouvé que 73,07% des 104 patients ayant obtenu un résultat positif au ACC par le test dRVVT avaient un ratio dRVVTs supérieur à 1,2. Une autre recherche a mis en évidence que sur les 148 demandes de détection de ACC, 54,7% présentaient un dRVVTs positif [181]. Ces données ne concordent pas avec celles de l'étude menée au sein du laboratoire d'hématologie de l'Université fédérale du Paraná en 2021, sur une population ayant une suspicion d'avoir des ACC. Dans seulement 22,64% des cas, un test dRVVTs a été détecté positif [180].

*b. dRVVT confirm :*

Les trois lignes directrices s'accordent sur le fait que le test de confirmation doit être basé sur le même test de dépistage que celui qui s'est révélé positif afin d'éviter les problèmes de perte de spécificité et les interprétations faussement négatives [169].

Les réactifs pour le dRVVT sont généralement disponibles sous forme de tests de dépistage et de confirmation directement appariés, de sorte que les composants des réactifs sont identiques, à l'exception de la concentration en PL. Ces réactifs appariés peuvent également être interprétés en divisant le ratio de dépistage par le ratio de confirmation pour générer un troisième ratio, le ratio LA normalisé, qui indique une dépendance au PL s'il est élevé [129], le plasma est testé en parallèle sur ces deux réactifs et c'est le cas dans notre série. L'étape du mélange n'est alors plus indispensable et est donc moins réalisée en pratique.

Dans notre série, le dRVVTc était fait chez tous les patients, où il était positif chez 94,73% des cas.

*c. Calcul du ratio normalisé :*

Nous calculons le rapport « normalisé » (RN) selon la formule ci-dessous.

$$RN = \frac{\frac{\text{DRVVT}_{\text{patient}} (\text{dépistage})}{\text{DRVVT}_{\text{témoin}} (\text{dépistage})}}{\frac{\text{DRVVT}_{\text{patient}} (\text{confirmation})}{\text{DRVVT}_{\text{témoin}} (\text{confirmation})}}$$

Chaque laboratoire doit établir ses propres valeurs seuils de positivité, par le calcul du 99ème percentile avec son couple automate-réactif, mais pour le dRVVT, le test de neutralisation est généralement considéré comme positif, confirmant la présence d'un ACC, si ce rapport est supérieur ou égal à 1,2 [129]. L'utilisation de ratios normalisés pour tous les résultats des tests ACC est recommandée pour compenser la variation inter- et intra-essai [190].

Dans notre série, le ratio normalisé était calculé chez les patients qui avaient bénéficié du dRVVT screen et confirm où Il était positif (>1,2) chez 71,05% des cas.

### **3. Cas particuliers de détection des ACC chez les patients sous anticoagulants :**

L'un des principaux facteurs de confusion dans les tests de l'anticoagulant circulant lupique est le traitement anticoagulant, qui prolonge les temps de coagulation dans les tests PL-dépendants, ce qui rend l'interprétation de ces résultats difficile pour le clinicien. Idéalement, le test de l'anticoagulant circulant lupique devrait être reporté jusqu'à ce que l'anticoagulation soit interrompue, mais les demandes de test de l'anticoagulant circulant lupique pendant le traitement sont fréquentes dans la pratique clinique de routine, ce qui entraîne des résultats faux-positifs ou faux-négatifs [203].

Dans notre étude, nous avons inclus même les patients sous traitement anticoagulant (AVK, HBPM et AOD) dans le diagnostic des ACC.

**Tableau XII : Effets des anticoagulants sur les tests des ACC [204].**

<b>Anticoagulant</b>	<b>aPTT</b>	<b>SCT</b>	<b>dRVVT</b>
UFH	↑/↑↑↑ (concentration dependent)	=(if neutralizers) ↑ (if exceeds or no neutralizers)	
LMWH	↑	=(if neutralizers) ↑ (if exceeds or no neutralizers)	
VKA	↑	↑	↑↑
Dabigatran	↑↑	↑	↑↑
Rivaroxaban	↑	↑↑	↑↑↑
Apixaban	=/↑ (assay dependent)	↑	↑
Edoxaban	=/↑ (assay dependent)	↑	↑

aPTT : le temps de thromboplastine partielle activée ; SCT : le temps de coagulation de la silice ; dRVVT : le temps du venin dilué de vipère du Russell ; HNF : héparine non fractionnée ; HBPM : héparine de bas poids moléculaire ; AVK : antagonistes de la vitamine K. Le nombre de flèches indique la largeur de l'allongement du temps de coagulation.

### **3.1. Patients sous HBPM :**

Les tests de détection des anticoagulants circulants lupiques en présence d'héparine sont déconseillés [154]. Les patients sous héparine n'ont pas besoin d'interrompre leur traitement si les tests utilisés pour la détection des ACC contiennent des agents chimiques capables de neutraliser l'effet de l'HBPM, tels que l'héparinase ou le polybrène (les fabricants doivent également préciser la concentration maximale de l'héparine qui est neutralisée, généralement 0,8–1,0 UI/mL) [132].

Des faux positifs ont été décrits pour le TCA et le dRVVT même en utilisant des neutralisants [205,206]. Cependant, les directives de la SSC de l'ISTH recommandent de mesurer l'activité anti-facteur-Xa chez les patients traités par l'héparine, afin de vérifier si l'effet de l'HNF ou de l'HBPM se situe dans l'intervalle thérapeutique. Dans ce cas le test de l'anticoagulant circulant lupique peut être effectué en utilisant des tests contenant des neutralisants de l'héparine [129].

D'autre part, la réalisation d'un test de temps de thrombine, qui est très sensible à l'HNF (moins à l'HBPM), permet également d'exclure la présence de l'héparine dans l'échantillon du patient [132]. Une étude récente a montré que l'héparine non fractionnée (HNF) et l'énoxaparine affectent le dRVVT à des niveaux d'anti-Xa supra-thérapeutiques mais n'entraînent pas de faux-positifs dans la procédure en trois étapes [203].

En pratique, on pourrait également prélever l'échantillon de sang au moins 12 heures après l'administration de l'héparine.

Dans notre série, parmi les deux patients traités par l'HBPM, un seul avait un anticoagulant circulant lupique positif par le test dRVVT. L'activité anti-facteur-Xa n'a pas été mesurée.

### **3.2. Patients sous AVK :**

Ces médicaments provoquent un déficit acquis en facteurs II, VII, IX et X qui peut donner des faux positifs dans les tests de dépistage et des faux négatifs dans les tests de mélange [207].

Si le test de l'anticoagulant circulant lupique doit être effectué pendant que le patient est sous traitement AVK les recommandations des lignes directrices diffèrent légèrement à certains égards. Si le rapport international normalisé (INR) est  $< 1,5$  l'ISTH (2009) suggère la réalisation des dosages du dRVVT et du TCA sur du plasma non dilué. En revanche, si l'INR est compris entre  $1,5 < \text{INR} \leq 3$ , les tests doivent être effectués en utilisant des mélanges 1:1 avec des PNP, Le mélange du plasma du patient avec des PNP peut corriger ces déficits en facteurs [208], BCSH (2012) et CLSI (2014) préconisent également l'utilisation d'un mélange 1:1 avec des PNP pour les tests de dépistage et de confirmation, mais ne limitent pas cette pratique aux personnes ayant un  $\text{INR} \leq 3$  seul. Cette approche peut conduire à des faux négatifs potentiels, car l'activité de l'anticoagulant circulant lupique est également diluée. En outre, le degré de correction dépend des réactifs utilisés [152,168].

C'est pourquoi les directives actuelles de l'ISTH 2020 considèrent que la dilution du plasma du patient dans le PNP n'est pas une solution fiable chez les patients sous AVK, des résultats ACC faussement négatifs ou faussement positifs peuvent se produire et recommandent d'interpréter les résultats avec prudence [129].

Les stratégies possibles pour remédier à cette interférence sont : un passage temporaire à l'HBPM avant le test de l'anticoagulant circulant lupique, pour revenir ensuite à l'AVK (procédure nécessitant beaucoup de temps, de nombreuses vérifications de l'INR et présentant potentiellement un risque hémorragique élevé [152]), et l'utilisation de la combinaison TSVT/ET (Le temps de venin du serpent de Taipan /le temps d'écarine ) qui, dans une étude internationale multicentrique a démontré une bonne sensibilité et une bonne spécificité dans la détection des ACC chez les patients traités par AVK [209].



Une autre étude a confirmé que le TSVT a l'avantage, par rapport au dRVVT et au TCA, de ne pas être affecté par les AVK [143]. Le temps de venin du serpent Taipan peut être un test de dépistage utile pour l'anticoagulant circulant lupique chez les patients prenant des AVK et le temps d'Ecarine peut servir comme test de confirmation dans ce contexte [159].

Parmi les 5 patients sous AVK de notre série 4 ont été testés positifs pour les ACC (2 patients ont été testés positifs par le test dRVVT et le TCA, tandis que 2 patients par le dRVVT seul). La détection a été réalisée sur un plasma non dilué (quelle que soit la valeur de l'INR du patient). Selon la littérature plusieurs études ont montré que la fiabilité des résultats de dépistage et de confirmation obtenus à partir de plasma non dilué de patients anticoagulés par AVK, en particulier en cas de dRVVT, est contestée [168,177,210]. D'après une étude récente, les patients sous AVK ont montré des fréquences significativement plus élevées de résultats anormaux du dRVVT que les patients sans traitement anticoagulant ou avec un traitement anticoagulant interrompu [211]. Une analyse rétrospective a recommandé de refaire le test chez les patients traités par AVK présentant des résultats divergents entre la deuxième et la troisième étape de dRVVT, pour lesquels la recherche de l'anticoagulant circulant lupique est très appropriée [167].

### **3.3. Patients sous AOD :**

Les anticoagulants oraux directs (AOD) sont actuellement prescrits à de larges populations de patients et la possibilité de détecter les ACC est plus difficile pour les cliniciens et les biologistes.

Les inhibiteurs directs du facteur Xa (apixaban, rivaroxaban et edoxaban) et l'inhibiteur direct du facteur IIa le dabigatran, sont capables d'induire des effets sur la coagulation et de donner des résultats faussement positifs ou faussement négatifs [132].

Les tests de mélange qui corrigent le déficit en facteurs multiples lié à la thérapie par les AVK et les neutralisants d'héparine intégrés aux réactifs n'ont que peu ou pas d'influence sur les AOD, et d'autres stratégies sont nécessaires pour tenir compte de la présence des AOD dans les échantillons. Comme les inhibiteurs directs de la thrombine affectent le stade final de la coagulation, il est peu probable que des dosages fiables soient possibles à moins qu'un neutralisateur in-vitro ne soit disponible, mais les activateurs de la prothrombine du venin de serpent Taipan permettent de contourner les inhibiteurs directs du facteur Xa [143].

Certains chercheurs et le BCSH ont donc proposé d'utiliser le temps de détection du venin de serpent Taipan (dépistage) et le temps de détection de l'Ecarine (confirmation) pour la détection de l'anticoagulant circulant lupique [212], bien que son efficacité diagnostique (sensibilité) n'est pas bien documentée dans la littérature [213].

Une stratégie possible est l'utilisation d'absorbants, de composés de charbon actif capables d'éliminer les molécules de l'AOD du plasma et donc d'éliminer l'interférence dans le dRVVT et le TCA [214]. Certains produits de cette catégorie sont actuellement disponibles sous forme de comprimés (DOAC-stop®, DOAC-remove®) (Fig.40) [215, 216].

Après avoir mélangé les absorbants et le plasma du patient, une courte incubation et une centrifugation du mélange sont effectuées, et le plasma surnageant (théoriquement dépourvu d'anticoagulant) est utilisé pour le dosage des ACC [207].

Il existe également des techniques de filtration pour éliminer les AOD de l'échantillon de plasma [217,218]. Les deux stratégies d'élimination peuvent permettre une élimination incomplète du médicament ou influencer les temps de coagulation, ce qui peut entraîner des faux positifs et des faux négatifs dans les tests des ACC [206,218,219,220]. Les éliminateurs de l'AOD ne doivent être utilisés que chez les patients dont il est connu qu'ils suivent un traitement à base de ces médicaments [152]. En outre, les taux de l'AOD doivent être mesurés après le retrait afin de garantir la fiabilité (théorique) des tests de l'anticoagulant circulant lupique [179].

Dans notre étude, trois patients étaient sous anticoagulants oraux directs AOD, deux sous rivaroxaban et un sous apixaban. La détection par le test dRVVT et le test TCA a trouvé que les trois patients étaient positifs pour l'anticoagulant circulant lupique.

Selon la littérature, tous les AOD prolongent le dRVVT dans les procédures de dépistage et de confirmation, le rivaroxaban affectant davantage le test de dépistage que le test de confirmation (augmentant les faux positifs potentiels) et l'action inverse de l'apixaban (augmentant les faux négatifs potentiels) [203,221].

Dans une grande cohorte de patients ayant des antécédents de thrombose sous anticoagulants chez lesquels le dRVVT et le TCA sensible aux ACC ont été évalués, les données obtenues ont montré une corrélation claire entre les taux plasmatiques de rivaroxaban et le rapport dRVVT [211], cette observation est conforme à des études antérieures portant sur des populations plus restreintes ou sur des analyses in vitro, dans lesquelles une interférence du rivaroxaban sur les tests fonctionnels de l'anticoagulant circulant lupique a été observée [222,223]. Compte tenu des coefficients de corrélation calculés le rivaroxaban a eu le plus grand impact sur les résultats du dRVVT parmi tous les anticoagulants évalués dans cette étude. L'effet du rivaroxaban sur le dRVVT a été observé non seulement à des concentrations plasmatiques élevées de rivaroxaban, mais aussi à des concentrations minimales [224].

Selon une étude récente, aucune corrélation n'a été observée entre apixaban et le ratio dRVVT [211], ce qui est conforme aux résultats de deux études portant sur des populations plus restreintes, l'une utilisant les réactifs (LA1 et LA2 Screening reagent, Siemens) [225], et l'autre utilisant des réactifs (LA-screen et LA-confirm, Life Diagnostics) [221]. En contradiction avec ces rapports, une interférence de l'apixaban avec le dRVVT a été observée dans deux autres études utilisant un système de test du dRVVT (Diagnostica Stago) [222, 226].

Sara Reda et all [211] indique qu'un effet du rivaroxaban sur les tests de dépistage du TCA, mais pas sur les tests de confirmation ou les ratios calculés du TCA, a été observé ce qui est cohérent avec d'autres études [213,221,223,224].

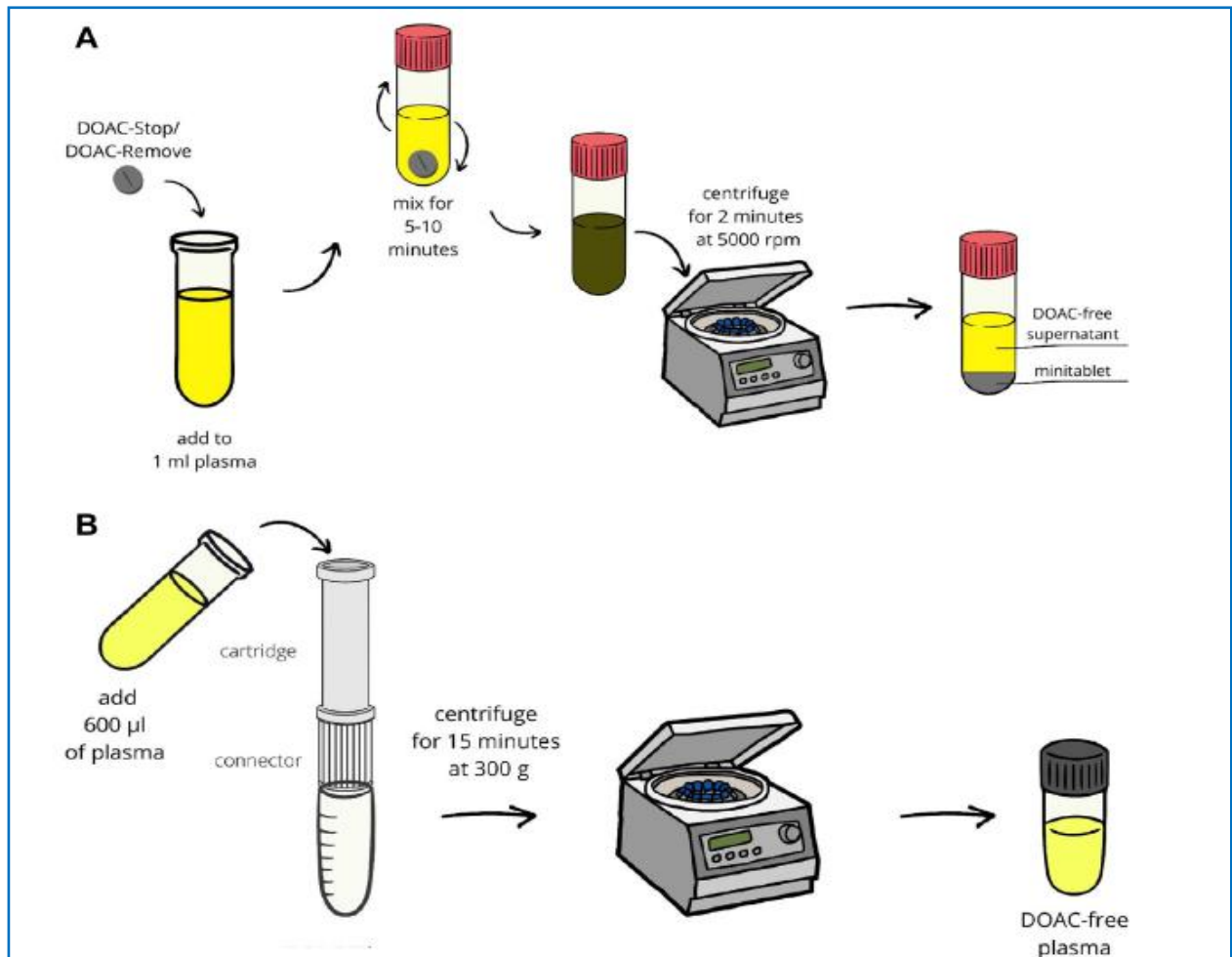


Figure 40 : Méthodes de neutralisation des anticoagulants oraux directs (AOD) dans les tests de coagulation [227].

## VI. Diagnostic des ACC : Etape post-analytique :

### 1. Valeur seuil :

Selon les recommandations de l'ISTH, il est fortement recommandé de ne pas utiliser les valeurs seuils établies ailleurs, mais plutôt d'utiliser les valeurs seuils "internes" dérivées d'une population saine suffisamment importante de personnes en bonne santé (au moins 120), pour tenter de réduire les faux positifs [178], la valeur seuil est déterminée comme étant le 99e percentile [129], il est important de souligner que le 99e percentile de données normalement distribuées correspond à une moyenne de +2,3 SD [178].

Les lignes directrices du CLSI et du BSH [132] utilisent une approche "paramétrique" en considérant une distribution gaussienne des résultats des ACC, en utilisant un intervalle de référence de 2 écarts types par rapport à la valeur moyenne (la moyenne +2SD équivaut au 97,5e percentile [169]), même si certains travaux ont montré que ces valeurs ne respectaient pas le modèle de probabilité gaussien [228,229].

La première approche se caractérise par une spécificité accrue (qui réduit les faux positifs) et une réduction statistiquement inévitable de la sensibilité (partiellement compensée par l'utilisation de deux tests) [207] ce qui a été démontré dans des études cliniques [123,228,230]. La seconde approche tend vers un équilibre entre sensibilité et spécificité [179]. Tout en reconnaissant que l'augmentation de la spécificité qui en résulte s'accompagne d'une diminution statistiquement inévitable de la sensibilité [156].

En 2019, Cohen et ses collègues [136] ont élaboré un sondage sur le dosage de l'anticoagulant circulant lupique destiné aux cliniciens et aux biologistes. La plupart des personnes interrogées sont des biologistes (58%) qui exercent leur métier dans un centre hospitalier. D'après l'étude sur le cut-off des résultats. 50% ont déclaré que le seuil devrait être une valeur supérieure au 99e percentile de la distribution, 33,9% ont déclaré que la valeur seuil devrait être supérieure au 97,5ème percentile. Les valeurs seuils internes ont été calculées par 78,9% des laboratoires des répondants. Plus de la moitié (58,1%) ont déclaré que les valeurs seuils pouvaient être basées sur 60 à 120 donneurs sains.

Comme de nombreux laboratoires, celui de l'hôpital militaire Avicenne ne dispose pas des moyens nécessaires pour établir son propre seuil de positivité au 99e percentile de sa population loco-régionale. Ainsi, il doit travailler avec des outils industriels et d'utiliser les valeurs seuils suggérées par le fabricant.

## **2. Interprétation et validation des résultats [129,132] :**

Étant donné que l'interprétation des tests de l'anticoagulant circulant lupique est si complexe, même pour les experts en hémostase, il est très important que le rapport remis au clinicien fournisse une interprétation des résultats numériques, clarifiant la présence ou l'absence des ACC, à l'aide d'une terminologie claire "positif" ou "négatif". Les commentaires tels que des ACC limites ou douteuses sont fortement déconseillés et, dans ces cas, le commentaire doit être "suggérer de refaire le test après une semaine ou plus" sans suggérer un ACC positif ou négatif.

Les résultats de chaque étape diagnostique doivent être rapportés, ainsi que les seuils locaux utilisés afin de permettre aux cliniciens d'interpréter les résultats en fonction des valeurs limites locales et de comparer les résultats au fil du temps.

Les résultats doivent toujours être mis en relation avec les résultats de l'aCL et de l'a $\beta$ 2GPI afin d'évaluer le profil de risque dans le contexte clinique.

Les résultats doivent être interprétés dans un contexte clinique et en tenant compte du traitement en cours, les informations fournies dans la demande sur l'état de l'anticoagulation du patient doivent également être incorporées dans le rapport.

Un rapport expliquant les résultats doit être fourni et une interaction étroite entre le laboratoire et le clinicien est essentielle.

Lorsqu'un premier résultat positif est obtenu dans notre laboratoire, nous demandons de refaire le test une deuxième fois après au moins 12 semaines pour confirmer la persistance de la maladie et exclure une positivité transitoire des ACC. Dans notre série les résultats de ce test ont confirmé la présence de l'ACC chez tous les patients.

### 3. Pourcentage de détection de l'ACC par les tests :

#### 3.1. TCA :

Après l'analyse des étapes de dépistage et de mélange du TCA, 7 patients ont été positifs, ce qui représente 25,93% de la population ACC positif. Parmi ces patients, 3 (11,11%) ont montré une positivité au test TCA et au test dRVVT. Dans la littérature, l'étude menée par Simmons [127] a montré que les deux tests TCA et dRVVT ont détecté 32,5% des cas ACC positifs et Apipongrat [231] a révélé que ces deux tests ont permis de diagnostiquer 25,5% des patients positifs à l'ACC.

Tandis que 4 (14,82%) ont montré une positivité aux trois tests TQ, TCA et dRVVT.

Il convient de noter que dans notre série le TCA n'a pas été suffisamment efficace à lui seul pour détecter les patients présentant un ACC positif. Ce qui est discordant avec les résultats des diverses études qui ont démontré que le TCA détecte l'anticoagulant circulant lupique à un taux de 43.9% selon Simmons [127], 29.4% selon Mattia [118], 13% selon Pengo [122] et 7,5% selon Apipongrat [231]. Des explications possible de cette différence observée peuvent être : la non réalisation des étapes de confirmation dans notre laboratoire en raison de l'indisponibilité du réactif, l'utilisation d'un test dRVVT chez tous les patients présentant une suspicion d'avoir des ACC, ce qui ne permet pas de les détecter uniquement par le test TCA et l'élévation des taux de facteur VIII (FVIII) qui réduisent le temps de dépistage de TCA, malgré la présence des ACC [176]. Moore et al ont également démontré que les temps de dépistage faussement négatifs étaient plus fréquents avec un système basé sur le TCA, reflétant probablement le raccourcissement du temps de coagulation de dépistage en raison de niveaux élevés de FVIII [195]. Étant donné la nature rétrospective de notre étude, nous n'avons pas mesuré les taux de FVIII dans notre série.

### **3.2. Temps de quick :**

Dans notre étude, aucun allongement isolé du TQ n'a été observée chez les patients avec un ACC positif, Ceci est probablement dû à la rareté de l'anticoagulant circulant lupique dans les cas d'allongement isolé du temps de Quick [232].

### **3.3. dRVVT :**

Après l'analyse des étapes de dépistage et de confirmation du dRVVT des 38 patients sélectionnés au laboratoire, 27 patients ont été considérés comme positifs, soit 71,05% de la population totale.

Dans la population ACC positif, 62,96% des cas ont été détecté par le dRVVT seul, 11,11% par le dRVVT et le TCA, 11,11% par le dRVVT et le TQ, tandis que 14,82% ont été diagnostiqués par les trois tests TQ, TCA et dRVVT.

D'après la littérature, plusieurs études ont montré des résultats assez similaires à ceux de notre série. Une étude sur la recherche de l'anticoagulant circulant lupique a été réalisée à partir de 1801 échantillons de patients recrutés entre janvier 2020 et décembre 2022 au laboratoire d'hématologie à l'hôpital Phramongkutklao, Bangkok, Thaïlande. Les données diagnostiques de 1801 patients ont été évaluées en appliquant les algorithmes alternatifs préconisés par l'ISTH SSC 2009, BCSH 2012, CLSI 2014 et ISTH SSC 2020, sur les 1801 patients 188 étaient positifs, parmi les 188 cas de l'anticoagulant circulant lupique positifs, 67% ont été considérés comme des ACC positifs par le dRVVT seul, alors que 25,5% par les deux tests dRVVT et le TCA [231]. Ce qui concorde avec une autre étude rétrospective réalisé en Italie où le test dRVVT avec les trois étapes (dépistage, mélange et confirmation) a abouti à un diagnostic positif des ACC chez 70,6% de la population [118]. L'étude menée par Mattia et al est en corrélation aussi avec notre étude où la positivité des ACC par le test dRVVT a été observée dans plus de 68.2% cas [118].

Alors que le test de dRVVT n'a permis de détecter que 23,6%, 16,1%,19% et 23% des anticoagulants circulants lupiques chez le groupe de patients connus positifs pour les ACC selon Simmons et al [127], Tang et al [120], Poz et al [233] et Pengo et al [122] respectivement.



**Tableau XIII : Pourcentages de détection de l'ACC par les tests.**

Série	Pourcentage de détection des ACC par les tests				
	TCA seul	dRVVT seul	TCA+dRVVT	TQ+dRVVT	TQ+TCA+Drvvt
Simmons et all, 2018 [127]	43.90%	23.6%	32.5%	-	-
Tang et all 2016 [120]	8.6%	16.1%	75.3%	-	-
Poz et all 2016 [233]	26%	19%	55%	-	-
Pengo et all, 2007 [122]	13%	23.80%	63.20%	-	-
Apipongrat et all, 2024 [231]	7.5%	67%	25.5%	-	-
Mattia et all, 2018 [118]	29.4%	70.6%	-	-	-
Moore et all, 2005 [196]	37%	27%	30,75%	-	-
Asakrah et all, 2021 [176]	30,42%	69,58%	-	-	-
<b>Notre série</b>	0%	62,96%	11,11%	11,11%	14,82%

## VII. Exclusion d'une coagulopathie associée :

Dans notre série, 14,81% de la population ACC positif présentait une coagulopathie associée. Il est nécessaire d'éliminer un déficit en facteur et/ou la présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre un facteur de la coagulation masqué initialement par la présence d'un ACC [234].

Parmi les patients diagnostiqués positifs aux ACC dans notre série, 11,11% avaient un déficit en protéine C. Comme dans la littérature, une étude a révélé qu'un déficit en protéine C a été observé chez 13,3% des patients porteurs d'un ACC [82], tandis qu'un autre auteur a constaté que ce déficit n'est observé que chez 5,5% de l'ensemble des patients étudiés [235].

Dans notre étude, le déficit en protéine S a été retrouvé chez 3,7% des patients ACC positifs, ce qui est en accord avec les résultats du PAULA HASSELAAR où le déficit était observé chez 5,5% des cas ayant un ACC positif [235]. Selon Ewa Marciniak et ses collègues, 7,14% des cas présentaient un déficit en protéine S [82]. Preston et ses collègues ont observé une concentration nettement inférieure de la protéine S libre chez les patients atteints de lupus anticoagulant par rapport aux contrôles sains, ce qui suggère qu'une baisse des concentrations de protéine libre S peut être un facteur associé au lupus anticoagulant [236]. Une autre étude portant sur 11 femmes ACC positifs avec des antécédents de thrombose et/ou de perte fœtale, a trouvé des niveaux normaux de protéine C totale, de protéine S totale, alors que 7 des 11 femmes avaient des niveaux subnormaux de protéine S libre [237].

On a observé une mutation du facteur V Leiden chez 7,4% de nos patients ayant un diagnostic d'ACC positif, chez 3% dans l'étude menée par Monica Galli [238] et chez 7,69% dans l'étude menée par Bengtsson et al [239]. Selon une étude réalisée par Imad Uthman et ses collègues, il a été démontré que la mutation du facteur V Leiden est fréquente dans la région de la Méditerranée orientale. C'est pourquoi ils recommandent de dépister les patients atteints de LED dans cette région, notamment ceux atteints d'aCL et/ou d'ACC et qui n'ont pas de thrombose antérieure [240].

Comme indiqué dans la littérature, la mutation du facteur II a été détectée chez 5,5% [238] des patients présentant un ACC positif. Cependant, cette mutation a été diagnostiquée chez 3,7% de nos patients.

Parmi les patients diagnostiqués positifs à l'ACC dans notre étude, 3,7% ont présenté un déficit en antithrombine, tout comme dans la littérature, où ce déficit est retrouvé chez 2,7% des cas [235]. Boey et al ont trouvé des concentrations élevées d'antithrombine chez 48% des patients présentant un anticoagulant lupique et suggèrent que l'anticoagulant lupique interfère dans le test fonctionnel en neutralisant la thrombine [241], L'absence de relation entre les concentrations élevées d'antithrombine et l'anticoagulant lupique dans notre étude ne soutient pas cette explication.



**LIMITES ET  
RECOMMANDATIONS**



## I. Limites de l'étude :

Notre étude présente plusieurs limites :

- Le recueil rétrospectif des données biologiques et cliniques fait que nous n'avons pas pu obtenir toutes les informations nécessaires.
- La problématique d'interprétation qui provient de l'hétérogénéité des ACC, les réactifs commercialisés, pouvant conduire à des résultats discordants.
- La réalisation du TCA en deux étapes : dépistage et mélange, par l'indisponibilité du réactif pour l'étape de confirmation (neutralisation).
- Des résultats erronés peuvent se rencontrer dans plusieurs situations [242] :
- Des résultats faussement négatifs peuvent s'observer en cas de :
  - Mauvaise centrifugation des échantillons pouvant être responsable d'une présence résiduelle de plaquettes comme dans notre série les plasmas de nos patients ont été soumis à un seul cycle de centrifugation.
  - D'évènements thromboemboliques.
- A l'inverse, des résultats faussement positifs peuvent s'observer en cas de :
  - Traitements par les anticoagulants oraux direct (Apixaban, Rivaroxaban et Dabigatran), il convient de noter que les tests ont été effectués sur des échantillons de plasma provenant de trois patients anticoagulés avec de l'AOD dans notre laboratoire.
  - L'activité anti-Xa n'a pas été mesurée chez nos patients ayant reçu une HBPM avant le lancement de la recherche des ACC.
- Dans d'autres situations des faux négatifs et des faux positifs peuvent s'observer avec le même produit :

Prise des AVK, 5 patients de notre étude ont été concernés, le test a été fait sans dilution de leur échantillon.

Malgré un effort de standardisation par les différents groupes internationaux d'Hématologie et plusieurs tests disponibles sur le marché, le diagnostic des ACC reste aujourd'hui une démarche biologique complexe. L'une des grandes difficultés est l'absence de Gold-Standard, c'est-à-dire qu'il n'existe aucun test de référence permettant d'affirmer ou non la présence d'un anticoagulant circulant lupique. De plus, parmi les tests disponibles, aucun n'est ni assez sensible ni assez spécifique, ce qui nécessite l'utilisation de plusieurs techniques basées sur des méthodologies différentes. La positivité d'au moins deux techniques permet de démontrer la dépendance aux PL.

## II. Recommandations :

### 1. Diagnostic biologique des ACC :

La standardisation des tests de l'anticoagulant circulant lupique au cours des 15 dernières années, a été une première étape cruciale dans la diminution de la variabilité entre les laboratoires pour détecter les anticoagulants circulants lupiques. Toutefois, les erreurs diagnostiques causées par des problèmes pré-analytiques demeurent un défi majeur [227]. Le tableau (XIV) présente une simplification de la démarche diagnostique actuellement recommandée par l'ISTH-SSC en 2020 [106].

**Tableau XIV : Dernières recommandations de l'ISTH-SSC concernant la détection des ACC [106].**

Catégorie	ISTH-SSC 2020
Collecte de sang	Sang veineux recueilli dans du citrate de sodium 0,109 mol/L 9 :1.
Préparation de l'échantillon	Double centrifugation.
Moment du test	Interpréter avec prudence les résultats lors d'événements thromboemboliques aigus ou au cours de la grossesse.
Test à utiliser	dRVVT et TCA.
Ordre des tests	Dépistage => mélange et confirmation
Test de mélange	Effectuer sur : mélange avec PNP Interprétation avec un seuil spécifique au test de mélange
Calculs de la dépendance PL	Le rapport normalisé ou le pourcentage de correction
Valeurs limites	Utiliser des valeurs seuils internes Calculer le 99e centile sur au moins 120 échantillons
Phase post analytique	Répéter le test après un premier résultat positif après 12 semaines. Il est essentiel de toujours comparer les résultats du LA avec ceux de l'aCL et de l'aβ2GPI pour évaluer le profil de risque.

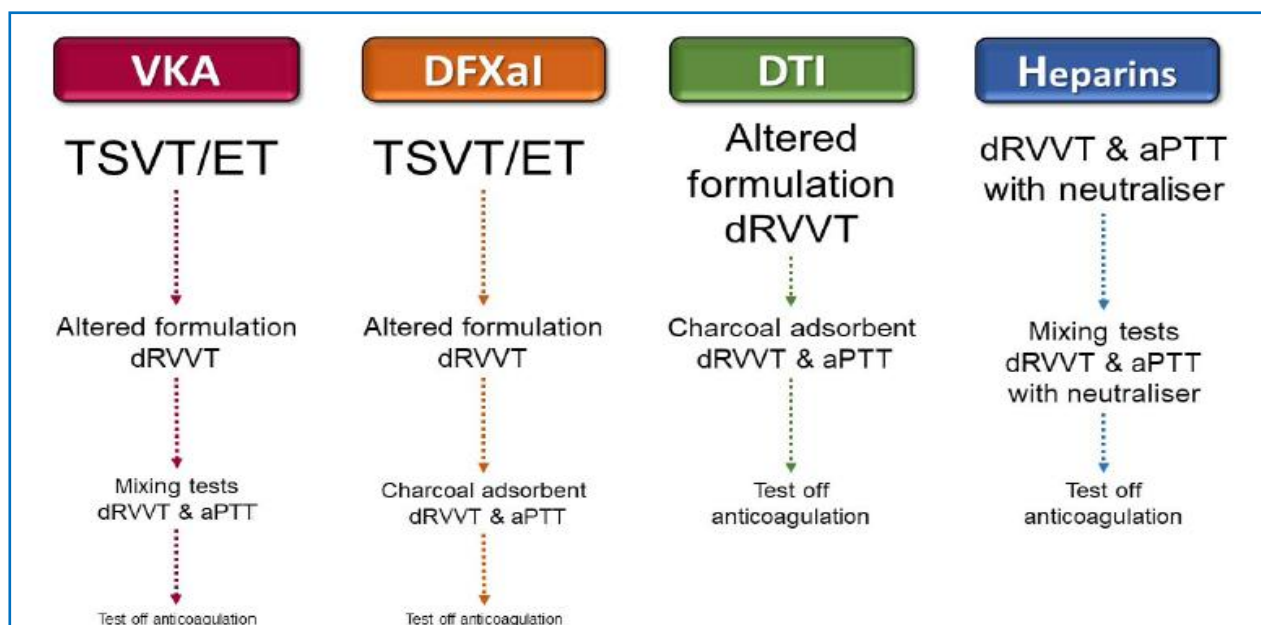
Les dernières recommandations de l'ISTH ont accordé une grande importance à la détection de l'anticoagulant circulant lupique chez les patients anticoagulés, en particulier chez les patients sous AOD. Les recommandations qui sont établies sont résumées ci-dessous [152] :

- Dans l'état actuel des connaissances, nous pouvons conclure qu'il n'existe pas de méthode simple pour détecter de manière fiable les ACC chez les patients anticoagulés. Il est recommandé que les tests doivent être effectués en tenant compte du fait que les anticoagulants peuvent prolonger le temps de coagulation des tests utilisés pour la détection des anticoagulants circulants lupiques, et que cet effet peut donner lieu à des faux positifs ou à des faux négatifs.
- Il est suggéré que dans la mesure du possible, le sang destiné à la détection des anticoagulants circulants lupiques, doit être prélevé avant l'instauration de l'anticoagulation.
- Certains des tests commerciaux spécifiquement conçus pour la détection des anticoagulants circulants lupiques, incluent dans leur composition des neutralisants de l'héparine qui peuvent étouffer l'héparine non fractionnée (HNF) ou l'héparine de faible poids moléculaire (HBPM) jusqu'à 1,0 U/mL. Il est recommandé donc aux laboratoires de connaître la composition des réactifs utilisés pour les tests.
- Les tests des anticoagulants circulants lupiques sont moins affectés par l'HBPM que par l'HNF. Toutefois, il est recommandé d'interpréter les résultats des tests chez les patients sous HBPM avec prudence.
- Il est recommandé de mesurer l'activité anti-FXa chez les patients sous HBPM ou HNF et si l'activité se situe dans l'intervalle thérapeutique, le test peut être effectué, si les réactifs contiennent des neutralisateurs d'héparine.



- La dilution du plasma du patient dans un pool de plasma normal est fréquemment utilisée avant le test chez les patients anticoagulés. Il est suggéré que cette procédure ne soit pas une solution fiable chez les patients sous AVK (des résultats faussement négatifs ou faussement positifs peuvent survenir) et il est recommandé de ne pas l'utiliser chez les patients sous anticoagulants oraux directs (AOD).
- Les tests Taipan/Ecarine, qui sont moins affectés par les AVK et les AOD anti-FXa peuvent être une solution pour les tests des anticoagulants circulants lupiques chez les patients anticoagulés. Il est proposé que leur utilisation générale soit subordonnée à l'obtention de preuves indépendantes provenant d'études collaboratives avec des kits standardisés.
- Les AOD affectent invariablement la détection des anticoagulants circulants lupiques. Il n'est pas recommandé d'essayer de les détecter chez les patients sous AOD, à moins qu'ils ne soient supprimés ou neutralisés. L'utilisation d'adsorbants d'AOD est une solution prometteuse. Il est suggéré qu'ils fassent l'objet d'études plus approfondies dans les populations de patients positifs et négatifs aux anticoagulants circulants lupiques.
- Lorsqu'il s'agit de tester les anticoagulants circulants lupiques chez des patients dont les antécédents pharmacologiques et/ou cliniques sont inconnus, il est recommandé de procéder à un test de routine, tels que le taux de prothrombine (TP), le temps de céphaline avec activateur (TCA) et le temps de thrombine (TT). Ces tests ont pour but de fournir des informations de base sur les coagulopathies inattendues ou d'une anticoagulation non documentée. Un TT allongé (suggérant la présence de dabigatran ou de l'HNF) devrait être une indication pour ne pas effectuer le test à moins que les médicaments ne soient retirés ou neutralisés.

- Il est recommandé d'incorporer des informations sur l'anticoagulation du patient dans le formulaire de demande, car elles sont primordiales pour l'interprétation des résultats. Étant donné qu'un TCA et/ou un TP normaux n'excluent pas les AOD ou les HBPM, il est recommandé que lorsque les résultats de laboratoire sont évocateurs d'un anticoagulant circulant lupique, mais qu'il y a un doute, les résultats doivent être rapportés avec des avertissements sur le risque de faux positifs possibles en raison des AOD ou d'autres anticoagulants.



TSVT: Taipan snake venom time, ET: ecarin time, aPTT: activated partial thromboplastin time, VKA: vitamin K antagonist, DFXaI: direct FXa inhibitor, DTI: direct thrombin inhibitor.

**Figure 41 : Hiérarchies des tests suggérées pour les patients anticoagulés [178].**

## 2. Critères diagnostiques du syndrome des antiphospholipides :

Les critères de classification du SAPL viennent d'être révisés en 2023, en suivant une méthodologie rigoureuse recommandée par les sociétés savantes ACR/EULAR (American college of rheumatology/European league against rheumatism). L'hétérogénéité du SAPL est mieux prise en compte dans les critères ACR/EULAR avec l'ajout de 3 nouveaux domaines cliniques : microvasculaire, valvulaire et hématologique. L'autre grande modification dans les critères ACR/EULAR est la pondération des événements thrombotiques macrovasculaires en fonction de la présence d'autres facteurs de risque thrombotiques. Les spécificités aPL prisent en compte dans les critères ACR/EULAR n'ont pas été modifiées mais une pondération moindre a été attribuée aux IgM par rapport aux IgG. Les nouveaux critères ACR/EULAR du SAPL sont plus spécifiques que les anciens, permettant d'inclure des populations plus homogènes et plus sévères dans les essais cliniques. Les critères ACR/EULAR ont été développés pour la classification des patients dans les essais. Ils peuvent être utilisés comme une aide au diagnostic en pratique clinique mais ne sont pas un dogme diagnostique [96].

**Tableau XV : Nouveaux critères de classifications du SAPL publiés en 2023 [96].**

<b>Critère d'entrée</b>	
<b>1 domaine clinique* + 1 domaine biologique</b>	
<b>Maximum 3 ans entres les deux</b>	
<b>Domaines cliniques**</b>	
<b>D1 : Macrovasculaire veineux</b>	<b>D2 : Macrovasculaire artériel</b>
Thrombose avec FDR majeur. 1	Thrombose sur terrain à haut risque CV. 2
Thrombose sans FDR majeur. 3	Thrombose sur terrain à faible risque CV. 4
<b>D3 : Microvasculaire</b>	<b>D4 : Obstétrical</b>
Suspectée (≥1 des éléments suivants) 2	≥3 FCS (<10SA) et/ou 1 MFIU (10SA – 33SA) isolés. 1
- Livedo racemosa (Clinique)	Pré-éclampsie sévère (<34SA) OU IP sévère (<34SA) avec ou sans MFIU. 3
- Vasculopathie livedoïde (Clinique)	
- Néphropathie aux aPL (Biologie)	
- HIA (Clinique et Imagerie)	
Prouvée (≥1 des éléments suivants) 5	Pré-éclampsie sévère (<34SA) ET IP sévère (<34SA) avec ou sans MFIU. 4
- Vasculopathie livedoïde (anapath)	
- Néphropathie aux aPL (anapath)	
- HIA (LBA et anapath)	
- Myocardite thrombotique (imagerie ou anapath)	
- Thrombose hémorragique des surrénales (imagerie ou anapath)	
<b>D5 : Valvulopathie</b>	<b>D6 : Hématologique</b>
Épaississement valvulaire. 2	Thrombopénie entre 20 et 130 G/L. 2
Végétations. 4	
<b>Domaines biologiques</b>	
<b>D7 : LA</b>	<b>D8 : aCL/ aβ2GPI</b>
LA positif une fois. 1	IgM à taux modéré à élevé# (aCL et/ou aβ2GPI). 1
LA positif persistant (≥12 semaines d'intervalle). 5	IgG à taux modéré à élevé (aCL et/ou aβ2GPI). 4
	IgG à taux élevé### (aCL ou aβ2GPI). 5
	IgG à taux élevé (aCL et aβ2GPI). 7
<b>SAPL si ≥3points cliniques + ≥3points biologiques</b>	

\* Ne pas compter ce critère clinique si une autre étiologie est au moins aussi probable que le SAPL.

\*\* Dans chaque domaine, attribuer la pondération correspondant à l'évènement qui donne le plus de points ;

# taux d'aPL IgG ou IgM compris 40 et 79 UI en ELISA

## taux d'aPL IgG ou IgM ≥80 UI en ELISA

SAPL : syndrome des antiphospholipides, FDR : facteurs de risque, CV : cardiovasculaire, HIA : hémorragie intra-alvéolaire, LBA : lavage alvéolaire, aPL : anticorps antiphospholipides, FCS : fausse couche spontanée, SA : semaines d'aménorrhées, MFIU : mort fœtale intra-utérine, IP : insuffisance placentaire, LA : anticoagulant circulant lupique, aCL : anticorps anticardiolipines, aβ2GPI : anticorps anti-bêta-2 Glycoprotéine 1, Ig : immunoglobulines.

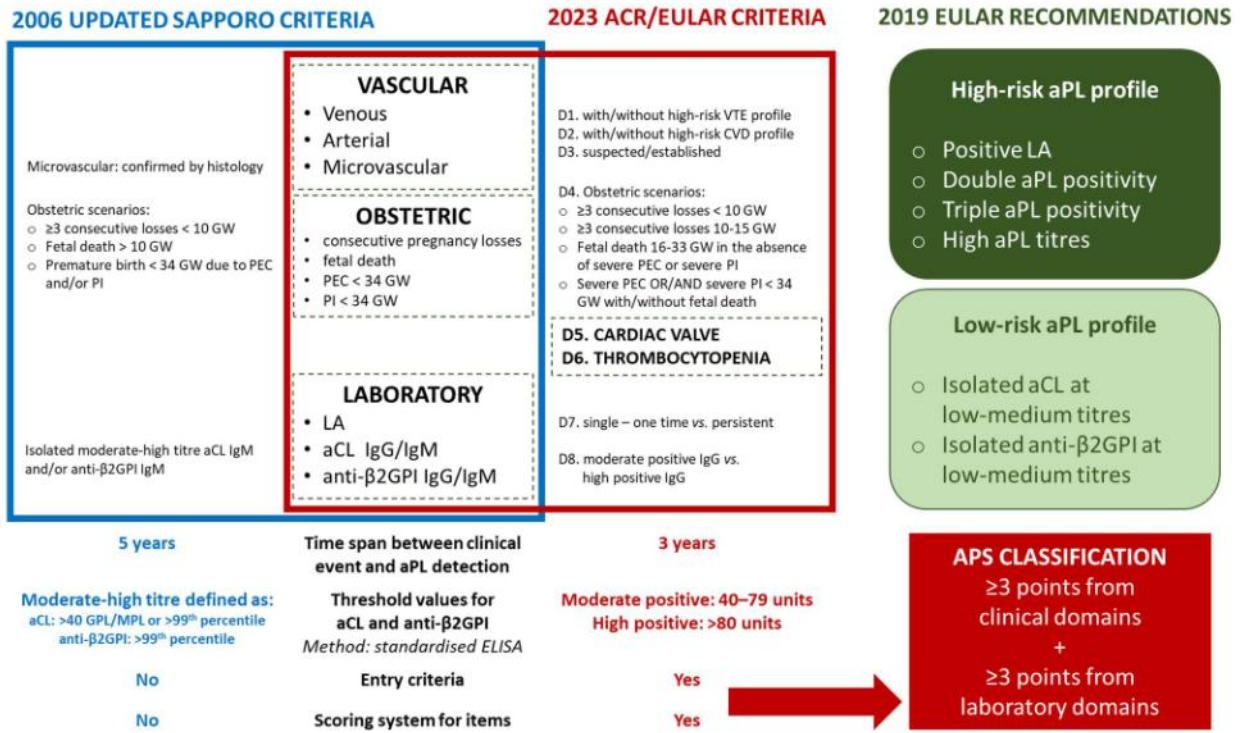


Figure 42 : Comparaison entre les critères de Sydney 2006 et les critères ACR/EULAR de 2023

[243].



## **CONCLUSION**



Les anticoagulants circulants lupiques sont caractérisés par leur capacité à perturber les tests de coagulation qui sont dépendants des phospholipides. Paradoxalement, bien qu'ils aient souvent un effet anticoagulant *in vitro*, ils sont clairement liés à la survenue de thromboses artérielles et/ou veineuses et de pertes fœtales à répétition. Ils sont souvent découverts fortuitement, lorsqu'une anomalie du bilan de coagulation standard est détectée, habituellement un allongement du TCA.

Les méthodes de diagnostic reposent sur un protocole spécifique qui a été actualisé en 2020 par l'ISTH afin de standardiser les méthodes de détection des anticoagulants circulants lupiques. Cependant, malgré cette standardisation, il existe une grande variété de méthodes utilisées dans les laboratoires, tant à l'échelle nationale qu'à l'échelle mondiale. Pour limiter cette variation, la procédure diagnostique doit donc être à la fois sensible et spécifique, ce qui implique la mise en œuvre d'une combinaison de tests basés sur des principes différents et le respect rigoureux des procédures pré-analytiques dans les laboratoires. Ainsi, des études plus approfondies sont nécessaires pour tenter d'établir des corrélations entre l'expression biologique des ACC et leurs associations cliniques, afin de prévenir particulièrement le risque de survenue d'événements thrombotiques et des complications obstétriques, et donc d'entamer rapidement leur prise en charge.





## Fiche d'exploitation

➤ L'identité :

❖ Le sexe :    féminin                     masculin

❖ L'âge :

➤ Le service d'origine :

➤ Les antécédents :

❖ Les antécédents personnels médicaux :

❖ Les antécédents thromboemboliques :

– IDM :            non                     oui

– EP :            non                     oui

– TVP :            non                     oui

– AVC :            non                     oui

❖ Les antécédents hémorragiques :

❖ Maladies auto immunes : non                     oui

Si oui laquelle :

❖ Autres :

❖ Les traitements :

– Héparine :            non                     oui                     durée :

– AVK :            non                     oui                     durée :            INR cible :

– Les anticoagulants oraux directs :            non                     oui

– Les antiagrégants plaquettaires :            non                     oui

– Autres :.....

❖ Les antécédents chirurgicaux :

❖ Les antécédents obstétricaux :

Fausse couches : non  oui

Si oui : à combien de semaines d'aménorrhée

• Accouchement prématuré : non  oui

• Morts né : non  oui

• Pré-éclampsie : non  oui

• Autres :.....

❖ Les antécédents familiaux :

➤ Les circonstances de découverte :

1) Cliniques :

• Les thromboses : non  oui

Si oui : le siège

• Problème obstétrical : non  oui

Si oui : le quel

• Autres circonstances de découverte :

2) Biologiques :

• Bilan pré opératoire : non  oui

• Découverte systématique : non  oui

➤ Diagnostic des ACC :

- Temps de Quick:.....
- Temps de cephaline avec activateur :.....

Si TCA allongé :

- Calcule de l'indice de Rosner :
  - IR inférieur à 12% : non  oui
  - IR supérieur à 15% : non  oui
  - Le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) :
  - dRVVT screen :.....
  - Calcule de ratio dRRVTs :.....
  - dRVVT confirm:.....
  - Calcule de ratio dRVVTc :.....
  - Calcule de ratio normalisé :.....



## **RESUMES**



## Résumé

Les anticoagulants circulants (ACC) sont définis comme des inhibiteurs acquis de la coagulation, et sont divisés en deux catégories : les ACC qui agissent contre un facteur de coagulation et ceux qui agissent contre une phase de coagulation. Parmi ces derniers, on retrouve les ACC de type lupique. Il existe aujourd'hui une association claire entre les ACC lupiques (ou d'autres anticorps antiphospholipides) et la survenue de manifestations de type thrombotique et/ou de pertes fœtales répétées, ce qui définit le SAPL. Cette étude a pour but de préciser le processus de diagnostic des ACC de type lupique et de mettre en évidence leur gravité clinique à partir de l'expérience du laboratoire d'hématologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 3 ans, allant de 2021 à 2023, et incluant 38 cas de demande de recherche de l'anticoagulant circulant lupique provenant principalement du service de médecine interne. Les principales motivations à la recherche des ACC de type lupique ont été les thromboses veineuses ou artérielles. L'âge moyen de nos patients avec un ACC lupique positif était de 40,37 ans, avec des extrêmes allant de 20 ans à 60 ans, le sex-ratio hommes sur femmes était de 1,25. La détection des ACC de type lupique dans notre laboratoire a été réalisée d'une manière respectant les critères définis par l'ISTH. L'étape pré-analytique a été considérée comme une phase primordiale, ainsi, nous avons insisté sur l'importance de sélectionner correctement le moment du test, notamment chez les patients traités par des anticoagulants, et de se conformer aux protocoles de collecte de sang et de préparation de l'échantillon. Alors que l'étape analytique a été déroulée en quatre étapes : le dépistage, l'étape de mélange, l'étape de confirmation et l'exclusion d'autres coagulopathies associées. En suivant l'algorithme classique pour le TCA qui implique la réalisation de l'étape de dépistage, de mélange puis de confirmation. Cependant, notre laboratoire a omis la troisième étape en raison de l'indisponibilité du réactif. Et l'algorithme intégré pour le dRVVT, nous avons réalisé cette étape en effectuant les deux tests de dépistage et de confirmation durant la même procédure. En ce qui concerne l'étape de dépistage, 3 tests ont été effectués : le TCA, qui était allongé chez 28,95% des cas, le dRVVTs avec un ratio dRVVTs > 1,2 chez 89,48% des cas et le TQ qui était allongé chez 18,43%. Nous avons calculé l'IR qui, lors de l'étape de mélange,

permet d'identifier une activité inhibitrice, nous avons remarqué que 63,64% des patients avec un TCA allongé avaient un  $IR > 15\%$ . Dans le but de confirmer la dépendance aux phospholipides, nous avons effectué une évaluation du dRVVTc et calculé le ratio normalisé. Nos résultats ont montré une présence d'un ACC lupique chez 71,05% des patients indiqués par leurs ratios normalisés  $> 1,2$ . Pour l'étape finale, nous avons constaté que la coagulopathie associée la plus fréquente chez les individus diagnostiqués avec un ACC lupique positif est le déficit en protéine C (11,11% des cas). Comme étape post analytique, nous avons demandé aux patients dont le test a été positif, de le refaire après une période de 12 semaines afin de confirmer la persistance de la maladie et d'éliminer toute positivité transitoire des ACC. Dans notre série les résultats de ce test ont confirmé la présence de l'ACC chez tous les patients. Afin de comprendre les effets des anticoagulants sur les tests TCA et dRVVT, en particulier les anticoagulants de nouvelle génération, connus sous le nom d'anticoagulants oraux directs (AOD), les patients traités avec les AVK, l'HBPM et les AOD ont été inclus dans notre étude. Nous avons trouvé un test d'ACC lupique positif chez 4 patients parmi un total de 5 traités avec les AVK, chez un patient parmi les deux traités avec l'HBPM, ainsi que chez tous les 3 patients qui ont été traités avec les AOD. En plus, étant donné que la persistance des anticoagulants circulants est liée à une probabilité plus élevée de survenue de thromboses et/ou de complications obstétricales, nous les avons également pris en considération. Comme résultats, nous avons observé une présence des thromboses veineuses et artérielles chez 70,37% des personnes testées positives pour l'anticoagulant circulant lupique, et une présence des maladies auto-immunes chez 29,62%, dont 7,4% des cas sont dus au lupus. Nous avons également constaté une fréquence des fausses couches à répétition chez 14,81% des patientes. Cette étude rétrospective nous a permis de repérer les principaux éléments clinicobiologiques associés à la présence de l'anticoagulant circulant de type lupique. Cependant, elle a présenté plusieurs limites en raison du manque de standardisation, malgré les recommandations établies par les différents instituts, le diagnostic demeure encore un défi. Ainsi, nous recommandons d'analyser chaque demande de recherche des ACC avec prudence et de prendre en compte toutes les variantes qui peuvent influencer le résultat, que ce soit à l'étape pré-analytique, analytique ou post-analytique.

## Abstract

Circulating anticoagulants (ACC) are endogenous molecules that interfere with coagulation. They act by targeting either a factor of coagulation, or a step of coagulation cascade such as lupus-type circulating anticoagulant. The persistence of LA (or other antiphospholipid antibodies) is associated with the occurrence of thrombotic events and/or recurrent pregnancy loss, which characterize the antiphospholipid syndrome (SAPL). In this study, we investigated the diagnostic process of circulating lupus anticoagulant, and highlighted its clinical severity using patient-based registries from the Clinical Laboratory of Hematology, at Avicenne Military Hospital in Marrakech. This retrospective study spanned a period of three years, from 2021 to 2023, and included 38 cases requesting research into lupus anticoagulant, primarily from the internal medicine department. The primary indications for investigation of lupus-type ACC were venous or arterial thrombosis. The mean age of patients with a positive lupus-type circulating anticoagulant was 40,37 years, with extremes ranging from 20 to 60 years. The sex ratio was 1,25 men to women. The samples were processed according to Subcommittee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Samples were prepared with respect to crucial preanalytical recommendations including the timing of the test, particularly in patients treated with anticoagulants, blood collection, and sample preparation. The analytical procedure was conducted in four distinct phases: screening, mixing, confirmation, and exclusion of other associated coagulopathies.

Following the classical algorithm for TCA, which involves the performance of the screening, mixing and confirmation steps. However, our laboratory was unable to perform the third step due to the unavailability of the reagent. Furthermore, the integrated algorithm for dRVVT was implemented by conducting both the screening and confirmation tests during the same procedure. In the screening phase, three tests were performed: the aPTT, which exhibited prolonged results in 28,95% of cases, the dRVVTs, with a dRVVTs ratio  $> 1,2$ , in 89,48% of cases

and the prothrombin time, which exhibited prolonged results in 18,43% of cases. The Rosner index (RI) was calculated at the mixing stage, with the objective of identifying inhibitory activity. The results indicated that 63,64% of patients with a prolonged aPTT exhibited a RI greater than 15%. In order to confirm the dependence on phospholipids, we carried out an evaluation of the confirmed Russell Viper Venom Time (dRVVTc) and calculated the Normalised Ratio. Interestingly, our results revealed the presence of a lupus-type circulating anticoagulant in 71,05% of patients, with normalized ratios above 1,2. In the final step, we identified protein C deficiency as the most common coagulopathy associated with a positive lupus anticoagulant test result. This was observed in 11,11% of cases. As a post-analytical step, to confirm the persistence of the disease and eliminate any transient LA positivity, repeating the test after 12 weeks was requested. In our series, the results of this test confirmed the presence of ACC in all patients. Finally, in order to understand the effects of anticoagulants on APTT and dRVVT tests, particularly, the new generation of anticoagulants known as direct oral anticoagulants (AOD), patients treated with VKA, LMWH and AOD were included in our study. Our results indicated the presence of LA in 4 cases treated with VKA, 1 case treated with LMWH, and 3 cases treated with AOD. In addition, the persistence of circulating anticoagulants, which are associated with a higher probability of thrombosis and/or obstetric complications, were considered. Thus, our results showed that venous and arterial thrombosis occurred in 70,37% of LA-positive group, autoimmune diseases in 29,62%, including 7,4% of cases that were due to lupus, and recurrent miscarriage in 14,81% of patients. This retrospective study has enabled the identification of the main challenges and limitations that clinical laboratories and health providers incur in the detection and diagnosis of LA. Thus, Implementation of more standardized guidelines across laboratories is required to facilitate diagnostic procedures and help clinicians to overcome these challenges.



## ملخص

تُعرّف مضادات التخثر المنتشرة بأنها مثبتات مكتسبة للتخثر، وتنقسم إلى فئتين: مضادات التخثر المنتشرة التي تعمل ضد أحد عوامل التخثر وتلك التي تعمل ضد مرحلة التخثر. وتشمل الفئة الأخيرة مضاد التخثر الذئبي. هناك الآن ارتباط واضح بين مضاد التخثر الذئبي (أو الأجسام الأخرى المضادة للفسفوليبيد) وحوادث من نوع الجلطات و/أو فقدان الجنين المتكرر، وهو ما يُعرّف متلازمة مضادات الفوسفوليبيد. الهدف من هذه الدراسة هو توضيح عملية تشخيص مضادات التخثر الذئبي وتسهيل الضوء على خطورتها السريرية بناءً على تجربة مختبر أمراض الدم في مستشفى ابن سينا العسكري بمراكش. هذه دراسة بأثر رجعي على مدى 3 سنوات، من 2021 إلى 2023، وتشمل 38 حالة من طلبات البحث عن مضادات التخثر الذئبي، معظمها من قسم الطب الباطني. كانت من بين الأسباب الرئيسية للبحث عنها هي ظهور التخثر الوريدي أو الشرياني. كان متوسط أعمار مرضانا الذين لديهم مضادات التخثر الذئبي إيجابية 40,37 سنة، مع وجود متوسطات عمرية تتراوح بين 20 و60 سنة، أما في ما يخص نسبة الجنس (الرجال / النساء) فقد كانت 1.25. تم إجراء الكشف عن مضادات التخثر الذئبي في مختبرنا بطريقة تتوافق مع المعايير التي حددتها اللجنة الفرعية "الأجسام المضادة لمضادات تخثر الدم/الأجسام المضادة للفسفوليبيد الفوسفوري" التابعة للجمعية الدولية للتخثر والإرقاء. اعتُبرت مرحلة ما قبل التحليل ذات أهمية قصوى، وشددنا على أهمية التوقيت الصحيح للاختبار، خاصةً عند المرضى الذين يعالجون بمضادات التخثر، والامتثال لبروتوكولات جمع الدم وتحضير العينات. بينما تم تنفيذ الخطوة التحليلية على أربع مراحل: الكشف والخلط والتأكيد واستبعاد الاعتلالات التخثرية الأخرى المرتبطة بها. من خلال اتباع الخوارزمية الكلاسيكية لاختبار (زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط) والذي يتضمن إجراء الفحص والخلط ثم خطوة التأكيد. ومع ذلك، حذف مختبرنا الخطوة الثالثة بسبب عدم توفر الكاشف. والخوارزمية المتكاملة لاختبار (وقت سم أفعى راسل المخفف)، حققنا هذه الخطوة من خلال إجراء اختبارات الفحص

والتأكيد خلال نفس الإجراء . فيما يتعلق بمرحلة الفحص، تم إجراء 3 اختبارات: زمن الثرومبوبلاستين الجزئي مع المنشط و قد كانت مدة الاختبار ممددة في 28.95% من الحالات, وزمن الثرومبوبلاستين و قد كانت مدة الاختبار ممددة في 18.43% و dRVVTs مع نسبة dRVVTs تفوق 1,2 في 89.48% من الحالات. قمنا بحساب مؤشر روزنر الذي، أثناء خطوة الخلط، يجعل من الممكن تحديد النشاط المثبط، لاحظنا أن 63.64% من المرضى الذين يعانون من زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المطول لديهم مؤشر روزنر أعلى بنسبة 15%. من أجل تأكيد الاعتماد على الفوسفوليبيدات الفسفورية، أجرينا تقييماً لوقت سم أفعى راسل المؤكد وحساب النسبة المعيارية. أظهرت نتائجنا وجود مضادات التخثر الذئبي لدى 71,05% من المرضى، وهو ما يدل على أن النسب المعيارية لديهم أكبر من 1,2 . بالنسبة للخطوة الأخيرة، وجدنا أن اعتلال التخثر المرتبط الأكثر شيوعاً لدى الأفراد الذين تم تشخيص إصابتهم بمضادات التخثر الذئبة هو نقص البروتين س ( 11.11% من الحالات). كخطوة ما بعد التحليل، طلبنا من المرضى الذين ثبتت إصابتهم بتكرار الاختبار بعد فترة 12 أسبوعاً من أجل تأكيد استمرار المرض والقضاء على أي إيجابية عابرة. في سلسلتنا، أكدت نتائج هذا الاختبار وجود مضادات التخثر الذئبة عند جميع المرضى. من أجل فهم تأثيرات مضادات التخثر على الاختبارات: زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط و وقت سم أفعى راسل المخفف ، وخاصة الجيل الجديد من مضادات التخثر، والمعروف باسم مضادات التخثر الفموية المباشرة ، تم تضمين المرضى الذين عولجوا بمضادات فيتامين ك، والهيبارين منخفض الوزن الجزيئي ومضادات التخثر الفموية المباشرة في دراستنا. وجدنا اختباراً إيجابياً لمضادات التخثر الذئبي عند 4 مرضى من إجمالي 5 عولجوا بمضادات فيتامين ك ، و عند مريض من إجمالي مريضين عولجوا بالهيبارين منخفض الوزن الجزيئي و عند جميع المرضى الثلاثة الذين عولجوا بمضادات التخثر الفموية المباشرة. بالإضافة إلى ذلك، وبالنظر إلى ارتباط استمرار وجود مضادات التخثر في الدورة الدموية بارتفاع احتمالية الإصابة بتجلط الدم و/أو مضاعفات الولادة، فقد أخذنا ذلك في الاعتبار أيضاً.

أظهرت النتائج حدوث تجلط الدم الوريدي والشرياني لدى 70,37% من الأشخاص الذين ثبتت إصابتهم، وأمراض المناعة الذاتية لدى 29,62%، منها 7,4% بسبب الذئبة. لاحظنا أيضًا تكرار الإجهاض المتكرر لدى 14,81% من المرضى. مكنتنا هذه الدراسة بأثر رجعي من تحديد السمات السريرية البيولوجية الرئيسية المرتبطة بوجود مضادات التخثر الذئبي في الدورة الدموية. ومع ذلك، كان لهذه الدراسة العديد من الصعوبات بسبب الافتقار إلى التوحيد القياسي، وعلى الرغم من التوصيات التي وضعتها مختلف المعاهد، لا يزال التشخيص يمثل تحديًا. لذلك نوصي بضرورة تحليل كل طلب لإجراء اختبار مضادات التخثر الذئبي بحذر، مع الأخذ في الاعتبار جميع المتغيرات التي قد تؤثر على النتيجة، سواء في مرحلة ما قبل التحليل أو التحليل أو ما بعد التحليل



**BIBLIOGRAPHIE**



1. **Darnige L.**  
Anticorps antiphospholipides : aspects analytiques et physiopathologiques.  
*Immuno–Anal Biol Spéc.* 2001;16:359–67.
2. **Godeau, P., Blétry, O., Piette, J. C., & Wechsler, B.**  
Anticoagulants circulants Les conditions cliniques du diagnostic.  
*La Revue de médecine interne, 1985, 6(5), 523–541..*
3. **Sanmarco M.**  
Les autoanticorps anti–phospholipides sont devenus bien hétérogènes.  
*Immuno–Anal Biol Spéc.* 2011;26:47–54.
4. **Désage S, Dargaud Y.**  
Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides.  
*Rev Francoph Lab.* 2020;2020:34–41.
5. **T de Revel, K Doghmi.**  
Physiologie de l'hémostase.  
*EMC – Dentisterie, Volume 1, Issue 1, 2004, Pages 71–81, ISSN 1762–5661.*
6. **Six I, Chillon JM, Kamel S.**  
La structure et la fonction vasculaires.  
*Rev Francoph Lab.* 2020;2020:30–9.
7. **Zapata JC, Cox D, Salvato MS.**  
The Role of Platelets in the Pathogenesis of Viral Hemorrhagic Fevers.  
*Powers AM, editor. PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e2858.
8. **Sadler JE.**  
von Willebrand factor assembly and secretion.  
*J Thromb Haemost.* 2009;7:24–7.
9. **Herrick S, Blanc–Brude O, Gray A, Laurent G.**  
Fibrinogen.  
*Int J Biochem Cell Biol.* 1999;31:741–6.

10. **Wigoda P, Netscher DT, Thornby J, Yip B,**  
Rappaport N. Vasoactive effects of smoking as mediated through nicotinic stimulation of sympathetic nerve fibers.  
*J Hand Surg. 1995;20:718-24.*
11. **Mast BA, Schultz GS.**  
Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds.  
Wound Repair Regen.  
*1996;4:411-20.*
12. **Winter, William E., Sherri D. Flax, and Neil S. Harris.**  
Coagulation testing in the core laboratory.  
*Laboratory medicine 48.4 (2017): 295-313.*
13. **Shattil SJ, Kashiwagi H, Pampori N.**  
Integrin Signaling: The Platelet Paradigm.  
*Blood. 1998;91:2645-57.*
14. **Shattil SJ, Hoxie JA, Cunningham M, Brass LF.**  
Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa complex during platelet activation.  
*J Biol Chem. 1985;260:11107-14.*
15. **Kasirer-Friede A, Cozzi MR, Mazzucato M, De Marco L, Ruggeri ZM, Shattil SJ.**  
Signaling through GP Ib-IX-V activates  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  independently of other receptors.  
*Blood. 2004;103:3403-11.*
16. **Benkirane, S., Benjelloun, I., Najimi, H., Souieh, M., Zerrou, A., & Masrar, A.**  
Concept actuel de la coagulation  
*Maroc Médical, 2009,31(4).*
17. **Kato H.**  
Regulation of Functions of Vascular Wall Cells by Tissue Factor Pathway Inhibitor: Basic and Clinical Aspects.  
*Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002;22:539-48.*

18. **Nizamaldin Y, Abi Najm S, El Hage M, Samson J.**  
Hémostase locale en chirurgie orale. 1<sup>ère</sup> partie : physiologie de l'hémostase.  
*Médecine Buccale Chir Buccale. 2012;18:119-27.*
19. **Palta S, Saroa R, Palta A.**  
Overview of the coagulation system.  
Indian J Anaesth. 2014 Sep;58(5):515-23. doi: 10.4103/0019-5049.144643. PMID:  
*25535411; PMCID: PMC4260295.*
20. **Alan E. Mast, Wolfram Ruf.**  
Regulation of coagulation by tissue factor pathway inhibitor: Implications for hemophilia  
therapy,  
*Journal of Thrombosis and Haemostasis, Volume 20, Issue 6, 2022.*
21. **Wood, J. P., Ellery, P. E., Maroney, S. A., & Mast, A. E.**  
Biology of tissue factor pathway inhibitor.  
*Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 2014, 123(19), 2934-2943.*
22. **Green, D.**  
Coagulation cascade.  
*Hemodialysis International, 2006, 10(S2), S2-S4.*
23. **Kirchhofer D, Nemerson Y.**  
Initiation of blood coagulation: the tissue factor/factor VIIa complex.  
*Curr Opin Biotechnol. 1996;7:386-91.*
24. **Robertson S, Miller MR.**  
Ambient air pollution and thrombosis.  
*Part Fibre Toxicol. 2018;15:1.*
25. **Frederick R, Pochet L, Charlier C, Masereel B.**  
Modulators of the Coagulation Cascade: Focus and Recent Advances in Inhibitors of  
Tissue Factor, Factor VIIa and their Complex.  
*Curr Med Chem. 2005;12:397-417.*

26. **Blombäck M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, Bremme K, Hellgren M, Kaaja R.**  
Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy.  
*J Thromb Haemost. 2007;5:855-8.*
27. **Ellouze, R., & Guermazi, S.**  
Importance de l'étape préanalytique en hémostase.  
*In Annales de Biologie Clinique(2013, July). (Vol. 71, No. 4, pp. 401-407)..*
28. **Leblanc R-M.**  
Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT).  
*Option/Bio. 2009;20:20-1.*
29. **Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al.**  
Preanalytical quality improvement: from dream to reality.  
*Clin Chem Lab Med. 2011;49.*
30. **Boutière B, Arnoux D.**  
Attitude du biologiste devant la découverte fortuite d'une anomalie du bilan de coagulation.  
*Rev Fr Lab. 1995;1995:31-5.*
31. **Nieuwenhuizen W, Traas DW.**  
A Rapid and Simple Method for the Separation of Four Molecular Forms of Human Plasminogen.  
*Thromb Haemost. 1989;61:208-10.*
32. **Collen D.**  
Identification and Some Properties of a New Fast-Reacting Plasmin Inhibitor in Human Plasma.  
*Eur J Biochem. 1976;69:209-16.*



33. **Faure S.**  
Fibrinolytiques.  
*Actual Pharm. 2014;53:53-6.*
34. **Visseaux, B., Masliah-Planchon, J., Fischer, A. M., & Darnige, L.**  
Antiphospholipid syndrome diagnosis: an update.  
*In Annales de Biologie Clinique(2011, July) (Vol. 69, No. 4, pp. 411-418).*
35. **Rauch J, Tannenbaum M, Tannenbaum H, Ramelson H, Cullis PR, Tilcock CP, et al.**  
Human hybridoma lupus anticoagulants distinguish between lamellar and hexagonal phase lipid systems.  
*J Biol Chem. 1986;261:9672-7.*
36. **Lebreton A, Lavigne G.**  
Les anticorps anti-FVIII et anti-FIX.  
*Rev Francoph Lab. 2012;2012:55-62.*
37. **Frotscher, B., Boelhen, F., Lévesque, H., Schved, J. F., & Fischer, A. M.**  
Auto-anticorps dirigés contre le facteur viii:«hemophilie acquise».
38. **Verbruggen B, Van Heerde W, Laros-van Gorkom B.**  
Improvements in Factor VIII Inhibitor Detection: From Bethesda to Nijmegen.  
*Semin Thromb Hemost. 2009;35:752-9.*
39. **Jedidi I, Hdiji S, Ajmi N, Makni F, Masmoudi S, Elloumi M, et al.**  
Acquired haemophilia B: a case report and literature review.  
*Ann Biol Clin (Paris). 2011;69:685-8.*
40. **Bustany, S., Gautier, P., Lequerrec, A., Troussard, X., Ollivier, Y., & Borel-Derlon, A.**  
Le syndrome de Willebrand acquis: du diagnostic au traitement.  
*Pathologie Biologie,2009, 57(7-8), 536-542.*
41. **Hurtubise PE, Coots MC, Jacob DJ, Muhleman AF, Glueck HI.**  
A Monoclonal IgG4 (λ) with Factor V Inhibitory Activity.  
*J Immunol. 1979;122:2119-21.*

42. **Ortel et al.**  
Inhibitory anti-factor V antibodies bind to the factor V C2 domain and are associated with hemorrhagic manifestations.  
*Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 91.11 (1998): 4188–4196.
43. **Darnige, L.**  
Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides.  
*La revue de médecine interne*, 2006, 27(4), 296–301.
44. **Masliah-Planchon, J., & Darnige, L.**  
Anticorps antiphospholipides et hémostase.  
*La Revue de médecine interne*, 2012, 33(4), 181–188..
45. **Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, et al.**  
Association of autoantibodies against the phosphatidylserine–prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant.  
*Arthritis Rheum.* 2000;43:1982–93.
46. **Deguchi H, Fernández JA, Hackeng TM, Banka CL, Griffin JH.**  
Cardiolipin is a normal component of human plasma lipoproteins.  
*Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:1743–8.
47. **Sugi T, McIntyre J.**  
Autoantibodies to phosphatidylethanolamine (PE) recognize a kininogen– PE complex.  
*Blood.* 1995;86:3083–9.
48. **Aggeler PM, Lindsay S, Lucia SP.**  
Studies on the Coagulation Defect in a Case of Thrombocytopenic Purpura Complicated by Thrombosis.  
*Am J Pathol.* 1946;22:1181–203.
49. **Ley AB, Reader GG, Sorenson CW, Overman RS.**  
Idiopathic Hypoprothrombinemia Associated with Hemorrhagic Diathesis, and the Effect of Vitamin K.  
*Blood.* 1951;6:740–55.

50. **Conley CL.**  
Disorders of the blood in disseminated lupus erythematosus.  
*Am J Med.* 1952;13:1-2.
51. **Moore JE.**  
Biologically false positive serologic tests for syphilis: type, incidence, and cause.  
*J Am Med Assoc.* 1952;150:467.
52. **Loeliger A, Alsbach EJJ, with the technical assistance of Miss.**  
Prothrombin as Co-Factor of the Circulating Anticoagulant in Systemic  
*Lupus Erythematosus?* *Thromb Haemost.* 1959;03:237-56.
53. **Rivard GE, Schiffman S, Rapaport SI.**  
Cofactor of the "Lupus Anticoagulant."  
*Thromb Haemost.* 1974;32:554-63.
54. **Pengo V, Bison E, Denas G, Jose S, Bracco A, Banzato A.**  
The Paradox of the Lupus Anticoagulant: History and Perspectives.  
*Semin Thromb Hemost.* 2014;40:860-5.
55. **Exner T, Rickard KA, Rronenberg H.**  
Studies on Phospholipids in the Action of a Lupus Coagulation Inhibitor.  
*Pathology (Phila).* 1975;7:319-28.
56. **Nilsson IM, Åstedt B, Hedner U, Berezin D.**  
Intrauterine death and circulating anticoagulant ("antithromboplastin").  
*Acta Med Scand.* 1975;197:153-9.
57. **Firkin B.**  
Possible relationship between lupus inhibitor and recurrent abortion in young women.  
*The Lancet.* 1980;316:366.

58. **Manoharan A, Gibson L, Rush B, Feery BJ.**  
Recurrent Venous Thrombosis with a "Lupus" Coagulation Inhibitor in the Absence of Systemic Lupus.  
*Aust N Z J Med.* 1977;7:422-6.
59. **Mueh JR.**  
Thrombosis in Patients with the Lupus Anticoagulant.  
*Ann Intern Med.* 1980;92:156.
60. **Hughes GR.**  
Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant.  
*BMJ.* 1983;287:1088-9.
61. **Bingley PJ, Hoffbrand BI.**  
Antiphospholipid Antibody Syndrome: A Review.  
*J R Soc Med.* 1987;80:445-8.
62. **Harris EN, Boey ML, Mackworth-Young CG, Gharavi AE, Patel BM, Loizou S, et al.**  
Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus.  
*The lancet.* 1983;322:1211-4.
63. **Gastineau DA, Kazmier FJ, Nichols WL, Bowie EJW.**  
Lupus anticoagulant: An analysis of the clinical and laboratory features of 219 cases.  
*Am J Hematol.* 1985;19:265-75.
64. **Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro S.**  
The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants.  
*Blood.* 1986;68:869-74.
65. **Galli M, Barbui T, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, Zwaal RFA, et al.**  
Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor.  
*The Lancet.* 1990;335:1544-7.

66. **McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA.**  
Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H).  
*Proc Natl Acad Sci. 1990;87:4120-4.*
67. **Asherson RA.**  
The catastrophic antiphospholipid syndrome.  
*J Rheumatol. 1992;19:508-12.*
68. **Arachchillage DRJ, Laffan M.**  
Pathogenesis and management of antiphospholipid syndrome.  
*Br J Haematol. 2017;178:181-95.*
69. **Boffa M-C, Boinot C, De Carolis S, Rovere-Querini P, Aurousseau M-H, Allegri F, et al.**  
Laboratory criteria of the obstetrical antiphospholipid syndrome: Data from a multicentric prospective European women cohort.  
*Thromb Haemost. 2009;102:25-8.*
70. **Miyara, M., Diemert, M. C., Amoura, Z., & Musset, L.**  
Anticorps antiphospholipides en pratique.  
*La Revue de médecine interne, 2012, 33(4), 176-180.*
71. **Ellouze, R., & Guermazi, S.**  
Le syndrome des anti-phospholipides.  
*Revue francophone des laboratoires, 2011(436), 83-88.*
72. **Ksouri, H., Mellouli, F., & Bejaoui, M.**  
Le syndrome des anti-phospholipides: Physiopathologie et aspects clinico-biologiques.  
*Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 2008, 85(1-4), 91.*
73. **Tajima C, Suzuki Y, Mizushima Y, Ichikawa Y.**  
Clinical significance of immunoglobulin A antiphospholipid antibodies: possible association with skin manifestations and small vessel vasculitis.  
*J Rheumatol. 1998;25:1730-6.*

74. **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.
75. **Andreoli L, Fredi M, Nalli C, Piantoni S, Reggia R, Dall'Ara F, et al.**  
Clinical Significance of IgA Anti-Cardiolipin and IgA Anti-beta2Glycoprotein I Antibodies.  
*Curr Rheumatol Rep.* 2013;15:343.
76. **Joste V, Dragon-Durey M-A, Darnige L.**  
Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : des critères à la pratique.  
*Rev Médecine Interne.* 2018;39:34-41.
77. **Sugi T, McIntyre JA.**  
Phosphatidylethanolamine Induces Specific Conformational Changes in the Kininogens Recognizable by Antiphosphatidylethanolamine Antibodies.  
*Thromb Haemost.* 1996;76:354-60.
78. **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 Anticoagulants.  
*Thromb Haemost.* 1995;74:1120-5.
79. **Galli M, Beretta G, Daldossi M, Bevers EM, Barbui T.**  
Different Anticoagulant and Immunological Properties of Anti-Prothrombin Antibodies in Patients with Antiphospholipid Antibodies.  
*Thromb Haemost.* 1997;77:486-91.
80. **Sanmarco, M.**  
Le syndrome des antiphospholipides: Aspects biologiques.  
*Revue Francaise des Laboratoires,* 341(2002), 10-14.
81. **Depasse, F., Ebel, A., & Samama, M. M.**  
Acquisitions récentes dans le syndrome des antiphospholipides.  
*Immuno-analyse & Biologie Spécialisée,*2002, 17(4), 207-217..

82. **Marciniak E, Romond E.**  
Impaired catalytic function of activated protein C: a new in vitro manifestation of lupus anticoagulant.  
*Blood. 1989;74:2426-32.*
83. **Merrill J, Wei Zhang H, Shen C, Butman B, Jeffries E, Lahita R, et al.**  
Enhancement of 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.*
84. **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.  
*J Biol Chem. 1992;267:17907-12.*
85. **de Laat, Bas, et al.**  
Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of  $\beta$ 2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5.  
*Blood 109.4 (2007): 1490-1494..*
86. **Szymezak J, Ankri A, Fischer A-M, Darnige L.**  
Hydroxychloroquine: une nouvelle approche thérapeutique des manifestations thrombotiques du syndrome des antiphospholipides.  
*Rev Médecine Interne. 2010;31:854-7.*
87. **Salemink I, Blezer R, Willems GM, Galli M, Bevers E, Lindhout T.**  
Antibodies to beta2-glycoprotein I associated with antiphospholipid syndrome suppress the inhibitory activity of tissue factor pathway inhibitor.  
*Thromb Haemost. 2000;84:653-6.*
88. **Cesarman-Maus G, Cantú-Brito C, Barinagarrementeria F, Villa R, Reyes E, Sanchez-Guerrero J, et al.**  
Autoantibodies Against the Fibrinolytic Receptor, Annexin A2, in Cerebral Venous Thrombosis.  
*Stroke. 2011;42:501-3.*

89. **Moulis G, Delavigne K, Huguet F, Fortenfant F, Beyne-Rauzy O, Adoue D.**  
Profil des anticorps antiphospholipides et risque de thrombose : étude comparative entre thrombopénie immunologique chronique et syndrome des antiphospholipides primaire.  
*Rev Médecine Interne. 2011;32:724-9.*
90. **Sikara MP, Routsias JG, Samiotaki M, Panayotou G, Moutsopoulos HM, Vlachoyiannopoulos PG.**  
 $\beta$ 2 Glycoprotein I ( $\beta$ 2GPI) binds platelet factor 4 (PF4): implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome.  
*Blood. 2010;115:713-23.*
91. **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.*
92. **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.*
93. **Cuadrado MJ, López-Pedrerá C, Khamashta MA, Camps MT, Tinahones F, Torres A, et al.**  
Thrombosis in primary antiphospholipid syndrome. A pivotal role for monocyte tissue factor expression.  
*Arthritis Rheum. 1997;40:834-41.*
94. **Miyakis, Spyridon, et al.**  
International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS).  
*Journal of thrombosis and haemostasis 4.2 (2006): 295-306.*
95. **Neville C, Rauch J, Kassis J, Chang E, Joseph L, Le Comte M, et al.**  
Thromboembolic risk in patients with high titre anticardiolipin and multiple antiphospholipid antibodies.  
*Thromb Haemost. 2003;90:108-15.*



96. **Yelnik CM.**  
Actualités sur le syndrome des antiphospholipides : les nouveaux critères de classification ACR/EULAR.  
*Presse Médicale Form. 2024;S2666479824000636.*
97. **Cervera R, Piette J, 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 1,000 patients.  
*Arthritis Rheum. 2002;46:1019-27.*
98. **Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA.**  
Antiphospholipid syndrome.  
*The Lancet. 2010;376:1498-509.*
99. **Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F.**  
Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies.  
*Nat Rev Rheumatol. 2011;7:330-9.*
100. **Bick, R. L.**  
Antiphospholipid thrombosis syndromes.  
*Hematology/Oncology Clinics,2003,17(1), 115-147.*
101. **Barbhaiya M, Zuily S, Naden R, Hendry A, Manneville F, Amigo M, et al.**  
The 2023 ACR / EULAR Antiphospholipid Syndrome Classification Criteria.  
*Arthritis Rheumatol. 2023;75:1687-702.*
102. **Musiak J.**  
New classification criteria for antiphospholipid syndrome — 2023.  
*J Transfus Med. 2023;16:103-9.*
103. **AMOURA,Brigitte et al.**  
Protocole National de Diagnostic et de Soins : Syndrome des Anti-Phospholipides de l'adulte et de l'enfant.  
*HAS 2022.*

104. Costedoat-Chalumeau, N., Arnaud, L., Saadoun, D., Chastre, J., Leroux, G., Cacoub, P.  
Le syndrome catastrophique des antiphospholipides.  
*La Revue de médecine interne, 2012 33(4), 194–199.*
105. Schouwers SME, Delanghe JR, Devreese KMJ.  
Lupus Anticoagulant (LAC) testing in patients with inflammatory status: Does C-reactive protein interfere with LAC test results?  
*Thromb Res. 2010;125:102–4.*
106. Kumano O, Peyrafitte M, Amiral J.  
Update on laboratory practice for the diagnosis of lupus anticoagulant and the antiphospholipid syndrome.  
*Explor Immunol. 2023;416–32.*
107. Tlamçani, I., Benjelloun, S., Yahyaoui, G., Benseddik, N., & Amrani, M. H.  
Diagnostic biologique du syndrome des anticorps antiphospholipides.  
*Journal Marocain des Sciences Médicales, 2016 20(2).*
108. Arnoux, D., Boutière, B., & Sampol, J.  
Diagnostic biologique des anticoagulants circulants de type lupique (lupus anticoagulants).  
*Revue Française des Laboratoires, 1997(293), 29–35.*
109. Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S.  
Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome.  
*Thromb Haemost. 2005;93:1147–52.*
110. Miyara M, Diemert M-C, Amoura Z, Musset L.  
Anticorps antiphospholipides en pratique.  
*Rev Médecine Interne. 2012;33:176–80.*
111. 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.*

112. **Hunt JE, McNeil HP, Morgan GJ, Cramer RM, Krilis SA.**  
A Phospholipid- $\beta$ 2-Glycoprotein I Complex Is an Antigen for Anticardiolipin Antibodies Occurring in Autoimmune Disease But Not with Infection.  
*Lupus*. 1992;1:75-81.
113. **Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S.**  
Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome.  
*Thromb Haemost*. 2005;93:1147-52.
114. **Arvieux J, Roussel B, Jacob MC, Colomb MG.**  
Measurement of anti-phospholipid antibodies by ELISA using  $\beta$ 2-glycoprotein I as an antigen.  
*J Immunol Methods*. 1991;143:223-9.
115. **Nafai S, Bettacchioli E, Lemerle J, Hillion S, Renaudineau Y.**  
Antiphospholipid Antibodies in Lupus: An Update.  
2018;3.
116. **Pamu PK.**  
Lupus anti-coagulant (LA) screening & confirmation testing by dilute Russell viper venom time (DRVVT) method.  
*Int J Clin Diagn Pathol*. 2020;3:12-5.
117. **Posch F, Gebhart J, Rand JH, Koder S, Quehenberger P, Pengo V, et al.**  
Cardiovascular risk factors are major determinants of thrombotic risk in patients with the lupus anticoagulant.  
*BMC Med*. 2017;15:54.
118. **Mattia E, Tonello M, Del Ross T, Zerbinati P, Campello E, Simioni P, et al.**  
Clinical and laboratory characteristics of isolated lupus anticoagulants.  
*Thromb Res*. 2018;165:51-3.
119. **Morgan M, Chesterman CN, Downs K, Biggs JC.**  
Clinical analysis of 125 patients with the lupus anticoagulant.  
*Aust NZJ Med*. 1993;23:151-6.

120. **Tang, Ning, Ziyong Sun, and Shiyu Yin.**  
Characteristics of Chinese patients with antiphospholipid syndrome and the ability of lupus anticoagulant assays to identify them.  
*(CCLM) 54.11 (2016): 1787-1791.*
121. **Lambert M, Ferrard-Sasson G, Dubucquoi S, Hachulla E, Prin L, Hatron P-Y, et al.**  
Diluted Russell viper-venom time improves identification of antiphospholipid syndrome in a lupus anticoagulant-positive patient population.  
*Thromb Haemost. 2009;101:577-81.*
122. **Pengo V, Biasiolo A, Gresele P, Marongiu F, Erba N, Veschi F, et al.**  
Survey of lupus anticoagulant diagnosis by central evaluation of positive plasma samples.  
*J Thromb Haemost. 2007;5:925-30.*
123. **Averina M, Johannesen S, Brox J.**  
Diagnostic accuracy of silica clotting time method for lupus anticoagulant in a clinical population with various symptoms of antiphospholipid syndrome.  
*Lupus. 2016;25:418-22.*
124. **Moschetti, Liala, et al.**  
Gender differences in primary antiphospholipid syndrome with vascular manifestations in 433 patients from four European centres.  
*Clin Exp Rheumatol 40.Suppl 134 (2022): S19-S26.*
125. **Gebhart J, Posch F, Koder S, Perkmann T, Quehenberger P, Zoghiami C, et al.**  
Increased mortality in patients with the lupus anticoagulant: the Vienna Lupus Anticoagulant and Thrombosis Study (LATS).  
*Blood. 2015;125:3477-83.*
126. **Magy, N., et al.**  
Valeur relative des différents anticorps antiphospholipides détectés dans un service de médecine interne: étude rétrospective chez 124 patients.  
*La Revue de médecine interne 23.8 (2002): 696-702.*

127. **Simmons, Daimon P., et al.**  
Lupus anticoagulant testing using two parallel methods detects additional cases and predicts persistent positivity.  
*Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) 56.8 (2018): 1289–1296.*
128. **Bramham K, Hunt B, Germain S, Calatayud I, Khamashta M, Bewley S, et al.**  
Pregnancy outcome in different clinical phenotypes of antiphospholipid syndrome.  
*Lupus. 2010;19:58–64.*
129. **Devreese KMJ, De Groot PG, De Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, et al.**  
Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.  
*J Thromb Haemost. 2020;18:2828–39.*
130. **Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, De Laat B.**  
Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH.  
*J Thromb Haemost. 2018;16:809–13.*
131. **Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al.**  
European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus.  
*Arthritis Rheumatol. 2019;71:1400–12.*
132. **Molinari AC, Martini T, Banov L, Ierardi A, Leotta M, Strangio A, et al.**  
Lupus Anticoagulant Detection under the Magnifying Glass.  
*J Clin Med. 2023;12:6654.*
133. **Tripodi, Armando.**  
Diagnostic challenges on the laboratory detection of lupus anticoagulant.  
*Biomedicines 9.7 (2021): 844.*
134. **DiLott JS, Roubey RAS.**  
Drug-Induced Lupus Anticoagulants and Antiphospholipid Antibodies.  
*Curr Rheumatol Rep. 2012;14:71–8.*

135. **Martirosyan A, Aminov R, Manukyan G.**  
Environmental Triggers of Autoreactive Responses: Induction of Antiphospholipid Antibody Formation.  
*Front Immunol.* 2019;10:1609.
136. **Cohen H, Mackie IJ, Devreese KMJ.**  
Clinical and laboratory practice for lupus anticoagulant testing: An International Society of Thrombosis and Haemostasis Scientific and Standardization Committee survey.  
*J Thromb Haemost.* 2019;17:1715-32.
137. **Tripodi A.**  
Laboratory Testing for Lupus Anticoagulants: A Review of Issues Affecting Results.  
*Clin Chem.* 2007;53:1629-35.
138. **Favaloro EJ.**  
Preanalytical variables in coagulation testing.  
*Blood Coagul Fibrinolysis.* 2007;18:86-9.
139. **Exner T, Low J.**  
Detection of procoagulant phospholipid interfering in tests for lupus anticoagulant.  
*Thromb Res.* 2004;114:547-52.
140. **Kristoffersen AH, Hammer IJ, Vannes S, Åsberg A, Aakre KM.**  
Impact of different preanalytical conditions on results of lupus anticoagulant tests.  
*Int J Lab Hematol.* 2019;41:745-53.
141. **Froom P, Barak M.**  
Testing for lupus anticoagulants – fresh or frozen?  
*Clin Chem Lab Med CCLM.* 2012;50.
142. **Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al.**  
International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS).  
*J Thromb Haemost.* 2006;4:295-306.

143. **Moore GW, Culhane AP, Maloney JC, Archer RA, Breen KA, Hunt BJ.**  
Taipan snake venom time coupled with ecarin time enhances lupus anticoagulant detection in nonanticoagulated patients.  
*Blood Coagul Fibrinolysis. 2016;27:477-80.*
144. **Devreese K, Hoylaerts MF.**  
Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome: a plethora of obstacles to overcome.  
*Eur J Haematol. 2009;83:1-16.*
145. **Dembitzer FR, Ledford Kraemer MR, Meijer P, Peerschke EIB.**  
Lupus Anticoagulant Testing: Performance and Practices by North American Clinical Laboratories.  
*Am J Clin Pathol. 2010;134:764-73.*
146. **Arachchilage DRJ, Gomez K, Alikhan R, Anderson JAM, Lester W, Laffan M, et al.**  
Addendum to British Society for Haematology Guidelines on Investigation and Management of Antiphospholipid syndrome, 2012 ( *Br. J. Haematol. 2012; 157: 47-58*): use of direct acting oral anticoagulants.  
*Br J Haematol. 2020;189:212-5.*
147. **Ten Boekel E, Böck M, Vrielink G-J, Liem R, Hendriks H, Kieviet WD.**  
Detection of shortened activated partial thromboplastin times: An evaluation of different commercial reagents.  
*Thromb Res. 2007;121:361-7.*
148. **Legault K, Schunemann H, Hillis C, Yeung C, Akl EA, Carrier M, et al. McMaster**  
RARE-Bestpractices clinical practice guideline on diagnosis and management of the catastrophic antiphospholipid syndrome.  
*J Thromb Haemost. 2018;16:1656-64.*
149. **Tektonidou MG, Andreoli L, Limper M, Amoura Z, Cervera R, Costedoat-Chalumeau N, et al.**  
EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults.  
*Ann Rheum Dis. 2019;78:1296-304.*

150. **Othman M, Pradhan A.**  
Laboratory Testing of Hemostasis in Pregnancy: A Brief Overview. In: Favaloro EJ, Gosselin RC, editors.  
*Hemost Thromb. New York, NY: Springer US; 2023. p. 111–25.*  
[https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-3175-1\\_7](https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-3175-1_7)
151. **Yelnik CM, Porter TF, Branch DW, Laskin CA, Merrill JT, Guerra MM, et al.**  
Brief Report: Changes in Antiphospholipid Antibody Titers During Pregnancy: Effects on Pregnancy Outcomes.  
*Arthritis Rheumatol. 2016;68:1964–9.*
152. **Tripodi A, Cohen H, Devreese KMJ.**  
Lupus anticoagulant detection in anticoagulated patients. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.  
*J Thromb Haemost. 2020;18:1569–75.*
153. **Moore GW.**  
Alternative assays to DRVVT and APTT for lupus anticoagulant detection.  
*Am J Hematol. 2020;95:992–8.*
154. **Moore G.**  
Recent Guidelines and Recommendations for Laboratory Detection of Lupus Anticoagulants.  
*Semin Thromb Hemost. 2014;40:163–71.*
155. **Favaloro E, Kershaw G, Mohammed S, Lippi G.**  
How to Optimize Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Testing: Solutions to Establishing and Verifying Normal Reference Intervals and Assessing APTT Reagents for Sensitivity to Heparin, Lupus Anticoagulant, and Clotting Factors.  
*Semin Thromb Hemost. 2019;45:022–35.*
156. **Foret T, Dufrost V, Salomon Du Mont L, Costa P, Lefevre B, Lacolley P, et al.**  
Systematic Review of Antiphospholipid Antibodies in COVID–19 Patients: Culprits or Bystanders?  
*Curr Rheumatol Rep. 2021;23:65.*



157. **Okuda M, Yamamoto Y.**  
Usefulness of synthetic phospholipid in measurement of activated partial thromboplastin time: a new preparation procedure to reduce batch difference.  
*Clin Lab Haematol.* 2004;26:215-23.
158. **Kumano O, Ieko M, Naito S, Yoshida M, Takahashi N.**  
APTT reagent with ellagic acid as activator shows adequate lupus anticoagulant sensitivity in comparison to silica-based reagent.  
*J Thromb Haemost.* 2012;10:2338-43.
159. **Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M,**  
British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome.  
*Br J Haematol.* 2012;157:47-58.
160. **Santoro R, Molinari A, Leotta M, Martini T.**  
Isolated Prolongation of Activated Partial Thromboplastin Time: Not Just Bleeding Risk!  
*Medicina (Mex).* 2023;59:1169.
161. **Slagboom J, Kool J, Harrison RA, Casewell NR.**  
Haemotoxic snake venoms: their functional activity, impact on snakebite victims and pharmaceutical promise.  
*Br J Haematol.* 2017;177:947-59.
162. **Molinari, Angelo Claudio, et al.**  
Lupus Anticoagulant Detection under the Magnifying Glass.  
*Journal of Clinical Medicine* 12.20 (2023): 6654.
163. **Moore GW.**  
Mixing studies for lupus anticoagulant: mostly no, sometimes yes.  
*Clin Chem Lab Med CCLM.* 2020;58:492-5.
164. **Favaloro EJ, Bonar R, Marsden K.**  
Lupus anticoagulant testing – sometimes mixing is required: potential for false negatives without mixing studies.  
*Blood Coagul Fibrinolysis.* 2013;24:673-6.

165. **Favaloro E.**  
Mixing studies for lupus anticoagulant: mostly yes, sometimes no.  
*Clin Chem Lab Med CCLM. 2020;58:487-91.*
166. **Pengo V, Zardo L, Cattini MG, Bison E, Pontara E, Altinier S, et al.**  
Prothrombin Is Responsible for the Lupus Cofactor Phenomenon in a Patient with Lupus Anticoagulant/Hypoprothrombinemia Syndrome.  
*TH Open. 2020;04:e40-4.*
167. **Devreese KMJ, De Laat B.**  
Mixing studies in lupus anticoagulant testing are required at least in some type of samples.  
*J Thromb Haemost. 2015;13:1475-8.*
168. **Pennings M, De Groot P, Meijers J, Huisman A, Derksen R, Urbanus R.**  
Optimisation of lupus anticoagulant tests: should test samples always be mixed with normal plasma?  
*Thromb Haemost. 2014;112:736-42.*
169. **Krilis SA, Giannakopoulos B.**  
Laboratory methods to detect antiphospholipid antibodies.  
*Hematology. 2014;2014:321-8.*
170. **Ratzinger, Franz, et al.**  
Testing lupus anticoagulants in a real-life scenario—a retrospective cohort study.  
*Biochemia Medica 27.3 (2017): 522-534..*
171. **Moore, Gary W.**  
Current controversies in lupus anticoagulant detection.  
*Antibodies 5.4 (2016): 22.*
172. **Kaczor DA, Bickford NN, Triplett DA.**  
Evaluation of Different Mixing Study Reagents and Dilution Effect in Lupus Anticoagulant Testing.  
*Am J Clin Pathol. 1991;95:408-11.*

173. **Thom J, Ivey L, Eikelboom J.**  
Normal plasma mixing studies in the laboratory diagnosis of lupus anticoagulant.  
*J Thromb Haemost.* 2003;1:2689-91.
174. **Jennings I, Kitchen S, Woods TAL, Preston FE, Greaves M.**  
Potentially Clinically Important Inaccuracies in Testing for the Lupus Anticoagulant: an Analysis of Results from three Surveys of the UK National External Quality Assessment Scheme (NEQAS) for Blood Coagulation.  
*Thromb Haemost.* 1997;77:0934-7.
175. **Favaloro EJ.**  
Coagulation mixing studies: Utility, algorithmic strategies and limitations for lupus anticoagulant testing or follow up of abnormal coagulation tests.  
*Am J Hematol.* 2020;95:117-28.
176. **Asakrah S, Davis R, Bhargava P.**  
Practical Considerations and Testing Nuances for the Detection of Lupus Anticoagulant: Do Low Phospholipid Screen Results, Assay Type, and Test Ratio Matter?  
*Am J Clin Pathol.* 2021;156:1073-82.
177. **Olteanu H.**  
Warfarin Does Not Interfere with Lupus Anticoagulant Detection by Dilute Russell's Viper Venom Time.  
*Clin Lab J Clin Lab Lab Relat* 553. 2009;
178. **178. Moore GW.**  
Analytical dilemmas in lupus anticoagulant detection.  
*Explor Immunol.* 2023;300-24.
179. **Moore GW.**  
Testing for Lupus Anticoagulants.  
*Semin Thromb Hemost.* 2022;48:643-60.

180. **Ferreira DS, Comar SR.**  
Evaluation of mixing tests and the index of circulating anticoagulant in detecting lupus anticoagulants.  
*J Bras Patol E Med Lab.* 2021;57.
181. **Depreter B, Devreese KMJ.**  
Differences in lupus anticoagulant final conclusion through clotting time or Rosner index for mixing test interpretation.  
*Clin Chem Lab Med CCLM.* 2016
182. **Kershaw G, Orellana D.**  
Mixing Tests: Diagnostic Aides in the Investigation of Prolonged Prothrombin Times and Activated Partial Thromboplastin Times.  
*Semin Thromb Hemost.* 2013;39:283-90.
183. **Ellouze R, Guermazi S.**  
Le syndrome des anti-phospholipides.  
*Rev Francoph Lab.* 2011;2011:83-8.
184. **LOSOS, Michael; CHEN, Jian.**  
Utility and interpretation of coagulation mixing studies.  
*Journal of Clinical and Translational Pathology,* 2022, 2.1: 8-11.
185. **Exner T.**  
Conceptions and Misconceptions in Testing for Lupus Anticoagulants.  
*J Autoimmun.* 2000;15:179-83.
186. **BANG, Hae In, et al.**  
Coagulation Testing in Real-World Setting: Insights From a Comprehensive Survey.  
*Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis,* 2024, 30: 10760296241228239.
187. **Coppola A, Franchini M, Tripodi A, Santoro RC, Castaman G, Marino R, et al.**  
Acquired haemophilia A: Italian Consensus Recommendations on diagnosis, general management and treatment of bleeding.  
*Blood Transfus.* 2022;245-62.

188. **Favaloro E, Bonar R, Duncan E, Earl G, Low J, Aboud M, et al.**  
Identification of factor inhibitors by diagnostic haemostasis laboratories: A large multi-centre evaluation.  
*Thromb Haemost. 2006;96:73-8.*
189. **Matsuda M, Hoshiyama Y, Ogawa K, Emmi M, Terai S, Moriyama M. P**  
Performance characteristics of 5 numerical indexes in mixing test interpretation under coexistence of lupus anticoagulant and coagulation factor deficiency.  
*Res Pract Thromb Haemost. 2023;7:100065.*
190. **Devreese K, Hoylaerts MF.**  
Challenges in the Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome.  
*Clin Chem. 2010;56:930-40.*
191. **Chang S, Tillema V, Scherr D.**  
A "Percent Correction" Formula for Evaluation of Mixing Studies.  
*Am J Clin Pathol. 2002;117:62-73.*
192. **Liu C, Ling L, Huang X, Mi J, Liao J, Jia J, et al.**  
Evaluation of Activated Partial Thromboplastin Time Mixing Studies Using Several Methods.  
*Arch Pathol Lab Med. 2022;146:1387-94.*
193. **Gosselin RC, Moore GW, Kershaw GW, Montalvão S, Adcock DM.**  
International Council for Standardization in Haematology Field Study Evaluating Optimal Interpretation Methods for Activated Partial Thromboplastin Time and Prothrombin Time Mixing Studies.  
*Arch Pathol Lab Med 2023*
194. **Kumano O, Moore GW.**  
Lupus anticoagulant mixing tests for multiple reagents are more sensitive if interpreted with a mixing test-specific cut-off than index of circulating anticoagulant.  
*Res Pract Thromb Haemost. 2018;2:105-13.*

195. **Moore GW, Henley A, Greenwood CK, Rangarajan S.**  
Further evidence of false negative screening for lupus anticoagulants.  
*Thromb Res. 2008;121:477-84.*
196. **Moore GW, Rangarajan S, Holland LJ, Henley A, Savidge GF.**  
Low frequency of elevated prothrombin times in patients with lupus anticoagulants when using a recombinant thromboplastin reagent: implications for dosing and monitoring of oral anticoagulant therapy.  
*Br J Biomed Sci. 2005;62:15-8.*
197. **Sanfelippo MJ, Sennet J, McMahon EJ.**  
Falsely elevated INRs in warfarin-treated patients with the lupus anticoagulant.  
*WMJ Off Publ State Med Soc Wis. 2000;99:62-4, 43.*
198. **Robert A, Querrec L, Delahousse B, Caron C, Houbouyan L, Boutière B, et al.**  
Control of Oral Anticoagulation in Patients with the Antiphospholipid Syndrome – Influence of the Lupus Anticoagulant on International Normalized Ratio.  
*Thromb Haemost. 1998;80:99-103.*
199. **Moore GW.**  
Clinical Utility of the Less Commonly Employed Assays for Lupus Anticoagulant Detection: *the Evidence. 2010;*
200. **Liestøl S, Jacobsen EM, Wisløff F.**  
Dilute prothrombin time-based lupus ratio test.  
*Thromb Res. 2002;105:177-82.*
201. **Mehr NA, Storozuk TE, Mikrut KL, Wool GD.**  
The utility of the dilute prothrombin time in the interpretation of antiphospholipid syndrome testing.  
*Am J Clin Pathol. 2024;aqae044.*
202. **Za KT, Jayarane S, Shanmugam H.**  
Practice and performance of lupus anticoagulant tests:  
A single centre experience. 2020;

203. **Favaloro EJ, Mohammed S, Curnow J, Pasalic L.**  
Laboratory testing for lupus anticoagulant (LA) in patients taking direct oral anticoagulants (DOACs): potential for false positives and false negatives.  
*Pathology (Phila).* 2019;51:292–300.
204. **Favaloro EJ, Pasalic L.**  
Lupus anticoagulant testing during anticoagulation, including direct oral anticoagulants.  
*Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6:e12676.
205. **Olah Z, Szarvas M, Bereczky Z, Kerényi A, Kappelmayer J, Boda Z.**  
Direct Thrombin Inhibitors and Factor Xa Inhibitors Can Influence the Diluted Prothrombin Time Used as the Initial Screen for Lupus Anticoagulant.  
*Arch Pathol Lab Med.* 2013;137:967–73.
206. **De Kesel PMM, Devreese KMJ.**  
The effect of unfractionated heparin, enoxaparin, and danaparoid on lupus anticoagulant testing: Can activated carbon eliminate false-positive results?  
*Res Pract Thromb Haemost.* 2020;4:161–8.
207. **Vandavelde A, Devreese KMJ.**  
Laboratory Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome: Insights and Hindrances.  
*J Clin Med.* 2022;11:2164.
208. **Tripodi A.**  
Diagnostic Challenges on the Laboratory Detection of Lupus Anticoagulant.  
*Biomedicines.* 2021;9:844.
209. **Moore GW, Jones PO, Platton S, Hussain N, White D, Thomas W, et al. I**  
International multicenter, multiplatform study to validate Taipan snake venom time as a lupus anticoagulant screening test with ecarin time as the confirmatory test: Communication from the ISTH SSC Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies.  
*J Thromb Haemost.* 2021;19:3177–92.

210. **Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M, Mannucci P.**  
Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants for Patients on Oral Anticoagulant Treatment: Performance of Dilute Russell Viper Venom Test and Silica Clotting Time in Comparison with Staclot® LA.  
*Thromb Haemost. 2002;88:583-6.*
211. **Reda S, Brügelmann A, Müller J, Oldenburg J, Pötzsch B, Rühl H.**  
Functional lupus anticoagulant testing in a large retrospective cohort of thrombosis patients with direct oral anticoagulants.  
*Sci Rep. 2020;10:12221.*
212. **Pouplard C, Vayne C, Berthomet C, Guery EA, Delahousse B, Gruel Y.**  
The Taipan snake venom time can be used to detect lupus anticoagulant in patients treated by rivaroxaban.  
*Int J Lab Hematol. 2017;39.*
213. **Van Os GMA, De Laat B, Kamphuisen PW, Meijers JCM, De Groot PhG.**  
Detection of lupus anticoagulant in the presence of rivaroxaban using Taipan snake venom time.  
*J Thromb Haemost. 2011;9:1657-9.*
214. **Frans G, Meeus P, Bailleul E.**  
Resolving DOAC interference on aPTT, PT, and lupus anticoagulant testing by the use of activated carbon.  
*J Thromb Haemost. 2019;17:1354-62.*
215. **Ząbczyk M, Kopytek M, Natowska J, Undas A.**  
The effect of DOAC-Stop on lupus anticoagulant testing in plasma samples of venous thromboembolism patients receiving direct oral anticoagulants.  
*Clin Chem Lab Med CCLM. 2019;57:1374-81.*
216. **Baker SA, Jin J, Pfaffroth C, Vu T, Zehnder JL.**  
DOAC-Stop in lupus anticoagulant testing: Direct oral anticoagulant interference removed in most samples.  
*Res Pract Thromb Haemost. 2021;5:314-25.*



217. **Linskens EA, De Kesel P, Devreese KMJ.**  
Direct Oral Anticoagulant removal by a DOAC filter: Impact on lupus anticoagulant testing-  
Evaluation on spiked and patient samples.  
*Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6:e12633.
218. **Farkh C, Ellouze S, Gounelle L, Sad Houari M, Duchemin J, Proulle V, et al.**  
A Diagnostic Solution for Lupus Anticoagulant Testing in Patients Taking Direct Oral FXa Inhibitors Using DOAC Filter.  
*Front Med.* 2021;8:683357.
219. **Tripodi A, Scalabrino E, Chantarangkul V, Paoletti O, Clerici M, Novembrino C, et al.**  
Impact of a commercially available DOAC absorbent on two integrated procedures for lupus anticoagulant detection.  
*Thromb Res.* 2021;204:32-9.
220. **Sevenet P, Cucini V, Hervé T, Depasse F, Carlo A, Contant G, et al.**  
Evaluation of DOAC Filter, a new device to remove direct oral anticoagulants from plasma samples.  
*Int J Lab Hematol.* 2020;42:636-42.
221. **Antovic A, Norberg E-M, Berndtsson M, Rasmuson A, Malmström RE, Skeppholm M, et al.**  
Effects of direct oral anticoagulants on lupus anticoagulant assays in a real-life setting.  
*Thromb Haemost.* 2017;117:1700-4.
222. **222. Bonar R, Favalaro EJ, Mohammed S, Ahuja M, Pasalic L, Sioufi J, et al.**  
The effect of the direct factor Xa inhibitors apixaban and rivaroxaban on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples.  
*Pathology (Phila).* 2016;48:60-71.
223. **Góralczyk T, Iwaniec T, Wypasek E, Undas A.**  
False-positive lupus anticoagulant in patients receiving rivaroxaban: 24 h since the last dose are needed to exclude antiphospholipid syndrome.  
*Blood Coagul Fibrinolysis.* 2015;26:473-5.

224. **Arachchillage DRJ, Mackie IJ, Efthymiou M, Isenberg DA, Machin SJ, Cohen H.**  
Interactions between rivaroxaban and antiphospholipid antibodies in thrombotic antiphospholipid syndrome.  
*J Thromb Haemost.* 2015;13:1264-73.
225. **Hillarp A, Gustafsson KM, Faxälv L, Strandberg K, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, et al.**  
Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor apixaban on routine coagulation assays and anti-FXa assays.  
*J Thromb Haemost.* 2014;12:1545-53.
226. **226. Ratzinger F, Panic T, Haslacher H, Perkmann T, Schmetterer KG, Belik S, et al.**  
Testing lupus anticoagulants in a real-life scenario – a retrospective cohort study.  
*Biochem Medica.* 2017;27:030705.
227. **Favaloro EJ, Pasalic L, Selby R.**  
Testing for the lupus anticoagulant: the good, the bad, and the ugly. *Res Pract Thromb Haemost.* 2024;8:102385.
228. **Tripodi A, Chantarangkul V, Cini M, Devreese K, Dlott JS, Giacomello R, et al.**  
Variability of cut-off values for the detection of lupus anticoagulants: results of an international multicenter multiplatform study.  
*J Thromb Haemost.* 2017;15:1180-90.
229. **Pradella P, Azzarini G, Santarossa L, Caberlotto L, Bardin C, Poz A, et al.**  
Cooperation experience in a multicentre study to define the upper limits in a normal population for the diagnostic assessment of the functional lupus anticoagulant assays.  
*Clin Chem Lab Med CCLM.* 2013;51:379-85.
230. **Kumano O, Ieko M, Naito S, Yoshida M, Takahashi N, Aoki T.**  
Index of circulating anticoagulant cut-off value establishment in activated partial thromboplastin time mixing test for lupus anticoagulant diagnosis.  
*J Thromb Haemost.* 2013;11:1919-22.

231. **Apipongrat D, Lamool R, Arnutti P, Ruangpratheap C, Chantkran W.**  
Comparison of different algorithms for lupus anticoagulant detection: A single-center experience. *Res Pract Thromb Haemost.* 2024;102333.
232. **Benzon HT, Park M, McCarthy RJ, Kendall MC, Lindholm PF.**  
Mixing Studies in Patients With Prolonged Activated Partial Thromboplastin Time or Prothrombin Time.  
*Anesth Analg.* 2019;128:1089-96.
233. **Poz A, Pradella P, Azzarini G, Santarossa L, Bardin C, Zardo L, et al.**  
Lupus anticoagulant: a multicenter study for a standardized and harmonized reporting.  
*Blood Coagul Fibrinolysis.* 2016;27:176-84.
234. **Visseaux B, Masliah-Planchon J, Fischer A-M, Darnige L.**  
Antiphospholipid syndrome diagnosis: an update.  
*Ann Biol Clin (Paris).* 2011;69:411-8.
235. **Hasselaar P, Derksen RH, Blokzijl L, Hessing M, Nieuwenhuis HK, Bouma BN, et al.**  
Risk factors for thrombosis in lupus patients.  
*Ann Rheum Dis.* 1989;48:933-40.
236. **PRESTON, F. E., et al.**  
Reduced free protein S in patients with the lupus anticoagulant. In: Clinical and Experimental Rheumatology.  
*Via santa maria 31, 56126 pisa, italy: clinical & exper rheumatology, 1988. P. 210-210.*
237. **Parke AL, Weinstein RE, Bona RD, Maier DB, Walker FJ.**  
The thrombotic diathesis associated with the presence of phospholipid antibodies may be due to low levels of free protein S.  
*Am J Med.* 1992;93:49-56.
238. **Galli M, Finazzi G, Duca F, Norbis F, Moia M.**  
The G1691 → A mutation of factor V, but not the G20210 → A mutation of factor II or the C677 → T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase genes, is associated with venous thrombosis in patients with lupus anticoagulants.  
*Br J Haematol.* 2000;108:865-70.

239. **Bengtsson A, Zöller B, De Frutos P, Dahlbäck B, Sturfelt G.**  
Factor V:Q506 mutation and anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus.  
*Lupus. 1996;5:598-601.*
240. **Uthman I, Khalil I, Sawaya R, Taher A.**  
Lupus anticoagulant, Factor V Leiden, and methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation in a lupus patient with cerebral venous thrombosis.  
*Clin Rheumatol.2004;23:362-3.*
241. **Boey ML, Loizou S, Colaco CB, Matkin JA, Hughes GR.**  
Antithrombin III in systemic lupus erythematosus.  
*Clin Exp Rheumatol. 1984;2:53-6.*
242. **Favaloro EJ, Lippi G.**  
Interference of direct oral anticoagulants in haemostasis assays: high potential for diagnostic false positives and false negatives.  
*Blood Transfus.2017*
243. **Tincani A, Andreoli L.**  
Setting the bar differently: how to navigate old and new sets of criteria for the classification of antiphospholipid syndrome.  
*Rheumatology. 2024;kea214.*





# قسم الطبيب

## أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلة وسعي في إنقاذها من الهلاك والمرض

و الألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، و أكتم

سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب والبعيد، للصالح

والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أخذك لكل زميل في المهنة الطبية

متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيد





أطروحة رقم 272

سنة 2024

# مضادات التخثر: منهجية التشخيص المخبري والآثار السريرية (تجربة مختبر أمراض الدم بالمستشفى العسكري ابن سينا)

## الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2024/07/12  
من طرف

السيدة ليلى ابراهيم

المزداة في 15 يوليوز 1998 بتارودانت

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

## الكلمات الأساسية :

مضادات التخثر في الدم - دئبة مضادة للتخثر الدموي - تخثر الدم  
متلازمة مضادات الدهون الفوسفورية.

## اللجنة

الرئيسة	السيدة	ص. شلاق
المشرف	السيد	م. شكور
الحكام	السيد	س. قدوري
	السيدة	ف. لحلمي
		أستاذة مبرزة في طب أمراض الدم