



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire



-----oOo-----  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

-----oOo-----  
Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département de Biochimie-Microbiologie

**Mémoire de fin de cycle**  
**En vue de l'obtention du diplôme de Master en science biologique**

**Option : Biochimie appliquée**

**Thème**

**Etude rétrospective sur les caractéristiques clinico-biologiques  
des patients présentant des anticorps anti-phospholipides au  
sein du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou**

**Présenté par :**

- ACHACHE Juba
- HALAROU MAHAMADOU Abdou Rachidou
- HARZI Mohamed

**Soutenu le : 25/06/2023**

**Devant le jury composé de :**

<b>Mme. BEDOUHENE Samia</b>	<b>Maître Conférences (A)</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme. MESSAOUDI Djamila</b>	<b>Maître Conférences (B)</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>

**Encadré par :**

<b>Dr. KABRI Lynda</b>	<b>Assistante Hospitalière</b>	<b>CHU Tizi-Ouzou</b>
------------------------	--------------------------------	-----------------------

## Remerciements

*Louange à ALLAH notre créateur qui nous a incité à acquérir le savoir et nous a donné la volonté et le courage pour y' arriver. C'est à lui que nous adressons toute notre gratitude en premier lieu, nos remerciements vont :*

***A notre encadrante : Dr. KABRI Lynda assistante hospitalière au CHU NEDIR Mohamed de Tizi-Ouzou.***

*Il nous est impossible de dire en quelques mots ce que nous vous devons. Vous nous avez fait le grand honneur de nous confier ce travail et d'accepter de le diriger. Ceci est le fruit de vos efforts. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre disponibilité et votre gentillesse méritent toute admiration. Vous nous avez éblouis par votre sérieux, votre sympathie, votre modestie, votre honnêteté, et toutes vos qualités humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.*

***A notre Présidente du jury : Mme BEDOUHENE Samia maître conférencière de classe (A) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.***

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury. Votre modestie jointe, à votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines faisant de vous un exemple à suivre. Durant notre formation, nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement et d'apprécier votre sens professionnel. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

***Aux examinatrices : Mme SENANI Nassima et Mme MESSAOUDI Djamila maîtres conférencières de classe (B) à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.***

*Veillez accepter mesdames, nos vifs remerciements pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail en acceptant de faire partie de notre jury. Veuillez trouver ici, mesdames, l'expression de notre profond respect.*

*Au Dr. TOUDERT Amar Chef de service du laboratoire d'immunologie  
CHU NEDIR Mohamed de Tizi-Ouzou*

*Nous vous remercions de nous avoir accepté au sein du laboratoire d'immunologie du CHU  
de Tizi-Ouzou, et de nous avoir éclairé durant notre travail.*

*A tous nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la  
vie de l'UMMTO en général et ceux du département de Biochimie et  
Microbiologie en particulier.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de  
ce travail.*

**MERCI !**

## *Dédicaces*

*Je tiens en premier lieu à remercier « ALLAH » le tout puissant, de m'avoir donné la force, la santé, la volonté et la patience pour mener à bien ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail :*

### *A mes très chers parents :*

*Aucune expression ne pourrait traduire ma profonde gratitude et ma reconnaissance pour toutes ces années de sacrifices et de dévouement*

*C'est grâce à ALLAH puis à vous que je suis devenue ce que je suis aujourd'hui*

*Puisse ALLAH vous accorder santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous rendre un minimum de ce que je vous dois.*

### *A mon grand frère Massi et à mon petit frère Syphax*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheurs, de santé et de réussite.*

### *A mes chers grands-parents, oncles et tantes*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

### *A mes chères collègues et ami(e)s*

*Abdou Rachidou, Mohamed, Melissa, et à mes cousins, cousines et ami(e)s Anis, Amine, Fatima, Chiraz et Lydia.*

*Merci pour votre soutien. Que Dieu vous aide à atteindre vos rêves et réussir dans vos vies.*

*A tous mes enseignants de la maternelle au lycée et du département des Sciences Biologiques de l'UMMTO.*

*Juba*

## *Dédicaces*

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,*

### *A Mon Père :*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être je vous remercie pour tout le soutien et amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Puisse dieu tout puissant vous procurer santé, bonheur et prospérité.*

### *A la mémoire de ma mère :*

*Ce travail est dédié à ma mère, décédée trop tôt, celle qui m'a toujours conseillé, encouragé et motivé. Puisse Dieu, le tout puissant, vous avoir en sa sainte miséricorde. Vous êtes loin des yeux mais vivantes dans mon esprit et dans mon cœur.*

### *A toute la famille ; Ma grande mère , mes oncles, mes tantes, mes frères et sœurs , mes cousins, cousines :*

*Je vous dédie le fruit de votre amour, votre tendresse et toutes vos prières. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi. Que Dieu vous procure santé, bonheur et longue vie. Merci pour votre soutien. Puisse ce travail conforter la confiance que vous me portez. Que Dieu vous accorde santé et longue vie.*

### *A mes amis et collègues :*

*Juba, Mohamed. . . . ., Je ne peux vous citer tous ; mais soyez rassurés de mon amitié. Merci pour votre amitié sans faille.*

### *A tous mes enseignants de la maternelle au lycée et du département des Sciences Biologiques de l'UMMTO.*

*A tous ceux dont l'oublié de la plume n'est pas celui du cœur.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Abdou Rachidou*

## Dédicaces

*Je tiens en premier lieu à remercier « ALLAH » le tout puissant, de m'avoir donné la force, la santé, la volonté et la patience pour mener à bien ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail :*

***À ma famille (mon Père, ma mère et ma petite sœur) :***

*Vous avez été ma source d'inspiration depuis le tout début. Votre confiance en moi, vos encouragements et vos sacrifices ont été les moteurs de ma persévérance. Vous avez cru en mes rêves, m'avez encouragé à aller de l'avant et m'avez offert un soutien inconditionnel tout au long de mes études. Je suis conscient que sans votre amour, vos conseils et votre présence constante, je n'aurais pas pu réaliser tout ce que j'ai accompli. Ce mémoire est dédié à vous, ma famille aimante, pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi.*

***À ma merveilleuse copine (Cylia) :***

*Tu as été bien plus qu'une partenaire dans cette aventure. Tu as été ma source d'inspiration, mon roc et mon meilleur ami. Tes encouragements constants, ta patience infinie et ta compréhension sans faille m'ont permis de me surpasser et d'atteindre mes objectifs académiques. Tu m'as soutenu à travers les hauts et les bas, et ton amour m'a donné la force de persévérer. Je suis incroyablement chanceux de t'avoir dans ma vie et je souhaite te remercier pour tout ce que tu as fait et continues de faire pour moi. Ce mémoire est dédié à toi, pour ta présence constante et ton soutien inébranlable.*

***Enfin, à ma famille et ma copine,***

*je souhaite vous exprimer ma gratitude éternelle. Votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible ont été les fondations solides sur lesquelles j'ai pu bâtir mon chemin vers la réussite. Merci du fond du cœur pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je suis honoré d'avoir une famille et une copine aussi incroyables. Ce mémoire est dédié à vous, pour toujours.*

*Avec tout mon amour,*

***Mohamed***

## *Table des matières*

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Abstract

INTRODUCTION

### **I- Partie bibliographique**

<b>1. Définition du syndrome des anti-phospholipides.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Classification du syndrome des anti-phospholipides.....</b>	<b>1</b>
<b>3. Epidémiologie.....</b>	<b>1</b>
<b>4. Genèse des anticorps anti-phospholipides.....</b>	<b>1</b>
4.1. Facteurs environnementaux .....	2
4.2. Facteurs génétiques.....	2
4.3. Facteurs infectieux .....	2
4.4. Facteurs médicamenteux.....	3
4.5. Facteurs auto-immuns.....	3
4.6. Facteurs traumatiques .....	3
<b>5. Biologie du syndrome des anti-phospholipides .....</b>	<b>4</b>
5.1. Anticorps conventionnels .....	4
5.2. Anticorps non conventionnels .....	5
5.3. Autres anticorps associés .....	7
<b>6. Mécanismes physiopathologiques .....</b>	<b>7</b>
6.1. Interaction des anti-phospholipides avec le système de coagulation et fibrinolytique... 8	
6.2. Activation cellulaire .....	8
6.3. Activation du complément.....	9
<b>7. Les manifestations cliniques du syndrome des anti-phospholipides.....</b>	<b>9</b>
7.1. Manifestations thrombotiques.....	10
7.2. Manifestations obstétricales.....	10
7.3. Manifestations hématologiques .....	11
7.4. Manifestations neurologiques .....	11
7.5. Manifestations cardiaques.....	13
7.6. Manifestations pulmonaires .....	13
7.7. Manifestations cutanées .....	13
7.8. Manifestations rénales .....	14
7.9. Manifestations musculosquelettiques .....	14
7.10. Manifestations digestives.....	14
<b>8. Syndrome des anti-phospholipides secondaire .....</b>	<b>14</b>
<b>9. Critères de diagnostic du syndrome des anti-phospholipides .....</b>	<b>15</b>
<b>10. Tests de détection du syndrome des anti-phospholipides .....</b>	<b>16</b>
10.1. Recherche d'anticoagulant circulant de type lupique par des tests de coagulations ...	16

10.2. Tests immunologiques .....	18
10.2.1. Anticorps anti-cardiolipine .....	18
10.2.2. Anticorps anti $\beta$ 2-glycoprotéine I.....	19
10.2.3. Recherche des anticorps associés .....	20
10.2.4. Recommandations pour la détection optimale des aPL par ELISA .....	20
10.2.5. Isotypes à rechercher .....	20
<b>11. Pronostic du syndrome des anti-phospholipides .....</b>	<b>21</b>
<b>12. Prise en charge et traitement des patients atteints du syndrome des anti-phospholipides.....</b>	<b>21</b>

## II. Partie pratique

<b>I. Patients.....</b>	<b>22</b>
<b>1. Population étudiée .....</b>	<b>22</b>
<b>2. Critères d'inclusion .....</b>	<b>22</b>
<b>3. Critères d'exclusion.....</b>	<b>22</b>
<b>4. Recueil de données.....</b>	<b>23</b>
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>24</b>
<b>1. Prélèvement.....</b>	<b>24</b>
<b>2. Méthode de dosage ELISA.....</b>	<b>24</b>
2.1. Principe .....	24
2.2. Lecture et interprétation.....	24
<b>3. Tests statistiques .....</b>	<b>25</b>
<b>I. Résultats.....</b>	<b>26</b>
<b>1. Répartition selon les paramètres démographiques .....</b>	<b>26</b>
1.1. Répartition selon le sexe .....	26
1.2. Répartition selon l'âge .....	26
<b>2. Répartition selon les caractéristiques cliniques .....</b>	<b>27</b>
2.1. Répartition selon les services.....	27
2.2. Répartition selon les signes cliniques .....	28
<b>3. Répartition selon les caractéristiques immunologiques.....</b>	<b>29</b>
3.1. Répartition selon la fréquence des anticorps anti-phospholipides et leurs isotypes	29
3.2. Répartition selon la fréquence des différents isotypes des anticorps anti-phospholipides et leurs associations en fonction des signes cliniques .....	30
3.2.1. Manifestations thromboemboliques .....	30
3.2.2. Manifestations hématologiques .....	31
3.2.3. Manifestations articulaires.....	32
3.2.4. Manifestations cutanées.....	33
<b>4. La répartition selon les anticorps associés chez les patients aPL positifs .....</b>	<b>34</b>
<b>5. Analyse statistique .....</b>	<b>35</b>
<b>6. Répartition des patients positifs aux anticorps anti-phospholipides selon les années .....</b>	<b>37</b>

6.1. Répartition selon le sexe .....	37
6.2. Répartition selon les isotypes .....	38
<b>II. Discussion .....</b>	<b>39</b>
<b>1. Caractéristiques démographiques .....</b>	<b>39</b>
<b>2. Caractéristiques cliniques .....</b>	<b>40</b>
2.1. Signes cliniques .....	40
2.2. Prévalence des isotypes des anticorps anti-phospholipides .....	41
2.3. Association clinico-démographiques .....	42
2.4. Associations clinico-biologiques .....	43
2.5. Auto-anticorps associés .....	43
<b>3. Répartition des patients positifs aux anticorps anti-phospholipides depuis le début de la pandémie COVID-19 .....</b>	<b>43</b>
<b>Conclusion</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## *Liste des abréviations*

**ACC** : Anticoagulants circulants de type lupique.

**aCL** : Anti-cardiolipine.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**ADP** : Adénosine triphosphate.

**ANCA** : Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles.

**Anti- TFPI** : Anti-inhibiteur de la voie du facteur tissulaire.

**Anti-AN-V** : Anti-annexine-5.

**Anti-PE** : Anti- phosphatidyléthanolamine.

**Anti-PL** : Anti-phospholipides.

**Anti-PT** : Anti-prothrombine.

**Anti-β2GPI** : Anti-β2 glycoprotéine I.

**AVC** : Accident vasculaire cérébral.

**AVK** : Antivitamine K.

**BCSH** : Comité britannique des normes hématologiques (British Committee for Standards in Haematology).

**BLK** : Kinase des lymphocytes B.

**CAPS** : Syndrome catastrophique des anti-phospholipides.

**CL** : Cardiolipine

**DO** : Densité optique.

**dRVVT** : Temps de venin de vipère Russell dilué.

**EBV** : Virus d'Epstein-Barr.

**ELISA** : Dosage d'immunosorbent lié à une enzyme (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

**F** : Femme.

**FT** : Facteur tissulaire.

**GITA** : Groupe International de Travail sur les Anti-phospholipides.

**H** : Homme.

**HBPM** : Héparine de bas poids moléculaire.

**HELLP** : Hémolyse Enzymes hépatiques élevées et plaquettes basses (Hemolysis Elevated Liver enzymes, and Low Platelets).

**HLA** : Antigène leucocytaire humain (Human leukocyte antigen).

**HNF** : Héparine non fractionnée.

**ICAM-1** : Molécule d'adhésion inter-cellulaire 1.

**IgA** : Immunoglobuline A.

**IgG** : Immunoglobuline G.

**IgM** : Immunoglobuline M.

**INR** : Ratio international normalisé.

**IRF5** : Facteur régulateur de l'interféron 5.

**ISTH** : Société internationale de thrombose et d'hémostase (International Society on Thrombosis and Haemostasis).

**LA** : Lupus anticoagulant.

**LB** : Lymphocyte B.

**LES** : Lupus érythémateux systémique.

**MPR** : Médecine physique et rééducation.

**MIU** : Mort in utero.

**OR** : Odds ratio.

**PL** : Phospholipides.

**PS** : Phosphatidylsérine.

**PT** : Prothrombine.

**PTI** : Purpura thrombopénique idiopathique.

**PUM** : Pavillon des urgences médicales.

**SAPL** : Syndrome des anti-phospholipides.

**SDRA** : Syndrome de détresse respiratoire aigu.

**SSC** : Comité scientifique et de normalisation (Scientific and Standardization Committee).

**STAT-4** : Transducteur de signal et activateur de la transcription 4.

**TCA** : Temps de céphaline activé.

**TFPI** : Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire.

**TLR** : Récepteurs de type Toll.

**TLR-2** : Récepteurs de type Toll 2.

**TLR-4** : Récepteurs de type Toll 4.

**TLR-7** : Récepteurs de type Toll 7.

**TPHA** : Test d'hémagglutinations au Palladium de Treponema (Treponema Palladium Hemagglutinations Assay).

**TVP** : Thrombose veineuse profonde.

**UV** : Ultra-violet.

**VCAM-1** : Molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1.

**VDRL** : Venereal disease research laboratory.

**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine.

**β2GPI** : β2-Glycoprotéine I.

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I :</b> Manifestations neurologiques du syndrome des anti-phospholipides.....	<b>12</b>
<b>Tableau II :</b> Critères d'exclusion du SAPL primaire.....	<b>15</b>
<b>Tableau III :</b> Critères diagnostiques du syndrome des anti-phospholipides.....	<b>16</b>
<b>Tableau IV :</b> Démarche diagnostique pour la recherche d'un anticoagulant circulant de type lupique.....	<b>17</b>
<b>Tableau V :</b> Interprétation des résultats du dosage des anti- $\beta$ 2GPI .....	<b>25</b>
<b>Tableau VI :</b> Interprétation des résultats du dosage des aCL.....	<b>25</b>
<b>Tableau VII :</b> Distribution des patients selon les services .....	<b>27</b>
<b>Tableau VIII :</b> Tableau représentatif de la fréquence des différents signes cliniques des patients aPL (+).....	<b>28</b>
<b>Tableau IX :</b> Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations thromboemboliques.....	<b>31</b>
<b>Tableau X :</b> Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations hématologiques .....	<b>32</b>
<b>Tableau XI :</b> Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations articulaires .....	<b>33</b>
<b>Tableau XII:</b> Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations cutanées .....	<b>34</b>
<b>Tableau XIII :</b> Tableau de l'association entre le sexe et les résultats du test de recherche des aPL.....	<b>35</b>
<b>Tableau XIV :</b> Tableau de l'association entre le sexe et les manifestations thromboemboliques.....	<b>35</b>
<b>Tableau XV :</b> Tableau de l'association entre le sexe et les manifestations articulaires.....	<b>36</b>
<b>Tableau XVI :</b> Tableau de l'association des aCL et anti- $\beta$ 2GPI et les manifestations thromboemboliques.....	<b>36</b>
<b>Tableau XVII:</b> Tableau de l'association des aCL et anti- $\beta$ 2GPI et les manifestations articulaires.....	<b>37</b>
<b>Tableau XVIII :</b> Tableau Comparatif des caractéristiques démographiques des différentes études.....	<b>39</b>
<b>Tableau XIX :</b> Tableau comparatif des prévalences des signes cliniques du SAPL des différentes études.....	<b>40</b>
<b>Tableau XX :</b> Tableau des prévalences des isotypes des différents aPL dans les différentes études.....	<b>41</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure 1 :</b> Changement de conformation de la $\beta$ 2GPI avant et après liaison aux PL.....	<b>05</b>
<b>Figure 2 :</b> Rôle pathogène des auto-anticorps anti- $\beta$ 2GPI.....	<b>07</b>
<b>Figure 3 :</b> Schéma récapitulatif des mécanismes physiopathologiques des aPL.....	<b>09</b>
<b>Figure 4 :</b> Livedo généralisé au cours du SAPL.....	<b>13</b>
<b>Figure 5 :</b> Gangrène digitale sur les doigts d'un patient atteint du SAPL.....	<b>13</b>
<b>Figure 6 :</b> Détection des anticorps aCL par l'ELISA.....	<b>19</b>
<b>Figure 7 :</b> Détection des anticorps anti- $\beta$ 2GPI par l'ELISA.....	<b>19</b>
<b>Figure 8 :</b> Diagramme décisionnel.....	<b>23</b>
<b>Figure 9 :</b> Étapes de la technique ELISA.....	<b>24</b>
<b>Figure 10 :</b> Courbe d'étalonnage ELISA.....	<b>24</b>
<b>Figure 11 :</b> Secteur représentatif du sexe-ratio de la population générale suspectée du SAPL.....	<b>26</b>
<b>Figure 12 :</b> Secteur représentatif du sexe-ratio des patients aPL .....	<b>26</b>
<b>Figure 13 :</b> Histogramme comparatif entre la répartition des hommes et femmes aPL (+) par tranches d'âge.....	<b>27</b>
<b>Figure 14 :</b> Histogramme démonstratif de la répartition des symptômes des patients aPL (+) chez les deux sexes.....	<b>29</b>
<b>Figure 15 :</b> Histogramme représentatif de la fréquence des isotypes des différents anticorps intervenants dans le développement du SAPL.....	<b>30</b>
<b>Figure 16 :</b> Répartition des anticorps anti-nucléaires chez les patients aPL (+).....	<b>34</b>
<b>Figure 17:</b> Histogramme représentatif de la répartition des patients aPL (+) pour les différentes années (2019, 2020, 2021, 2023) en fonction du sexe.....	<b>38</b>
<b>Figure 18:</b> Histogramme représentatif de la répartition des isotypes de l'anti- $\beta$ 2GPI en fonction des années.....	<b>38</b>
<b>Figure 19:</b> Histogramme représentatif de la répartition des isotypes de l'aCL en fonction des années.....	<b>38</b>

## **Résumé :**

Le syndrome des anti-phospholipides est une pathologie auto-immune systémique qui associe des thromboses veineuses et/ou artérielles, des complications obstétricales variées et répétitives dues à la présence persistante dans le sang d'anticorps anti-phospholipides à au moins 12 semaines d'intervalle.

Notre étude rétrospective et descriptive a été menée sur une population adressée au laboratoire d'immunologie du CHU de TIZI OUZOU sur une période de 4 ans, afin d'établir les principales caractéristiques clinico-biologiques des patients présentant des anticorps anti-phospholipides.

225 patients ont été retenus sur une population de 921 individus suspectés du SAPL.

L'âge moyen était de 40,46 ans avec une prédominance féminine dont le sexe ratio F/H est de 3,24. Les manifestations thromboemboliques représentaient la majorité du tableau clinique avec un pourcentage de 34,7% suivies par les manifestations articulaires avec un pourcentage de 28,9%. Les femmes ont deux fois plus de risque de développer les manifestations articulaires par rapport aux hommes avec une P-value = 0,028. Nos patients avaient un profil immunologique hétérogène avec une prévalence des aCL de 50,7 % et des anti-β2GPI de 32 %. La distribution des isotypes était : aCL\_IgM 39,6%, aCL\_IgG 6,2%, β2GPI\_IgM 11,6% et β2GPI\_IgG 11,6%. Pour l'association anti-β2GPI/aCL la dualité anti-β2GPI\_IgM/aCL\_IgM était la plus fréquente avec 5,3%.

D'après les résultats de notre étude, nous avons remarqué que le nombre des patients aPL positifs est en nette augmentation depuis le début de la pandémie de la COVID-19 où les aCL\_IgM étaient les plus fréquents avec 39,6%.

**Mots Clés :** SAPL, aPL, thromboses, manifestations articulaires, aCL, β2GPI, COVID-19.

**Abstract :**

The anti-phospholipid syndrome is a systemic autoimmune pathology which associates venous and/or arterial thrombosis, various and repetitive obstetrical complications due to the persistent presence in the blood of anti-phospholipid antibodies at least 12 weeks apart.

Our retrospective and descriptive study was carried out on a population referred to the immunology laboratory of the UHC of TIZI OUZOU over a period of 4 years, in order to establish the main clinico-biological characteristics of patients with anti-phospholipid antibodies.

225 patients were selected from a population of 921 individuals suspected of having APS.

The mean age was 40,46 years, with a predominance of women and a sex ratio of 3,24.

Thromboembolic manifestations represented the majority of the clinical table with a percentage of 34,7 %, followed by articular manifestations with a percentage of 28,9 %. Women were twice as likely to develop articular manifestations as men, with a P-value of 0,028. Our patients had a heterogeneous immunological profile with a prevalence of aCL of 50,7 % and anti- $\beta$ 2GPI of 32 %. The distribution of isotypes was: aCL\_IgM 39,6 %, aCL\_IgG 6,2 %,  $\beta$ 2GPI\_IgM 11,6 % and  $\beta$ 2GPI\_IgG 11,6 %. For the anti- $\beta$ 2GPI/aCL association the anti- $\beta$ 2GPI\_IgM/aCL\_IgM duality was the most frequent with 5,3 %.

According to the results of our study, we have noticed that the number of aPL-positive patients has been increasing markedly since the start of the COVID-19 pandemic, where aCL\_IgM was the most frequent with 39,6 %.

**Key word :** APS, aPL, Thrombosis, articular manifestations, aCL,  $\beta$ 2GPI, COVID-19.

---

# *INTRODUCTION*

---

## **Introduction :**

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une pathologie auto-immune non spécifique d'organes. Il est caractérisé par une triade associant des thromboses veineuses et/ou artérielles, complications obstétricales et la présence persistante des anticorps anti-phospholipides à au moins 12 semaines d'intervalle.

Les thromboses sont des formations de caillots sanguins qui se forment dans les vaisseaux sanguins. Un caillot sanguin, appelé thrombus, est constitué de plaquettes sanguines, de fibrine (une protéine de coagulation) et d'autres substances sanguines. Il existe deux principaux types de thromboses : thrombose veineuse et thrombose artérielle.

Par ailleurs, l'hétérogénéité clinique et biologique de cette pathologie rend le diagnostic difficile à établir, pour cela, des critères et des recommandations spécifiques ont été établis (consensus international de Sapporo 1999 puis Sydney 2006).

Dans ce contexte, notre thématique a pour objectifs d'étudier les caractéristiques clinico-biologiques des patients présentant des anticorps anti-phospholipides au sein du CHU NEDIR Mohamed de Tizi-Ouzou.

Pour répondre aux objectifs fixés à ce travail, nous l'avons scindé en deux parties :

- Une partie bibliographique portant sur quelques aspects concernant le SAPL et sa classification, les facteurs qui l'induit, son mécanisme physiopathologique ainsi que ses manifestations cliniques et enfin le pronostic et le traitement du SAPL.
- Concernant la partie pratique, notre étude a porté sur les patients adressés au laboratoire d'immunologie du CHU de TIZI OUZOU, pour bénéficier d'une exploration immunologique du syndrome des anti-phospholipides sur une période s'étalant du 1<sup>er</sup> janvier 2019 au 30 avril 2023.

Notre objectif principal pour cette étude est d'établir les profils clinico-biologiques des patients présentant des anticorps anti-phospholipides (aPL), et en objectifs secondaires :

- Etudier les associations clinico-démographiques et clinico-biologiques chez les patients présentant des aPL ;
- Comparer la prévalence des patients présentant des aPL au cours des différentes années depuis le début de la pandémie COVID-19.

---

*I. PARTIE*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

---

## 1. Définition du syndrome des anti-phospholipides :

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune non spécifique d'organes qui se manifeste par l'association de manifestations thrombotiques et/ou obstétricales avec la présence persistante d'une variété d'auto-anticorps circulants hétérogènes appelés anticorps anti-phospholipides (aPL) (Pasquali *et al*, 2008 ; Samuel *et al*, 2022).

## 2. Classification du syndrome des anti-phospholipides :

Le SAPL a traditionnellement été divisé en trois catégories :

- Le SAPL primaire : survient chez des patients sans autre maladie auto-immune.
- Le SAPL secondaire : survient en association avec une ou plusieurs maladies auto-immunes (Mechael *et al*, 2007 ; Laura *et al*, 2016).
- Le syndrome catastrophique des anti-phospholipides (CAPS) est un variant rare du syndrome des anti-phospholipides. Il se caractérise par des thromboses dans plusieurs organes et une tempête cytokinique se développant sur une courte période (Laura *et al*, 2016 ; Ou Carmi *et al*, 2017).

## 3. Epidémiologie :

La prévalence des anti-phospholipides (aPL) dans la population générale varie entre 1 et 5 % (Ricard, 2017). Cependant, seul une minorité de ces personnes développent un SAPL. Certaines estimations indiquent que l'incidence du SAPL est d'environ 5 nouveaux cas pour 100000 personnes par an et la prévalence autour de 40 à 50 cas pour 100000 personnes (Jose *et al* 2014 ; Ricard, 2017). Il est possible que l'âge et le sexe jouent un rôle dans la fréquence du SAPL. (Sefer *et al*, 2003 ; Laura *et al*, 2016 ; Jesse *et al*, 2021).

À l'inverse, la prévalence du syndrome catastrophique est très rare, moins de 1 % de tous les cas du SAPL (Ricard, 2017).

Le SAPL affecte généralement les jeunes et les adultes d'âge moyen (85 % des patients ayant entre 15 et 50 ans). Le SAPL est plus fréquent chez les femmes que chez les hommes avec un ratio hommes / femmes qui peut varier selon la forme allant de 1/3,5 pour le SAPL primaire, et de 1/7 pour un SAPL secondaire associé au lupus (Simone *et al*, 2017).

## 4. Genèse des anticorps anti-phospholipides :

Comme pour d'autres maladies auto-immunes, le processus sous-jacent à la synthèse d'aPL chez les patients atteints du SAPL n'est pas encore entièrement élucidé. Cependant, l'exposition à certains agents environnementaux, qui peuvent-être biologiques tels que les infections (virales, bactériennes, parasitaires) (Simone *et al*, 2017), dysfonctionnement du système immunitaire comme le lupus érythémateux systémiques (LES), mais aussi à d'autres

pathologies (cancers solides, drépanocytose) ou non biologiques tels que les médicaments (Masliah et *al*, 2012).

### 4.1. Facteurs environnementaux :

Le facteur environnemental semble jouer un rôle dans le développement du syndrome des anti-phospholipides (SAPL). Il est principalement constitué d'une variété de facteurs physico-chimiques (UV, température) qui sont responsables de la méthylation de l'ADN qui est à l'origine des manifestations phénotypiques. Selon certaines études, un totale de 42 sites différenciellement méthylés : 17 hypo-méthylés et 25 hyper-méthylés ont été trouvés. Une étude a révélé que les gènes hypo-méthylés sont en association significative avec les complications obstétricales (Lourdes et *al*, 2019).

### 4.2. Facteurs génétiques :

Conformément à la plupart des maladies auto-immunes, la région de l'antigène leucocytaire humain de classe II (HLA II) ainsi que ses variants alléliques DR et DQ ont été les premières associations génétiques décrites pour le SAPL (Lourdes et *al*, 2019).

A ce jour, des études démontrent que plusieurs gènes candidats en dehors de la région HLA contribuent à la production d'auto-anticorps dans le SAPL tels que :

- Un polymorphisme qui conduit à un changement d'acide aminé : Valine en Leucine en position 247 de la  $\beta$ 2GPI ;
- Le polymorphisme du gène codant pour le transducteur de signal et l'activateur de la transcription-4 (STAT4) ;
- Un polymorphisme du gène codant pour la kinase des lymphocytes B (BLK) (Lourdes et *al*, 2019) ;
- Mutation du gène codant pour le facteur régulateur de l'interféron 5 (IRF5) (Freda et *al*, 2010).

### 4.3. Facteurs infectieux :

Les anti-phospholipides (aPL) sont connus pour se développer transitoirement au cours de différents types d'infections qui peuvent être d'origine virale (EBV, VIH), bactérienne (Staphylococcus, tuberculose) ou parasitaire (paludisme, toxoplasmose) (Sène et *al*, 2008 ; Ayesha et *al*, 2022).

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer le développement des aPL durant les infections tels que :

- Mimétisme moléculaire entre les agents pathogènes infectieux et la  $\beta$ 2GPI ;

- Formation de néo-épitopes par changement de conformation de la  $\beta$ 2GPI suite à un stress oxydatif causé par les agents infectieux ;
- Externalisation de la phosphatidylsérine (PS) située sur la face interne de la bicouche lipidique par l'action de la phospholipide scramblase (protéine membranaire responsable de la translocation des phospholipides entre les deux feuillettes de la bicouche lipidique d'une membrane cellulaire) suite à une infection (Ayesha et *al*, 2022).

### 4.3.1 . Lien entre le syndrome des anti-phospholipides et la COVID-19 :

La COVID-19 est une maladie causée par le SARS-CoV-2 ayant entraîné une pandémie mondiale. Bien que ce qui caractérise le mieux la COVID-19 sont les manifestations respiratoires (Bonny et *al*, 2020), il a été démontré qu'il agit également au niveau du système cardiovasculaire par la présence d'aPL (LA, aCL IgG ou IgM, anti- $\beta$ 2GPI IgG ou IgM) dans le sérum des patients atteints de la forme sévère de la maladie produisant des anomalies de la coagulation. Ce qui provoque des événements thrombotiques principalement dans les microcirculations (artères/artérioles) et le système veineux avec un risque de mortalité potentiellement accru (Samuel et *al*, 2022).

### 4.4. Facteurs médicamenteux :

Plusieurs médicaments (Quinine, Doxépine) et vaccins (contre la grippe saisonnière, contre l'anatoxine tétanique) ont déjà été signalés comme inducteurs d'anticorps anti-phospholipides et dans certains cas de SAPL cliniques (Gérardin et *al*, 2022).

### 4.5. Facteurs auto-immuns :

Le phénomène de mort cellulaire programmée (apoptose) peut être à l'origine d'un dérèglement du système immunitaire, car l'un des premiers événements de l'apoptose est l'externalisation des phospholipides anioniques (PS) à la surface des cellules ce qui permet aux protéines plasmatiques ( $\beta$ 2GPI et la prothrombine) de s'y fixer et d'être reconnues comme cible antigénique par les anticorps (Pasquali et *al*, 2007).

### 4.6. Facteurs traumatiques :

La thrombose de la veine mésentérique supérieure est une complication rare associée au syndrome des anti-phospholipides. Des événements déclencheur tels qu'un traumatisme abdominal ou des chirurgies ont été rapportés (Fried et *al*, 2002).

### 5. Biologie du syndrome anti-phospholipides :

Les anticorps anti-phospholipides sont une famille très hétérogène d'anticorps circulants, il existe des anticorps conventionnels et non conventionnels (Vega-Ostertag et al, 2005).

#### 5.1. Anticorps conventionnels :

Il existe trois types d'anticorps dits conventionnels observés au cours du SAPL et qui sont les mêmes retenus comme critères biologiques pour le diagnostic (Miyakis et al, 2006).

##### 5.1.1. Lupus Anticoagulant :

Les anticoagulants lupiques sont une classe hétérogène d'immunoglobulines qui ciblent spécifiquement les épitopes des protéines chargés négativement liées aux phospholipides de la membrane cellulaire : phosphatidylsérine (PS) et la  $\beta$ 2GPI qui inhibent la coagulation dépendante des phospholipides *in vitro* (Tripodi, 2007).

Le lupus anticoagulant (LA) est un anticorps généralement plus associé aux thromboses artérielles et veineuses plutôt qu'à des saignements. Le risque thrombotique dû au LA est considéré comme le plus élevé par rapport aux anticorps anti- $\beta$ 2GPI ou aux aCL (Galli et al, 2003).

##### 5.1.2. Les anticorps anti-cardiolipine :

La cardiolipine (CL) est un phospholipide anionique. C'est un constituant de la membrane interne des mitochondries et récemment sa présence a été établie dans le plasma sous forme complexée à des lipoprotéines et à la surface des cellules apoptotiques (Sorice et al, 2000 ; Deguchi et al, 2000).

Il existe deux type d'aCL :

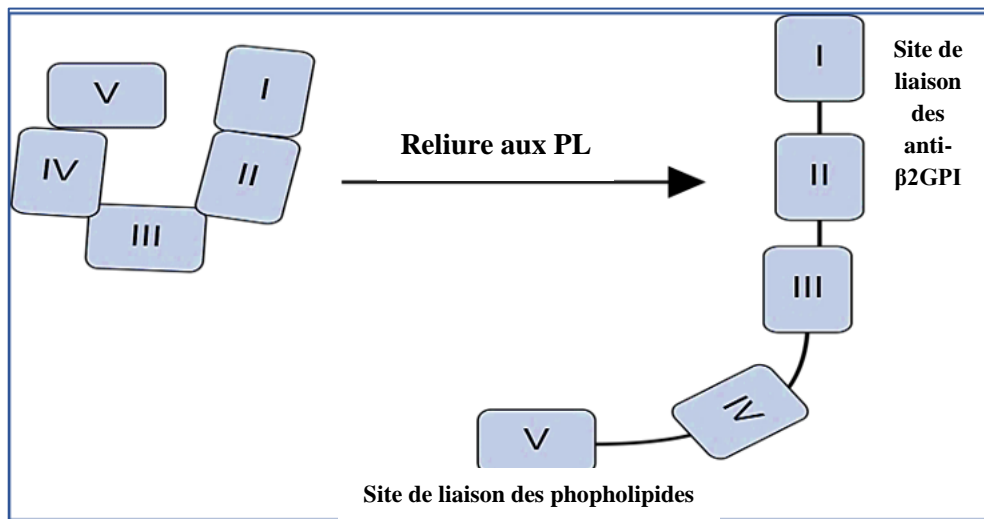
- Les aCL vrais : ils reconnaissent la cardiolipine en absence de cofacteur protéique. Ils sont rencontrés au cours d'infections, leur présence est transitoire (< 12 semaines) ;
- Les aCL dépendants : ils reconnaissent le complexe formé par un cofacteur et la cardiolipine voire le cofacteur lui-même. Lorsque le cofacteur est la  $\beta$ 2GPI, ils peuvent être pathogènes selon le domaine de liaison à cette protéine. Ils sont rencontrés au cours du SAPL associés ou non au LES et leur présence est durable.

##### 5.1.3. Les anticorps anti- $\beta$ 2 glycoprotéine I :

La  $\beta$ 2GPI, appelée aussi apolipoprotéine H est considérée comme la cible antigénique la plus importante dans le syndrome des anti-phospholipides (SAPL). La  $\beta$ 2GPI native circule dans le plasma humain à environ 200 $\mu$ g/ml (50-400) sous forme de monomère circulaire fermée

libre ou associée aux lipoprotéines. C'est une glycoprotéine de 326 acides aminés synthétisée essentiellement par le foie (Masliah-Planchon et *al*, 2012).

Elle est constituée de 5 domaines homologues répétés appelés domaines sushi (**Figure 1**).



**Figure 1 : Changement de conformation de la β2GP et avant et après liaison du PL (Matsuura et *al*, 2010).**

Le domaine I permet la liaison des anti-β2GPI car il contient un épitope localisé dans une structure cryptique cible de ces anticorps. Le domaine V chargé positivement, permet d'interagir avec les phospholipides (PL) anioniques tels que la phosphatidylsérine (PS) ou la cardiolipine (CL).

L'affinité aux phospholipides (PL) anioniques est faible lorsque la β2GPI est sous forme monomérique, elle est augmentée quand elle est dimérisée par les anti-β2GPI. Comme ces PL exprimés à la surface sont habituellement cachés de la circulation, la β2GPI peut circuler librement (Agar et *al*, 2010).

### 5.2. Anticorps non conventionnels :

Ces anticorps sont appelés non conventionnels car ils ne figurent pas dans les critères de diagnostic (Miyakis et *al*, 2006).

#### 5.2.1. Anticorps anti-phosphatidyléthanolamine :

Certains anti-PE sont dépendants en cofacteur plasmatique dont les kininogènes de haut et bas poids moléculaire mais aussi la prékallitréine ou le facteur XI (McIntyre et *al*, 2000). Les anticorps dirigés contre la PE (anti-PE) ont été signalés comme les seuls aPL chez les patients présentant des manifestations thrombotiques ou une perte fœtale. Cependant, le dépistage des IgG, IgM et IgA anti-PE n'a pas augmenté le rendement diagnostique du syndrome anti-phospholipides (SAPL) (Bertolaccini et *al*, 1998).

Il est important de noter que les anticorps anti-phosphatidyléthanolamines ne sont pas spécifiques du SAPL et peuvent également être présents dans d'autres maladies auto-immunes (Sanmarco et *al*, 2007).

### **5.2.2. Anticorps anti-annexine A5 :**

L'Annexine V 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. Quelques études ont décrit la présence d'anticorps anti-Anx V chez des patients présentant des événements cliniques évocateurs d'un SAPL: thromboses et/ou pertes fœtales (Matsuda et *al*, 1994).

Les anti-annexine V circulants ont été décrits dans le SAPL associés aux fausses couches à répétition et aux épisodes thrombotiques chez les patients atteints de SAPL secondaire (Satoh et *al*, 1999).

### **5.2.3. Anticorps anti-prothrombine et anti-phosphatidylsérine/anti-prothrombine :**

Plusieurs auteurs ont évalué la relation entre l'anti-PS/PT et le SAPL (Atsumi et *al*, 2000). Le complexe anti-PS/PT était associé aux manifestations cliniques du SAPL chez 265 patients atteints de maladie auto-immune. De plus, les anti-PS/PT\_IgG étaient fortement associés à la présence de lupus anticoagulant (LA). L'évaluation des anti-PT\_IgG et anti-PS/PT\_IgG en comparaison entre eux et avec IgG et IgM aCL, anti- $\beta$ 2GPI\_IgG dépendent de l'aCL et LA chez 139 patients atteints de SAPL a conclu que tous ces tests sauf aCL\_IgM sont potentiellement utiles dans l'évaluation du risque thrombotique et bien que les anti-PT et les anti-PS/PT soient corrélés entre eux, ils ne sont pas totalement identiques (Tsutsumi et *al*, 2006).

### **5.2.4. Anticorps IgA anti cardiolipine et IgA anti- $\beta$ 2 glycoprotéine I :**

Les patients présentant des aPL (IgA) peuvent présenter des manifestations cliniques classiques du SAPL telles que des événements thrombotiques et une morbidité liée à la grossesse ainsi que des manifestations non critérielles telles que le livédo, les ulcères cutanés et le phénomène de Raynaud (Meijide et *al*, 2013).

Néanmoins, ni les anticorps aCL\_IgA ni les anti- $\beta$ 2GPI\_IgA n'ont été inclus dans les critères révisés de Sapporo pour la classification du SAPL, peut être en raison de preuves insuffisantes et/ou d'une standardisation sous-optimale du dosage (Miyakis et *al*, 2006 ; Meijide et *al*, 2013).

### 5.3. Autres anticorps associés :

#### 5.3.1. Anticorps antinucléaires :

Les anticorps antinucléaires comme les anti-DNA, anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm/RNP, anti-Sm et anti-Jo1 sont présents chez quelques patients atteints d'un SAPL secondaire (Grossi *et al*, 2019). Ces anticorps ne sont pas spécifiques au SAPL mais aux autres maladies auto-immunes associées (Arvieux *et al*, 1995 ; Pelkmans *et al*, 2013).

#### 5.3.2. Autres anticorps non conventionnels :

D'autres anticorps ont été décrits de façon anecdotique chez des patients ayant des manifestations cliniques du SAPL : anti-facteur X, XI, XII, anti-thrombomoduline et récemment anti-TFPI (inhibiteur de la voie du facteur tissulaire) (Zhou *et al*, 2018).

### 6. Mécanismes physiopathologiques :

Lors d'une stimulation cellulaire, les phospholipides (PL) anioniques de la bicouche lipidique deviennent exposés sur la surface extracellulaire. Cette situation entraîne un changement de conformation de la  $\beta$ 2GPI, passant de la conformation circulaire fermée à une protéine ouverte active en forme d'hameçon (Matsuura *et al*, 2010). La  $\beta$ 2GPI peut alors se lier à la membrane cellulaire par liaison à un des PL via son domaine V. Elle va également exposer l'épitope cryptique présent dans le domaine I caché en conformation circulaire qui permet la liaison des anticorps de haute affinité (**Figure 2**) (Agar *et al*, 2010 ; Bettacchioli *et al*, 2019). Ces anticorps particulièrement les anti- $\beta$ 2GPI induisent une dimérisation de la glycoprotéine, ce qui augmente encore l'affinité de la  $\beta$ 2GPI pour les phospholipides chargés négativement, déclenchant divers récepteurs membranaires (Apolipoprotéine E Receptor 2, TLR) et des voies de signalisation intracellulaires, entraînant ainsi l'activation de nombreuses kinases (kinase SRC, JAK-STAT, PKC) (De Groot *et al*, 2012).

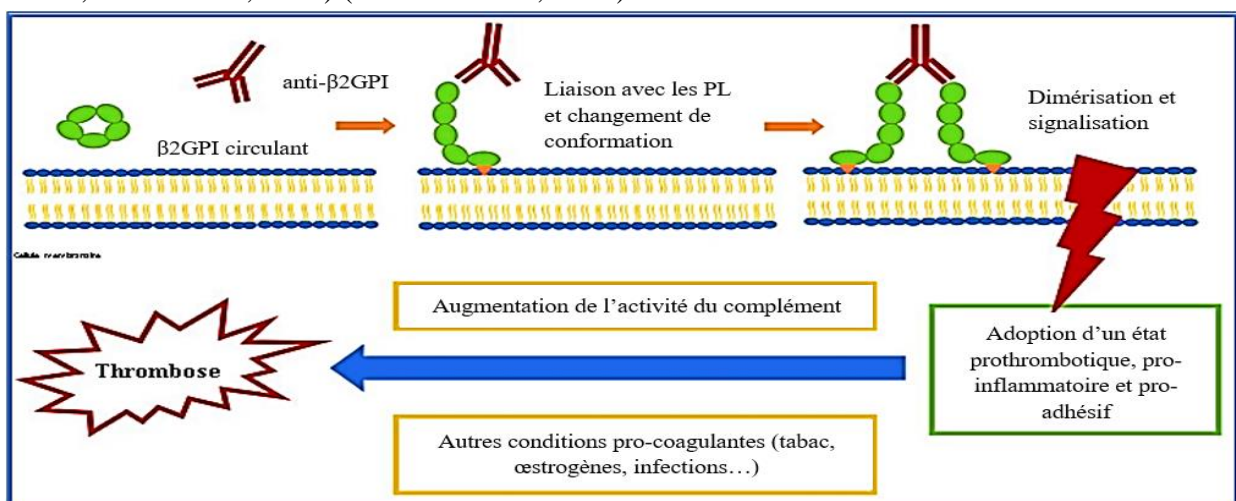


Figure 2 : Rôle pathogène des auto-anticorps anti- $\beta$ 2GPI (Bettacchioli *et al*, 2019).

### **6.1. Interaction des anti-phospholipides avec le système de la coagulation et fibrinolytique :**

Les anti-phospholipides (aPL) sont connus pour interférer avec la cascade de coagulation en perturbant les membranes cellulaires et en activant les plaquettes. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour l'expliquer :

- Activation des plaquettes : les aPL peuvent se lier aux plaquettes et provoquer leur activation, entraînant une libération de molécules pro-thrombotique tels que l'ADP et la thromboxane A<sub>2</sub> ;
- Perturbation de la membrane cellulaire : les aPL peuvent perturber la structure de la membrane cellulaire, ce qui peut déclencher la coagulation en exposant les phospholipides membranaires qui sont normalement protégés ;
- Activation du facteur tissulaire : les aPL peuvent également activer le facteur tissulaire (FT), une protéine membranaire qui est exprimée par les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses. L'activation du FT peut déclencher la coagulation en activant la voie exogène de la coagulation ;
- Inhibition de la protéine C : les aPL peuvent inhiber la protéine C, une protéine qui à l'état active agit comme un anticoagulant naturel en inhibant les facteurs de la coagulation Va et VIIIa (Matsuura et *al*, 2010).

En outre, les aPL en particulier les anti- $\beta$ 2GPI perturberaient la fibrinolyse en liant l'annexine A<sub>2</sub>, récepteur endothélial pourvu d'une activité pro-fibrinolytique, empêchant l'activation du plasminogène en plasmine (Cesarman-Maus et *al*, 2006).

### **6.2. Activation cellulaire :**

#### **6.2.1. Activation des cellules endothéliales :**

L'activation des cellules endothéliales convertit une surface endothéliale anticoagulante en un phénotype procoagulant. Les cellules endothéliales activées ont une expression accrue des molécules d'adhésion (sélectine E, VCAM-1, ICAM-1), du facteur von Willebrand et du facteur tissulaire, des cytokines pro-inflammatoires, mais également une diminution des niveaux et de la libération d'oxyde nitrique (NO) dérivé de l'endothélium des microparticules aux propriétés anti-inflammatoires et anti-coagulantes (Cuadrado et *al*, 2005 ; Romay-Penabad et *al*, 2009).

#### **6.2.2. Activation des monocytes :**

L'activation des monocytes peut également être important dans la physiopathologie du SAPL. Les premières études ont démontré que les anticorps anti- $\beta$ 2GPI activent les monocytes

de manière dépendante de l'annexine A2 par une voie impliquant le récepteur de type Toll 4 (TLR4) dans les radeaux lipidiques. Des études plus récentes ont également impliqué d'autres membres de la voie TLR, tels que le TLR2 et le TLR7 (Satta *et al*, 2011). Comme les cellules endothéliales, les monocytes activés expriment le facteur tissulaire et produisent des cytokines inflammatoires. Les monocytes circulants chez les patients atteints de SAPL présentent une signature génétique activée (Raschi *et al*, 2003).

### 6.3. Activation du complément :

L'activation du complément par les aPL conduit à la génération de l'anaphylatoxine C5a qui recrutent les monocytes, les neutrophiles et active les cellules endothéliales induisant l'expression du facteur tissulaire (Brodsky *et al*, 2019). Les aPL peuvent activer le complément en se liant à des protéines de la membrane cellulaire telle que la  $\beta$ 2GPI et en activant la voie alterne du complément (Ritis *et al*, 2006). Cependant, cette activation peut entraîner la formation de complexes immuns, qui peuvent se déposer dans les vaisseaux sanguins et entraîner des lésions vasculaires et des thromboses (Pengo *et al*, 2011).

Les mécanismes physiopathologique du SAPL sont résumés dans la figure suivante. (**Figure 3**)

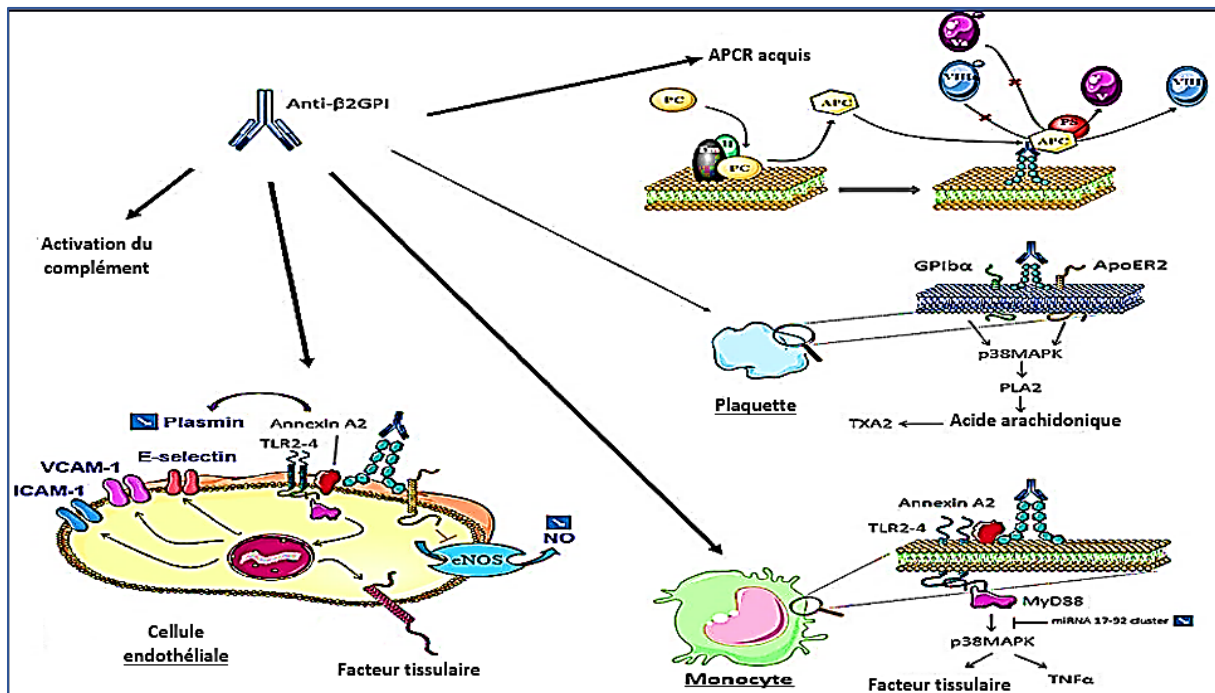


Figure 3 : Schéma récapitulatif des mécanismes physiopathologique des aPL (De Groot *et al*, 2012).

### 7. Les manifestations cliniques du syndrome des anti-phospholipides :

La présentation clinique du SAPL est caractérisée par des thromboses veineuses et/ou artérielles fréquentes des avortements à répétition. L'atteinte d'un seul vaisseau ou l'occlusion

de plusieurs vaisseaux peuvent entraîner une grande variété de manifestations en fonction du site des thromboses (Jose et *al*, 2014 ; Simone et *al*, 2017).

### **7.1. Manifestations thrombotiques :**

Le SAPL se caractérise par des thromboses qui peuvent toucher tous les vaisseaux sanguins : les artères, les capillaires ou les veines, quel que soit leurs tailles et leurs topographies. Ces thromboses sont généralement spontanées sans aucune anomalie de la paroi des vaisseaux, ce qui permet de les distinguer des thromboses compliquant les vascularites (Sibilia, 2002).

#### **7.1.1. Thromboses veineuses :**

Sont plus fréquentes et touchent surtout les veines des membres inférieurs. Ces thromboses distales surviennent dans 29 % à 55 % des cas au cours du SAPL. Près de la moitié d'entre elles se compliquent d'embolie pulmonaire. Presque toutes les localisations sont possibles : veines rénales, veine porte et sous-hépatique, veines mésentériques, veines cave inférieure et supérieure, veines pulmonaires, veines cérébrales (Sibilia, 2002).

#### **7.1.2. Thromboses artérielles :**

Elles sont moins fréquentes mais tout aussi polymorphes touchant presque tous les territoires en particulier les artères cérébrales, les coronaires, les artères mésentériques, rétiniennes, rénales et hépatiques. En fait, 50 % des thromboses artérielles sont cérébrales, 23 % sont coronariennes et 27 % touchent d'autres territoires (Sibilia, 2002).

### **7.2. Manifestations obstétricales :**

Les complications obstétricales sont au deuxième plan de la symptomatologie du syndrome des anti-phospholipides. Chez les patientes atteintes, la perte fœtale est plus fréquente après la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation qu'en début de grossesse, liée à un effet inhibiteur direct des aPL sur la croissance, la placentation et l'apoptose des cellules trophoblastiques (Gromnica-Ihle et *al*, 2000 ; Schreiber et *al*, 2019). Parmi les complications touchant le fœtus, citons : les fausses couches à répétition, la mort *in utero* (MIU), retard de croissance intra-utérin, accouchement prématuré, tandis que les risques maternels se manifestent par des prééclampsies voir le HELLP syndrome (Le Guern et *al*, 2008).

### **7.3. Manifestations hématologiques :**

#### **7.3.1. Anémie hémolytique auto-immune :**

Décrite chez 10 % des patients atteints de SAPL et est associée à des lésions cardiaques (Simone et *al*, 2017), où les aPL réagissent de manière croisée avec des antigènes érythrocytaires et induisent une hémolyse d'origine auto-immune (Pasquali et *al*, 2008).

#### **7.3.2. Thrombopénie :**

La thrombocytopénie survient dans le SAPL avec une fréquence allant de 20 % à 50 %, elle est habituellement légère ( $>50 \times 10^9/L$ ) mais elle peut aussi être grave ( $<25 \times 10^9/L$ ). Les aPL sont fréquemment retrouvés chez les patients initialement diagnostiqués avec un purpura thrombopénique idiopathique (PTI) (Tomasello et *al*, 2021).

#### **7.3.3. Nécrose de la moelle osseuse :**

Très rare, la nécrose médullaire peut survenir durant le SAPL secondaire par la destruction du tissu hématopoïétique avec préservation de l'os (Uthman et *al*, 2008).

### **7.4. Manifestations neurologiques :**

Les troubles neurologiques sont parmi les manifestations cliniques les plus courantes et les plus importantes associées au SAPL. Les patients peuvent présenter des atteintes neurologiques variables (**Tableau I**) (Rodrigues et *al*, 2010).

**Tableau I : Manifestations neurologiques du syndrome des anti-phospholipides (Rodrigues et al, 2010).**

Manifestations neurologiques	Prévalence	Commentaires
<b>AVC</b>	19,8%	Chez les patients âgés $\leq 45$ ans.
<b>Le syndrome de Sneddon</b>	-	Les patients atteints du syndrome de sneddon, présentent une détérioration cognitive plus importante.
<b>Myélopathie</b>	< 1 %	Il existe une forte corrélation entre la myélite transverse et l'aPL.
<b>Convulsions</b>	7 %	Il est possible que de nombreux cas de convulsions soient causés par des événements ischémiques.
<b>Chorée</b>	1,3 %	Fortement corrélée à la positivité des aPL.
<b>Céphalées</b>	20,2 %	Les céphalées dans le SAPL est souvent incurable.
<b>Syndrome oculaire</b>	15 à 88 %	Une rétinopathie de stase veineuse et des symptômes neuro-ophtalmologiques ont été décrits en association avec la positivité des aPL.
<b>Sclérose en plaque/ expression semblable à la sclérose en plaque</b>	-	Il n'existe pas de tests diagnostic précis pour la sclérose en plaque et le SAPL.
<b>Démence</b>	2,5 %	Facteurs associés à la détérioration cognitive.
<b>Le syndrome de Guillain Barré</b>	-	Probablement induit à la suite des myélopathies.
<b>Neuropathies périphériques</b>	Rare	L'atteinte du système nerveux périphérique est rare dans le SAPL.

### 7.5. Manifestations cardiaques :

Le cœur est un organe cible du SAPL, l'atteinte valvulaire (par un épaissement des valves) est la plus fréquente avec une prévalence qui varie entre 30 % à 80 % (Amigo, 2007). Selon plusieurs études, une corrélation entre des titres élevés d'aCL\_IgG et la survenue d'anomalies valvulaires ont été rapportés (Tenedios et *al*, 2005 ; Amigo, 2007). En plus de ces anomalies valvulaires, des dysfonctionnements myocardique (systolique/diastolique), thrombus intracardiaque, maladie de l'artère coronaire et l'hypertension pulmonaire peuvent survenir durant le SAPL (Tenedios et *al*, 2005 ; Sfikakis et *al*, 2020).

### 7.6. Manifestations pulmonaires :

Les patients atteints du syndrome des anti-phospholipides (SAPL) peuvent développer un large spectre d'atteintes pulmonaire (Espinosa et *al*, 2002). L'embolie pulmonaire représente la complication la plus fréquente avec une prévalence d'environ 38,9 % (Stojanovich, 2006). Suivie par les micro-thromboses pulmonaires, SDRA, hémorragies pulmonaires intra-alvéolaires qui peuvent-êtres graves (Espinosa et *al*, 2002).

### 7.7. Manifestations cutanées :

Des lésions cutanées surviennent chez 50 % des patients atteints du SAPL (Gomez-Flores et *al*, 2021) dont le livedo (**Figure 4**) qui est plus fréquent 40 % des cas ainsi que d'autres atteintes telles que les ulcères nécrotiques, gangrène digitale, hémorragies sous-unguéales, maladie de Degos qui peuvent êtres graves allant jusqu'à l'amputation du membre atteint (**Figure 5**) (Pinto-Almeida et *al*, 2013 ; Gomez-Flores et *al*, 2021).



**Figure 4 : Livedo généralisé au cours du SAPL (Sari et *al*, 2008).**



**Figure 5 : Gangrène digitale sur les doigts d'un patient atteint par le SAPL (Pinto-Almeida et *al*, 2013).**

### **7.8. Manifestations rénales :**

L'atteinte rénale est une manifestation bien connue du SAPL (Sciascia et *al*, 2014) avec une prévalence de 9 % à 10 % (Turrent-Carriles et *al*, 2018). Elle se caractérise par une thrombose qui peut affecter n'importe quel site vasculaire des reins (artères, veines, artérioles et capillaires) en se traduisant par des complications pouvant être aiguës comme la microangiopathie thrombotique (au niveau des capillaires glomérulaires) ou chroniques telles que l'occlusion artériolaire, atrophie tubulaire conduisant à une insuffisance rénale (Sciascia et *al*, 2014 ; Simone et *al*, 2017).

### **7.9. Manifestations musculosquelettiques :**

Le spectre des manifestations musculosquelettiques du SAPL comprend : les arthralgies/arthrites, la nécrose avasculaire des os, le syndrome douloureux régional complexe de type 1, l'infarctus musculaire, l'ostéoporose et les fractures non traumatiques (Noureldine et *al*, 2016).

### **7.10. Manifestations digestives :**

L'implication du système digestif dans le SAPL comprend un large éventail de manifestations cliniques qui inclut l'atteinte œsophagienne, gastrique, intestinale, hépatique, splénique et pancréatique (Sefer et *al*, 2003 ; Zhang et *al*, 2021).

## **8. Syndrome des anti-phospholipides secondaire :**

Le SAPL secondaire, très fréquent, est une forme du SAPL qui se développe chez les personnes ayant d'autres maladies auto-immunes sous-jacente telles que le lupus érythémateux systémique (LES) ou la polyarthrite rhumatoïde ou aux autres connectivites et rarement des tumeurs malignes et vascularites. Compte tenu de la diversité des signes cliniques et biologiques pouvant révéler un SAPL, il est parfois difficile de savoir s'il s'agit vraiment d'un syndrome primaire ou plutôt d'un syndrome secondaire (Erkan et al 2021).

Pour faciliter la distinction entre ces deux formes nosologiques, le docteur Jean-Charles PIETTE a proposé des critères d'exclusion définissant le SAPL primaire (**Tableau II**).

**Tableau II : Critères d'exclusion du SAPL primaire (Erkan et al, 2021).**

La présence de l'un des critères suivants n'est pas compatible avec le diagnostic de SAPL primaire
- Éruption malaire
- Lupus discoïde
- Ulcération orale ou pharyngée
- Arthrite franche
- Pleurésie, en absence d'embolie pulmonaire ou d'insuffisance cardiaque gauche
- Péricardite, en absence d'infarctus myocardique ou d'insuffisance rénale marquée
- Protéinurie supérieure à 0,5 g/j
- Lymphopénie inférieurs à 1000 $\mu$ l
- Anticorps anti-ADN natif
- Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles
- Anticorps anti-nucléaires à un titre supérieur à 1/320
- Traitement connu comme inducteur d'aPL

### 9. Critères diagnostiques du syndrome des anti-phospholipides :

Le diagnostic du SAPL est basé sur la présence d'anticorps anti-phospholipides associés à des manifestations cliniques de la maladie. Les critères de diagnostic du SAPL ont été établis par le Groupe International de Travail sur les Anti-phospholipides (GITA en 2006) et ont été révisés en 2019. Les critères actuels pour le diagnostic du SAPL sont résumés ci-dessous (**Tableau III**) (Joste et al, 2017).

**Tableau III : Critères diagnostiques du syndrome des anti-phospholipides (Joste et al, 2017).**

Critères biologiques	Critères cliniques
<p>Présence des aPL sur deux prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Anticoagulants circulants de type lupique (ACC) :</b> Allongement des tests de coagulation plasmatique selon les recommandations de l'International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH).</li> <li>• <b>Anticorps anti-cardiolipines (aCL) :</b> Présence (sérum ou plasma) d'anticorps aCL isotype G et/ou M à des taux moyens à élevés (taux &gt; 40 GPL ou &gt; 40 MPL ou &gt; 99<sup>e</sup> percentile), détecté par un test ELISA.</li> <li>• <b>Anticorps anti-β2GPI :</b> Présence (sérum ou plasma) d'anticorps anti-β2GPI isotype G et/ou M (taux &gt; 99<sup>e</sup> percentile), détecté par un test ELISA.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Thromboses vasculaires :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Au moins un épisode clinique de thrombose artérielle et/ou veineuse.</li> </ul> </li> <li>• <b>Complications obstétricales :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Au moins une naissance prématurée avant la 34<sup>eme</sup> semaine d'aménorrhée (due à une éclampsie, une prééclampsie sévère ou une insuffisance placentaire) ;</li> <li>- Au moins 3 fausses couches spontanées consécutives avant la 10<sup>eme</sup> semaine d'aménorrhée.</li> </ul> </li> </ul>

**10. Tests de détection du syndrome des anti-phospholipides :**

Les critères biologiques du SAPL sont basés sur 3 tests : la recherche du LA effectuée par des tests de coagulation, la recherche des aCL et des anti-β2GPI détectés par des tests immunologiques (Rao et al, 1996).

**10.1. Recherche d'anticoagulant circulant de type lupique par des tests de coagulations :****10.1.1. Recommandations pré-analytiques :**

La qualité du prélèvement et le respect des étapes pré-analytiques sont importantes (Keeling et al, 2012).

Il est préférable d'effectuer les tests à distance d'un traitement anticoagulant pour limiter au maximum les interférences analytiques (Pengo et *al*, 2009) :

- L'héparine non fractionnée (HNF) peut fausser les résultats. Sa présence peut être mise en évidence en première intention par la réalisation du temps de thrombine ;
- Les tests ne sont pas réalisables en présence d'anticoagulants oraux qui entraîneraient des résultats faux-positifs ;
- La recherche de LA n'est pas conseillée sous fondaparinux en absence d'agent neutralisateur de l'activité anti-Xa spécifique ;
- Sous antivitamines K (AVK), la recherche de LA peut être réalisée lorsque l'INR est inférieure à 1,5.

### 10.1.2. Protocole de recherche :

Selon les recommandations de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) (Pengo et *al*, 2009), la recherche de LA doit se faire en quatre étapes (**Tableau IV**) :

**Tableau IV : Démarche diagnostique pour la recherche d'un anticoagulant circulant de type lupique (Pengo et *al*, 2009).**

1. Allongement d'un test de coagulation dépendant des phospholipides
2. Mise en évidence d'un effet inhibiteur par épreuve de mélange
3. Mise en évidence de la dépendance de l'allongement du test de coagulation vis-à-vis des phospholipides : raccourcissement ou correction du temps de coagulation par apport d'un excès de phospholipides (épreuve de confirmation)
4. Exclusion de la présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre un facteur de la coagulation (par exemple facteur VIII)

### 10.1.3. Choix des tests :

Aucun test n'est capable de détecter la totalité des LA. Il est donc indispensable de réaliser en parallèle deux tests de dépistage explorant des segments différents de la cascade de coagulation.

Le premier test de choix recommandé par l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), est le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT), le second est le TCA utilisant un réactif sensible au LA (Pengo et *al*, 2009).

#### 10.1.3.1. Le temps de venin de vipère Russel dilué :

Le dRVVT est le test le plus robuste dans la détection des LA. Il a une grande spécificité pour la détection des LA chez les patients à haut risque thrombotique (Pengo et *al*, 2009).

Toutefois, il est moins sensible pour les LA de faible intensité que les TCA très sensible au LA (Dembitzer et *al*, 2010).

Le dRVVT est un temps de coagulation mesuré après activation directe de la voie commune via le facteur X à l'aide d'un extrait de venin de vipère Russel (*Daboia russelii*) ou du venin lui-même (Dembitzer et *al*, 2010).

### 10.1.3.2. Le temps de céphaline avec activateur :

Le TCA avec de la silice comme activateur et contenant une concentration faible en PL est le test de deuxième intention car il a une bonne sensibilité aux LA (Urbanus et *al*, 2008).

## 10.2. Tests immunologiques :

### 10.2.1. Anticorps anti-cardiolipine :

Les aCL sont habituellement recherchés par des techniques immuno-enzymatiques de types ELISA avec comme antigène une cardiolipine fixée sur les plaques (**Figure 6**). La technique nécessite l'addition du plasma ou sérum animal constituant la source de  $\beta$ 2GPI. Certains fabricants ajoutent dans leurs kits de la  $\beta$ 2GPI humaine pour détecter les aCL dépendants de la  $\beta$ 2GPI humaine, plus prédictifs du risque thrombotique (Joste et *al*, 2017).

Des conditions pré-analytiques doivent être respectées pour réaliser ce dosage (Lakos et *al*, 2012) :

- Le dosage peut être réalisé sur sérum ou plasma ;
- Les prélèvements chauffés à 56°C ne doivent pas être utilisés car ils peuvent entraîner des faux positifs en aCL\_IgM ;
- Ils ne doivent pas être hémolysés ni lipémiques en raison de la possible interférence analytique générée ;
- Il est conseillé de réaliser le dosage dans les 24h après le prélèvement ;
- Les échantillons peuvent être conservés à -20°C pour une plus longue durée ;
- Les échantillons ne doivent pas subir de congélation-décongélation à répétition.

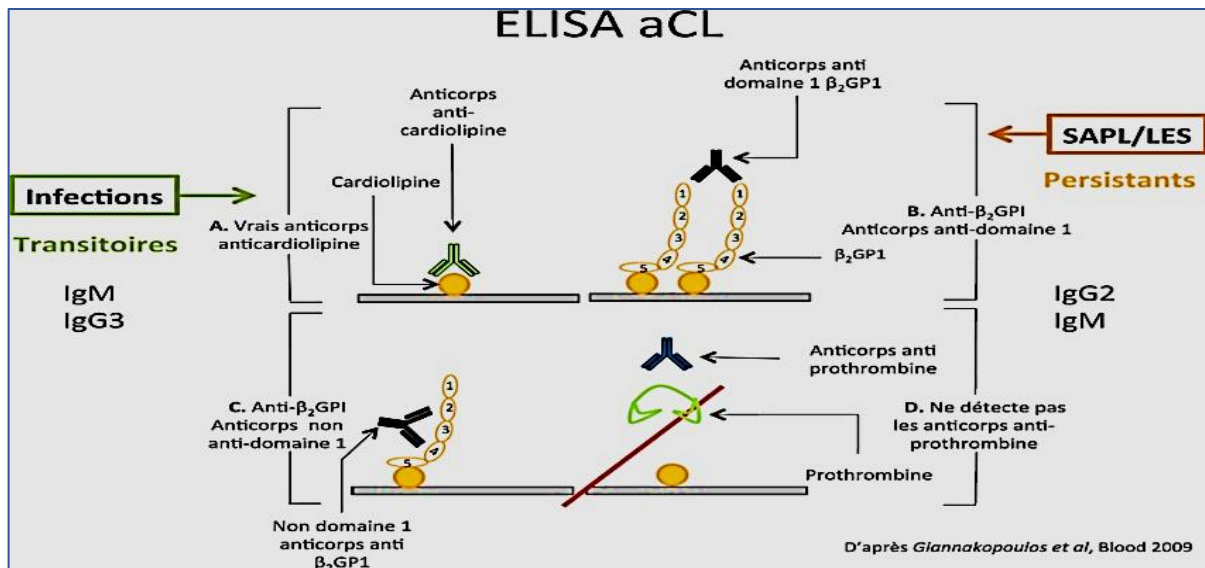


Figure 6 : Détection d’anticorps aCL par l’ELISA (Joste et al, 2017).

### 10.2.2. Anticorps anti β<sub>2</sub>-glycoprotéine I :

La technique ELISA est utilisée pour la détection des anti-β<sub>2</sub>GPI (Figure 7). L’antigène fixé doit être de préférence une β<sub>2</sub>GPI humaine. Des plaques chargées négativement (irradiées) sont utilisées car elles augmentent la densité antigénique en β<sub>2</sub>GPI et miment les PL chargés négativement de la membrane permettant ainsi d’obtenir une conformation similaire à celle adoptée après liaison aux PL *in vivo*. Les conditions pré-analytiques sont identiques aux dosages des aCL, les deux isotypes IgG et IgM doivent être recherchés. La spécificité du test ELISA anti-β<sub>2</sub>GPI pour le diagnostic du SAPL est meilleure que l’ELISA aCL car il ne détecte pas les aPL présents dans les infections (vrais aCL). Cependant, sa sensibilité est plus faible (Joste et al, 2017).

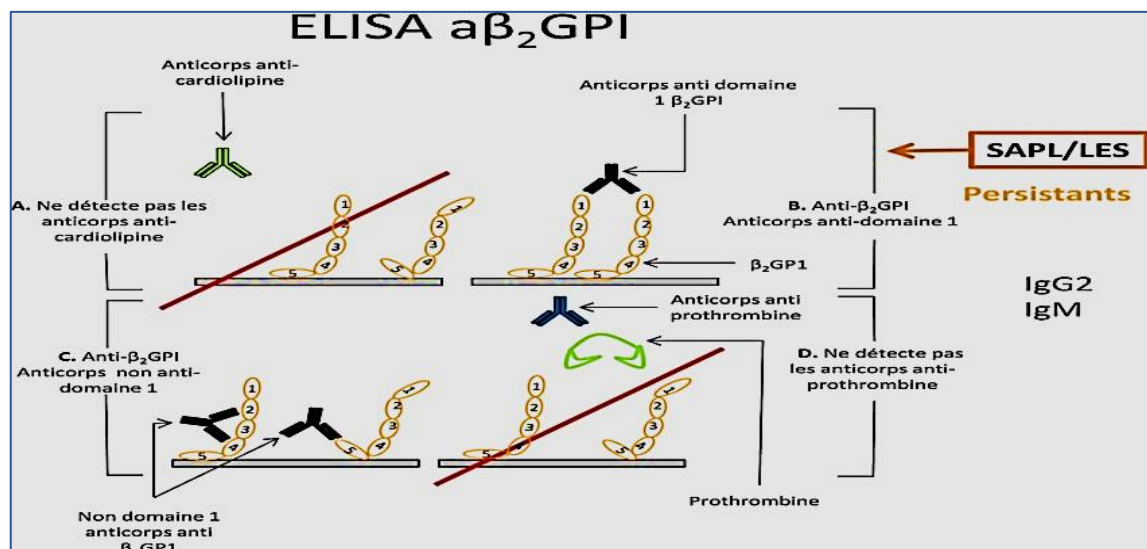


Figure 7 : Détection d’anticorps anti-β<sub>2</sub>GPI par l’ELISA (Joste et al, 2017).

### 10.2.3. Recherche des anticorps associés :

Pour les autres anticorps (anti-PE, anti-PT, anti-PS/PT) on peut les rechercher en utilisant le même principe de la technique ELISA appliqué à la recherche des anticorps conventionnels et non conventionnels.

### 10.2.4. Recommandations pour la détection optimale des aPL par ELISA :

Depuis la mise au point des tests ELISA aCL au début des années 1980 pour améliorer la sensibilité et la spécificité de la simple dissociation VDRL+/TPHA pour détecter la présence d'aCL, de très nombreux travaux collaboratifs ont été conduits pour tenter d'améliorer la standardisation de ces tests ELISA. Les experts du sous-comité anti-PL de l'ISHT ont publié des recommandations techniques pour ces tests immunologiques en 10 étapes (Lambert et al, 2004 ; Devreese et al, 2014).

- Sélection des patients : à tester pour éviter les faux positifs (éviter les recherches généralisées des aPL) ;
- Prélèvement sanguin : sérum ou plasma citraté ;
- Choix des dosages : aCL  $\beta$ 2GPI dépendant,  $\beta$ 2GPI humaine (non recombinante) ;
- Caractéristique de performance : l'imprécision entre les séries doit être  $< 20\%$  (ELISA) et  $< 10\%$  pour les systèmes automatisés ;
- Interférences : facteur rhumatoïde peut produire des aCL\_IgM et anti- $\beta$ 2GPI faussement élevés ;
- En duplicate pour les méthodes manuelles ;
- Etalons et étalonnage dans la mesure du possible ;
- Expression des résultats ;
- Valeurs seuils : 99<sup>ème</sup> percentile calculé en testant 120 plasmas témoins ;
- Résultats et conclusion : interprétation tenant compte des résultats des 3 tests (LA, aCL, anti- $\beta$ 2GPI), nécessité du contrôle à au moins 12 semaines d'intervalle.

### 10.2.5. Isotypes à rechercher :

Les anticorps prédominants chez les patients avec un SAPL sont d'isotype IgG et ils semblent être associés de façon plus importante avec les événements thrombotiques que les IgM. Cependant, certaines patientes présentant un SAPL purement obstétrical présentent une positivité IgM de façon isolée illustrant la nécessité de rechercher ces isotypes IgM en cas de forte suspicion clinique de SAPL (Kelchtermans et al, 2016).

### **11. Pronostic du syndrome des anti-phospholipides :**

Selon des études européennes, le pronostic du SAPL primaire et secondaire est similaire mais dans ce dernier, la morbidité peut être augmentée en raison de toute maladie rhumatismale ou auto-immune sous-jacente. Les patients atteints de lupus avec des anticorps anti-phospholipides présentent un risque plus élevé de troubles neuropsychiatriques (Ghembaza et *al*, 2020).

### **12. Prise en charge et traitement des patients atteints par le syndrome des anti-phospholipides :**

Que ce soit un SAPL primaire ou secondaire, la prise en charge des patients positifs pour les aPL devrait inclure les mesures générales suivantes :

- Un contrôle strict des facteurs de risque cardiovasculaire, y compris l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, le poids et l'évitement du tabagisme ;
- Le dépistage du risque centrés sur les patients présentant un profil aPL à haut risque qui comprend la triple positivité aPL, les titres LA ou aPL constamment élevés, les antécédents de SAPL thrombotique et/ou obstétricale, la présence d'autres maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux systémique et la coexistence de facteurs de risque cardiovasculaires (Bustamante et *al*, 2023).

Pour le traitement il faut distinguer les différentes situations cliniques dans la prise en charge du SAPL (SAPL veineux, artériel, obstétrical ou CAPS). En fonction de ces différentes présentations, les principes du traitement et la cible d'anticoagulation pourront varier : AVK, anti-agrégants plaquettaire, HBPM (Espinosa et *al*, 2011).

---

## *II. PARTIE PRATIQUE*

---

## **Rappel des objectifs :**

### **❖ Objectif principal :**

- Etablir les profils clinico-biologiques des patients présentant des anticorps anti-phospholipides (aPL).

### **❖ Objectifs secondaires :**

- Etudier les associations clinico-démographiques et clinico-biologiques chez les patients présentant des aPL ;
- Comparer la prévalence des aPL au cours des différentes années depuis le début de la pandémie de la COVID-19.

---

*PATIENS ET METHODES*

---

**I. Patients :****1. Population étudiée :**

Notre étude rétrospective a porté initialement sur 921 patients suspectés d'être atteints d'un SAPL provenant des différents services (hospitaliers ou externes) admis sur une période s'étalant du 1 janvier 2019 au 30 avril 2023 au laboratoire d'immunologie du CHU *NEDIR MOHAMMED* de Tizi-Ouzou. Après avoir tenu compte des critères d'inclusion et d'exclusion, 225 patients éligibles ont été retenus pour constituer notre population (**Figure 8**).

**2. Critères d'inclusion :**

- Patients présentant des signes cliniques évocateurs du SAPL sont essentiellement les manifestations thromboemboliques et fausses couches répétitives. En plus de ces deux manifestations, on retrouve les manifestations rhumatologiques, photosensibilité, atteintes rénales...

**3. Critères d'exclusion :**

- Fiches de renseignements incomplètes (manque de données démographiques, cliniques ou biologiques) ;
- Patients qui n'ont pas fait objet de la caractérisation des aPL ;
- Patients qui présentent des taux d'aPL inférieur au seuil de positivité.

**NB :** les valeurs seuils de positivité prises en considération sont celles retrouvées dans les kits de dosage (ELISA QUANTA Lite TM).

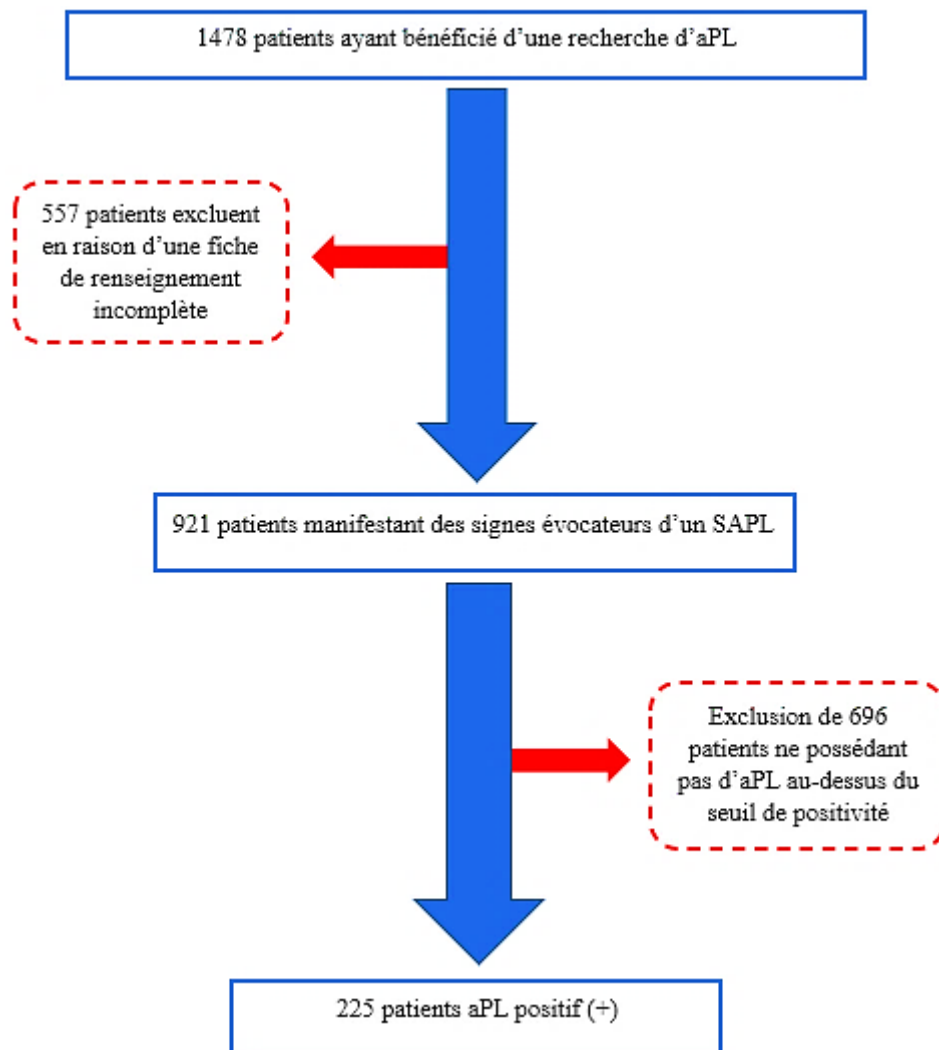


Figure 8 : Diagramme décisionnel.

#### 4. Recueil de données :

- Les données cliniques et démographiques ont été recueillies à l'aide d'une fiche de renseignements comportant les informations nécessaires. (Annexe 1) ;
- Les résultats du dosage immunologique ont été recueillis à l'aide d'un bilan d'auto-immunité. (Annexe2) ;
- Protocole opératoire de la technique ELISA QUANTA Lite® ACA IgG (Annexe 3 et 4) ;
- Protocole opératoire de la technique ELISA QUANTA Lite®  $\beta$ 2GPI (Annexe 5 et 6).

## II. Méthodes :

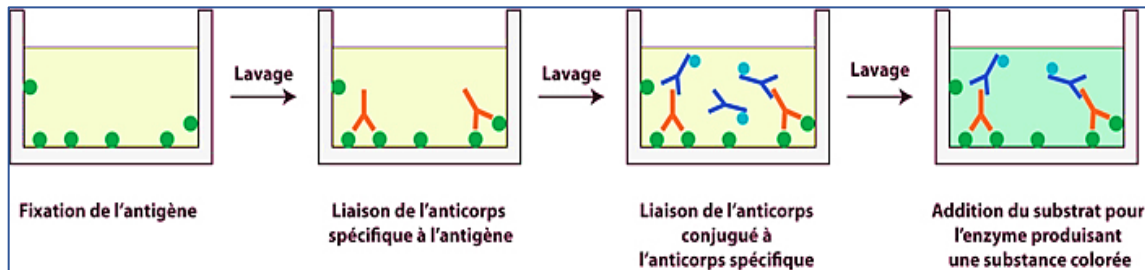
### 1. Prélèvements :

Le prélèvement s'effectue sur sang veineux recueilli dans un tube sec qui sera laissé à température ambiante. Après coagulation du sang les tubes seront centrifugés à 3500 tours/min pendant 5 min afin de séparer le sérum qui servira de matrice pour le bilan.

### 2. Méthode de dosage :

#### 2.1. Principe :

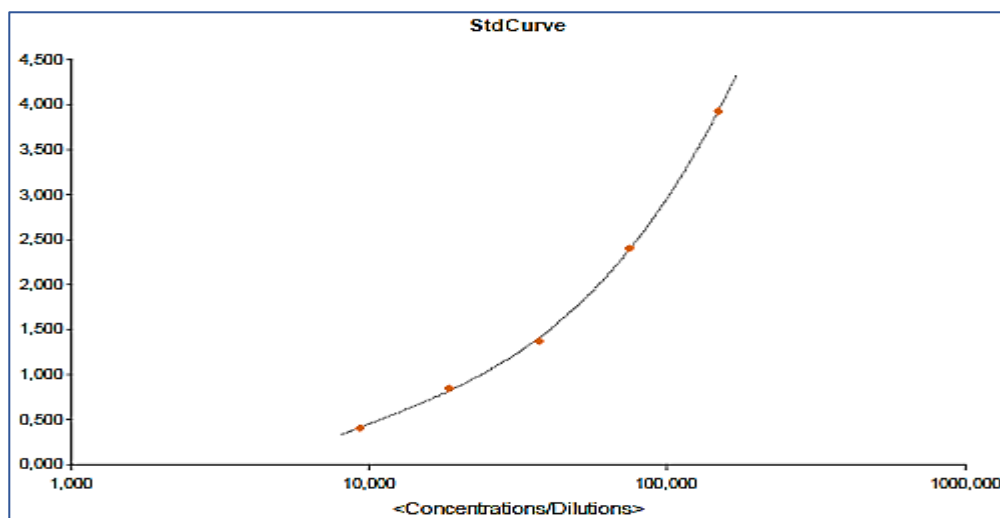
La technique ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique qui permet de mettre en évidence une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement conjuguée à l'anticorps (**Figure 9**). Le protocole de la technique ELISA est détaillé dans les (**Annexes 3 à 6**).



**Figure 9 : Etapes de la technique ELISA.**

#### 2.2. Lecture et interprétation :

La lecture des densités optiques (D.O) se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde optimale, ces valeurs seront extrapolées sur une courbe d'étalonnage préalablement définie grâce à une série de dilutions connues qui va nous permettre de déterminer les concentrations en auto-anticorps dans nos échantillons (**Figure 10**).



**Figure 10 : Courbe d'étalonnage ELISA.**

Les résultats sont interprétés comme suit :

**Tableau V : Interprétation des résultats du dosage des Anti-  $\beta$ 2GPI.**

Anti- $\beta$ 2GPI	
IgG	IgM
- <b>Négatif</b> : <12.5 SGU	- <b>Négatif</b> : <12.5 SMU
- <b>Indéterminé</b> : [12.5-20] SGU	- <b>Indéterminé</b> : [12.5-20] SMU
- <b>Positif</b> : >20 SGU	- <b>Positif</b> : >20 SMU

**Tableau VI : Interprétation des résultats du dosage des aCL.**

aCL	
IgG	IgM
- <b>Négatif</b> : <12.5 GPL	- <b>Négatif</b> : <12.5 MPL
- <b>Indéterminé</b> : [12.5-20] GPL	- <b>Indéterminé</b> : [12.5-20] MPL
- <b>Positif</b> : >20 GPL	- <b>Positif</b> : >20 MPL

### 3. Tests statistiques :

Nous avons utilisé le test de  $\text{Khi}^2$  pour comparer les pourcentages, la significativité est retenue pour des valeurs de  $p < 0,05$  ainsi que le calcul des odds ratio (OR). Le test statistique et les calculs réalisés dans notre étude ont été effectués par le logiciel Microsoft Excel 2021®.

---

*RESULTATS*

*ET*

*DISCUSSION*

---

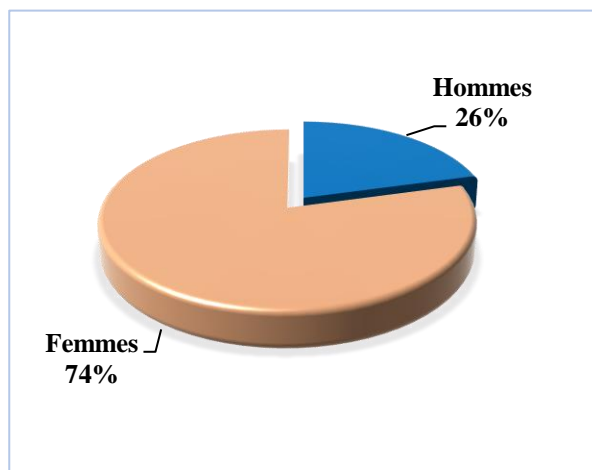
## I. Résultats :

### 1. Répartition selon les paramètres démographiques :

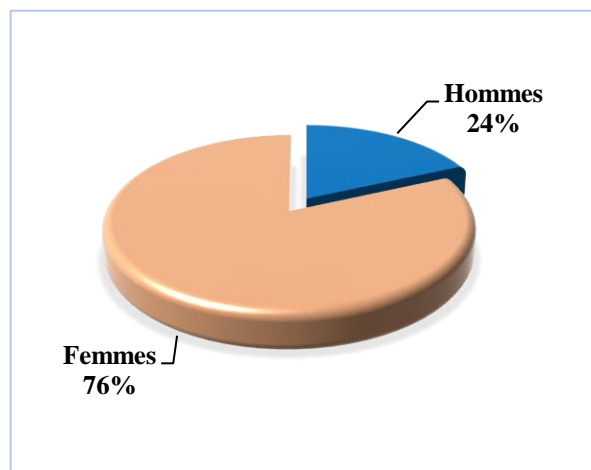
#### 1.1. Répartition selon le sexe :

Les 921 patients sont composés de 679 femmes 74 % et 242 hommes 26 % constituant un sexe ratio (F/H) de 2,80 (**Figure 11**).

Notre population de 225 individus positifs aux aPL est composée de 172 femmes 76 % et 53 hommes 24 % aPL (+) constituant un sexe ratio (F/H) de 3,24 (**Figure 12**).



**Figure 11 : Secteur représentatif du sexe-ratio des patients suspectés du SAPL.**



**Figure 12 : Secteur représentatif du sexe-ratio des patients aPL (+).**

#### 1.2. Répartition selon l'âge :

L'âge moyen des 921 patients suspectés du SAPL est de 40,37 ans et une médiane de 39 ans.

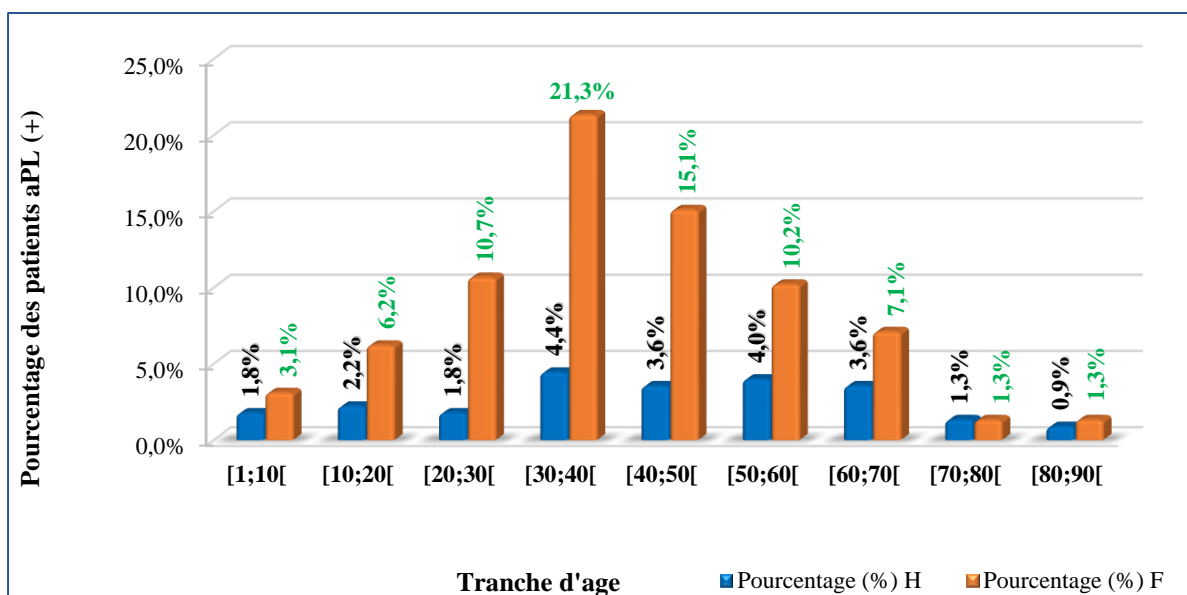
Dans notre population des patients aPL (+), l'âge varie de 2 à 83 ans centré sur un âge moyen de 40,46 ans et une médiane de 39 ans.

- Chez les hommes : l'âge moyen est de 40,84 ans, l'âge médian est de 40 ans.
- Chez les femmes : l'âge moyen est de 40,46 ans, l'âge médian est de 39 ans.

##### 1.2.1. Par tranches d'âge et sexe :

Dans notre étude, la tranche d'âge médiane est la classe : [30 ; 40[.

Les tranches d'âges qui présentent les pourcentages les plus élevés de patients aPL (+) sont : la classe [30 ; 40[ avec un pourcentage de 25,8 %, ensuite la classe [40 ; 50[ avec un pourcentage de 18,7 % suivi de la classe [50 ; 60[ avec un pourcentage de 14,2 % et en fin la classe [20 ; 30[ avec un pourcentage de 12,4 % (**Figure 13**).



**Figure 13 : Histogramme comparatif entre la répartition des hommes et femmes aPL (+) par tranches d'âge.**

## 2. Répartition selon les caractéristiques cliniques :

### 2.1. Répartition selon les services :

La population des 225 patients aPL (+) provenaient de différents services. Les résultats sont détaillés dans le tableau ci-dessous (**Tableau VII**) :

**Tableau VII : Distribution des patients selon les services.**

Services	Effectifs	Pourcentages (%)
Med Interne Femmes	81	36,0 %
Externes	44	19,6 %
Pédiatrie	20	8,9 %
Hématologie	17	7,6 %
Med Interne Hommes	15	6,7 %
Néphrologie	11	4,9 %
Neurologie	9	4,0 %
Rhumatologie	9	4,0 %
Gastrologie	8	3,6 %
Infectieux	5	2,2 %
Pavillon des urgences médicales	4	1,8 %
Hémodialyse	1	0,4 %
MPR	1	0,4 %

## 2.2. Répartition selon les signes cliniques :

Sur les 225 patients aPL (+) au moins un aPL à titre significatif présentant au minimum un des signes cliniques critères et non critères du SAPL.

Cette population nous a permis de démontrer la distribution des signes cliniques chez ces patients aPL (+) et d'apprécier leurs fréquences.

Les manifestations les plus répandues sont les manifestations thromboemboliques, articulaires, cutanées et hématologiques avec des pourcentages de 34,7 %, 28,9 %, 18,2 % et 18,2 % respectivement. Le reste des manifestations sont détaillées dans le tableau suivant (Tableau VIII).

**Tableau VIII : Tableau représentatif de la fréquence des différents signes cliniques des patients aPL (+).**

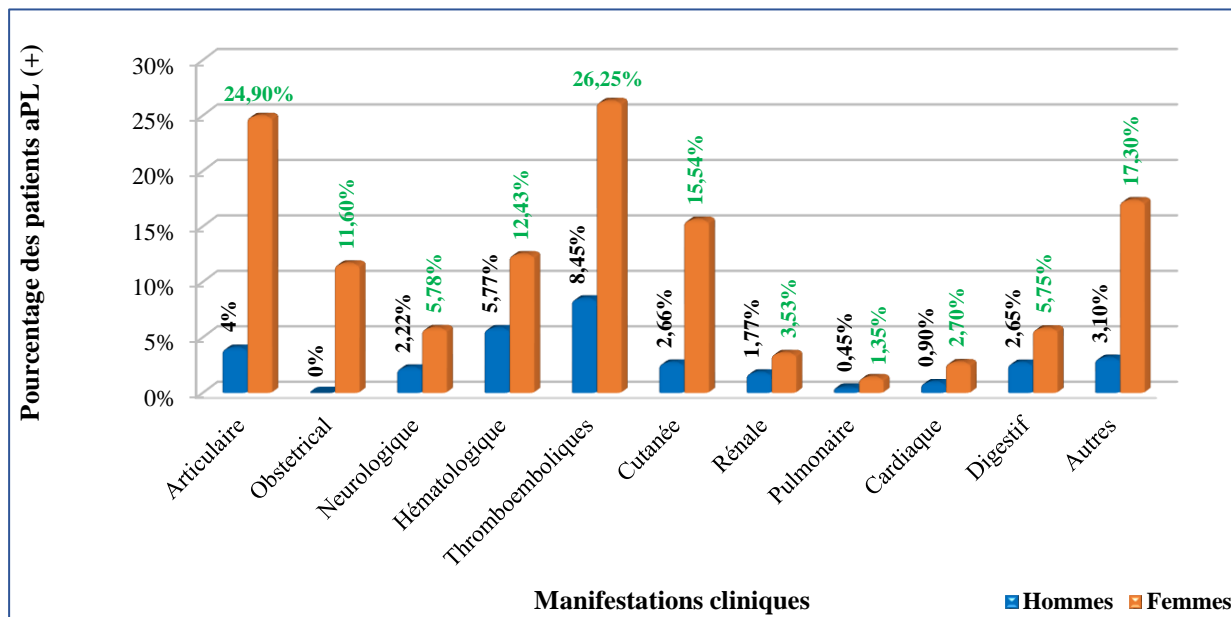
Manifestations cliniques	Effectif	Pourcentage
<b>Thromboemboliques</b>	78	34,7 %
<b>Articulaires</b>	65	28,9 %
<b>Cutanées</b>	41	18,2 %
<b>Hématologiques</b>	41	18,2 %
<b>Obstétricales</b>	26	11,6 %
<b>Digestives</b>	19	8,4 %
<b>Neurologiques</b>	18	8 %
<b>Rénales</b>	12	5,3 %
<b>Cardiaques</b>	8	3,6 %
<b>Pulmonaires</b>	4	1,8 %
<b>Autres</b>	46	20,4 %

### 2.2.1. Répartition des signes cliniques chez les deux sexes :

Nous avons étudié la répartition des signes cliniques chez les hommes et les femmes pour les 225 patients aPL positifs (**Figure 14**). En effet, les manifestations prédominantes chez les deux sexes sont :

- Les manifestations thromboemboliques (8,45 % [H] contre 26,25 % [F]) ;
- Les manifestations hématologiques (5,77 % [H] contre 12,43 % [F]) ;
- Les manifestations articulaires (4 % [H] contre 24,9 % [F]) ;
- Les manifestations cutanées (2,66 % [H] contre 15,54 % [F]).

Les complications obstétricales sont des symptômes spécifiques aux femmes, ces dernières représentaient 11,6 %.



**Figure 14 : Histogramme démonstratif de la répartition des symptômes des patients aPL (+) chez les deux sexes.**

### 3. Répartition selon les caractéristiques immunologiques :

#### 3.1. Répartition selon la fréquence des anticorps anti-phospholipides et leurs isotypes :

Sur notre population de 225 patients aPL (+), les aCL sont les plus fréquents des aPL avec un pourcentage de 50,7 % contre 32 % pour les anti- $\beta$ 2GPI. Parmi ces patients, certains expriment les deux anticorps à la fois anti- $\beta$ 2GPI / aCL avec un pourcentage de 17,3 % (**Figure 15**).

En ce qui concerne les isotypes nous avons remarqué que pour les aCL les IgM sont plus abondant par rapport au IgG avec un pourcentage de 39,6 % contre 6,2 % respectivement suivi de 4,9 % pour l'association de IgG + IgM. Concernant l'anti- $\beta$ 2GPI les isotypes IgG et IgM sont égaux en termes de fréquence avec un pourcentage de 11,6 % chacun suivi de 8,9 % pour l'association de IgG + IgM.

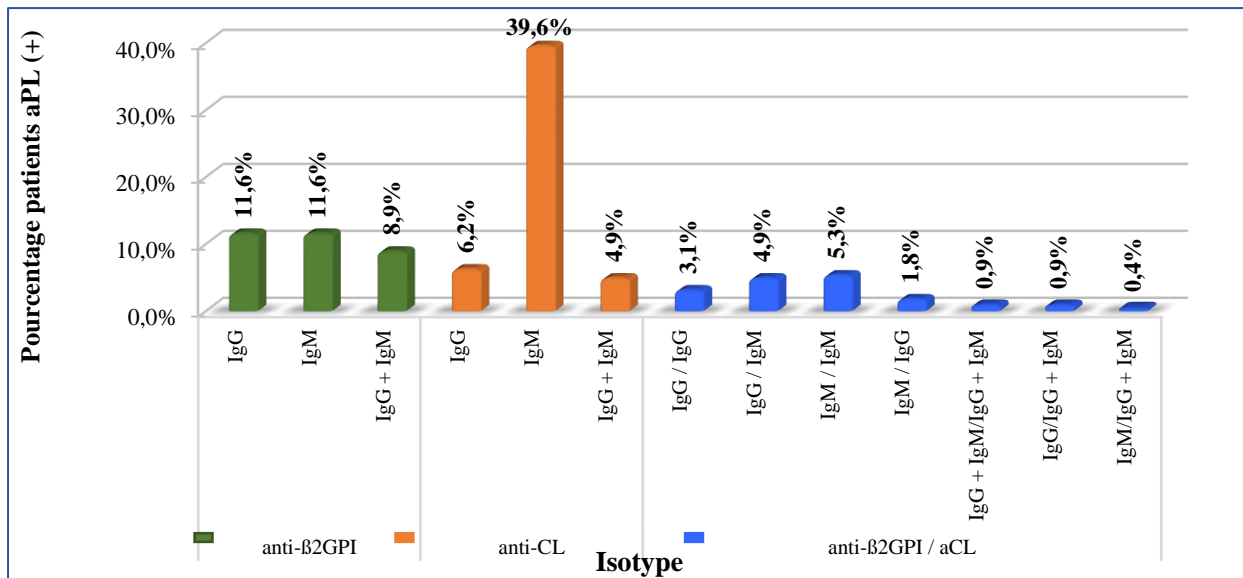
Cependant, pour les patients qui présentent l'association des deux anticorps anti- $\beta$ 2GPI/aCL les isotypes les plus fréquents sont :

- Anti- $\beta$ 2GPI\_IgM / aCL\_IgM avec 5,3 % ;
- Anti- $\beta$ 2GPI\_IgG / aCL\_IgM avec 4,9 % ;
- Anti- $\beta$ 2GPI\_IgG / aCL\_IgG avec 3,1 %.

Ensuite viennent les moins fréquents :

- Anti- $\beta$ 2GPI\_IgM / aCL\_IgG avec 1,8 % ;

- Anti-β2GPI\_IgG + IgM / aCL\_IgG + IgM avec 0,9 % ;
- Anti-β2GPI\_IgG / aCL\_IgG + IgM avec 0,9 % ;
- Anti-β2GPI\_IgM / aCL\_IgG + IgM avec 0,4 %.



**Figure 15 : Histogramme représentatif de la fréquence des isotypes des différents anticorps intervenant dans le développement du SAPL.**

### 3.2. Répartition selon la fréquence des différents isotypes des anticorps anti-phospholipides et leurs associations en fonction des signes cliniques :

Pour les signes cliniques prédominant au sein de notre population des patients aPL (+), nous avons calculé la fréquence des isotypes IgG et IgM des différents aPL (aCL et anti-β2GPI) ainsi que leurs associations.

#### 3.2.1. Manifestations thromboemboliques :

Pour les 78 patients aPL (+) présentant des manifestations thromboemboliques nous avons trouvé que l'aCL\_IgM était l'anticorps prédominant des aPL avec un pourcentage de 42,3 % tandis que les associations l'anti-β2GPI\_IgG ∩ anti-β2GPI\_IgM était la plus répandue avec un pourcentage de 11,5 % (**Tableau IX**).

**Tableau IX : Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations thromboemboliques.**

Biologie		Signe Clinique	
		Manifestations thromboemboliques	
		Effectifs	Pourcentage
anti-β2GPI	IgM	9	11,5 %
	IgG	8	10,3 %
aCL	IgM	33	42,3 %
	IgG	7	9 %
anti-β2GPI_IgG ∩ anti-β2GPI_IgM		9	11,5 %
aCL_IgG ∩ aCL_IgM		5	6,4 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgG		1	1,3 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgM		2	2,6 %
anti-β2GPI_IgM ∩ aCL_IgM		3	3,8 %
anti-β2GPI_IgG + IgM ∩ aCL_IgG + IgM		1	1,3 %

### 3.2.2. Manifestations hématologiques :

Pour les 41 patients aPL (+) présentant des manifestations hématologiques nous avons trouvé que l'aCL\_IgM était l'anticorps le plus fréquent des aPL avec un pourcentage de 48,8 % et quant aux associations, l'anti-β2GPI\_IgM ∩ aCL\_IgM était la plus fréquente avec un pourcentage de 12,2 % (Tableau X).

**Tableau X : Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations hématologiques.**

Biologie		Signe Clinique	
		Manifestations hématologiques	
		Effectifs	Pourcentage
anti- $\beta$ 2GPI	IgM	5	12,2 %
	IgG	4	9,8 %
aCL	IgM	20	48,8 %
	IgG	1	2,4 %
anti- $\beta$ 2GPI_IgG $\cap$ anti- $\beta$ 2GPI_IgM		2	4,9 %
aCL_IgG $\cap$ aCL_IgM		1	2,4 %
anti- $\beta$ 2GPI_IgG $\cap$ aCL_IgG		2	4,9 %
anti- $\beta$ 2GPI_IgG $\cap$ aCL_IgM		1	2,4 %
anti- $\beta$ 2GPI_IgM $\cap$ aCL_IgM		5	12,2 %

**3.2.3. Manifestations articulaires :**

Pour les 65 patients aPL (+) présentant des manifestations articulaires nous avons trouvé que l'aCL\_IgM était l'anticorps le plus fréquent des aPL avec un pourcentage de 46,2 %, alors que pour les associations l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgM  $\cap$  aCL\_IgM était la plus fréquente avec un pourcentage de 7,7 % (Tableau XI).

**Tableau XI : Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations articulaires.**

Biologie		Signe Clinique	
		Manifestations articulaires	
		Effectifs	Pourcentage
anti-β2GPI	IgM	6	9,2 %
	IgG	4	6,2 %
aCL	IgM	30	46,2 %
	IgG	4	6,2 %
anti-β2GPI_IgG ∩ anti-β2GPI_IgM		4	6,2 %
aCL_IgG ∩ aCL_IgM		1	1,5 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgG		1	1,5 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgM		6	9,2 %
anti-β2GPI_IgM ∩ aCL_IgM		5	7,7 %
anti-β2GPI_IgG + IgM ∩ aCL_IgG + IgM		1	1,5 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgG + IgM		1	1,5 %

#### 3.2.4. Manifestations cutanées :

41 patients aPL (+) présentent des manifestations cutanées. Cependant, l'aCL\_IgM était l'anticorps le plus fréquents des aPL avec un pourcentage de 40,5 %, tandis que parmi les associations, la plus fréquente était l'anti-β2GPI\_IgM ∩ aCL\_IgM avec un pourcentage de 10,8 % (Tableau XII).

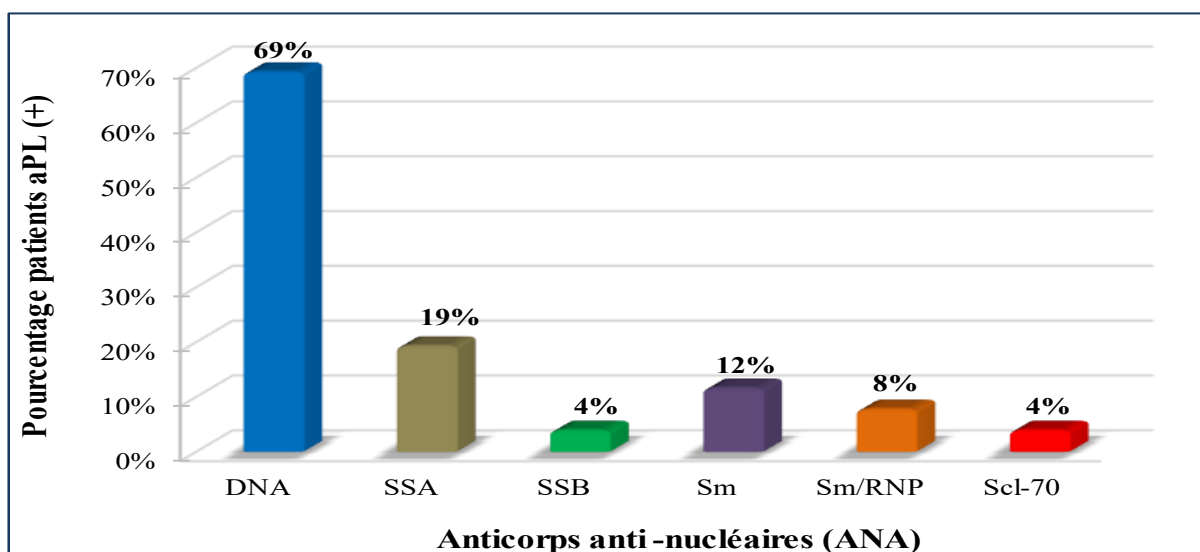
**Tableau XII : Tableau représentatif de la distribution des différents isotypes des aPL et de leurs associations en fonction des manifestations cutanées.**

Biologie		Signe Clinique	
		Manifestations cutanées	
		Effectifs	Pourcentage
anti-β2GPI	IgM	2	5,4 %
	IgG	4	10,8 %
aCL	IgM	15	40,5 %
	IgG	1	2,7 %
anti-β2GPI_IgG ∩ anti-β2GPI_IgM		6	16,2 %
aCL_IgG ∩ aCL_IgM		2	5,4 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgG		1	2,7 %
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgM		1	2,7 %
anti-β2GPI_IgM ∩ aCL_IgM		4	10,8 %
anti-β2GPI_IgM ∩ aCL_IgG + IgM		1	2,7 %

#### 4. La répartition des auto-anticorps associés chez les patients anti-phospholipides positif :

##### 4.1. Répartition des anticorps anti-nucléaires :

Au sein des 225 patients aPL (+), 29 patients ont présenté un screening positif en ANA et ont été lancés en identification, dont 26 patients ayant au moins un titre positif en identification (anti-DNA, anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-Sm/RNP, anti-Scl70, anti-JO-1). En effet, les anticorps anti-nucléaires les plus répandus sont : les anti-DNA 69 %, les anti-SSA 19 % et anti-Sm 12 % suivi des autres qui ne dépassent pas les 10 % (**Figure 16**).



**Figure 16 : Répartition des anticorps anti-nucléaires chez les patients aPL (+).**

## 5. Analyse statistique :

À ce niveau, nous avons tenté d'étudier et de mettre en évidence les différentes associations clinico-démographiques et clinico-biologiques de notre population de 225 patients.

### 5.1. Les associations clinico-démographiques :

Nous avons essayé de déterminer l'association entre les résultats et le sexe ainsi que les manifestations cliniques et le sexe au sein de notre population pour estimer le degré de risque de manifestation de ces dernières en se référant sur la valeur de la P-value et l'OR.

#### 5.1.1. Association entre le sexe et la présence des anticorps anti-phospholipides :

Après avoir effectué une analyse statistique sur l'association entre le sexe et les résultats du test de recherche des aPL, nous n'avons trouvé aucune corrélation significative entre les deux variables avec une P-value = 0,286 et un OR = 1,20. Ce qui signifie que les résultats obtenus ne dépendent pas du sexe des patients (**Tableau XIII**).

**Tableau XIII : Tableau de l'association entre le sexe et les résultats du test de recherche des aPL.**

Sexe / Résultats	Positif	Négatif	P-value	OR
Femmes	172	507	0,286	1,20
Hommes	53	189		

#### 5.1.2. Association entre le sexe et les manifestations thromboemboliques :

Après avoir suivi la même procédure du test précédent, l'association entre le sexe et les manifestations thromboemboliques, aucune corrélation significative entre ces deux variables n'a été trouvée avec une P-value = 0,836 et un OR = 1,07. Cela signifie que les manifestations thromboemboliques ne dépendent pas du sexe des patients (**Tableau XIV**).

**Tableau XIV : Tableau de l'association entre le sexe et les manifestations thromboemboliques.**

Sexe / Manifestations thromboemboliques	Positif	Négatif	P-value	OR
Femmes	59	113	0,836	1,07
Hommes	19	34		

### 5.1.3. Association entre le sexe et les manifestations articulaires :

L'analyse des résultats des tests statistiques entre le sexe et les manifestations articulaires montrent la présence d'une corrélation significative entre les deux variables avec une P-value = 0,028 et un OR = 2,36. Ce qui se traduit par une dépendance des manifestations articulaires au sexe féminin ainsi que le risque de développer des manifestations articulaires est 2,36 fois plus élevé chez les femmes par rapport aux hommes (**Tableau XV**).

**Tableau XV : Tableau de l'association entre le sexe et les manifestations articulaires.**

Sexe / Manifestations articulaires	Positif	Négatif	P-value	OR
Femmes	56	116	0,028	2,36
Hommes	9	44		

### 5.2. Associations clinico-biologiques :

Notre objectif était d'établir toute corrélation entre les signes cliniques et le type d'aPL retrouvés en utilisant à la fois la P-value et l'OR.

#### 5.2.1. Association des aCL et anti- $\beta$ 2GPI et les manifestations thromboemboliques :

Lors de l'analyse statistique de la relation entre l'aCL et/ou l'anti- $\beta$ 2GPI et les événements thromboemboliques, une association significative a été observée entre l'aCL\_IgM et les événements thromboemboliques avec une P-value = 0,001 et un OR = 1,70. Ce qui signifie que les patients aCL\_IgM ont 1,70 fois de développer des complications thromboemboliques par rapport aux patients présentant d'autres isotypes (**Tableau XVI**).

**Tableau XVI : Tableau de l'association des aCL et anti- $\beta$ 2GPI et les manifestations thromboemboliques.**

aPL / Manifestations thromboemboliques	Positif	Négatif	P-value	OR
aCL_IgG	7	7	0,133	1
aCL_IgM	32	53	0,001	1,70
aCL_IgG $\cap$ aCL_IgM	4	6	0,222	1,2
anti- $\beta$ 2GPI_IgG	8	17	0,062	2,25
anti- $\beta$ 2GPI_IgM	9	16	0,075	1,89
anti- $\beta$ 2GPI_IgG $\cap$ anti- $\beta$ 2GPI_IgM	9	11	0,102	1,22

### 5.2.2. Association des aCL et anti-β2GPI et les manifestations articulaires :

En suivant la même méthode d'analyse que précédemment, nous avons trouvé une corrélation significative entre les patients aCL\_IgM ainsi que l'anti-β2GPI\_IgG et les manifestations articulaires avec une significativité de la P-value = 0,0006 et un OR = 1,97 ainsi une P-value = 0,0165 et un OR = 5,5 respectivement. Ce qui signifie que les patients qui présentent des aCL\_IgM ont un risque de 1,97 fois d'avoir des manifestations articulaires et de 5,5 fois pour les patients anti-β2GPI\_IgG (**Tableau XVII**).

**Tableau XVII : Tableau de l'association des aCL et anti-β2GPI et les manifestations articulaires.**

aPL / Manifestations articulaires	Positif	Négatif	P-value	OR
aCL_IgG	4	10	0,1719	2,5
aCL_IgM	30	59	0,0006	1,97
anti-β2GPI_IgG	4	22	0,0165	5,5
anti-β2GPI_IgM	6	20	0,0445	3,33
anti-β2GPI_IgG ∩ aCL_IgM	6	5	0,0637	1,2
anti-β2GPI_IgM ∩ aCL_IgM	5	7	0,1589	1,4

## 6. Répartition des patients positifs aux anti-phospholipides selon les années :

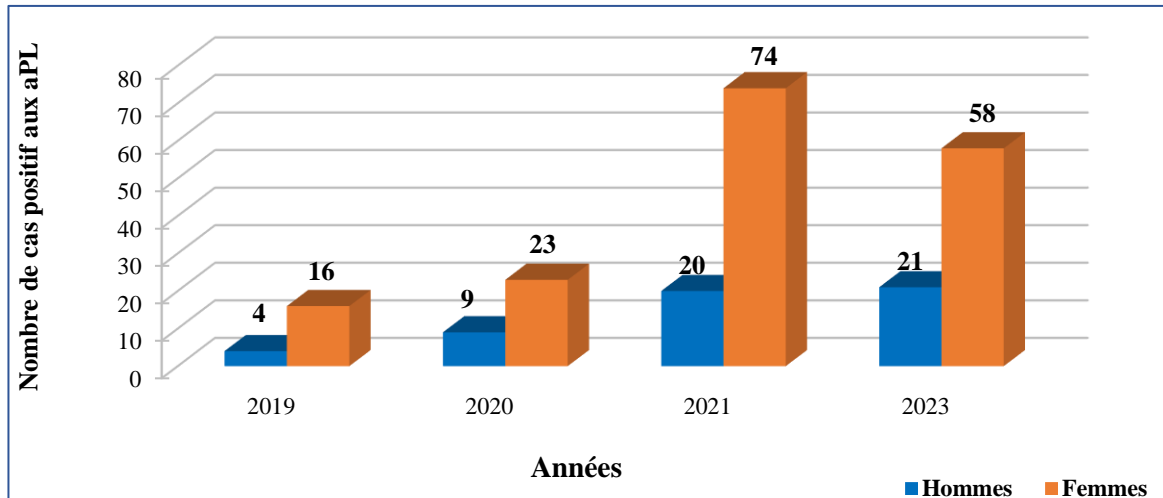
### 6.1. Répartition selon le sexe :

A ce niveau nous avons comparé la prévalence des patients aPL (+) pour les différentes années étudiées en fonction du sexe (**Figure 17**).

Nous avons trouvé que pour toutes les années les femmes présentent plus des aPL (+) que les hommes avec des effectifs suivants :

- 16 femmes contre 4 hommes en 2019 ;
- 23 femmes contre 9 hommes en 2020 ;
- 74 femmes contre 20 hommes en 2021 ;
- 58 femmes contre 21 hommes en 2023 (du 1<sup>er</sup> Janvier au 30 Avril).

**NB** : en 2022, pour cause d'absence de réactifs au sein du laboratoire d'immunologie du CHU NEDIR Mohamed de Tizi-Ouzou, aucune exploration du SAPL n'a été faite.

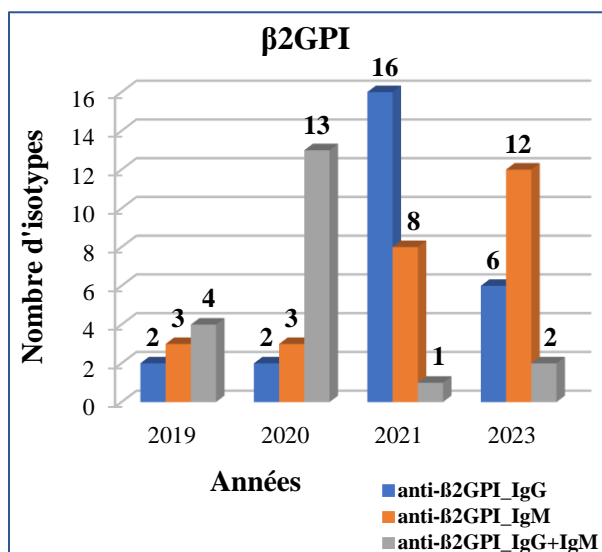


**Figure 17 : Histogramme représentatif de la répartition des patients aPL (+) pour les différentes années (2019, 2020, 2021, 2023) en fonction du sexe.**

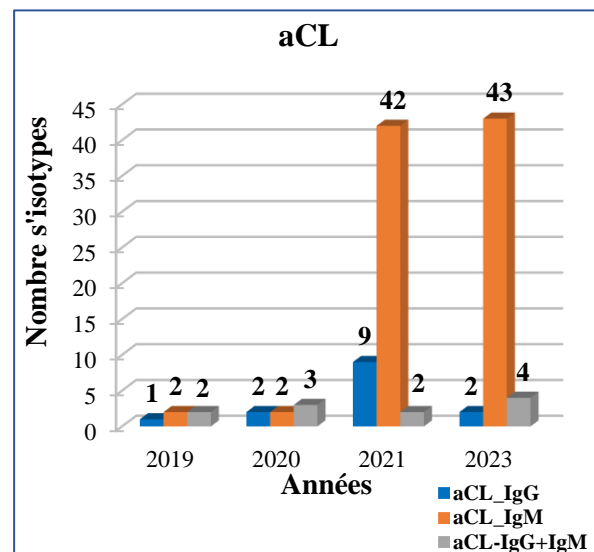
### 6.2. Répartition selon les isotypes des anticorps des patients anti-phospholipides positif :

Nous avons réparti notre population des patients aPL (+) en fonction des types d'anticorps retrouvés par années. A cet effet, nous avons remarqué que pour l'anticorps anti- $\beta$ 2GPI les isotypes les plus fréquents sont : l'association anti- $\beta$ 2GPI\_IgG + anti- $\beta$ 2GPI\_IgM en 2019 et 2020, l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgG en 2021 et l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgM en 2023 (Figure 18).

En ce qui concerne l'aCL, l'isotype aCL\_IgM est le plus fréquent en 2021 et 2023, aCL\_IgG + IgM en 2020 enfin, aCL\_IgM et aCL\_IgG + IgM en 2019 (Figure 19).



**Figure 18 : Histogramme représentatif de la répartition des isotypes de l'anti- $\beta$ 2GPI en fonction des années.**



**Figure 19 : Histogramme représentatif de la répartition des isotypes de l'aCL en fonction des années.**

## II. Discussion :

### 1. Caractéristiques démographiques :

Dans notre étude, les patients de notre cohorte ont un sexe ratio de 3,24 (F/H), 76 % de femmes traduisant une prédominance féminine qui est classique dans la littérature des autres études. Notre ratio est supérieur à l'étude effectuée au sein du CHU de TIZI-OUZOU en 2021 avec un sexe ratio de 2,87 (Hameg et al, 2021). Sur le plan international notre comparaison a montré que notre sexe ratio est presque identique à celui de l'étude chinoise (F/H=3,1) (Mok et al, 2021) et inférieure à celui des études menées au Maroc (Taouti et al, 2018), Qatar (Abdulla et al, 2020), Europe (Cervera et al, 2009), Amérique latine (Garcia-Carrasco et al, 2007) avec des ratios variant de (4,55 à 13,2).

L'âge moyen des patients est de 40,46 ans, ce qui se rapproche des résultats des différentes études réalisées en Europe (42 ans) (Cervera et al, 2009), Maroc (36 ans) (Taouti et al, 2018), Amérique latine (34,4 ans) (Garcia-Carrasco et al, 2007) et (39 ans) pour l'étude du 2021 au CHU de TIZI-OUZOU (Hameg et al, 2021).

Dans la tranche d'âge [30 à 40 ans] nous remarquons une forte prédominance féminine 47,1 % contre 9,8 % pour les hommes. Cette forte prédominance féminine peut être expliquée par l'influence des hormones féminines (progestérones et estrogènes) sur les mécanismes de contrôle de l'auto-immunité (**Tableau IXVIII**).

**Tableau XVIII : Tableau Comparatif des caractéristiques démographiques des différentes études.**

	Nombre d'hommes	Nombre de femmes	Sexe ratio (F/H)	Age moyen	Médiane
<b>Notre étude n=225</b>	53	172	3,24	40,46	39
<b>Etude T-O 2021 n=93</b>	24	69	2,88	39,05	39
<b>Chine n=160</b>	/	/	3,1	44,9	/
<b>Maroc n=54</b>	5	49	9,8	36	/
<b>Qatar n=131</b>	15	116	7,74	/	/
<b>Amérique latine n=100</b>	8	92	12,14	37,4	32,7
<b>Europe n=1000</b>	180	820	5	42	40

## 2. Caractéristiques cliniques :

### 2.1. Signes cliniques :

Pour les signes cliniques, nous avons comparé les résultats des manifestations les plus fréquentes (thromboemboliques et articulaires) de notre cohorte avec ceux de l'étude menée en 2021 au CHU de TIZI-OUZOU (Hameg et al, 2021) ainsi que ceux des autres pays tels que : la Chine (Mok et al, 2021), Maroc (Taouti et al, 2018), Qatar (Abdulla et al, 2020), Europe (Cervera et al, 2009) et l'Amérique latine (Garcia-Carrasco et al, 2007) (**Tableau XIX**).

**Tableau XIX : Tableau comparatif des prévalences des signes cliniques du SAPL des différentes études.**

	Notre étude n=225	Etude T-O 2021 n=93	Chine n=160	Maroc n=54	Qatar n=131	Amérique latine n=100	Europe n=1000
<b>Manifestations thromboemboliques</b>	78 (34,7%)	23 (25%)	130 (81%)	39 (72%)	67 (51,1%)	70 (70%)	637 (63,7%)
<b>Manifestations articulaires</b>	65 (28,9%)	32 (34%)	78 (49%)	/	/	/	682 (68,2%)

Cette différence dans les résultats pourrait-être expliquée par la population ciblée dans les autres études (centrées sur les manifestations classiques du SAPL à savoir manifestations thromboemboliques et/ou complications obstétricales) ainsi que les caractéristiques démographiques et la durée des études qui sont différentes.

## 2.2. Prévalence des isotypes des anticorps anti-phospholipides :

Dans notre étude, les aCL (IgG et/ou IgM) sont retrouvés chez 50,7 % des patients, quant aux anti- $\beta$ 2GPI (IgG et/ou IgM) ils sont retrouvés chez 32 % des patients. Nous avons comparé ces résultats avec ceux de certaines études nationales et internationales (**Tableau XX**).

**Tableau XX : Tableau des prévalences des isotypes des différents aPL dans les différentes études.**

	Notre étude n=225	Etude T-O 2021 n=93	Chine n=160	Maroc n=54	Qatar n=131	Amérique latine n=100	Europe n=1000
<b>aCL_IgG et/ou IgM</b>	114 (50,7%)	66 (71%)	90 (56%)	40 (74%)	54 (41,2%)	88 (88%)	868 (86,8%)
<b>aCL_IgM</b>	89 (39,6%)	17 (18%)	/	33 (61%)	48 (36,6%)	22 (22%)	430 (43%)
<b>aCL_IgG</b>	14 (6,2%)	56 (60%)	/	19 (35%)	15 (11,5%)	66 (66%)	121 (12,1%)
<b>anti-<math>\beta</math>2GPI_IgG et/ou IgM</b>	72 (32%)	47 (51%)	6 (4%)	33 (61%)	53 (40,7%)	12 (12%)	/
<b>anti-<math>\beta</math>2GPI_IgG</b>	26 (11,6%)	31 (33%)	/	28 (52%)	42 (32,1%)	/	/
<b>anti-<math>\beta</math>2GPI_IgM</b>	26 (11,6%)	23 (25%)	/	15 (28%)	19 (14,5%)	/	/

On constate encore une fois une grande différence entre les résultats de ces études. Cette différence pourrait être dû à la présence de différences démographiques ainsi qu'à la durée de l'étude et le suivi des patients.

### 2.3. Associations clinico-démographiques :

#### - Manifestations thromboemboliques :

Nous n'avons trouvé aucune corrélation significative entre le sexe et les manifestations thromboemboliques avec une P-value = 0,836 et OR = 1,07. Contrairement à l'étude faite à TIZI-OUZOU en 2021 (Hameg et al, 2021), où le sexe masculin est associé aux manifestations thromboemboliques avec une P-value = 0,001 et un OR = 5,273 signifiant que les hommes ont 5 fois plus de risque d'avoir des manifestations thromboemboliques que les femmes lors de la présence des aPL.

#### - Manifestations articulaires :

Pour les manifestations articulaires nous avons trouvé une corrélation significative entre le sexe féminin et les manifestations articulaires avec une P-value = 0,028 et un OR = 2,36, ce qui signifie que les femmes ont 2 fois plus de risque de développer des manifestations articulaires par rapport aux hommes, ce qui concorde avec l'étude précédente de 2021 à TIZI-OUZOU (Hameg et al, 2021), dans laquelle ils ont des résultats suivants : P-value = 0,002 et OR = 8,462 signifiant que les femmes ont 8 fois plus de risque par rapport aux hommes.

### 2.4. Associations clinico-biologiques :

Dans notre recherche de corrélations entre les différents signes cliniques (thromboemboliques et articulaires) et les isotypes des aPL, on a retrouvé plusieurs corrélations statistiquement significatives entre les isotypes aCL, anti- $\beta$ 2GPI et les manifestations cliniques :

- Les aCL\_IgM et les événements thromboemboliques avec une P-value = 0,001 ce qui signifie que les manifestations thromboemboliques dépendent de la présence des aCL\_IgM ;
- aCL\_IgM, anti- $\beta$ 2GPI\_IgG et les manifestations articulaires avec des P-value = 0,0006 et 0,0165 respectivement qui signifie que les manifestations articulaires dépendent à la fois de la présence des aCL\_IgM et des anti- $\beta$ 2GPI\_IgG.

Contrairement aux résultats de la méta-analyse de (Kletchermans et al, 2016) où 60 % des études n'ont pas trouvé d'associations significatives.

### **2.5. Auto-anticorps associés :**

Nous avons remarqué que l'anti-DNA représente 69 % des auto-anticorps associés de notre population, suivi de 19% pour les anti-SSA et de 12 % pour les anti-Sm. Ces résultats concordent avec ceux de l'étude de (Ghriss et *al*, 2019) où ils ont trouvé 85,2 % des auto-anticorps anti-DNA. Etant donné que l'anti-DNA est spécifique au érythémateux systémique (LES) ce qui confirme que le SAPL secondaire est plus souvent associé au LES (Meyer, 2005).

### **3. Répartition des patients positifs aux anti-phospholipides depuis le début de la pandémie COVID-19 :**

#### **3.1. Selon le sexe :**

Dans notre étude nous avons remarqué une nette augmentation du nombre de cas d'aPL (+), où les femmes étaient les plus prédominantes par rapport aux hommes avec des pourcentages de 76 % contre 24 % respectivement, depuis 2019 jusqu'au 30 avril 2023. Ces résultats s'opposent aux résultats trouvés dans l'étude menée par (Tang et *al*, 2020) dans laquelle les hommes étaient les plus prédominants avec un pourcentage de 60 %.

#### **3.2. Répartition selon les isotypes des anticorps des patients anti-phospholipides (+) :**

Dans notre étude, les isotypes aCL\_IgM 39,6 % et anti-β2GPI\_IgM 11,6 % étaient les plus fréquents. Contrairement à l'étude menée par (Xiao et *al*, 2020), sur 66 patients COVID-19 dans un état critique, où ils ont trouvé une prévalence de 2 % pour aCL\_IgM et 2 % pour l'anti-β2GPI\_IgM. Concernant l'association des deux aPL, la prévalence de l'association anti-β2GPI\_IgG / aCL\_IgM est de 4,9 % dans notre étude est supérieure à celle trouvée dans l'étude de (Xiao et *al*, 2020) avec un pourcentage de 2 %.

La différence des résultats peut s'expliquer par les caractéristiques démographiques et le choix de la période d'étude. Par ailleurs, Il est important de noter que les anti-cardiolipine IgM peuvent être transitoires liés aux facteurs infectieux et disparaître en quelques semaines chez certains patients et chez d'autres patients génétiquement prédisposés, la COVID-19 peut provoquer le développement du COVID-19 induced APS-like-syndrome (développement du SAPL ou des manifestations similaires au SAPL chez les patients atteints de la COVID-19) (Fatemeh et *al*, 2021).

---

# *CONCLUSION*

---

## CONCLUSION :

Dans ce travail nous nous sommes intéressés principalement à l'étude rétrospective et descriptive d'une population adressée au laboratoire d'immunologie du CHU de Tizi-Ouzou afin d'établir les profils clinico-biologiques chez les patients présentant des anticorps anti-phospholipides.

L'étude a révélé que les femmes étaient les plus touchées 76 % par rapport aux hommes 24 %. Les manifestations thromboemboliques et articulaires étaient les manifestations les plus fréquentes avec des pourcentages de 34,7 %, 28,9 % respectivement. Par ailleurs, pour les anticorps, nous avons trouvés que les anti cardiolipine constituaient plus de la moitié des cas soit 50,7 %, suivi des anti-  $\beta$ 2GPI avec 32 % et enfin 17,3 % pour l'association des deux anticorps anti- $\beta$ 2GPI/aCL. Pour les isotypes, l'aCL\_IgM était le plus fréquent avec un pourcentage de 39,6 %, suivi de l'anti- $\beta$ 2GP\_IgG et de l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgM avec 11,6 % chacun. Nous avons remarqué aussi que les associations les plus fréquentes sont l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgM/aCL\_IgM, l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgG/aCL\_IgM et l'anti- $\beta$ 2GPI\_IgG/aCL\_IgG avec des pourcentages de 5,3 %, 4,9 % et 3,1 % respectivement. Concernant les anticorps associés, les anticorps anti-DNA représentaient 69 % du total des autres auto-anticorps de notre population suivis de 19 % pour les anticorps anti-SSA, et de 12 % pour les anticorps anti-Sm confirmant que le SAPL est le plus souvent secondaire au lupus.

Par la suite, on s'est intéressés aux associations clinico-démographiques et clinico-biologiques chez les patients présentant des aPL : pour les associations clinico-démographiques, nous n'avons trouvé aucune corrélation significative entre le sexe et les manifestations thromboemboliques avec une P-value = 0,836 et un OR = 1,07, par contre nous avons trouvé une corrélation significative entre le sexe féminin et les manifestations articulaires avec une P-value = 0,028 et un OR = 2,36, ce qui signifie que les femmes ont 2 fois plus de risque de développer des manifestations articulaires par rapport aux hommes. Concernant les associations clinico-biologiques, on a retrouvé plusieurs corrélations statistiquement significatives entre aCL\_IgM et les événements thromboemboliques avec une P-value = 0,001 et les aCL\_IgM ainsi que les anti- $\beta$ 2GPI\_IgG et les manifestations articulaires avec des P-value = 0,0006 et 0,0165 respectivement.

Enfin, nous avons comparé la prévalence des aPL au cours des différentes années où nous avons remarqué une nette augmentation du nombre de patients aPL positifs depuis le début de la pandémie de la COVID-19 passant de 20 en 2019 à 94 individus en 2021.

Au terme de ce travail, il serait intéressant dans le futur d'élargir cette étude au niveau national sur une population plus élargie et sur une plus longue durée en collaborations entre

les différents services en mettant à disposition les moyens matériels et un meilleur suivi des patients.

---

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

---

## -A-

**Abdulla Nabeel, Omar Alsaed, Fiaz Alam et al.** (2020). Anti-phospholipid syndrome in Qatar: epidemiological, clinical, and immunological characteristics. *Lupus Science & Medicine*, volume 7, p (A29.2-A29). doi: 10.1136/lupus-2020-eurolupus.50

**Agar C, van Os GMA, Morgelin M, Sprenger RR, Marquart JA, Urbanus RT, et al.** (2010). La 2-glycoprotéine I peut exister sous 2 conformations : implications pour notre compréhension du syndrome des anti-phospholipides. *Blood*, volume 116(8), p (1336). doi: 10.1182/blood-2009-12-260976

**Amigo Mary-Carmen.** (2007). Le cœur et l'APS. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, volume 32, p (178-183). doi: 10.1007/s12016-007-0013-z

**Arvieux J, Darnige L, Caron C, Reber G, Bensa JC, Colomb MG.** (1995). Développement d'un test ELISA pour les autoanticorps dirigés contre la prothrombine montrant leur prévalence chez les patients atteints d'anticoagulants lupiques. *Thrombosis Haemostasis*, volume 74, p (1120-1125).

**Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, et al.** (2000). Association d'auto-anticorps dirigés contre le complexe phosphatidylsérine-prothrombine avec des manifestations du syndrome des anti-phospholipides et avec la présence d'anticoagulant lupique. *Arthritis Rheumatology*, volume 43(9), p (1982).

**Ayesha Butt, Doruk Erkan et Alfred Ian Lee.** (2022). COVID-19 et les anticorps anti-phospholipides. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, volume 35(3). doi.org/10.1016/j.beha.2022.101402

## -B-

**Bertolaccini ML, Roch B, Amengual O, Atsumi T, Khamashta MA, Hughes GR.** (1998). Les tests multiples d'anti-phospholipides n'augmentent pas le rendement diagnostique du syndrome des anti-phospholipides. *Br J Rheumatology*, volume 37(11), p (32-1229).

**Bettacchioli. E, Nafai, S., & Yves, R.** (2019). Actualité et méta-analyse concernant les anticorps anti-bêta 2 glycoprotéines I et leur détermination. *Immunologie clinique*, volume 205, p (106-115). doi:10.1016/j.clim.2019.06.002

**Bonny V, Maillard A, Mousseaux C et al.** (2020). COVID-19 : Physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *La Revue de Médecine Interne*, volume 41(6), p (375-389). doi:10.1016/j.revmed.2020.05.003

**Brodsky Robert A, Chaturvedi Shruti et Keith R. McCrae.** (2019). Complément dans la physiopathologie du syndrome des anti-phospholipides. *Frontiers Immunology*, volume 10, p (449). doi: 10.3389/fimmu.2019.00449

**Bustamante Jean G, Amandeep Goyal, Mayank Singhal.** (2023). Syndrome des anti-phospholipides. *StatPearls*[internet] : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430980/>.

-C-

**Cervera R, M-C Boffa, M Khamashta et al.** (2009). Le projet Euro-Phospholipides : épidémiologie du syndrome des anti-phospholipides en Europe. *Lupus*, volume 18(10), p (889-893). doi: 10.1177/0961203309106832

**Cesarman-Maus Gabriela, Nina P Ríos-Luna, Arunkumar B Deora et al.** (2006). Auto-anticorps dirigés contre le récepteur fibrinolytique, l'annexine 2, dans le syndrome des anti-phospholipides. *Blood*, volume 107(11), p (4375-4382). doi: 10.1182/blood-2005-07-2636

**Cuadrado Maria José, Charo Lope-Pedrerera, Munther A. Khamashta et al.** (2005). Thrombose dans le syndrome des anti-phospholipides primaires. Un rôle central pour l'expression du facteur tissulaire monocytaire. *Arthritis & Rheumatism*, volume 40(5), p (834-841). doi: 10.1002/art.1780400509

-D-

**De Groot PG, RT Urbanus.** (2012). L'importance des auto-anticorps contre la 2-glycoprotéine I. *Blood*, volume 120(2), p (266-274). doi:10.1182/blood-2012-03-378646

**De Laat B, Derksen RH, Mackie IJ, Roest M, Schoormans S, Woodhams BJ, et al.** (2006). Polymorphisme de l'annexine A5 (-1C—>T) et présence d'anticorps anti-annexine A5 dans le syndrome des anti-phospholipides. *Annals of the Rheumatic Disease*, volume 65(11), p (1468).

**Deguchi H, Fernandez JA, Hackeng TA, Banka CL, Griffin H.** (2000). La cardiolipine est un composant normal des lipoprotéines plasmatiques humaines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, volume 97, p (1743).

**Dembitzer FR, Ledford Kraemer MR, Meijer P, Peerschke EIB.** (2010). Test d'anticoagulant lupique: performance et pratiques des laboratoires cliniques nord-américains. *American Journal of Clinical Pathology*, volume 134(5), p (764-73).

**Devreese KMJ, Pierangeli SS, Laat B, Tripodi A, Atsumi T, Ortel TL.** (2014). Test d'anticorps anti-phospholipides avec des tests en phase solide: conseils du SSC de l'ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, volume 12, p (5-792).

-E-

**Erkan Doruk, Joann Harp et Victoria Danan.** (2021). Top 10 des séries : syndrome des anti-phospholipides et problèmes de peau. *Hospital for Special Surgery*.

**Espinosa G, Cervera R, Font J et al.** (2002). Le poumon dans le syndrome des anti-phospholipides. *Annals of the Rheumatic Diseases*, volume 61(3), p (195-198). doi:10.1136/ard.61.3.195

**Espinosa G, Berman H et Cervera R.** (2011). Prise en charge des cas réfractaires du syndrome catastrophique des anti-phospholipides. *Autoimmunity Review*, volume 10 (11), p (664-668). doi : 10.1016/j.autrev.2011.04.031.

-F-

**Fatemeh Bahrmnezhad, Banafsheh Ghorbani, Mysam Ghaedrahamt et al.** (2021). Coronavirus-disease-2019-induced antiphospholipid-like syndrome : a case report. *Journal of medical case report*, 15(408). Doi : 10.1186/s13256-021-02966-4

**Fredi. M, A. Tincani, H.Yin et al.** (2010). IRF5 est associé au syndrome primaire des anti-phospholipides, mais n'est pas un facteur de risque majeur. *Arthrite Rheumatology*, volume 62.

**Fried Michael, Van Ganse Willem et Van Avermaet Steven.** (2002). Thrombose veineuse mésentérique déclenchée par un traumatisme abdominal contondant chez un patient atteint du syndrome des anti-phospholipides primaires. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, volume 14(6), p (697-700).

-G-

**Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T.** (2003). Les anticoagulants lupiques sont des facteurs de risque de thrombose plus forts que les anticorps anti-cardiolipine dans le syndrome des anti-phospholipides : une revue systématique de la littérature. *A chanté*, volume 101(5), p (1827).

**Garcia-Carrasco M, C Galarza, M Gómez-Ponce, et al.** (2007). Syndrome des anti-phospholipides chez les patients latino-américains: caractéristiques cliniques et immunologiques et comparaison avec les patients européens. *Lupus*, volume 16(5), p (366-373). doi: 10.1177/0961203307077108

**Ghriss N, Ben yahia W, Ben Haj Ali E et al.** (2021). Particularité de la péricardite au cours du lupus érythémateux systémique. *La Revue de Médecine Interne*, volume 42, p (A102). Doi : 10.1016/j.revmed.2021.03.032

**Gérardin Christel, Kevin Bihan, Joe Elie Salem et al.** (2022). Syndrome des anti-phospholipides induits par les médicaments : analyse de la base de données internationale de l'OMS. *Autoimmunity Reviews*, volume 21(5) article 103060. doi: org/10.1016/j.autrev.2022.103060

**Gomez-Flores Minerva, Genesis Herrera-Argaez, Osvaldo Vazquez-Martinez et al.** (2021). Manifestations cutanées du syndrome des anti-phospholipides. *Lupus*, volume 30(4), p (541-548). doi:10.1177/0961203321990100

**Gromnica-Ihle Erika et W. Schössler.** (2000). Syndrome des anti-phospholipides. *Archives internationales d'allergie et d'immunologie*, volume 123(1), p (67-76). doi:10.1159/000024425

**Grossi. V et al.** (2019). Deux nouvelles technologies pour la détection d'anticorps anti-cardiolipine et anti glycoprotéine  $\beta$ 2-glycoprotéine dans la vie réelle : chimiluminescente par rapport aux immun essais adressables de billes laser. *Immunological Investigation*, volume 49(1-2), p(58-68). doi: 10.1080/08820139.2019.1647233

## -H-

**Hameg et al.** (2021). Profils clinico-biologiques des patients présentant des anticorps anti phospholipides au niveau du CHU de TIZI-OUZOU. Mémoire de fin d'études en pharmacie, UMMTO, Tizi-Ouzou.

## -J-

**Joste V, et al.** (2017), Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : des critères à la pratique. *La Revue Médecine Interne*, numéro 5320, page 8. doi : 10.1016/j.revmed.2017.02.006

**Jesse Y. Dabit, Maria O. Valenzuela-Almada et al.** (2021). Épidémiologie du syndrome des anti-phospholipides dans la population générale. *Current Rheumatology Reports*, volume 23(85), p (1-9). doi: 10.1007/s11926-021-01038-2

**Jose A. Gómez-Puerta et Cervera Ricard.** (2014). Diagnostic et classification du syndrome des anti-phospholipides. *Journal of Autoimmunity*, volume (48 à 49), p (20-25). doi:10.1016/j.jaut.2014.01.006

## -K-

**Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M.** (2012). Comité britannique pour les normes en hématologie. Lignes directrices sur l'investigation et la prise en charge du syndrome des anti-phospholipides. *British Journal of Haematology*, volume 157(1), p (47–58). doi:10.1111/j.1365-2141.2012.09037.x

**Kelchtermans H, L. Pelkmans, B. de Laat, et K. M. Devreese.** (2016). IgG/IgM anti-phospholipid antibodies present in the classification criteria for the anti-phospholipid syndrome: a critical review of their association with thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, volume 14(8), p (1530-1548). doi: 10.1111/jth.13379

## -L-

**Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al.** (2012). Lignes directrices consensuelles internationales sur les tests d'anti-cardiolipine et d'anti-glycoprotéine  $\beta$ 2-I : Rapport du 13e Congrès international sur les anticorps anti-phospholipides. *Arthritis and Rheumatology*, volume 64(1), p (1–10). doi: 10.1002/art.33349.

**Lambert M, Fauchais A-L, Dubucquoi S, Launay D, Caron C, Prin L, et al.** (2004). Influence de l'hypergammaglobulinémie sur les titres d'anticorps anti-phospholipides. *La Revue Médecine Interne*, volume 25(4), p (4-111). doi: 10.1016/j.revmed.2003.08.007.

**Laura Durcan et Michelle Petri.** (2016). Epidémiologie du syndrome des anti-phospholipides; in «Manuel des maladies auto-immunes systémiques» Syndrome des anti-phospholipides dans les maladies auto-immunes systémiques volume 12 Chapitre 2, p (17–30). doi:10.1016/B978-0-444-63655-3.00002-8

**Le Guern Véronique et François Goffinet.** (2008). Grossesse et anticorps anti-phospholipides. *La Presse Médicale*, volume 37(11), p (1666–1675). doi:10.1016/j.lpm.2008.08.001

**Lourdes Ortiz-Fernández, Amr H Sawalha.** (2019). Génétique du syndrome des anti-phospholipides. *Current Rheumatology Reports*, volume 21(12), page 65 (1-9). doi:10.1007/s11926-019-0869-y

#### -M-

**Masliah-Planchon. J et L. Darnige.** (2012). Anticorps anti-phospholipides et hémostase. *La Revue Médecine Interne*, volume 33(4), p.(181-188). doi: 10.1016/j.revmed.2011.10.008

**Matsuda J, Gotoh M, Saitoh N, Gohchi K, Tsukamoto W, Yamamoto T.** (1994). Anticorps anti-annexine V dans les sérums de patients présentant une perte fœtale habituelle ou une prééclampsie. *Thrombosis Research*, volume 75, p (105).

**Matsuura. E, Shen L, Y Matsunami et al.** (2010). Physiopathologie de la bêta2-glycoprotéine I dans le syndrome des anti-phospholipides. *Lupus*, volume 19(4), p (379-384). doi: 10.1177/0961203310361352

**McIntyre JA, Wagenknecht DR.** (2000). Anticorps anti-phosphatidyléthanolamine : une enquête. *Journal of Autoimmunity*, volume 15, p (93-185). doi: 10.1006/jaut.2000.0425.

**Meijide H, Sciascia S, Sanna G, Khamashta MA, Bertolaccini ML.** (2013). La pertinence clinique des anticorps IgA anti-cardiolipine et IgA anti-β2 glycoprotéine I antiphospholipides : une revue systématique. *Autoimmun Review*, volume 12(3), p (421). doi: 10.1016/j.autrev.2012.08.002.

**Meyer. O.** (2005). Lupus érythémateux systémique. *Rhumatologie Orthopedie*, volume 2(1), page (1-32). Doi : 10.1016/j.emcrho.2004.08.005

**Miyakis. S et al.** (2006). Déclaration de consensus international sur une mise à jour des critères de classification du syndrome des anti-phospholipides défini (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, volume 4(2), p (295 -306). doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x

**Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al.** (2006). Déclaration de consensus international sur une mise à jour des critères de classification du syndrome défini des anti-phospholipides (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, volume 4(2), p (295-306). doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x.

**Mok C, M Lee, C. Leung et al.** (2021). POS0773 Clinical presentation and outcomes of the anti-phospholipid syndrome (APS) in southern chinese patients: the Hong Kong APS registry. *Annales Des Maladies Rhumatismales*, volume (80), p (640-641). doi: 10.1136/annrheumdis-2021-eular.3403

#### -N-

**Noureldine M. H. A, Khamashta M. A, Merashli M et al.** (2016). Manifestations musculosquelettiques du syndrome des anti-phospholipides. *Lupus*, volume 25(5), p (451-462). doi:10.1177/0961203316636467

**-O-**

**Ou Carmi, Berla Maya, Yehudak Shoenfeld et al.** (2017). Diagnostic et prise en charge du syndrome catastrophique des anti-phospholipides. *Expert Review of Hematology*, volume 10(4), p (365-374). doi:10.1080/17474086.2017.1300522

**-P-**

**Pasquali Jean-Louis, Vincent Poindron, Anne-Sophie Korganow et al.** (2008). Le syndrome des anti-phospholipides. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, volume 22(5), p (831-845). doi: 10.1016/j.berh.2008.08.008

**Pasquali Jean-Louis, Vincent Poindron, Anne-Sophie Korganow et al.** (2007). Physiopathologie du syndrome des anti-phospholipides. *Presse Medicale*, volume 36, p (667-673). doi: 10.1016/j.lpm.2006.11.013

**Pelkmans. L et al.** (2013). Variabilité de l'exposition de l'épitope G40-R43 du domaine i dans les tests ELISA commerciaux d'IgG anti-bêta2-glycoprotéine I. *PloS One*, volume 8(8), p (e71402). doi: 10.1371/journal.pone.0071402

**Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al.** (2009). Mise à jour des lignes directrices pour la détection des anticoagulants lupiques. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, volume 10, p (1737). doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03555.x.

**Pengo Vittorio, Amelia Ruffatti, Cristina Legnani et al.** (2011). Incidence d'un premier événement thromboembolique chez les porteurs asymptomatiques du profil d'anticorps anti-phospholipides à haut risque : une étude prospective multicentrique . *Blood*, volume 118(17), p (4714-4718). doi: 10.1182/blood-2011-03-340232

**Pinto-Almeida Teresa, Mónica Caetano, Madalena Sanches et al.** (2013). Manifestations cutanées du syndrome des anti-phospholipides: examen des caractéristiques cliniques, du diagnostic et de la prise en charge. *Acta reumatologica portuguesa*, volume 38(1), p (10-18). PMID: 24131907

**-R-**

**Rao L. V, A. D. Hoang, et S. I. Rapaport.** (1996). Mécanisme et effets de la liaison de l'anticoagulant lupique IgG et de la prothrombine aux phospholipides de surface. *Blood*, volume 88(11), p (4173-4182). doi : 10.1182/blood.V88.11.4173.4173.

**Raschi Elena, Cinzia Testoni, Daniela Bosisio et al.** (2003). Rôle de la voie de signalisation de transduction MyD88 dans l'activation endothéliale par les anticorps anti-phospholipides , *Blood*, volume 101(9), p (3495-3500). doi: 10.1182/blood-2002-08-2349

**Ricard Cervéra.** (2017). Syndrome des anti-phospholipides. *Thrombosis Research*, volume 151, p (43-47).

**Ritis Konstantinos, Michael Doumas, Dimitrios Mastellos et al.** (2006). Une nouvelle diaphonie entre le récepteur C5a et le tissu dans les neutrophiles relie l'immunité innée aux voies de coagulation. *Journal of Immunology*, volume 177(7), p (4794-4802). doi: 10.4049/jimmunol.177.7.4794

**Rodrigues Carlos E.M, Jozélio F. Carvalho et Yehuda Shoenfeld.** (2010). Manifestations neurologiques du syndrome des anti-phospholipides. *European Journal of Clinical Investigation*, volume 40(4), p (350-359). doi:10.1111/j.1365-2362.2010.02263.x

**Romay-Penabad Zurina, Maria Guadalupe Montiel-Manzano, Tuya Shilagard et al.** (2009). L'annexine A2 est impliquée dans les effets pathogènes médiés par les anticorps anti-phospholipides in vitro et in vivo. *Blood*, volume 114(14), p (3074-3083). doi: 10.1182/blood-2008-11-188698

**-S-**

**Samuel Weber et Nathalie Bardin.** (2022). Auto-anticorps anti-phospholipides et Covid-19. Biologie pluridisciplinaire, *Revue Francophone des Laboratoires*, volume (543), p (70-75). doi:10.1016/S1773-035X(22)00218-0

**Sanmarco M, Gayet S, Alessi MC, Audrain M, de Maistre E, Gris JC, et al.** (2007). Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine sont associés à un rapport de cotes accru pour la thrombose. Une étude multicentrique avec la participation du Forum européen sur les anticorps anti-phospholipides. *Thrombosis Haemostasis*, volume 97(6), p (949).

**Sari Weinstein et Warren Piette.** (2008). Manifestations cutanées du syndrome des anticorps anti-phospholipides. *Hematology Oncology Clinic*, volume 22(1), p (67-77). doi: 10.1016/j.hoc.2007.10.011

**Satoh A, Suzuki K, Takayama E, Kojima K, Hidaka T, Kawakami M, et al.** (1999). Détection des anticorps anti-annexine IV et V chez les patients atteints du syndrome des anti-phospholipides et du lupus érythémateux disséminé. *Journal of Rheumatology*, volume 26(8), p (1715).

**Satta Nathalie, Egbert K O Kruithof, Céline Fickentscher et al.** (2011). Le récepteur de type Toll 2 intervient dans l'activation des monocytes humains et des cellules endothéliales par des anticorps anti-phospholipides. *Blood*, volume 117(20), p (5523-5531). doi: 10.1182/blood-2010-11-316158

**Schreiber Karen, Beverley J. Hunt.** (2019). Prise en charge du syndrome des anti-phospholipides pendant la grossesse. *Thrombosis Research*, volume 181(1), p (S41-S46). doi: org/10.1016/S0049-3848(19)30366-4

**Sciascia Savino, Maria José Cuadrado, Dario Roccatello et al.** (2014). Atteinte rénale dans le syndrome des anti-phospholipides. *Nature Reviews Nephrology*, volume 10(5), p (279-289). doi:10.1038/nrneph.2014.38§

**Sefer Gezer.** (2003). Syndrome anti-phospholipides. *Disease-a-Month*, volume 49(12), p (691-742). doi: 10.1016 /j.disamonth.2003.10.001

**Sène Damien, Jean-Charles Piette et Patrice Cacoub.** (2008). Anticorps anti-phospholipides, syndrome anti-phospholipides et infections. *Autoimmunity Reviews*, volume 7(4), p (272-277). doi:10.1016/j.autrev.2007.10.001

**Sfikakis Petros. P, George Markousis-Mavrogenis, , Maria G. Tektonidou et al.** (2020). Imagerie combinée par résonance magnétique cerveau/cœur dans le syndrome des anti-

phospholipides - les deux faces d'une même médaille. *Clinical Rheumatology*, volume 40, p (2559-2568). doi:10.1007/s10067-020-05498-2

**Sibilia. J.** (2002). Aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques du SAPL. *La Lettre du Rhumatologue*. volume 283, p (30-40).

**Simone Negrini, Fabrizio Pappalardo, Giuseppe Murdaca et al.** (2017). Le syndrome des anti-phospholipides : de la physiopathologie au traitement. *Clinical and Experimental Medicine*, volume 17, p (257-267). doi:10.1007/s10238-016-0430-5

**Sorice M, Circella A, Misasi R, Pittoni V, Garofalo T, Cirelli A, Pavan A, Pontieri GM, Valesini G.** (2000). Cardiolipine à la surface des cellules apoptotiques comme déclencheur possible des anticorps anti-phospholipides. *Clinical and Experimental Immunology*, volume 122, p (277–284). doi: 10.1046/j.1365-2249.2000.01353.x

**Stojanovich Ljudmila.** (2006). Manifestations pulmonaires dans le syndrome des anti-phospholipides. *Autoimmunity Reviews*, volume 5(5), p (344-348). doi:10.1016/j.autrev.2006.02.002

#### -T-

**Tang N, Li D, Wang X, Sun Z.** (2020). Des paramètres de coagulation anormaux sont associés à un mauvais pronostic chez les patients atteints d'une nouvelle pneumonie à coronavirus. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, volume 18, p (844–847). doi : 10.1111/jth.14768

**Taouti H.** (2018). Syndrome des anti-phospholipides. Thèse de doctorat MARRAKECH.

**Tenedios. F et D. Erkan.** (2005). Atteinte cardiaque dans le syndrome des anti-phospholipides. *Lupus*, volume 14(9), p (691-696). doi:10.1191/0961203305lu2202oa

**Tomasello Riccardo, Giulio Giordano, Francesco Romano et al.** (2021). Thrombocytopénie immunitaire dans le syndrome des anti-phospholipides : est-elle primaire ou secondaire ?. *Biomedicines*, volume 9(9), 1170. doi: 10.3390/biomedicines9091170

**Tripodi A.** (2007). Tests en laboratoire pour les anticoagulants lupiques : un examen des problèmes affectant les résultats. *Clinical Chemistry*, volume 53(9), p(1629). doi: 10.1373/clinchem.2007.089524

**Tsutsumi A, Hayashi T, Chino Y, Mamura M, Goto D, Matsumoto I, et al.** (2006). Signification des anticorps anti-prothrombine chez les patients atteints de lupus érythémateux disséminé : évaluation clinique du dosage de l'anti-prothrombine et du dosage anti-phosphatidylsérine/prothrombine, et comparaison avec d'autres dosages d'anticorps anti-phospholipides. *Modern Rheumatology*, volume 16(3), p (158-164).

**Turrent-Carriles Alonso, Juan Pablo Herrera-Félix et Mary-Carmen Amigo.** (2018). Atteinte rénale dans le syndrome des anti-phospholipides. *Frontiers in Immunology*, volume 9(1008). doi:10.3389/fimmu.2018.01008

**-U-**

**Urbanus RT, Derksen RHMW, de Groot PG.** (2008). Current insight into diagnostics and pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Blood Reviews*, volume 22(2), p (93–105).

**Uthman Imad, Bertrand Godeau, Ali Taher et al.** (2008). Les manifestations hématologiques du syndrome des anti-phospholipides. *Blood Reviews*, volume 22(4), p (173-194). doi: 10.1016/j.blre.2008.03.005

**-V-**

**Vega-Ostertag M., K. Casper, R. Swerlick, D. Ferrara, E. N. Harris, et S. S. Pierangeli.** (2005). Implication de MAPK p38 dans la régulation à la hausse du facteur tissulaire sur les cellules endothéliales par des anticorps anti-phospholipides. *Arthrite Rheumatology*, volume 52(5), p (1545-1554). doi: 10.1002/art.21009

**-X-**

**Xiao M, Zhang Y, Zhang S, Qin X, Xia P et al.** (2020). Bref rapport : Anticorps anti-phospholipides chez les patients gravement malades atteints de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19). *Arthrite et rhumatologie*, volume 72(12), p (1998-2004). doi:10.1002/art.41425

**-Z-**

**Zhang Jin, Cheng Li, Xiaorong Han et al.** (2021). L'implication du système digestif dans le syndrome des anti-phospholipides : physiopathologie, caractéristiques cliniques et stratégies de traitement. *Annals of Medicine*, volume 53(1), p (1328-1339). doi: 10.1080/07853890.2021.1962964

**Zhou. J, X. Hou, H. Zhang, T. Wang, et L. Cui.** (2018). La performance clinique d'un nouveau dosage immunologique chimiluminescente dans la mesure des anticorps anti-glycoprotéine 1 et anti-cardiolipine. *Medical Science. Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, volume 24, p (6816-6822). doi: 10.12659/MSM.910369

---

# *ANNEXES*

---

# Annexe 1 : Fiche de renseignements cliniques.

Centre Hospitalo-Universitaire Nedir Mohamed de Tizi Ouzou

Service d'IMMUNOLOGIE

Unité auto immunité

Fiche de renseignements pour exploration des maladies Auto-

N° Fiche Navette :

Nom : ..... Prénom : ..... Age : .....

Service : ..... Date du prélèvement : .....

Cachet du médecin traitant : ..... TEL : .....

Date de début des troubles : .....

Signes Cliniques : .....

Données biologiques : .....

Bilan immunologique antérieur : .....

Diagnostic : Suspecté  Etabli  Préciser : .....

## Paramètres demandés

### 1- Exploration des connectivites :

- Recherche des anticorps anti nucléaires :  Si recherche positive :
- Dosage de l'anticorps anti ds DNA
- Recherche d'anticorps anti antigènes nucléaires solubles (SSA, SSB, Sm, Sm/RNP, Scl-70, JO-1)
- Recherche des anticorps anti CCP 3

### 2- Exploration du syndrome des anti phospholipides:

- Anticorps anti B2GPI (IgG/IgM):  Anticorps anti Cardiolipines (IgG/IgM)

### 3- Exploration des Vascularites à ANCA:

- Anticorps anti MPO  Anticorps anti PR3

### 4- Exploration des hépatopathies auto-immunes:

(Anticorps anti F-Actine, LKM-1, LC-1, Mitochondrie, gp210, Sp100)

### 5- Exploration de la maladie coeliaque:

- Anticorps anti transglutaminase (IgA)  Anticorps anti gliadine

### 6- Exploration des myopathies auto-immunes:

(Jo-1, PL-7, PL-12, SRP, Mi-2, MDA-5, TIF1-gamma).

Prélèvement: 01 tube sec à jeûn

## Annexe 2 : Formulaire d'auto immunité.

Centre Hospitalo-Universitaire Nedir Mohamed De Tizi Ouzou

LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE

Unité AUTO IMMUNITE

Nom : «NOM»

Prénom :«PRENOM»

Service :«SERVICE»

Date de prélèvement : «DATE»

N° : «N»

### Exploration du syndrome des anti phospholipides

Paramètre	Résultat	VN
Anti B2GP1-IgG : (ELISA B2GP1 IgG)	<input type="text"/>	< 12.5 SG: Négatif [12.5-20 ]SGU: Indéterminé >20 SGU: positif
Anti B2GP1-IgM : (ELISA B2GP1 IgM)	<input type="text"/>	< 12.5 SMU: Négatif [12.5-20 ]SMU: Indéterminé >20 SMU: positif
ACL-IgG : (ELISA Cardiolipines IgG)	<input type="text"/>	< 12.5 GPL: Négatif [12.5-20 ]GPL: Indéterminé >20 GPL: positif
ACL-IgM : (ELISA Cardiolipines IgM)	<input type="text"/>	< 12.5 MPL: Négatif [12.5-20 ]MPL: Indéterminé >20 MPL: positif

Commentaire :

Signature :

## **Annexe 3: Protocole opératoire de la technique ELISA QUANTA Lite® ACA IgG.**

- 1.** Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (20-26 °c) avant commencer l'essai. Placez le nombre requis de micro-puits/bandes dans le support. Retournez immédiatement les bandes inutilisées dans la poche contenant des desséchants et scellez-les solidement pour minimiser l'exposition à la vapeur d'eau.
- 2.** Ajoutez 100uL de chacun des cinq calibreurs, les échantillons de patients dilués, le contrôle négatif ACA et le contrôle ACA IgG III aux puits.
- 3.** Couvrir les puits et incuber pendant 30 minutes à température ambiante sur une surface plane. Le temps d'incubation commence après le dernier ajout de l'échantillon.
- 4.** Étape de lavage : aspirer soigneusement le contenu de chaque puits. Ajoutez 200-300uL du tampon ACA III PBS dilué à tous les puits, puis aspirez. Répétez cette séquence deux fois de plus pour un total de trois lavages. Inversez la plaque et tapotez appuyez sur un matériau absorbant pour éliminer tout liquide résiduel après le dernier lavage. Il est important de vider complètement chaque puits après chaque étape de lavage. Maintenir la même séquence pour l'aspiration que celle utilisée pour l'addition de l'échantillon.
- 5.** Ajoutez 100uL du conjugué HRP IgG à chaque puits. Le conjugué doit être retiré des botes en utilisant des conditions aseptiques standard et de bonnes techniques de laboratoire. Retirez uniquement la quantité de conjugué de la bouteille nécessaire à l'essai. Pour éviter les potentiels microbien et/ou contamination chimique, ne jamais retourner une bouteille inutilisée se conjuguer avec la bouteille. Incubez les puits pendant 30 minutes comme à l'étape 3.
- 6.** Étape de lavage : Répétez l'étape 4.
- 7.** Ajoutez 100uL de chromogène TMB à chaque puits et incubez dans l'obscurité pendant 30 minutes.
- 8.** Ajoutez 100uL de HRP Stop Solution à chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing de l'ajout de la solution d'arrêt HRP que ceux utilisés pour le chromogène TMB. Taponnez doucement la plaque avec un doigt pour bien mélanger les puits.
- 9.** Lisez l'absorbance (DO) de chaque puits à 450 nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction. Si des mesures bichromatiques sont souhaitées, 620 nm peuvent être utilisés comme longueur d'onde de référence.

## Annexe 4 : Protocole opératoire de la technique ELISA QUANTA Lite® ACA IgG.

### Assay procedure

1. **ALL REAGENTS MUST BE BROUGHT TO ROOM TEMPERATURE (20-26°C) PRIOR TO BEGINNING THE ASSAY.** Place the required number of microwells/strips in the holder. **Immediately return unused strips to the pouch containing desiccants and seal securely to minimize exposure to water vapor.**
2. Add 100µL each of the five calibrators, the **diluted** patient samples, the ACA Negative Control and the ACA IgG III Control to the wells.  
NOTE: Both the ACA IgG III Control and ACA Negative Control are **pre-diluted** and ready to use. The value and acceptable range of the ACA IgG III Control is printed on the vial label. If the Control fails to fall within the acceptable range printed on the label, repeat the run. If upon repeat testing the Control falls outside the stated range, call Inova Technical Service for assistance. It is recommended to run all samples in duplicate.
3. Cover the wells and incubate for 30 minutes at room temperature on a level surface. The incubation time begins after the last sample addition.
4. Wash step: Thoroughly aspirate the contents of each well. Add 200-300µL of the **diluted** ACA III PBS buffer to all wells then aspirate. Repeat this sequence twice more for a total of three washes. Invert the plate and tap it on absorbent material to remove any residual fluid after the last wash. It is important to completely empty each well after each washing step. Maintain the same sequence for the aspiration as was used for the sample addition.
5. Add 100µL of the HRP IgG Conjugate to each well. Conjugate should be removed from the bottles using standard aseptic conditions and good laboratory techniques. Remove only the amount of conjugate from the bottle necessary for the assay. **TO AVOID POTENTIAL MICROBIAL AND/OR CHEMICAL CONTAMINATION, NEVER RETURN UNUSED CONJUGATE TO THE BOTTLE.** Incubate the wells for 30 minutes as in step 3.
6. Wash step: Repeat step 4.
7. Add 100µL of TMB Chromogen to each well and incubate **in the dark** for 30 minutes at room temperature.
8. Add 100µL of HRP Stop Solution to each well. Maintain the same sequence and timing of HRP Stop Solution addition as was used for the TMB Chromogen. Gently tap the plate with a finger to thoroughly mix the wells.
9. Read the absorbance (OD) of each well at 450nm within one hour of stopping the reaction. If bichromatic measurements are desired, 620nm can be used as a reference wavelength.

## **Annexe 5 : Protocole opératoire de la technique ELISA QUANTA Lite® $\beta$ 2GPI IgG.**

- 1.** Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (20-26 °C) avant pour commencer l'essai. Placez le nombre requis de micro-puits/bandes dans le support. Retournez immédiatement les bandes inutilisées dans la poche contenant des desséchants et scellez-les solidement pour minimiser l'exposition à la vapeur d'eau.
- 2.** Ajouter 100uL chacun des cinq calibres, les échantillons de patients dilués, l'ELISA négatif Contrôle et le z GPI IgG ELISA Contrôle aux puits.
- 3.** Couvrir les puits et incuber pendant 30 minutes à température ambiante sur une surface plane. Le temps d'incubation commence après le dernier ajout de l'échantillon.
- 4.** Étape de lavage : aspirer soigneusement le contenu de chaque puits. Ajouter 200-300uL de dilué HRP Laver le tampon sur tous les puits, puis aspirer. Répétez cette séquence deux fois de plus pour un total de trois lavages. Inversez la plaque et tapoter appuyez sur un matériau absorbant pour éliminer tout liquide résiduel après le dernier lavage. Il est important de vider complètement chaque puits après chaque étape de lavage. Maintenir la même séquence pour l'aspiration que celle utilisée pour l'addition de l'échantillon.
- 5.** Ajoutez 100uL du conjugué B2 HRP IgG à chaque puits. Le conjugué doit être retiré des botes en utilisant des conditions aseptiques standard et de bonnes techniques de laboratoire. Retirez uniquement la quantité de conjugué de la bouteille nécessaire à l'essai. Pour éviter une contamination microbienne et/ou chimique potentielle. Ne renverrez jamais le conjugué inutilisé à la bouteille. Incubez les puits pendant 30 minutes comme à l'étape3.
- 6.** Étape de lavage : Répétez l'étape 4.
- 7.** Ajouter 100uL de chrome TMB à chaque puits et incuber dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.
- 8.** Ajoutez 100uL de HRP Stop Solution à chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing de l'ajout de la solution d'arrêt HRP que ceux utilisés pour le chromogène TMB. Taponnez doucement la plaque avec un doigt pour bien mélanger les puits.
- 9.** Lisez l'absorbance (DO) de chaque puits à 450 nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction. Si des mesures bichromatiques sont souhaitées, 620 nm peuvent être utilisés comme longueur d'onde de référence.

## Annexe 6 : Protocole opératoire de la technique ELISA QUANTA Lite® $\beta$ 2GPI IgG.

### Assay procedure

1. **ALL REAGENTS MUST BE BROUGHT TO ROOM TEMPERATURE (20-26°C) PRIOR TO BEGINNING THE ASSAY.** Place the required number of microwells/strips in the holder. **Immediately return unused strips to the pouch containing desiccants and seal securely to minimize exposure to water vapor.**
2. Add 100 $\mu$ L each of the five calibrators, the diluted patient samples, the ELISA Negative Control and the  $\beta$ 2 GPI IgG ELISA Control to the wells.  
NOTE: Both the  $\beta$ 2 GPI IgG ELISA Control and ELISA Negative Control are pre-diluted and ready to use. The value and acceptable range of the  $\beta$ 2 GPI IgG ELISA Control is printed on the vial label. If the Control fails to fall within the acceptable range printed on the label, repeat the run.
3. Cover the wells and incubate for 30 minutes at room temperature on a level surface. The incubation time begins after the last sample addition.
4. Wash step: Thoroughly aspirate the contents of each well. Add 200-300 $\mu$ L of diluted HRP Wash buffer to all wells then aspirate. Repeat this sequence twice more for a total of three washes. Invert the plate and tap it on absorbent material to remove any residual fluid after the last wash. It is important to completely empty each well after each washing step. Maintain the same sequence for the aspiration as was used for the sample addition.
5. Add 100 $\mu$ L of the  $\beta$ 2 HRP IgG Conjugate to each well. Conjugate should be removed from the bottles using standard aseptic conditions and good laboratory techniques. Remove only the amount of conjugate from the bottle necessary for the assay. **TO AVOID POTENTIAL MICROBIAL AND/OR CHEMICAL CONTAMINATION, NEVER RETURN UNUSED CONJUGATE TO THE BOTTLE.** Incubate the wells for 30 minutes as in step 3.
6. Wash step: Repeat step 4.
7. Add 100 $\mu$ L of TMB Chromogen to each well and incubate in the dark for 30 minutes at room temperature.
8. Add 100 $\mu$ L of HRP Stop Solution to each well. Maintain the same sequence and timing of HRP Stop Solution addition as was used for the TMB Chromogen. Gently tap the plate with a finger to thoroughly mix the wells.
9. Read the absorbance (OD) of each well at 450nm within one hour of stopping the reaction. If bichromatic measurements are desired, 620nm can be used as a reference wavelength.