

Ac anti-cardiolipine

Les anticorps anti-cardiolipine (aCL) sont présents dans des circonstances cliniques comparables à celles des anticoagulants de type lupique (lupus anticoagulant [LA] ou anticoagulants circulants [ACC]). Les maladies les plus fréquemment associées sont le lupus, la maladie thromboembolique et les thromboses en général, les avortements à répétition, les cytopénies périphériques autoimmunes et les pathologies infectieuses. Les aCL font partie du syndrome des anticorps anti-phospholipides (SAPL), qui inclut des critères cliniques (thrombose vasculaire ou complications obstétricales) et des critères biologiques.

Les critères du SAPL définis à Sapporo (1999) renaient deux variétés d'autoanticorps détectés par des tests dépendants des phospholipides : les aCL IgG et/ou IgM, recherchés en présence de β 2-glycoprotéine I (β 2GPI) par technique ELISA, et les anticoagulants circulants, recherchés par des tests de coagulation. Au cours de la conférence internationale sur le SAPL à Sydney, le comité d'experts a introduit les anticorps anti- β 2GPI IgG et/ou IgM comme nouveaux critères biologiques. L'un ou plusieurs de ces éléments (LA, aCL et anti- β 2GPI) doivent être présents à au moins deux occasions espacées de 12 semaines au minimum, au lieu des 6 semaines d'intervalle établies à Sapporo. Le taux de recouvrement de LA et d'aCL n'est que de 60 % : leur recherche conjointe améliore la sensibilité et la spécificité de ces tests.

La cardiolipine est un phospholipide anionique et les aCL révélés par ELISA reconnaissent aussi les autres phospholipides anioniques. C'est le phospholipide le plus utilisé : recommandations internationales, primauté historique, efforts de standardisation...

La cardiolipine est absente de la surface cellulaire, et constitue un élément majeur de la membrane interne des mitochondries. Sa présence dans le plasma a été établie, associée à des lipoprotéines (LDL) et à la surface de cellules apoptotiques.

Historique

En 1906, August Wasserman applique au diagnostic de la syphilis la réaction de fixation du complément décrite par Bordet et Gengou en 1900 (réaction de Bordet-Wasserman [BW]). L'antigène est extrait à partir d'organes riches en tréponèmes de patients syphilitiques. Landsteiner montre en 1907 que l'antigène peut être remplacé par un extrait d'organes d'animaux sains, notamment un extrait alcoolique de cœur de bœuf. La réaction sera ensuite remplacée par un test de floccula-

tion sur lame, le VDRL (*veneral disease research laboratory test*). Mary Pangborn montre en 1941 que le composant principal de cet extrait est un phospholipide qu'elle appelle « cardiolipine » (en français, on devrait dire cardiolipide) qui sera ensuite reconnu comme le diphosphatidylglycérol. Pendant toutes ces années, on mettra en évidence des sérologies positives chez des patients qui ne sont pas syphilitiques. En 1952, le terme de « sérologie syphilitique faussement positive » est introduit par Moore et Mohr ; on l'observe au cours d'autres maladies infectieuses et au cours de maladies autoimmunes, notamment le lupus systémique. L'ACR (American College of Rheumatology) mentionne cette sérologie comme un des critères diagnostiques de ce dernier. En 1983, Harris met au point une technique RIA de recherche directe des aCL, utilisant des tubes recouverts de cardiolipine purifiée, rapidement remplacée par une technique ELISA. Cette technique est 2 à 400 fois plus sensible que le VDRL. Il observe que les aCL sont corrélés avec les LA et la survenue de thromboses. En 1985, Hughes évoque l'existence d'un « syndrome des anticorps anti-cardiolipides » et Harris, en 1987, montre que le sérum de ces patients réagit avec d'autres phospholipides et définit le « syndrome des anticorps anti-phospholipides » (SAPL), associant aPL, thromboses veineuses ou artérielles, pertes fœtales à répétition, thrombopénie. Le SAPL primaire, survenant chez des patients non lupiques, est décrit par Asherson en 1988. La notion de dépendance d'un cofacteur protéique est décrite par McNeil en 1990 (β 2GPI) et par Bewers en 1991 (prothrombine). Un premier test ELISA direct anti- β 2GPI est mis au point par Viard en 1991, mais il faudra attendre d'observer la nécessité de fixer la β 2GPI sur une surface chargée négativement (phospholipides, puis polystyrène irradié) pour disposer d'une méthode directe sensible ELISA- β 2GPI : seuls les aPL associés aux thromboses sont positifs, au contraire des aPL rencontrés au cours de la syphilis et d'autres maladies infectieuses.

Sur le plan physiopathologique, dans les accidents obstétricaux, les aCL seraient responsables d'un mécanisme thrombogène, par liaison de ces anticorps à leurs cofacteurs, la β 2GPI et la prothrombine.

Cardiolipine

Les aCL reconnaissent la cardiolipine oxydée et d'autres phospholipides anioniques : phosphatidylsérine, phosphatidylinositol. La cardiolipine s'oxyde rapidement à l'air : les aCL reconnaîtraient des néo-épitopes présents sur la cardiolipine oxydée ou générés par la formation de complexes entre CL oxydée et β 2GPI. Si cette oxydation est prolongée, la réactivité

des sérums de patients ayant un SAPL augmenté, mais aussi celle des sérums normaux. C'est pourquoi la standardisation de la fixation de la cardiolipine est importante, de même que les conditions de conservation des plaques, une fois la trousse entamée.

Les tests ELISA détectent deux types d'anticorps :

- les aCL « vrais » sont ceux qui reconnaissent la cardiolipine en l'absence de cofacteur protéique. Ils sont rencontrés au cours d'infections, leur présence est transitoire (< 12 semaines) ;
- les aCL « dépendants » sont ceux qui nécessitent la présence d'un cofacteur plasmatique dans le milieu réactionnel et qui reconnaissent le complexe formé par ce cofacteur et la cardiolipine, voire le cofacteur lui-même. Ils sont rencontrés au cours de maladies autoimmunes comme le SAPL. Leur présence est durable.

Le cofacteur principal des aCL est la β 2GPI, mais d'autres cofacteurs ont été décrits ces dernières années : la prothrombine, la thrombomoduline, l'annexine V, la protéine C, la protéine S. Mais, en plus du rôle de cofacteur pour la liaison des anti-phospholipides (aPL), certaines de ces protéines sont la cible directe des aPL, et sont aussi associées aux manifestations du SAPL, comme les anti-prothrombine et anti-annexine V.

Les aCL sont dans la majorité des cas d'isotype IgG au cours du SAPL. Les IgM aCL sont plus rares et presque toujours associées aux IgG. La présence d'IgM aCL isolées est le plus souvent transitoire et associée à une infection ou à la prise de certains médicaments (anti-épileptiques). Il existe néanmoins d'authentiques SAPL ayant pour seul marqueur les IgM aCL.

Les IgA sont rares et toujours associées aux IgG, leur recherche présente donc peu d'intérêt et n'a pas été retenue comme critère biologique du SAPL.

Méthodes de détection

Les aCL sont habituellement recherchés par ELISA. D'autres techniques sont théoriquement possibles (FAST, cytométrie sur fluorosphères...) mais les efforts de standardisation portent avant tout sur la technique par ELISA.

Au cours de la réaction ELISA, la β 2GPI peut être apportée au moment du *coating* avec la cardiolipine, donc sur phase solide, ou dans le tampon de saturation ou de dilution des échantillons. De la quantité de β 2GPI et de sa qualité dans le milieu réactionnel (sérum animal, β 2GPI humaine purifiée) dépendent la sensibilité et la spécificité du test.

La recherche se fait sur sérum ou sur plasma ; elle ne semble pas être affectée par la présence de plaquettes

résiduelles ni par la présence de l'anticoagulant. Des congélations-décongélations successives sont à éviter car elles provoquent une diminution du taux des anticorps. Le chauffage à 56 °C, parfois utilisé pour inactiver le VIH, provoque l'agrégation des IgG, à l'origine de faux positifs.

Les trousse commercialisées utilisent des standards internes dont la valeur a été définie par rapport à des sérums produits par l'université de Louisville (États-Unis), appelés communément « standards Harris », exprimés en unités GPL (IgG) ou MPL (IgM). Une unité GPL ou MPL correspond à une concentration d'aCL de 1 μ g/ml. Il y a peu de concordance entre les lots de standards qui ont été produits : cela a pour conséquence des disparités entre les trousse, selon qu'elles ont été standardisées avec tel ou tel lot de standard Harris (les aCL peuvent avoir des taux variant 2 à 3 fois, selon la trousse). Comme pour toutes les techniques ELISA, la détermination du seuil de positivité est délicate. Les taux des anticorps dans les populations saines ne sont pas distribués de façon normale et varient avec la source de l'antigène utilisé (étalonnage à chaque changement de lot d'antigène).

Dans le but d'améliorer la comparabilité interlaboratoire, le comité d'experts internationaux réunis à Sydney a émis deux recommandations importantes : l'utilisation des percentiles pour la détermination du seuil de positivité, et, pour les dosages d'aCL et d'anti- β 2GPI, l'utilisation d'anticorps monoclonaux, dirigés contre la cardiolipine et la β 2GPI : HCAL, anticorps chimérique humain/murin, dont les domaines constants de la chaîne γ sont humains, et EY2C9 IgM humaine. Ils sont appelés « standards de Sapporo » et sont disponibles auprès de certaines sociétés.

La quantification des résultats est importante, puisqu'il existe une corrélation entre le taux des aCL (notamment les IgG) et le risque de thrombose. En revanche, on observe des taux d'aCL faibles à modérés dans les contextes de fausses couches spontanées répétées. Les critères de Sydney précisent dans la définition du SAPL que les aCL IgG ou IgM doivent être supérieurs à 40 U GPL ou MPL, ou supérieurs au 99^e percentile, à 2 occasions séparées d'au moins 12 semaines, mais de moins de 5 ans. Dans le SAPL, les taux d'anticorps fluctuent peu au cours du temps, mais peuvent chuter en cas d'accident thrombotique aigu, de syndrome néphrotique ou de traitement immunosuppresseur. Les aCL peuvent être positifs transitoirement, sans relation avec le SAPL, au cours de nombreuses circonstances (infections bactériennes, parasitaires, virales, en particulier dans l'infection à HCV et VIH). Ils peuvent aussi être détectés chez le sujet âgé sain (12–55 % des cas), dans les cancers, la sclérose en plaques (13 %, sans signe

clinique de SAPL), la drépanocytose, et en cas d'hypergammaglobulinémie (> 16,5 g/l). Dans le SAPL, les aCL ont une sensibilité de 87 % mais une spécificité de 54 %, comparées aux performances des anti- β 2GPI qui sont respectivement de 54 % et 98 %.

Pour faciliter leur interprétation, leur association au dosage des anti- β 2GPI et à la recherche de LA est recommandée.

☞ *Ac anti- β 2-glycoprotéine I, Ac anti-phospholipides, Anti-coagulants circulants, Thrombose (bilan de)*



Lejeune V.

Fausses couches spontanées précoces répétées : quelle prise en charge proposer en 2006 ?

Gynécol Obstét Fertil 2006 ; 34 : 927-937.

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS).

J Thromb Haemost 2006 ; 4 : 295-306.

Sanmarco M.

Le syndrome des antiphospholipides : définition et exploration biologique.

Biologiste infos 2006 ; N° 23 : 29-33.