

Apport du laboratoire d'hémostase dans la gestion du risque thrombotique associé au Covid-19

Management of the thrombotic risk associated with COVID-19: what is the role of the hemostasis laboratory?

Michael Hardy^{1,2}
Jonathan Douxfils^{3,4}
Jean-Michel Dogné³
Sarah Lessire²
Bernard Chatelain¹
Sophie Testa⁵
Isabelle Gouin-Thibault⁶
Yves Gruel⁷
Thomas Lecompte⁸
François Mullier¹

¹ Laboratoire d'hématologie, Namur Thrombosis and Hemostasis Center (NTHC), Université catholique de Louvain, CHU UCL Namur, Yvoir, Belgique

² Service d'anesthésiologie, Namur Thrombosis and Hemostasis Center (NTHC), Université catholique de Louvain, CHU UCL Namur, Yvoir, Belgique

³ Département de pharmacie, Namur Thrombosis and Hemostasis Center (NTHC), Université de Namur, Namur, Belgique

⁴ Qualiblood s.a., Namur, Belgique

⁵ Haemostasis and Thrombosis Center, Cremona Hospital, Crémone, Italie

⁶ Inserm, CIC 1414 (Centre d'investigation clinique de Rennes), Université de Rennes, CHU de Rennes, Département d'hématologie biologique, Rennes, France

⁷ Laboratoire d'hématologie-hémostase, CHRU de Tours, Hôpital Trousseau, Tours, France

⁸ Département de médecine, Hôpitaux universitaires de Genève, Service d'angiologie et d'hémostase et Faculté de médecine Geneva Platelet Group (GpG), Université de Genève, Genève, Suisse

Résumé. Le Covid-19 s'accompagne de troubles de l'hémostase et d'une majoration importante du risque thrombotique. Les tests courants d'hémostase - temps de céphaline avec activateur (TCA), temps de Quick, mesure de la concentration plasmatique de fibrinogène et des D-dimères - sont utilisés pour l'évaluation du risque thrombotique et pour le suivi, mais sont sujets à plusieurs limitations pouvant affecter les résultats. Le suivi du traitement par héparine représente un autre défi pour le laboratoire d'hémostase. Entre autres, les outils pour le suivi de l'administration d'héparine non fractionnée restent l'objet de discussion, et particulièrement dans ce contexte très inflammatoire. Cette revue considère la place des tests d'hémostase dans la prise en charge du Covid-19 et discute leurs principales limitations à prendre en considération.

Mots clés : thrombose, D-dimères, anticoagulation, Covid-19, coagulopathie

Abstract. COVID-19 is associated with disturbances of hemostasis in the laboratory and an increased thrombotic risk. Routine laboratory tests - activated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time, Clauss fibrinogen and D-dimers levels measurement - are used for the evaluation of the thrombotic risk and the monitoring of hemostasis, but are subject to several drawbacks that may affect the reliability and clinical relevance of the delivered results. Another challenge for the hemostasis laboratory is the monitoring of heparin treatment. For instance, the issue of the monitoring of unfractionated heparin remains debated, the more so when there is a tremendous inflammatory response. This brief review considers the role of laboratory tests of hemostasis in the management of COVID-19 and discusses their main limitations to be kept in mind.

Key words: thrombosis, D-dimers, anticoagulation, COVID-19, coagulopathy

Article reçu le 26 mai 2020,
accepté le 23 juin 2020

Correspondance : F. Mullier
<francois.mullier@uclouvain.be>

Depuis le début de l'épidémie de Covid-19 en décembre 2019, de plus en plus de données s'accumulent identifiant un risque thrombotique majeur chez les patients atteints, qui pourrait expliquer une part substantielle de la morbi-mortalité associée à l'infection. Les premières observations en Chine ont fait état d'une élévation marquée de la concentration plasmatique des D-dimères, associée à un pronostic défavorable et un risque thrombotique majeur [1]. Une méta-analyse récente a démontré l'association entre plusieurs marqueurs inflammatoires (incluant, protéine C-réactive (CRP), procalcitonine, IL-6 et ferritine) avec la sévérité du Covid-19 [2]. Bien qu'une héparinothérapie à doses préventives semble réduire significativement la mortalité des patients Covid-19 sévères et satisfaisant les critères de la 'coagulopathie' (terme usuel qui englobe les altérations de tous les secteurs l'hémostase, au-delà de la coagulation) induite par le sepsis [3], plusieurs études ont identifié une haute incidence d'événements thromboemboliques veineux malgré une thromboprophylaxie systématique, soulevant la question de l'intérêt d'une anticoagulation plus efficace [4-6]. En ce sens, plusieurs groupes d'experts recommandent l'instauration d'une anticoagulation prophylactique à doses majorées chez les patients à risque thrombotique plus élevé [7]. Ce type de recommandation n'est néanmoins pas partagé par d'autres groupes ou sociétés professionnelles [8].

Les spécificités des troubles de l'hémostase associés au Covid-19, si elles existent, sont encore largement inconnues. De manière générale, les tableaux d'inflammation pulmonaire sévères (de type 'syndrome de détresse respiratoire aigu' ou SDRA) sont associés à un risque thrombotique important, dont les principaux mécanismes incluent une expression locale accrue de facteur tissulaire et sa libération suite aux lésions endothéliales (avec initiation de la génération de thrombine), et une inhibition de la fibrinolyse en réponse à l'« orage cytokinique » caractérisé par une production considérable de TNF α , d'IL-1, et d'IL-6 [9, 10]. Une incidence élevée d'événements thromboemboliques sous thromboprophylaxie (résistance clinique à l'héparine) a d'ailleurs déjà été rapportée dans ce contexte de sepsis [14]. Il est important de noter que les anomalies de l'hémostase et les mécanismes de résistance à l'héparine restent encore à étudier dans le Covid-19.

Une hypofibrinolyse a été identifiée au cours de l'infection par SARS-CoV-2 [15], qui contraste avec l'élévation marquée de la concentration plasmatique de D-dimères. De plus, des concentrations plasmatiques d'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) jusqu'à six fois supérieures ont été mises en évidence chez les patients Covid-19 par rapport à des patients sans infection [16]. L'élévation initiale du t-PA est transitoire, et celui-ci est rapidement inhibé par le PAI-1 (origines possibles : endothélium et plaquettes) ;

l'élévation de la concentration plasmatique du PAI a été associée à un pronostic défavorable [11-13].

Des biomarqueurs de l'activation de la coagulation *in vivo* autres que les D-dimères, comme les complexes solubles de fibrine, pourraient être utiles dans l'évaluation du risque thrombotique, mais leur intérêt pratique exact reste encore à préciser. Dans ce texte, nous utiliserons le terme court usuel 'D-dimères' pour désigner les produits (solubles) de dégradation de la fibrine contenant le motif 'D-dimère' et celui de complexes solubles de fibrine (CSF) pour désigner un complexe soluble contenant un ou plusieurs monomères de fibrine complexés avec deux molécules de fibrinogène ou avec des produits de dégradation du fibrinogène (ou même de la fibrine) (tableau 1).

Evaluation de l'hémostase au laboratoire

Le Covid-19 s'accompagne de troubles de l'hémostase avec majoration importante du risque thrombotique. De nombreuses études mettant en relation une élévation de la concentration plasmatique des D-dimères avec un pronostic défavorable chez ces patients [1, 19]. Différents seuils ont été proposés pour identifier les malades à haut risque de mortalité, comme par exemple, 1 000-3 000 ng/mL [19-21], le plus souvent sur la base d'études rétrospectives de puissance limitée et méthodologiquement peu détaillées. La concentration plasmatique en D-dimères à l'admission pourrait également être prédictive du risque d'événement thromboembolique selon plusieurs équipes [19, 22, 23]. Cependant, en présence d'une inflammation pulmonaire importante, observée dans les cas les plus graves de Covid-19, des dépôts de fibrine peuvent se former dans les alvéoles [24]. Cette quantité importante de fibrine extravasculaire a été récemment confirmée par une série d'autopsies de patients décédés du Covid-19 [25]. La lyse de cette fibrine, principalement assurée par l'activateur du plasminogène de type 'urokinase' (uPA), pourrait également contribuer à la majoration plasmatique observée des D-dimères, et ces derniers ne sont donc pas le reflet exclusif d'une activation intravasculaire de la coagulation [26, 27]. La mesure de la concentration plasmatique des D-dimères a néanmoins été retenue par certains groupes d'experts comme un critère de laboratoire sur lequel se fonder, en complément des critères cliniques, pour stratifier les patients Covid-19 selon leur risque thrombotique, et proposer une intensité d'anticoagulation souhaitable. Par exemple, le Groupe d'intérêt en hémostase périopératoire (GIHP) de la Société française d'anesthésie-réanimation (SFAR) avec le Groupe français d'études sur l'hémostase et la thrombose (GFHT) classent les patients avec une

Tableau 1. Définition des D-dimères, monomères de fibrine, produits de dégradation du fibrinogène et produits de dégradation de la fibrine.

Entité	Définition	Anticorps monoclonaux
Eléments plurimoléculaires contenant le motif 'D-dimère'	Ces éléments plurimoléculaires (leur origine est la fibrine polymérisée) sont solubles et comprennent le motif 'D-dimère'. Ils sont produits par l'action de la plasmine sur le réseau de fibrine stabilisé par le facteur XIIIa	Nodules 'D' de deux molécules de fibrine adjacentes dans le réseau de fibrine, liés covalamment par le facteur XIIIa
Complexes solubles de fibrine	Complexes solubles formés de monomère(s) de fibrine complexé(s) à des molécules de fibrinogène ou à des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine	desAA-fibrine (fibrine résultant de la perte des fibrinopeptides A du fibrinogène)
Produits de dégradation du fibrinogène	Molécules produites par l'action de la plasmine sur le fibrinogène (du fait d'une fibrinolyse systémique)	Nodule 'D' ou 'E' du fibrinogène : présent sur le fibrinogène, la fibrine et leurs produits de dégradation respectifs ; le fibrinogène doit dès lors être éliminé préalablement pour ne pas être mesuré
Produits de dégradation de la fibrine	Terme général regroupant les éléments moléculaires solubles produits lors de la dégradation de la fibrine polymérisée, qu'elle provienne d'un thrombus ou non	

concentration plasmatique des D-dimères $> 3\,000$ ng/mL dans une catégorie à très haut risque thromboembolique, et proposent l'instauration d'une thromboprophylaxie à dose majorée chez ces patients [7]. Chez les patients à haut risque thromboembolique, d'autres auteurs recommandent également de poursuivre une thromboprophylaxie après la sortie d'hospitalisation pour une durée maximale de 45 jours après évaluation individuelle de la balance bénéfice/risques [28]. Néanmoins, la variabilité entre les différentes méthodes de mesure des D-dimères pose question quant à l'utilisation d'un seuil unique [29] ; l'augmentation de la concentration plasmatique des D-dimères sous thromboprophylaxie devrait également inciter à une majoration de la cible d'anticoagulation, et éventuellement à la recherche d'événement thrombotique en cas de majoration importante.

Les individus plus gravement atteints (non survivants ou admis aux soins-intensifs) présentent également un temps de Quick un peu plus long que les patients au pronostic plus favorable [30, 31]. Le TCA est en général proportionnellement moins allongé que le temps de Quick, probablement suite à l'augmentation de la concentration plasmatique en facteur VIII (protéine de la phase aiguë) [30, 31]. Une numération plaquettaire faible à l'admission (essentiellement lorsqu'inférieure à 200 G/L), de même qu'une diminution de cette dernière au cours du séjour hospitalier ont également été associées à un risque accru de mortalité [32]. Des concentrations plasmatiques élevées en fibrinogène, facteur VIII et facteur de von Willebrand ont été aussi rapportées, conséquences de l'inflammation (protéines de la phase aiguë) et de l'activation endothéliale observées au cours de l'infection.

La coagulopathie du Covid-19 n'évolue vers une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), définie selon les critères de l'ISTH par une consommation des plaquettes et du fibrinogène associée à une majoration du temps de Quick et d'un marqueur de formation de fibrine (D-dimères ou CSF, le premier étant le plus utilisé en Europe) [33], que chez une minorité de patients plus gravement atteints [31]. Parmi ces critères de laboratoire, la présence d'une hypofibrinogénémie (< 1 g/L) est un critère tardif, et n'est trouvée que dans moins de 50 % des cas [34]. Cette observation peut entre autres s'expliquer par une majoration de la synthèse hépatique de fibrinogène en présence d'un syndrome inflammatoire important, maintenant des concentrations plasmatiques normales - voire élevées malgré un début de consommation. Il a également été rapporté que 30 % des patients atteints de Covid-19 présentaient un raccourcissement du temps de Quick suite à l'augmentation de la concentration plasmatique du fibrinogène [35]. Dans ce contexte, l'identification d'une CIVD débutante peut donc être retardée, et le suivi longitudinal régulier de ces paramètres est nécessaire pour alerter précocement sur la possible survenue de cette complication.

Le suivi de la concentration plasmatique des D-dimères et du fibrinogène, de la numération plaquettaire et du temps de Quick a été proposé toutes les 48 heures afin de réévaluer de manière régulière le risque thrombotique des patients, mais surtout pour alerter de la possible survenue d'un événement thrombotique veineux (majoration marquée de la concentration plasmatique des D-dimères sur 24 à 48h) [7, 16]. Une élévation de la concentration plasmatique des D-dimères sous traitement anticoagulant peut également faire envisager une majoration de la cible (si elle n'est pas déjà

Tableau 2. Indications et limitations des tests disponibles au laboratoire d'hémostase.

	Limitations notables	Indications dans le Covid-19				
		Évaluation du risque thrombotique lié au syndrome inflammatoire	Dépistage d'événements thrombo-emboliques	Valeur pronostique de la sévérité	Diagnostic de CIVD	Détection TIH
D-dimères	Seuils de décision non interchangeables entre les troussees Performance analytique moindre dans les valeurs hautes Production dépendante de l'activité fibrinolytique	x	x	x	x	
Fibrinogène (Clauss)	Manque de sensibilité pour le diagnostic de CIVD (surtout en situation inflammatoire/infectieuse) Possibilité d'interférence des inhibiteurs directs de la thrombine avec certains réactifs	x		x	x	
Numération plaquettaire	Diagnostic différentiel large			x	x	x
Temps de Quick	Influence de la phase préanalytique				x	
Complexes solubles de fibrine	Manque de validation Non évalués dans le Covid-19 Seuils de décision non interchangeables entre les troussees		x		x	
TCA	Influence importante de la phase préanalytique Sensibilité à l'héparine et aux interférences variables selon les réactifs utilisés Impact d'un syndrome inflammatoire important ou d'un anticoagulant dit de type lupique					x
Activité anti-Xa	Variabilité entre les troussees. Prendre en compte si AT exogène amenée dans la réaction d'inhibition du facteur Xa Coût Disponibilité 24h/24 7j/7					x

au maximum), après évaluation du risque hémorragique associé.

Dans ce contexte, d'autres biomarqueurs de la formation de fibrine *in vivo* pourraient apporter un bénéfice dans la prise en charge, comme par exemple la concentration plasmatique des CSF. Ce test consiste à mesurer la concentration plasmatique de complexes solubles constitués de monomères de fibrine et de molécules de fibrinogène et/ou de produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène. Les complexes solubles de fibrine seraient un marqueur plus précoce de la CIVD que les D-dimères, ces derniers n'augmentant que lorsque la lyse du caillot débute. Ils pourraient permettre d'évaluer de manière plus précise la coagulopathie associée au Covid-19, particulièrement en cas de perturbation de la fibrinolyse [36]. La mesure dans le plasma des CSF a d'ailleurs été proposée par certains à la place de celle des D-dimères dans le score de diagnostic de la CIVD de l'ISTH et la Société japonaise de thrombose hémostasie (JSTH) [37]. Cependant, des valeurs seuils de décision sont variables d'une trousse à l'autre et ne sont pas encore validées en clinique [38]. La trousse STA-Liatest FM® (Stago, Asnières-sur-Seine), utilise un anticorps monoclonal (F405) spécifique des monomères de fibrine. Cet anticorps est produit en utilisant comme immunogène de la desAA-fibrine, produite par clivage enzymatique du fibrinogène par action de batroxobin (reptilase) et libération uniquement des fibrinopeptides A en présence d'un peptide anti-polymérisation (Gly-Pro-Arg-Pro, GPRP) ; cette fibrine est insensible à l'action du facteur XIIIa [39]. L'évaluation des performances des laboratoires au moyen d'un contrôle de qualité externe organisé par la société Probioqual a montré un CV inter-laboratoire aux alentours de 30 % pour les 3 niveaux de contrôle étudiés. La demi-vie des CSF est légèrement plus courte que celle des D-dimères (quelques heures), bien que variable en fonction du contexte clinique (taille et éventail des molécules produites, activité fibrinolytique) [40]. Leur demi-vie est plus longue que celle des fibrinopeptides A et B (3-5 min), des complexes TAT (10-15 min) et des fragments 1 + 2 de la prothrombine (90 min) [41], et sont donc moins dépendants du moment où le prélèvement sanguin est réalisé. Néanmoins, l'influence du moment de la mesure par rapport à l'événement et l'influence des anticoagulants restent à étudier [42]. En conclusion, la valeur ajoutée du dosage des CSF reste à établir dans le Covid-19.

Limites de la mesure de la concentration plasmatique des D-dimères

La mesure de la concentration plasmatique des D-dimères occupe donc une place importante dans l'évaluation au laboratoire du patient Covid-19, et est intégrée dans la prise

de décisions cliniques importantes. Il est dès lors essentiel de pouvoir fournir un résultat fiable, accompagné de valeurs seuils adaptées au contexte clinique et à la méthodologie utilisée.

Les molécules solubles contenant le motif D-dimère constituent un ensemble hétérogène de produits plus ou moins tardifs de la dégradation du réseau de fibrine polymérisée et stabilisée de manière covalente sous l'action du facteur XIIIa. Cette caractéristique les différencie des produits de dégradation du fibrinogène (PDF), qui sont issus de la dégradation du fibrinogène par l'activité du système fibrinolytique [43]. Une grande variabilité inter-laboratoire est décrite pour la mesure de la concentration plasmatique des D-dimères, reflétant la diversité des méthodes utilisées, la spécificité antigénique des anticorps, le type de calibrateur et les différentes unités de mesure [44-46]. L'absence de calibrateurs et de contrôles de qualité certifiés internationalement représente également un frein à une standardisation optimale des résultats obtenus. A cela s'ajoute une grande variabilité interindividuelle, dépendante entre autres de la fonction rénale. Dès lors, un seuil de décision validé dans un contexte clinique précis, avec une méthode et des réactifs déterminés n'est pas transposable pour des conditions analytiques différentes et dans un contexte clinique différent [47]. Ces seuils doivent donc être validés pour chaque condition analytique et chaque situation clinique. De plus, ces méthodes ont le plus souvent été développées pour être reproductibles avec une valeur seuil utilisée dans une démarche d'exclusion d'une thrombose veineuse profonde, embolie pulmonaire habituellement située à 500 ng/mL ; leurs performances analytiques pour des valeurs seuils plus élevées, comme celles proposées pour instaurer une anticoagulation à doses élevées chez le patient Covid-19 (3 000 ng/mL), sont probablement moins bonnes. Pour cette raison, les valeurs seuils de concentration plasmatique des D-dimères proposées par exemple pour le diagnostic de la CIVD devraient être ajustées en fonction de la trousse utilisée pour la mesure [48]. A titre d'exemple, le sous-comité CIVD de la Société internationale de thrombose hémostasie a défini des valeurs seuils appropriées pour plusieurs kits D-dimères pour obtenir 2 ou 3 points pour établir le diagnostic CIVD. Pour obtenir 2 points, le cut-off recommandé s'étalait entre 3 500 ng/mL pour STA®-Liatest® D-Di et 6 500 ng/mL pour LPIA-ACE D-Dimer II et Liasauto D-dimer [48]. Des évaluations externes de la qualité réalisées par le *College of American pathologists* ont montré des valeurs allant de 470 à 10,150 ng/mL d'équivalent fibrinogène (FEU) pour un échantillon présentant une valeur modérément élevée de D-dimères (moyenne toutes méthodes confondues 3,772 ng/mL FEU). Le CV pour ce type d'échantillons était de 25,5 % pour l'ensemble des méthodes et allait de 4,8 à 25 % en fonction de la méthode utilisée [49-51].

Par ailleurs, il est important de rappeler l'influence des variables préanalytiques sur la mesure de la concentration plasmatique des D-dimères. En particulier, ce test est sensible à la présence d'hémoglobine libre dans l'échantillon, et devient ininterprétable lorsque cette dernière dépasse 3 g/dL. Une hyperlipémie, une hyperbilirubinémie ou une immunoglobuline monoclonale de concentration importante peuvent également perturber la mesure, mais l'influence de ces conditions a moins largement été étudiée [52]. L'influence des conditions de prélèvement sanguin sera par contre moindre que pour les autres tests d'hémostase de routine, la production de molécules solubles contenant le motif D-dimère nécessitant une activité fibrinolytique soutenue.

Anticoagulation

Suivi au laboratoire

Du fait du risque thrombotique élevé conféré par cette infection, une prophylaxie antithrombotique doit être réalisée. Elle repose sur l'administration d'une héparine.

Choix de l'héparine

Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) sont recommandées en première intention pour la prophylaxie de la maladie thromboembolique veineuse chez le patient Covid-19 hospitalisé [7, 8, 53].

L'HNF n'est recommandée qu'en cas d'insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine selon Cockcroft-Gault < 30 mL/min), de mise sous oxygénateur extracorporel (ECMO) [7] ou de risque hémorragique important (demi-vie plus courte que les HBPM, neutralisation plus facile par la protamine). [54]. Le risque de thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH) est également plus important avec l'HNF [55]. Un suivi régulier au laboratoire de l'anticoagulation est ici nécessaire en raison de la grande variabilité interindividuelle et au cours du temps pour un même patient dans la réponse anticoagulante [56].

Cas particulier du suivi au laboratoire du traitement par héparine non fractionnée

Historiquement, la posologie de l'HNF a été ajustée sur base du TCA. La mesure est réalisée 4 à 6h après tout changement de dose, et une fois par jour minimum, pour atteindre un allongement du TCA compris entre 1,5 et 2,5 fois le TCA moyen de témoins. Cette cible thérapeutique provient d'anciens travaux de 1972 dans lesquels les cinq patients ayant récidivé un événement thromboembolique avaient un TCA moyen inférieur au seuil thérapeutique, et n'a jamais été confirmée par des essais randomisés à grande

échelle [57]. Depuis lors, le nombre de réactifs utilisés pour cette mesure a considérablement augmenté et la sensibilité des réactifs est très différente tant à l'héparine qu'aux interférences biologiques (parmi lesquelles plusieurs protéines de la phase inflammatoire aiguë) [58, 59]. Dès lors, une détermination de l'intervalle de ratio de TCA correspondant à une activité anti-Xa entre 0,3 et 0,7 UI/mL est nécessaire pour chaque analyseur et chaque nouveau lot de réactifs. Ce calcul doit idéalement être fait avec des échantillons plasmatiques de patients traités par HNF, car l'utilisation de plasma surchargé *in vitro* avec de l'HNF donne des résultats moins pertinents en raison de l'influence de la métabolisation de l'héparine. Pour certains réactifs, la relation entre héparinémie et TCA est linéaire mais, même dans ces conditions, l'allongement du TCA induit par l'héparine restera limité en cas de syndrome inflammatoire important. Ce test est également très dépendant des conditions pré-analytiques ; entre autres, le facteur plaquettaire 4 (FP4) libéré par les plaquettes activées lors de prélèvement inadéquat ou de délai important avant centrifugation peut neutraliser une partie de l'héparine, entraînant un risque de sous-estimation de son activité [60].

Plusieurs variables biologiques peuvent entraîner un allongement du TCA (CRP élevée, présence d'un anticoagulant lupique, déficit en facteurs de coagulation hémorragipares ou non, concentration plasmatique élevée en produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine qui inhibent la polymérisation de la fibrine) [50] ou son raccourcissement (majoration de la concentration plasmatique de deux protéines de la phase aiguë de l'inflammation : le facteur VIII et le fibrinogène) [61]. L'influence de ces différents paramètres va également dépendre de la méthode de mesure, des réactifs utilisés, et est variable d'un individu à l'autre, ou chez un même individu au cours de l'hospitalisation [62]. Pour ces raisons, le GFHT déconseille l'utilisation du TCA [63]. L'utilisation du TCA est problématique si ce dernier est allongé préalablement à l'initiation du traitement par HNF (par exemple suite à la présence d'un anticoagulant lupique ou d'un déficit en facteur de coagulation), et la cible d'activité anti-Xa visée devra alors également tenir compte de l'étiologie de cet allongement. Inversement, le syndrome inflammatoire est particulièrement marqué (et instable) ; l'effet de raccourcissement du TCA en résultant rend ce temps de coagulation moins sensible à l'héparinémie [63]. Dans le Covid-19, l'augmentation de la concentration plasmatique du fibrinogène et du facteur VIII peut entraîner un raccourcissement du TCA (observé chez 16 % des patients infectés par SARS-CoV-2 [35]), qui risque de sous-estimer l'effet de l'héparine. Cette situation peut alors conduire à un surdosage avec risque hémorragique, et souligne l'importance de l'obtention d'un TCA de base avant administration d'anticoagulant, ce qui peut être difficile en réanimation, les patients étant régulièrement transfé-

rés depuis un autre service avec une anticoagulation déjà débutée, parfois déjà à doses intermédiaires ou curatives [64]. A l'inverse, l'allongement du TCA peut être en rapport avec un anticoagulant lupique, situation rencontrée de façon transitoire lors d'un épisode infectieux viral [65] et rapportée au cours du Covid-19 [4, 66], ou lorsque la CRP est élevée, entraînant un risque de sous-dosage en héparine. La recherche d'un anticoagulant lupique peut par ailleurs s'avérer faussement positive en présence de variables allongeant les tests chromométriques utilisés pour sa détection (par exemple, CRP élevée ou anticoagulation, entre autres par héparine) [66-68]. De plus, le rôle étiologique de la présence d'un anticoagulant lupique dans la survenue d'événements thromboemboliques chez les patients Covid-19 reste incertain et mériterait d'être étudié plus amplement [66, 69, 70]. Le TCA peut également s'allonger en cas de CIVD (rare dans le Covid-19). Dans cette situation, sa mesure au moyen d'un système optique peut devenir ininterprétable : une diminution immédiate et progressive de la transmittance lumineuse peut être observée avant même le début de formation du caillot, rendant la mesure incorrecte [71]. Il faut alors se tourner vers une méthode de mesure mécanique du TCA, ou mieux vers la mesure de l'activité anti-Xa.

Compte tenu des limites du TCA précédemment exposées, le GIHP à la suite du GFHT recommande de suivre l'administration d'HNF par la mesure de l'activité anti-Xa [7]. Il y a toutefois une première objection à cette option : le facteur Xa activé n'est pas la cible essentielle des héparines ; son inhibition est étudiée dans des conditions très artificielles : en phase fluide (et non pas au sein du complexe prothrombinase formé sur une surface phospholipidique), en milieu appauvri en calcium. L'activité inhibitrice *in vivo* de l'HNF est trois fois plus forte envers le facteur IIa que le facteur Xa [72]. Cette différence est encore artificiellement augmentée *in vitro* par l'utilisation de faibles concentrations en calcium dans les réactifs de ces tests : l'activité anti-Xa mesurée est diminuée de moitié dans ces conditions, par rapport à des concentrations physiologiques de calcium, mais l'effet de l'hypocalcémie sur la mesure de l'activité anti-IIa est quant à lui plus limité [72]. Néanmoins, une bonne corrélation existe *in vitro* entre l'activité anti-Xa et anti-IIa, permettant l'utilisation de cette première pour estimer l'effet de l'héparinothérapie. En effet, ce test consiste à mesurer *in vitro* l'activité résiduelle sur un substrat chromogénique spécifique du facteur Xa ajouté à l'échantillon de plasma citraté. Par rapport au TCA, ce test a l'avantage d'être moins sujet aux interférences biologiques (interférences possibles de l'hémoglobine libre et de la bilirubine en cas d'élévation importante), de moins dépendre des conditions préanalytiques – à l'exception notable du F4P qui serait libéré *in vitro* par les plaquettes. Même si la validité de la mesure de l'activité anti-Xa de l'HNF en

présence d'un syndrome inflammatoire important n'a pas formellement été établie (ni d'ailleurs dans aucune circonstance), cette mesure sera moins impactée dans ce contexte, d'autant plus si les réactifs contiennent de l'antithrombine (AT).

Il n'est pas conseillé d'utiliser des trousses avec de l'antithrombine (AT) exogène, pour éviter une surestimation de l'activité anticoagulante *in vivo* en cas de déficit en AT, avec risque de sous-dosage ; la concentration plasmatique de l'AT peut en effet diminuer en cas de sepsis [73]. Toutefois, peu de données sont disponibles sur la sensibilité de ces trousses sans AT exogène aux modifications de la concentration plasmatique *in vivo* en AT [74]. Certains réactifs contiennent également du dextran, qui va déplacer l'héparine d'une partie de sa liaison non-spécifique (comprenant le FP4). L'influence du FP4 libéré par les plaquettes activées notamment est minimisée – ce qui est favorable pour limiter l'impact des conditions préanalytiques sur le résultat, mais problématique si la concentration du FP4 est réellement élevée *in vivo*. Au contraire d'un test 'global' comme le TCA, la mesure de l'activité anti-Xa est insensible aux fluctuations de l'état hémostatique sous-jacent (par exemple, déficit en facteurs de coagulation suite à une hémorragie ou une CIVD), ce qui devrait conduire à un ajustement des cibles au contexte clinique et à l'éventuelle mise en évidence de tels déficits. Enfin et surtout, une variabilité significative de sensibilité à l'héparine a été rapportée entre les différents trousses disponibles [75].

La cible thérapeutique d'activité anti-Xa à atteindre est considérée comme située entre 0,3 et 0,7 UI/mL [56]. Ces valeurs sont dérivées des mêmes travaux de 1972 ayant déterminé la cible de TCA à atteindre pour la prévention secondaire de la maladie thromboembolique veineuse, et manquent également de validation. Leur application dans un contexte hyperinflammatoire pose aussi question. Vu le risque thrombotique très élevé décrit ou suspecté dans certains sous-groupes de patients, le GIHP recommande de resserrer la cible d'activité anti-Xa dans la zone haute, à 0,5-0,7 UI/mL, pour les patients à très haut risque thromboembolique [7]. Cette majoration des doses, non soutenue par des données objectives, reste débattue [8]. Outre la sélection des patients pouvant potentiellement bénéficier de doses majorées d'anticoagulants, la question de la durée de traitement se pose également ; la résolution du syndrome inflammatoire devrait en effet s'accompagner d'une réduction du risque thrombotique, avec un risque d'anticoagulation excessive et de saignement si ces doses plus élevées d'héparine sont maintenues. Toutefois, aucune recommandation sur la durée et l'intensité de l'anticoagulation du patient Covid-19 ne peut être faite à l'heure actuelle.

Chez le patient recevant un traitement par HNF, une résistance dite biologique (i.e. d'après les tests de laboratoire)

à l'effet anticoagulant de l'héparine, arbitrairement définie par l'échec à atteindre la cible thérapeutique malgré l'administration de doses d'HNF supérieures à 1,5 fois les doses habituelles (400-600 U par kg et 24h), est fréquemment observée au cours du Covid-19, et s'ajoute à la résistance clinique précédemment exposée (survenue d'événements thrombotiques sous thromboprophylaxie médicamenteuse bien conduite). Le syndrome inflammatoire majeur pourrait également expliquer une partie de cette observation. En effet, l'HNF est capable de se lier de manière non-spécifique à plusieurs protéines de la phase aiguë ainsi qu'aux plaquettes et cellules endothéliales activées, limitant son activité anticoagulante [76]. L'administration d'un bolus initial d'HNF est d'ailleurs indispensable pour saturer cette fixation non-spécifique [77]. L'augmentation de la concentration plasmatique de fibrinogène et du facteur VIII va également occasionner une résistance à l'héparine lorsque son effet est mesuré par le TCA, qui ne sera pas observée lorsque la mesure de l'activité anti-Xa est utilisée. Un déficit acquis en AT par consommation ou défaut de production (protéine négative de la phase aiguë) pourrait également contribuer à la résistance à l'héparine observée chez certains patients [73], mais il ne concerne qu'une minorité de patients Covid-19 [4, 31], les plus gravement atteints, et l'intérêt de l'administration de concentrés d'AT reste discuté. Lorsqu'une résistance à l'héparine est suspectée sur la base du TCA, il est recommandé de suivre au laboratoire l'administration de l'HNF avec le test activité anti-Xa, qui ne sera pas influencé par la concentration plasmatique de facteur VIII et de fibrinogène [78].

Diagnostic de la thrombocytopénie induite par l'héparine

Un dernier aspect de la surveillance d'un traitement par héparine au laboratoire concerne le dépistage d'une thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH). Une numération plaquettaire doit être réalisée avant administration de la première injection d'héparine, ou à défaut le plus rapidement possible après celle-ci. Dans ce contexte, il est raisonnable de suivre la numération plaquettaire de manière régulière entre le 4^e et le 14^e (voire 20^e) jour suivant l'instauration du traitement par héparine (une à deux fois par semaine en cas de traitement par HBPM, deux à trois fois par semaine pendant un traitement par HNF), ensuite une fois par semaine jusqu'à la fin du premier mois de traitement. L'apparition d'une thrombocytopénie (< 100 G/L) ou la diminution brutale de la numération plaquettaire (surtout si $\geq 50\%$) doit alors faire évoquer le diagnostic de TIH [79]. Cependant, d'autres étiologies peuvent expliquer une diminution de la numération plaquettaire. Dès lors, une évaluation systématisée de la probabilité clinique du diagnostic permet

Points clés

- Le Covid-19 s'accompagne de modifications de l'hémostase associées à un haut risque thrombotique.
- Les D-dimères occupent une place importante dans l'évaluation du risque thrombotique et le suivi des patients, mais une grande variabilité existe entre les différentes trousses disponibles pour leur mesure.
- Le TCA est très sensible aux conditions préanalytiques et est sujet à de nombreuses influences qui limitent sa fiabilité et compliquent son utilisation pour le suivi de l'héparinothérapie.
- La mesure de l'activité anti-Xa est privilégiée pour le suivi de l'héparinothérapie bien qu'elle ne soit elle-même pas exempte de limites.

de mieux repérer les patients chez lesquels la survenue de cette complication doit être suspectée, et pour lesquels une recherche des anticorps caractéristiques du syndrome est indiquée. Cette évaluation est généralement réalisée avec le score des 4Ts, validé dans cette indication [80], malgré ses limites dans des situations plus complexes comme celles rencontrées en réanimation (pas de consensus sur les médicaments responsables de thrombocytopénie, beaucoup d'autres causes de thrombocytopénie aux soins intensifs, sa valeur prédictive négative n'est pas de 100 % (thrombose en l'absence de thrombocytopénie, manque de données de numération plaquettaire, faible accord dans l'évaluation du 4^e T (autres causes de thrombocytopénie) [79].

En cas de forte suspicion ou dès identification des anticorps, le traitement par héparine doit être interrompu, et être remplacé par un inhibiteur direct de la thrombine (IDT) (argatroban, bivalirudine) ou par danaparoiide sodique. Dans ces conditions, la présence d'un IDT peut entraîner une sous-estimation de la concentration plasmatique de fibrinogène par inhibition de la thrombine du réactif de Clauss [81]. Cette interférence sera variable en fonction de la concentration en thrombine utilisée dans le réactif [82]. Dans une moindre mesure, une interférence peut également exister en présence de haute concentration d'HNF (0,6 à 2 UI/mL selon le réactif), qui dépasserait les capacités de neutralisation du réactif utilisé, ou en présence de haute concentration de produits de dégradation du fibrinogène (> 100-130 µg/mL) [82].

Conclusion

L'infection par le SARS-CoV-2 (Covid-19) expose la majorité des patients plus gravement touchés à un risque thrombotique élevé. Ce risque est notamment reflété par une majoration importante de la concentration plasmatique

des D-dimères. Le suivi de ces patients par hémostase de laboratoire est capital, tant sur le plan pronostique que thérapeutique, mais les limites des tests doivent être connues. La mesure de l'activité anti-Xa est recommandée pour guider l'administration d'HNF, même si cette méthode présente également des limitations à connaître. La stratégie adoptée par le laboratoire de biologie clinique devra être adaptée aux conditions analytiques locales.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer is associated with severity of coronavirus disease 2019: a pooled analysis. *Thromb Haemost* 2020 ; 120 : 876-8.
2. Zeng F, Huang Y, Guo Y, Yin M, Chen X, Xiao L, *et al.* Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: a meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2020 ; 96 : 467-74.
3. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18 : 1094-9.
4. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, *et al.* High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med* 2020 ; 46(6) : 1089-98.
5. Poissy J, Goutay J, Caplan M, Parmentier E, Duburcq T, Lassalle F, *et al.* Pulmonary embolism in COVID-19 patients: awareness of an increased prevalence. *Circulation* 2020 ; 142 : 184-6.
6. Klok FA, Kruip M, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D, Kant KM, *et al.* Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: an updated analysis. *Thromb Res* 2020 ; 191 : 148-50.
7. Susen S, Tacquard CA, Godon A, Mansour A, Garrigue D, Nguyen P, *et al.* Prevention of thrombotic risk in hospitalized patients with COVID19 and hemostasis monitoring: Proposals from the French Working Group on Perioperative Haemostasis (GIHP) the French Study Group on Thrombosis and Haemostasis (GFHT), in collaboration with the French Society for Anaesthesia and Intensive Care (SFAR). *Crit Care* 2020 ; 24(1) : 364.
8. Thachil JTN, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M, Clark C, *et al.* ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18 : 1023-6.
9. Frantzeskaki F, Armaganidis A, Orfanos SE. Immunothrombosis in acute respiratory distress syndrome: cross talks between inflammation and coagulation. *Respiration* 2017 ; 93 : 212-25.
10. Schultz MJ, Haitsma JJ, Zhang H, Slutsky AS, Pulmonary AS. Coagulopathy as a new target in therapeutic studies of acute lung injury or pneumonia – a review. *Crit Care Med* 2006 ; 34 : 871-7.
11. Prabhakaran P, Ware LB, White KE, Cross MT, Matthay MA, Olman MA. Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 in pulmonary edema fluid are associated with mortality in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003 ; 285(1) : L20-8.
12. Hakkert BC, Rentenaar JM, van Mourik JA. Monocytes enhance the bidirectional release of type I plasminogen activator inhibitor by endothelial cells. *Blood* 1990 ; 76 : 2272-8.
13. Brogren H, Karlsson L, Andersson M, Wang L, Erlinge D, Jern S. Platelets synthesize large amounts of active plasminogen activator inhibitor 1. *Blood* 2004 ; 104 : 3943-8.
14. Hanify JM, Dupree LH, Johnson DW, Ferreira JA. Failure of chemical thromboprophylaxis in critically ill medical and surgical patients with sepsis. *J Crit Care* 2017 ; 37 : 206-10.
15. Wright FL, Vogler TO, Moore EE, Moore HB, Wohlauser MV, Urban S, *et al.* Fibrinolysis shutdown correlates to thromboembolic events in severe COVID-19 infection. *J Am Coll Surg* 2020 ; 231 : 193-220.
16. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol* 2020 ; 7 : e438-40.
17. Marchandot B, Sattler L, Jesel L, Matsushita K, Schini-Kerth V, Grunebaum L, *et al.* COVID-19 related coagulopathy: a distinct entity? *J Clin Med* 2020 ; 31(9) : E1651.
18. Huisman A, Beun R, Sikma M, Westerink J, Kusadasi N. Involvement of ADAMTS13 and von Willebrand factor in thromboembolic events in patients infected with SARS-CoV-2. *Int J Lab Hematol* 2020 ; 22. doi: 10.1111/ijlh.13244.
19. Al-Samkari H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson JC, Fogerty AE, Waheed A, *et al.* COVID and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV2 infection. *Blood* 2020 ; 3 : 489-500.
20. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020 ; 395 : 1054-62.
21. Yin S, Huang M, Li D, Tang N. Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *J Thromb Thrombolysis* 2020 ; 3 : 1-4.
22. Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18 : 1421-4.
23. Artifoni M, Danic G, Gautier G, Gicquel P, Boutoille D, Raffi F, *et al.* Systematic assessment of venous thromboembolism in COVID-19 patients receiving thromboprophylaxis: incidence and role of D-dimer as predictive factors. *J Thromb Thrombolysis* 2020 ; 50 : 211-6.
24. McDonald JA. The yin and yang of fibrin in the airways. *N Engl J Med* 1990 ; 322(13) : 929-31.
25. Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Brown JQ, Vander Heide RS. Pulmonary and cardiac pathology in Covid-19: the first autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir Med* 2020 ; 8(7) : 681-6.
26. Hunt BJ, Levi M. Re The source of elevated plasma D-dimer levels in COVID-19 infection. *Br J Haematol* 2020 ; 190(3) : e133-4.
27. Thachil J. All those D-dimers in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18(8) : 2075-6.
28. Bickdeli B, Madhavan MV, Jimenez D, Chuich T, Dreyfus I, Driggin E, *et al.* COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2020 ; 75(23) : 2950-73.
29. Stang LJ. D-dimer and fibrinogen/fibrin degradation products. *Methods Mol Biol* 2013 ; 992 : 415-27.
30. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, *et al.* Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ* 2020 ; 368 : m1091.

31. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18(4) : 844-7.
32. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020 ; 506 : 145-8.
33. Taylor FB, Jr., Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M, Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on T, *et al.* Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2001 ; 86(5) : 1327-30.
34. Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol* 2009 ; 145(1) : 24-33.
35. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020 ; 395(10223) : 507-13.
36. Gris JC, Cochery-Nouvellon E, Bouvier S, Jaber S, Albanese J, Constantin JM, *et al.* Clinical value of automated fibrin generation markers in patients with septic shock: a SepsisCoag ancillary study. *Br J Haematol* 2018 ; 183(4) : 636-47.
37. Wada H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, Okamoto K, Kawasaki K, *et al.* The approval of revised diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J* 2017 ; 15 : 17.
38. Brionne-François M, Geara C, Riviere M, Gautier P, Davy JB, Le Querrec A, *et al.* Étude prospective de l'utilisation des monomères de fibrine dans le calcul du score diagnostique de CIVD de l'ISTH (Poster). 33^e congrès de la Société Française d'Hématologie (SFH) ; Paris, 2016.
39. Hamano A, Tanaka S, Takeda Y, Umeda M, Sakata Y. A novel monoclonal antibody to fibrin monomer and soluble fibrin for the detection of soluble fibrin in plasma. *Clin Chim Acta* 2002 ; 318(1-2) : 25-32.
40. Dempfle CE. The use of soluble fibrin in evaluating the acute and chronic hypercoagulable state. *Thromb Haemost* 1999 ; 82(2) : 673-83.
41. Lütze G, Naumann C. *Useful Facts about Coagulation: Questions/answers ; [general Principles, Clinical Aspects/treatment, Preanalytical/analytical Aspects]*. Roche Diagnostics, 2004.
42. Refaai MA, Riley P, Mardovina T, Bell PD. The clinical significance of fibrin monomers. *Thromb Haemost* 2018 ; 118(11) : 1856-66.
43. Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, Okamoto K, Kawasaki K, *et al.* Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J* 2016 ; 14 : 42.
44. Madoiwa S, Kitajima I, Ohmori T, Sakata Y, Mimuro J. Distinct reactivity of the commercially available monoclonal antibodies of D-dimer and plasma FDP testing to the molecular variants of fibrin degradation products. *Thromb Res* 2013 ; 132(4) : 457-64.
45. Lippi G, Cervellin G, Franchini M, Favaloro EJ. Biochemical markers for the diagnosis of venous thromboembolism: the past, present and future. *J Thromb Thrombolysis* 2010 ; 30(4) : 459-71.
46. Favaloro EJ, Thachil J. Reporting of D-dimer data in COVID-19: some confusion and potential for misinformation. *Clin Chem Lab Med* 2020 ; 58(8) : 1191-9.
47. Hatada T, Wada H, Kawasaki K, Okamoto K, Uchiyama T, Kushi-moto S, *et al.* Analysis of the cutoff values in fibrin-related markers for the diagnosis of overt DIC. *Clin Appl Thromb Hemost* 2012 ; 18(5) : 495-500.
48. Suzuki K, Wada H, Imai H, Iba T, Thachil J, Toh CH, *et al.* A re-evaluation of the D-dimer cut-off value for making a diagnosis according to the ISTH overt-DIC diagnostic criteria: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2018 ; 16(7) : 1442-4.
49. Olson JD, Cunningham MT, Higgins RA, Eby CS, Brandt JT. D-dimer: simple test, tough problems. *Arch Pathol Lab Med* 2013 ; 137(8) : 1030-8.
50. Favaloro EJ, Bonar R. Emerging technologies and quality assurance in hemostasis: a review of findings from the Royal College of Pathologists of Australasia Quality Assurance Program. *Semin Thromb Hemost* 2007 ; 33(3) : 235-42.
51. Smock KJ, Moser KA. What have we learned from coagulation laboratory participation in external quality programs? *Int J Lab Hematol* 2019 ; 41(Suppl 1) : 49-55.
52. Favresse J, Lippi G, Roy PM, Chatelain B, Jacquemin H, Ten Cate H, *et al.* D-dimer: preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018 ; 55(8) : 548-77.
53. Spyropoulos AC, Levy JH, Ageno W, Connors JM, Hunt BJ, Iba T, *et al.* Scientific and Standardization Committee Communication: clinical guidance on the diagnosis, prevention and treatment of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18(8) : 1859-65.
54. Dolovich LR, Ginsberg JS, Douketis JD, Holbrook AM, Cheah G. A meta-analysis comparing low-molecular-weight heparins with unfractionated heparin in the treatment of venous thromboembolism: examining some unanswered questions regarding location of treatment, product type, and dosing frequency. *Arch Intern Med* 2000 ; 160(2) : 181-8.
55. Martel N, Lee J, Wells PS. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood* 2005 ; 106(8) : 2710-5.
56. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JJ, Samama MM. Parenteral anticoagulants: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012 ; 141(2 Suppl) : e24S-43S.
57. Basu D, Gallus A, Hirsh J, Cade J. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. *N Engl J Med* 1972 ; 287(7) : 324-7.
58. Gouin-Thibaut I, Martin-Toutain I, Peynaud-Debayle E, Marion S, Napol P, Alhenc-Gelas M, *et al.* Monitoring unfractionated heparin with APTT: a French collaborative study comparing sensitivity to heparin of 15 APTT reagents. *Thromb Res* 2012 ; 129(5) : 666-7.
59. Cuker A, Raby A, Moffat KA, Flynn G, Crowther MA. Inter-laboratory variation in heparin monitoring: lessons from the Quality Management Program of Ontario coagulation surveys. *Thromb Haemost* 2010 ; 104(4) : 837-44.
60. Levine SP, Sorenson RR, Harris MA, Knieriem LK. The effect of platelet factor 4 (PF4) on assays of plasma heparin. *Br J Haematol* 1984 ; 57(4) : 585-96.
61. Mischke R, Wollong H. Influence of fibrinogen degradation products on thrombin time, activated partial thromboplastin time and prothrombin time of canine plasma. *Haemostasis* 2000 ; 30(3) : 123-30.

62. Erdem-Eraslan L, Hens JJH, van Rossum AP, Frasa MAM, Keuren JFW. Inter-individual variability in phospholipid-dependent interference of C-reactive protein on activated partial thromboplastin time. *Br J Haematol* 2018 ; 183(4) : 681-3.
63. Gouin-Thibault I, Sie LT, Siguret PV. Anticoagulants usuels : manie-ment et gestion des complications. *Encycl Med Chir Akos* 2013 ; 8(3) : 1-8.
64. Beun R, Kusadasi N, Sikma M, Westerink J, Huisman A. Thromboembolic events and apparent heparin resistance in patients infected with SARS-CoV-2. *Int J Lab Hematol* 2020 ; 42(Suppl 1) : 19-20.
65. Uthman IW, Gharavi AE. Viral infections and antiphospholipid anti-bodies. *Semin Arthritis Rheum* 2002 ; 31(4) : 256-63.
66. Connell NT, Battinelli EM, Connors JM. Coagulopathy of COVID-19 and antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost* 2020 ; 7. doi: 10.1111/jth.14893.
67. De Kesel PMM, Devreese KMJ. The effect of unfractionated heparin, enoxaparin, and danaparoid on lupus anticoagulant testing: Can activa-ted carbon eliminate false-positive results? *Res Pract Thromb Haemost* 2019 ; 4(1) : 161-8.
68. Favresse J, Lardinois B, Sabor L, Devalet B, Vandepapeliere J, Brai-bant M, *et al.* Evaluation of the DOAC-Stop(R) procedure to overcome the effect of DOACs on several thrombophilia screening tests. *TH Open* 2018 ; 2(2) : e202-9.
69. Harzallah I, Debliquis A, Drenou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost* 2020 ; 18(8) : 2064-5.
70. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, *et al.* Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020 ; 383 : 288-90.
71. Sevenet PO, Depasse F. Clot waveform analysis: where do we stand in 2017? *Int J Lab Hematol* 2017 ; 39(6) : 561-8.
72. Hemker HC, Béguin S. The activity of heparin in the presence and absence of Ca²⁺ ions; why the Anti-Xa activity of LMW heparins is about two times overestimated. *Thromb Haemost* 1993 ; 70(04) : 717-8.
73. White B, Perry D. Acquired antithrombin deficiency in sepsis. *Br J Haematol* 2001 ; 112(1) : 26-31.
74. Newall F. Anti-factor Xa (anti-Xa) assay. *Methods Mol Biol* 2013 ; 992 : 265-72.
75. Depasse F, Gilbert M, Goret V, Rolland N, Samama MM. Anti-Xa monitoring: inter-assay variability. *Thromb Haemost* 2000 ; 84(6) : 1122-3.
76. Young E, Venner T, Ribau J, Shaughnessy S, Hirsh J, Podor TJ. The binding of unfractionated heparin and low molecular weight heparin to thrombin-activated human endothelial cells. *Thromb Res* 1999 ; 96(5) : 373-81.
77. Finley A, Greenberg C. Review article: heparin sensitivity and resistance: management during cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2013 ; 116(6) : 1210-22.
78. Hirsh J, Raschke R. Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004 ; 126(3 Suppl) : 188S-203S.
79. Gruel Y, de Maistre E, Pouplard C, Mullier F, Susen S, Rouillet S, *et al.* Diagnosis and management of heparin-induced thrombocytopenia. *Anaesth Crit Care Pain Med* 2020 ; 39(2) : 291-310.
80. Cuker A, Gimotty PA, Crowther MA, Warkentin TE. Predictive value of the 4Ts scoring system for heparin-induced thrombocytopenia: a sys-tematic review and meta-analysis. *Blood* 2012 ; 120(20) : 4160-7.
81. Maier CL, Barker NA, Sniecinski RM. Falsely low fibrinogen levels in COVID-19 patients on direct thrombin inhibitors. *Anesth Analg* 2020 ; 131(2) : e117-9.
82. Stang LJ, Mitchell LG. Fibrinogen. *Methods Mol Biol* 2013 ; 992 : 181-92.