

Dosage des D-dimères : variables pré-analytiques, analytiques, post-analytiques et applications cliniques

D-dimer Concentration: Preanalytical, Analytical, Postanalytical Variables, and Clinical Applications

Jean-Yves SOTTIAUX¹, Julien FAVRESSE¹, Jonathan DOUXFILS^{2,3}, Bernard CHATELAIN¹, Hugues JACQMIN¹, François MULLIER¹

1. Université catholique de Louvain, CHU UCL Namur, Namur Thrombosis and Hemostasis Center (NTHC), NAMur Research Institute for Life Sciences (NARILIS), Laboratoire de biologie clinique, Yvoir, Belgique.

2. Université de Namur, Département de Pharmacie, Namur Thrombosis and Hemostasis Center (NTHC), NAMur Research Institute for Life Sciences (NARILIS), Namur, Belgique.

3. Qualiblood sa, Namur, Belgique.

Courriel : francois.mullier@uclouvain.be

RÉSUMÉ

Les D-dimères comprennent l'ensemble des produits de dégradation de la fibrine stabilisée, induite par la plasmine. Ils peuvent donc être considérés comme un biomarqueur reflétant l'activation de la coagulation et de la fibrinolyse. Le dosage des D-dimères est couramment utilisé pour exclure la maladie thromboembolique veineuse, pour évaluer les risques de récurrence d'une telle affection, et afin de définir la durée optimale d'un traitement anticoagulant. Cette adaptation de l'article original de Favresse *et al.* **1** est destinée à : (1) faire le point sur la définition des D-dimères ; (2) discuter des variables pré-analytiques affectant la mesure des D-dimères ; (3) examiner et comparer les performances de différents tests et de certaines variables post-analytiques et enfin de (4) discuter de l'utilisation clinique du dosage des D-dimères.

Mots clés : produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène, D-dimère, pré-analytique, post-analytique, analytique, maladie thromboembolique veineuse.

ABSTRACT

D-dimer is a soluble fibrin degradation product deriving from the plasmin-mediated degradation of cross-linked fibrin. D-dimer can hence be considered as a biomarker of activation of coagulation and fibrinolysis, and it is routinely used for ruling out venous thromboembolism. D-dimer concentration is increasingly used to assess the risk of venous thromboembolism recurrence and to help define the optimal duration of anti-coagulation treatment. This adaptation of the original paper of Favresse *et al.* **1** is aimed at: (1) revising the definition of D-dimer; (2) discussing preanalytical variables affecting the measurement of D-dimer; (3) reviewing and comparing assay performance and some postanalytical variables and (4) discussing the use of D-dimer measurement across different clinical settings.

Keywords: fibrin and fibrinogen degradation product, preanalytical, analytical, postanalytical, venous thromboembolism.

Rev Trib K Hémostase 2019 ; 1 (2) : ??-??.

INTRODUCTION : QUE SONT LES D-DIMÈRES ?

Il s'agit d'un terme générique désignant de multiples fragments peptidiques, provenant de la dégradation de la fibrine par la plasmine. Leur présence reflète l'activation concomitante de la coagulation et de la fibrinolyse. Le terme « fragment D-dimère » a été initialement utilisé pour décrire les produits finaux de digestion par la plasmine du réseau de fibrine stabilisé par le facteur XIIIa. Il s'agit du fragment DD/E. Cependant, l'antigène qui peut être détecté par les dosages immunologiques actuels peut également être reconnu sur des produits de dégradation plus précoces. Le terme D-dimères comprend dès lors un large mélange de produits de dégradation de la fibrine stabilisée (PDF), dont les poids moléculaires varient de 190 à plus de 10 000 kDa.

LES VARIABLES PRÉ-ANALYTIQUES POUVANT INFLUENCER LE DOSAGE DES D-DIMÈRES

Prélèvement

Influence du type et de la taille de l'aiguille

Il est actuellement recommandé d'utiliser des aiguilles ayant un diamètre compris entre 19 et 22 G (gauges). Les échantillons doivent être obtenus par ponction veineuse la moins traumatique possible, afin de limiter le risque de développer des caillots qui peuvent avoir un impact sur la concentration mesurée de D-dimères. L'utilisation d'une aiguille de type papillon (petite aiguille fixée à des ailettes en plastique souple et connectée au tube par l'intermédiaire d'un tube flexible) est généralement déconseillée. En effet, le passage du sang dans la tubulure peut potentiellement déclencher la cascade hémostatique et engendrer de l'hémolyse. Toutefois, plusieurs études ont démontré que l'utilisation de ces dispositifs n'avait pas d'influence sur le dosage des D-dimères. En cas de prélèvement utilisant un tube « sous vide », il est important de purger la tubulure à l'aide d'un premier tube pour éliminer l'air contenu dans la tubulure, et ainsi éviter la collecte d'un volume de sang inférieur à la quantité exacte requise pour une dilution correcte par l'anticoagulant (voir plus bas). Il est cependant préférable d'utiliser une aiguille standard (19 à 22 G), surtout lorsque d'autres tests d'hémostase sont demandés.

Type d'anticoagulant ou additif utilisé

L'utilisation de tubes collecteurs contenant 3,2 % (105-109 mmol/L) de citrate de sodium est recommandée par le « CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) » et par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) pour la grande majorité des tests d'hémostase. Concernant la mesure des

D-dimères, les tubes contenant de l'EDTA (acide éthylène-diamine-tétra-acétique) et héparinés ont été montrés comme équivalents aux tubes citratés. Ces anticoagulants sont néanmoins à proscrire pour les autres tests d'hémostase, notamment lorsque le principe de mesure est basé sur la formation d'un caillot. Le sérum ne peut pas être utilisé pour le dosage des D-dimères car des résultats faussement positifs ont été observés chez des patients sous anticoagulants, alors que des valeurs faussement négatives ont été observées car les PDF peuvent être piégés dans le caillot.

Quantité d'anticoagulant

Un ratio sang/anticoagulant de 9:1 est recommandé. En effet, un mauvais remplissage du tube peut prolonger les temps de coagulation [TQ (temps de Quick), TCA (temps de céphaline activée) et TT (temps de thrombine)], et également induire une sous-estimation des D-dimères et du fibrinogène. Enfin, il est important que le tube soit rapidement mélangé pendant 30 secondes après la ponction veineuse (c'est-à-dire de 3 à 6 inversions complètes), assurant ainsi la distribution homogène et complète de l'anticoagulant dans le tube.

Utilisation d'un garrot

Il est recommandé que le garrot soit retiré dès que l'aiguille se trouve dans la veine ou lorsque le premier tube commence à se remplir, et il ne doit jamais rester en place plus de 1 à 2 minutes. Les principaux inconvénients liés à la présence prolongée d'un garrot sont l'hémoconcentration et la formation de caillots pouvant compromettre la qualité des tests de coagulation. Plus spécifiquement, Lippi *et al.* ont observé que les valeurs de D-dimères (Immunoanalyseur Mini VidasVR) étaient significativement augmentées de 13,4 % sur des échantillons prélevés après 3 minutes de stase veineuse. Des différences plus faibles ont également été observées après une stase de 1 minute (augmentation moyenne de 7,9 %).

Transport

Les STP (systèmes de transport par tubes pneumatiques) pourraient théoriquement favoriser une activation plaquettaire ainsi qu'une hémolyse. Néanmoins, pour les D-dimères, la littérature se montre rassurante. En effet, un faible impact des STP sur les résultats des mesures de D-dimères a été rapporté **2**. Il est cependant conseillé que chaque laboratoire évalue son propre STP car ces systèmes sont hétérogènes en termes de longueur, de diamètre, d'accélération maximale et de vitesse.

Traitement de l'échantillon

Avant d'être analysés, les échantillons doivent être minutieusement vérifiés. Une erreur d'identification, l'utilisation d'un anticoagulant/additif inapproprié, un volume insuffisant et la présence d'un caillot doivent mener à rejeter ces échantillons.

Centrifugation

À l'exception des systèmes « POC (*point of care*) » sur sang total, les échantillons sont classiquement centrifugés au laboratoire d'hémostase à température ambiante à 1 500 g pendant au moins 15 minutes **1**. Cependant, aucune différence significative n'a été observée concernant les valeurs de D-dimères lorsque les échantillons ont été centrifugés à 4 500 g pendant 2 minutes. L'utilisation d'un temps de centrifugation plus court peut s'avérer utile pour réduire le délai de réponse si des paramètres d'urgence sont également demandés. Une validation locale reste cependant souhaitable.

Interférences

Les interférences observées lors de la phase pré-analytique des tests de coagulation sont généralement liées à une hémolyse (majoritairement), une para protéinémie, une lipémie ou une ictérie. Une étude récente a montré que 17,1 % des échantillons hémolysés dépassaient la différence critique. De plus, ces interférences ne sont pas directement proportionnelles au degré d'hémolyse, ce qui rend impossible l'utilisation de formules de correction. L'évaluation automatique de l'hémolyse devrait être préférée à l'évaluation manuelle, cette dernière étant affectée par une variation interindividuelle plus importante **3**. Les effets de la lipémie, de l'ictérie et de la para protéinémie ont été moins largement discutés dans la littérature.

Stabilité, stockage et effets de la congélation

Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant au moins 24 heures (plasma ou sang total). Cette stabilité a été testée avec de nombreux dosages immunologiques différents. Ceci est particulièrement intéressant dans une activité de routine pour donner suite aux demandes fréquentes d'ajout de dosage de D-dimères, particulièrement pour les demandes venant du service d'urgence. Les échantillons congelés peuvent également être utilisés après des périodes de stockage plus longues (jusqu'à 9 ans à - 80 °C) **1**. Il a également été démontré que plusieurs cycles de congélation/décongélation (jusqu'à 4) n'avaient pas d'effet sur le dosage des D-dimères.

VARIABLES ANALYTIQUES

Variabilité inter laboratoire

Une importante variabilité inter laboratoire dans le dosage des D-dimères existe. En 2013, Olson *et al.* ont évalué cette variabilité sur la base des dosages obtenus dans 3 800 laboratoires et mis en évidence un CV (coefficient de variation) de 42 % **4**. L'utilisation de différentes méthodes, différents anticorps monoclonaux ayant des affinités variables pour leurs épitopes, l'hétérogénéité des fragments provenant de la dégradation de la fibrine stabilisée, l'absence de contrôles ou de calibrateurs certifiés à l'échelle internationale, l'utilisation de mesures et de seuils de positivité différents sont les principaux éléments expliquant cette haute variabilité. Les valeurs obtenues avec différentes méthodes ne doivent pas être comparées directement.

Standardisation versus harmonisation

Les sources de variabilité susmentionnées font en sorte qu'une standardisation du dosage des D-dimères semble très compliquée, voire impossible à mettre en place. Plusieurs procédures d'harmonisation moins strictes, basées sur des modèles mathématiques, ont dès lors été proposées pour que les résultats rendus avec des méthodes différentes soient plus comparables. Mais il y a actuellement une nécessité de développer ces modèles à plus large échelle.

Recommandations concernant les performances des techniques de mesure des D-dimères

En raison de l'hétérogénéité des méthodes de dosage des D-dimères, et en l'absence de standardisation, il est impératif d'évaluer les performances de la méthode locale avant son utilisation dans les stratégies de prise en charge des MTEV (maladies thromboemboliques veineuses). Idéalement, la valeur du seuil d'exclusion de processus thromboemboliques devrait être déterminée localement sur un minimum de 200 patients. Cependant, cette démarche étant lourde pour certains laboratoires, la valeur proposée par le fabricant peut être utilisée après avoir été évaluée dans une étude prospective. Il est recommandé que les dosages immunologiques aient une imprécision inférieure à 10 % lorsque les valeurs sont proches du seuil diagnostic, et une linéarité démontrée allant de 50 à 5 000 µg/L FEU (*Fibrinogen Equivalent Unit*). La méthode quantitative par ELFA (*enzyme-linked immunofluorescence assay*) est actuellement considérée comme la méthode de référence (**Tableau 1**).

Dosage des D-dimères : variables pré-analytiques, analytiques, post-analytiques et applications cliniques

D-dimer Concentration: Preanalytical, Analytical, Postanalytical Variables, and Clinical Applications

Tableau 1 : Caractéristiques des techniques de dosage.

Table 1: Characteristics of the assays.

	ELISA	ELFA	Latex : agglutination	CLIA	Latex : immunoturbidimétrie	POCT
Type	Quantitatif	Quantitatif	Qualitatif/semi-quantitatif	Quantitatif	Quantitatif	Qualitatif/semi-quantitatif
Délais de réponses	2-4 h	35-40 min	< 1 h	25-40 min	15 min	2-20 min
Avantages	Gold standard, sensibilité	La plus validée, sensibilité	Rapide, peu coûteuse	Sensibilité, rapide, automatisé	Sensibilité, rapide, automatisé	Rapide, sang total, spécificité
	Opérateur-indépendant	Automatisation		Opérateur-indépendant	Opérateur-indépendant	
Inconvénients	Manipulations, temps nécessaire	Spécificité	Sensibilité	Spécificité	Spécificité	Sensibilité, manipulations
	Spécificité, linéarité		Opérateur dépendant	Manque de validation		Opérateur dépendant
Exemples	Asserachrom® (Stago)	Vidas® (bioMérieux)	Dimertest latex® (IL)	AcuStar® (Werfen)	Tina-Quant® (Roche)	SimpliRed® (Agen)
	Enzygnost® (DadeBehring)		Fibrinosticon® (bioMérieux)	Immulate® (Siemens)	STA-Liatedt® (Stago)	Clearview Simplify® (Agen)
			Dade Dimertest® (Siemens)		HemosIL HS® (Werfen)	
					Innovance® (Siemens)	

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay ; ELFA : enzyme-linked fluorescence assay ; CLIA : chemiluminescent immunoassay ; POCT : point of care testing.

VARIABLES POST-ANALYTIQUES

Unités

Deux unités sont actuellement utilisées dans les laboratoires cliniques : FEU et DDU (*D-Dimer Units*). Les FEU (340 kD) comparent la masse des D-dimères à celle du fibrinogène, et les calibrateurs sont préparés à partir de la dégradation de fibrinogène purifié en présence de facteur XIIIa. Les DDU (195 kD) déterminent la masse du poids estimé de D-dimères, et les calibrateurs sont composés de D-dimères purifiés. Une autre difficulté est l'utilisation de 7 unités de mesure différentes (c'est-à-dire ng/mL, mg/L, µg/L, µg/mL, g/L, g/mL et mg/dL). Il y a donc 14 façons différentes de répondre à la mesure des D-dimères. Olson *et al.* ont récemment montré que la majorité des laboratoires utilisent les FEU et les mg/mL ou ng/mL 4.

Seuils ajustés en fonction de l'âge

Les valeurs de D-dimères augmentent physiologiquement avec l'âge, conduisant ainsi à une forte proportion de patients âgés ayant des niveaux de D-dimères supérieurs au seuil conventionnel fixé à 500 µg/L FEU 5,6. Cette élévation peut en partie être expliquée par un déclin de la fonction rénale 7. L'utilisation des seuils ajustés en fonction de l'âge (seuil ajusté selon l'âge (µg/L) FEU = âge en années x 10) après 50 ans est maintenant recommandée 5. Malgré cela, un grand nombre de laboratoires ne les utilisent toujours pas. Des efforts importants sont donc nécessaires pour une

mise en œuvre plus large de ces recommandations. L'utilisation d'un seuil adapté à la fonction rénale n'a pas montré de bénéfice clinique significatif 7.

Délai de réponse

Le dosage des D-dimères est principalement utilisé dans des situations cliniques urgentes. Un délai de réponse global de moins d'une heure, ce qui semble approprié pour la gestion de la grande majorité des demandes urgentes, est recommandé 1. La demi-vie plasmatique des D-dimères est d'environ 8 heures.

Biologie délocalisée

L'utilisation d'instruments de dosage délocalisés ou POC est particulièrement intéressante dans une pratique de médecine générale. Cependant, tous les dosages POC ne peuvent pas être utilisés de manière fiable pour exclure la MTEV ; seuls les POC immunologiques ayant été validés lors d'essais cliniques et approuvés par la FDA (*Food and Drug Administration*) ou portant le marquage CE (Conformité Européenne) doivent être utilisés.

Applications cliniques

Bien que les taux de D-dimères soient élevés dans presque tous les cas de MTEV, de nombreuses autres affections peuvent générer une augmentation des taux de D-dimères (Tableau 2).

Tableau 2 : Situations associées à une augmentation des D-dimères.

Table 2: Causes of elevated D-dimers levels.

Syndrome de détresse respiratoire aiguë
Coagulation intravasculaire disséminée
Pancréatite
Âge avancé
Insuffisance cardiaque
Complications post-transplantation
Maladie d'Alzheimer
Syndrome de HELLP
Grossesse
Anévrisme
Hémolyse (anémie falciforme)
Maladie inflammatoire aiguë
Cancer
Pathologie hépatique
Thrombose veineuse ou artérielle
Inflammation chronique
Infection localisée ou systémique
Période néonatale

Exclusion de la maladie thromboembolique veineuse

Performance des tests utilisés

Selon la FDA, les spécifications de sensibilité et de VPN (valeur prédictive négative) d'un test de dosage des D-dimères utilisé pour exclure une MTEV devraient être respectivement de $\geq 95\%$ (avec une limite inférieure d'IC (intervalle de confiance) $\geq 90\%$) et $\geq 97\%$ (avec une limite inférieure d'IC à 95%). Sur la base de ces exigences, les techniques de dosage des D-dimères peuvent être classées en deux grandes catégories : (1) celles qui ont une sensibilité élevée ($> 95\%$) et une faible spécificité ($< 40\%$), et (2) celles qui ont une sensibilité modérée ($80-94\%$) et une haute spécificité (jusqu'à 70%). Les tests quantitatifs sont plus susceptibles d'avoir une VPN élevée que les tests semi-quantitatifs ou qualitatifs.

Règles de prédiction clinique (RPC)

Les scores de Wells et de Genève (modifié ou non) sont les deux RPC principalement utilisées pour l'EP (embolie pulmonaire) et la TVP (thrombose veineuse profonde) **8,9**. Les performances diagnostiques de ces scores sont relativement comparables **6,8**. Une probabilité « faible » ou « peu probable » est généralement suivie d'un dosage des D-dimères. Il a été largement prouvé et démontré que l'évaluation de ces scores cliniques doit précéder le dosage de

D-dimères afin d'améliorer la spécificité et la précision du diagnostic de MTEV. La TVP peut ainsi être raisonnablement exclue lorsque les valeurs de D-dimères sont inférieures au seuil défini. Dans ces conditions, il est inutile de recourir à des tests d'imagerie coûteux et potentiellement irradiants (échographie Doppler et/ou angioscanner). Dans de rares cas, un état hypofibrinolytique, un thrombi de petite taille (thrombose veineuse profonde distale ou embolie pulmonaire sous-segmentaire isolée), un traitement anticoagulant ou un dosage trop précoce/tardif peuvent induire un résultat faussement négatif. Lorsque la probabilité clinique est « élevée » ou « probable », le dosage des D-dimères n'est pas utile et l'imagerie doit être utilisée pour le diagnostic. Les taux de D-dimères augmentent physiologiquement durant la grossesse et continuent à augmenter jusqu'à la 6^e semaine du post-partum. Dans ce contexte, il est important d'avoir la capacité d'exclure une EP à l'aide d'un test simple et non irradiant. Le score de YEARS adapté à la grossesse a récemment montré de bonnes performances pour l'exclusion de l'EP chez la femme enceinte à tous les stades de la grossesse, et a permis d'éviter un angioscanner chez 32 à 65 % d'entre elles **10,11**.

Évaluation du risque de récurrence d'un événement thromboembolique veineux

Le risque de récurrence dans l'année suivant un premier épisode de MTEV est plus élevé chez les hommes ($9,5\%$) que chez les femmes ($5,3\%$), et tend également à augmenter avec le temps ($9,1\%$ chez les hommes et $19,7\%$ chez les femmes après 3 ans). Les D-dimères devraient être dosés chez tous les patients présentant une suspicion clinique de récurrence de MTEV **12,13**. De plus, il a été montré qu'une valeur élevée en D-dimères est associée à un risque accru de récurrence. Il a donc été suggéré que la durée du traitement anticoagulant chez les patients atteints de MTEV pourrait être adaptée en fonction de l'évolution du taux de D-dimères **14**. Globalement, une valeur de D-dimères supérieure au seuil après trois mois de traitement anticoagulant chez les patients présentant un premier événement de MTEV non provoqué (non lié à une chirurgie, un traumatisme du membre inférieur, une immobilisation orthopédique ou une hospitalisation prolongée) est associée à un risque de récurrence deux fois plus élevé que les patients présentant des valeurs de D-dimères inférieures. Plusieurs modèles ont été développés pour prédire ce risque (DASH score, HERDOO2 model), cependant, la prudence est de mise concernant l'utilisation de ces scores qui nécessitent une validation plus approfondie **12**. ■

RÉFÉRENCES

1. Favresse J, Lippi G, Roy PM, Chatelain B, Jacqmin H, Ten Cate H, *et al.* D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018 ; 55 : 548-77.
2. Oude Elferink RF, Loot AE, Van De Klashorst CG, Hulsebos-Huygen M, Piersma-Wichers M, Oudega R. Clinical evaluation of eight different D-dimer tests for the exclusion of deep venous thrombosis in primary care patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2015 ; 75 : 230-8.
3. Novelli C, Vidali M, Brando B, Morelli B, Andreani G, Arini M, *et al.* A collaborative study by the Working Group on Hemostasis and Thrombosis of the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC) on the interference of haemolysis on five routine blood coagulation tests by evaluation of 269 paired haemolysed/non-haemolysed samples. *Biochem Med (Zagreb)* 2018 ; 28 : 030711.
4. Olson JD, Cunningham MT, Higgins RA, Eby CS, Brandt JT. Ddimer: simple test, tough problems. *Arch Pathol Lab Med* 2013 ; 137 : 1030-8.
5. Schouten HJ, Geersing GJ, Koek HL, Zuithoff NP, Janssen KJ, Douma RA, *et al.* Diagnostic accuracy of conventional or age adjusted D-dimer cut-off values in older patients with suspected venous thromboembolism: systematic review and metaanalysis. *BMJ* 2013 ; 346 : f2492.
6. Douma RA, le Gal G, Sohne M, Righini M, Kamphuisen PW, Perrier A, *et al.* Potential of an age adjusted D-dimer cut-off value to improve the exclusion of pulmonary embolism in older patients: a retrospective analysis of three large cohorts. *BMJ* 2010 ; 340 : c1475.
7. Ten Cate V, Nagler M, Panova-Noeva M, Eggebrecht L, Arnold N, Lamparter H, *et al.* The diagnostic performance of renal function-adjusted D-dimer testing in individuals suspected of venous thromboembolism. *haematol*.2018.213322.
8. Wells PS, Hirsh J, Anderson DR, Lensing AW, Foster G, Kearon C, *et al.* A simple clinical model for the diagnosis of deep-vein thrombosis combined with impedance plethysmography: potential for an improvement in the diagnostic process. *J Intern Med* 1998 ; 243 : 15-23.
9. Robert-Ebadi H, Mostaguir K, Hovens MM, Kare M, Verschuren F, Girard P, *et al.* Assessing clinical probability of pulmonary embolism: prospective validation of the simplified Geneva score. *J Thromb Haemost* 2017 ; 15 : 1764-9.
10. van der Pol LM, Tromeur C, Bistervels IM, Ni Ainle F, van Bommel T, Bertoletti L, *et al.* Pregnancy-Adapted YEARS Algorithm for Diagnosis of Suspected Pulmonary Embolism. *N Engl J Med* 2019 ; 380 : 1139-49.
11. Righini M, Robert-Ebadi H, Elias A, Sanchez O, Le Moigne E, Schmidt J, *et al.* Diagnosis of Pulmonary Embolism During Pregnancy: A Multi-center Prospective Management Outcome Study. *Ann Intern Med* 2018 ; 169 : 766-73.
12. Tosetto A, Testa S, Martinelli I, Poli D, Cosmi B, Lodigiani C, *et al.* External validation of the DASH prediction rule: a retrospective cohort study. *J Thromb Haemost* 2017 ; 15 : 1963-70.
13. Ageno W, Squizzato A, Wells PS, Büller HR, Johnson G. The diagnosis of symptomatic recurrent pulmonary embolism and deep vein thrombosis: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2013 ; 11 : 1597-1602.
14. Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, Brusi C, Iorio A, *et al.* D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 1780-9.