

Auto-anticorps dirigés contre la protéine S

Dr Marie-Françoise Hurtaud-Roux, Laboratoire d'hématologie Hôpital Robert Debré, Paris

Dr Dominique Lasne, Laboratoire d'hématologie, Hôpital Necker, Paris

Dr Véronique Baudouin, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré

Dr Fabrice Lesage et Pr Philippe Hubert, Service de Réanimation Pédiatrique, Hôpital Necker

Relecteurs : Jean-François SCHVED, Anne-Marie FISCHER, Nadine AJZENBERG, Thomas LECOMPTE.

Les déficits acquis en protéine S dus à des auto-anticorps dirigés contre la protéine S peuvent se compliquer d'accidents thrombotiques graves, mais aussi de lésions ecchymotiques et volontiers nécrotiques similaires à ce qui est observé au cours d'un purpura fulminans infectieux. Ces manifestations gravissimes, souvent accompagnées par une coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD), surviennent principalement chez l'enfant au décours d'un épisode infectieux, le plus souvent une varicelle. Un diagnostic précoce est indispensable pour permettre une prise en charge adaptée, capable de limiter l'extension des thromboses.

Auto anticorps anti-protéine S et pathologies associées

1- Infections

Le caractère pathogène, pro-thrombotique, des auto-anticorps anti-protéine S s'exprime essentiellement au décours de certaines maladies infectieuses. Complications thrombotiques et purpura fulminans ont ainsi été observés après diverses infections (Streptocoque, HHV6, fièvre Q) (1-4). Cependant, les observations les plus nombreuses sont rapportées chez l'enfant dans les suites de varicelle (5-19). La fréquence des varicelles compliquées de l'enfant est estimée à environ 5%. Les complications hématologiques, vasculaires en particulier, ne représentent que 4% de l'ensemble des varicelles compliquées (Observatoire National des Varicelles Hospitalisées, <http://www.sfpediatrie.com/groupes-de-specialites/gpip/journees-annuelles/diaporama-du-congres-2003.html>). Une soixantaine de cas a été publiée. Environ la moitié comporte la mise en évidence d'un déficit acquis, marqué, en protéine S, lié à la présence d'un auto-anticorps anti-protéine S.

Les déficits acquis en protéine S font partie des anomalies de l'hémostase fréquemment rencontrées dans l'infection par le VIH. Certains cas ont été rapportés à la présence d'anticorps anti-protéine S, souvent associés à la présence d'anticorps anti-phospholipides (20-21). Dans ce contexte, il s'agit le plus souvent de déficits modérés. L'incidence des

thromboses associées à ces auto-anticorps anti-protéine S semble faible. Il s'agit le plus souvent de thromboses veineuses profondes (19). De rares cas de nécroses cutanées ont été rapportés, en rapport avec des déficits acquis, marqués, en protéine S (22).

Epidémiologie

L'âge moyen des enfants ayant présenté ces complications thrombotiques post-infectieuses (purpura fulminans et thromboses) est de 6 ans (6 mois à 14 ans) (1-3, 5-15, 17-19). Filles et garçons sont touchés avec la même fréquence.

Ces manifestations surviennent en moyenne 14 jours après le diagnostic de la varicelle (extrêmes : 4 à 49 jours). Ce délai semble varier suivant la localisation thrombotique : le purpura fulminans survenant plus précocement que les thromboses veineuses profondes, intervalle moyen de 4 à 5 jours (11).

Morbidité et mortalité sont élevées en l'absence d'un diagnostic et d'un traitement précoces.

Pathogenèse

Les mécanismes d'apparition des auto-anticorps anti-protéine S chez les enfants ayant présenté une infection virale (VZV, HHV6...) ou bactérienne (*Streptococcus*) restent encore mal compris.

Une réaction croisée entre les anticorps dirigés contre la protéine S et le virus de la varicelle VZV a été mise en évidence chez un patient (9) mais n'a pas été retrouvée dans une autre étude (6).

L'hypothèse la plus probable est un dérèglement immunitaire global, en réponse à l'agression virale et/ou bactérienne comme en témoigne leur association très fréquente à d'autres auto-anticorps (anticorps anti-phospholipides, anticorps dirigés contre des protéines de la coagulation, telle la protéine S, anticorps dirigés contre des antigènes plaquettaires, érythrocytaires) (6, 8-9, 11-12, 14).

Il semble peu probable que cette réponse immunologique inadaptée soit génétiquement déterminée en raison de l'absence de cas familiaux rapportés. Manco-Johnson rapporte d'ailleurs une expression clinique différente chez des jumeaux atteints de varicelle (9).

Une infection associée à un autre agent infectieux (*Streptococcus* en particulier) favoriserait la survenue de ces auto-anticorps (9, 11, 14).

Dans les cas de purpura fulminans post-infectieux, l'étude de Regnault et al a démontré par des tests de génération de thrombine que les auto-anticorps anti-protéine S engendrent un état d'hypercoagulabilité majeure, avec résistance à la protéine C activée (14).

Dans la plupart des cas rapportés, les auto-anticorps anti-protéine S induisent un déficit marqué en protéine S en augmentant sa clairance (6, 8-9, 11), mais ils ne semblent pas avoir d'effet inhibiteur direct sur la protéine S (6, 9).

Mais attention, la présence d'auto-anticorps anti-protéine S au cours de la varicelle ne s'associe pas de façon obligatoire à la survenue de complications thrombotiques. En 2001, une étude transversale a montré la présence d'anticorps anti-phospholipides et d'anticorps dirigés contre d'autres protéines de la coagulation (facteur II, antithrombine, protéine C) au cours de varicelles compliquées de purpura fulminans et/ou d'une pathologie thrombotique, mais aussi de varicelles simples (11). Une différence significative des concentrations de protéine S antigène libre existait entre les patients atteints de varicelle compliquée ou non, la protéine S libre étant significativement plus basse dans le groupe des varicelles compliquées. La gravité des complications thrombotiques semble ainsi directement liée à la concentration effondrée de protéine S, à la concentration élevée des anticorps anti-protéine S, et non à la seule présence de ces anticorps. Curieusement de tels déficits sévères n'ont pas été rapportés pour la protéine C. En effet, malgré la mise en évidence d'anticorps anti-protéine C, il n'existait pas de corrélation entre le titre des anticorps et la concentration en protéine C (11).

2- Autres pathologies

Maladies de système

Une incidence élevée (30 à 50%) d'anticorps anti-protéine S est observée chez les patients ayant une maladie de système (23-27). La gravité des manifestations cliniques associées semble moins importante que dans les contextes infectieux. Les anticorps anti-protéine S sont détectés essentiellement chez les patients présentant des thromboses veineuses ou artérielles et chez les femmes présentant des pathologies vasculaires placentaires responsables de fausses couches répétées, retard de croissance intra-utérin, pré-éclampsie (26). Leur association avec les anticorps anti-phospholipides semble augmenter le risque de thrombose (23).

Pathologies diverses

L'association thromboses / nécroses cutanées et anticorps anti-protéine S a été décrite dans des circonstances très diverses : post-transplantation rénale (28), chez des insuffisants rénaux au stade terminal (29), au cours d'hémopathies (30). De tels anticorps, responsables d'une résistance acquise à la protéine C activée par altération de son cofacteur la protéine S, ont été

également mis en évidence au cours de thromboses veineuses profondes idiopathiques chez des patients sans maladie lupique (31-32).

Expression clinique :

L'apparition de complications vasculaires survenant chez un patient, en particulier un enfant, dans les jours ou les semaines qui suivent un épisode infectieux viral ou bactérien, et plus particulièrement une varicelle, est fortement évocatrice d'un déficit acquis en protéine S.

Les manifestations cliniques en rapport avec la présence d'auto-anticorps anti-protéine S sont dominées dans près de 45% des cas par des lésions cutanées (type purpura fulminans). Ces dernières peuvent rester isolées ou s'associer à des thromboses vasculaires.

- Les lésions ecchymotiques sont rapidement extensives en quelques heures à quelques jours. Ces lésions touchent autant la partie basse du tronc, les membres inférieurs que les extrémités (2). En l'absence de traitement adapté, les lésions ecchymotiques évoluent rapidement vers la nécrose et plusieurs cas de greffe de peau, d'amputations et de décès ont été décrits (3, 9, 11).

- Les thromboses veineuses et artérielles accompagnent volontiers le purpura ecchymotique des membres. Elles sont de localisations très diverses :

- thromboses veineuses profondes (22%)
- embolies pulmonaires (12%)
- thromboses cérébrales (11%)
- localisations inhabituelles (10%) : testiculaires, rénales, coronaires (infarctus du myocarde)

- d'un purpura infectieux proprement dit, marqué par des lésions cutanées survenant précocement au décours de l'infection, débutant le plus souvent aux extrémités et progressant de manière proximale : dans ce cas les troubles hémodynamiques associés au choc septique sont au premier plan, et il existe une CIVD franche.
- d'une fasciite nécrosante, infection rare, mortelle dans 30% des cas, qui se propage parfois de façon foudroyante et nécessite une exérèse précoce des tissus nécrosés (33). Le diagnostic différentiel peut être difficile mais la stabilité hémodynamique constatée lors des purpuras ecchymotiques et nécrotiques associés aux déficits acquis en protéines S est un élément important pour les différencier.

Les enfants présentant **des lésions cutanées purpuriques voire nécrotiques faisant évoquer un purpura fulminans post-infectieux, associées ou non à une thrombose de localisation diverse, au décours d'un épisode infectieux, viral essentiellement (varicelle)** doivent être transférés en urgence dans un centre hospitalier pouvant assurer une prise en charge adaptée.

Examens initiaux de biologie médicale

Les manifestations cliniques décrites ci-dessus imposent la réalisation rapide des examens suivants :

- hémogramme
- TCA
- temps de Quick avec mesure des facteurs II, V, et éventuellement VII et X, en cas d'allongement de ce temps de coagulation
- fibrinogène
- D-dimères et/ou marqueurs d'activation de la coagulation (complexes solubles, monomères de fibrine, ...)
- mesure de la protéine S activité, le dosage de la protéine S antigène seul pouvant induire un retard au diagnostic dommageable (4)

La constitution d'une plasmathèque et d'une sérothèque est recommandée avant de débiter tout traitement.

Examens complémentaires

- si la concentration de protéine S est effondrée (< 10%) : recherche d'anticorps anti-protéine S, IgM et IgG. Cette recherche peut être réalisée grâce à une trousse commerciale (Zymutest Anti-Protéine S IgM et IgG, HYPHEN BioMed).
- étude familiale : dans l'urgence, la mesure de la protéine S réalisée chez les parents peut être un élément diagnostique important, en montrant des concentrations normales, ce qui permet d'exclure un déficit constitutionnel en protéine S.
- la recherche d'anticorps antiphospholipides par des tests de coagulation (anticoagulant circulant type LA) et ELISA doit être envisagée.
- le dosage des autres inhibiteurs (antithrombine et protéine C) doit également être envisagé

Le diagnostic repose sur :

- Une élévation très importante des D-dimères et/ou des marqueurs d'activation de la coagulation, le plus souvent associée aux autres signes de CIVD biologique (thrombopénie, diminution par consommation de plusieurs facteurs et inhibiteurs de la coagulation).
- Une protéine S effondrée (<10%), contrastant avec des concentrations d'antithrombine et de protéine C seulement modérément diminuées, en rapport avec le syndrome de consommation
- Des anticorps anti-protéine S (IgG et/ou IgM) à des titres élevés

La présence associée d'anticorps anti-phospholipides est souvent observée.

Enquête étiologique

Cette enquête repose essentiellement sur la réalisation de sérologies virales avant toute transfusion de Plasma Frais Congelé (PFC), avec recherche des IgG et des IgM pour « dater » l'infection.

- Sérologie de la varicelle : compte tenu de la fréquente implication du VZV dans l'apparition des déficits acquis en protéine S, une infection récente à VZV sera recherchée en priorité.
- Sérologie VIH : bien qu'entraînant des déficits modérés, une sérologie VIH sera également réalisée, des déficits acquis avec présence d'anticorps anti-protéine S étant également décrits dans le VIH
- En cas de résultats négatifs, l'implication d'autres agents infectieux devra être recherchée (HHV6, Streptocoque...)
- La recherche de maladie générale de type lupique sera réalisée si le contexte infectieux n'est pas probant.

Stratégie thérapeutique

Dans un contexte de purpura fulminans post-infectieux, un traitement aussi rapide que possible s'impose, si possible après la mise en évidence de l'effondrement de la protéine S, afin de stopper l'extension des lésions et de limiter l'apparition d'éventuelles séquelles.

Thérapeutiques

Les thérapeutiques proposées s'appuient sur une meilleure connaissance des mécanismes de ces complications thrombotiques.

• **Traitement de la CIVD et/ou de la pathologie thrombotique :**

- Le point essentiel du traitement est d'instaurer une anticoagulation par HNF ou HBPM (si les lésions cutanées le permettent) à doses curatives (34), en raison du déficit marqué en protéine S induisant un état procoagulant. L'efficacité de ce traitement dépend beaucoup de sa rapidité d'instauration (3, 6, 8-10, 13-15, 18-19). Il sera maintenu tant que la protéine S n'est pas revenue à une concentration normale. Après normalisation de la protéine S, un relais par un antagoniste de la vitamine K sera envisagé au cas par cas, selon l'existence d'une complication thrombotique associée.

- Les perfusions de Plasma Frais Congelé (PFC) aux doses recommandées dans le traitement de la CIVD (10–20 mL/kg/j) (cf conférence de consensus, Lille 2002, <http://www.srlf.org/conferences/XXII-conf-Lille.html>) sont nécessaires pour restaurer les taux des protéines de la coagulation consommées par la CIVD mais elles ne permettent pas de restaurer une concentration normale de protéine S, les auto-anticorps augmentant la clairance de la protéine S apportée par le PFC (8-9, 13-14). Dans les cas où l'atteinte clinique est grave (thromboses étendues, graves par leur localisation, lésions cutanées nécrotiques rapidement extensives), il est nécessaire d'effectuer des échanges plasmatiques avec restitution par du PFC.

• **Traitement de la pathologie auto-immune :**

Ces traitements permettent une diminution rapide du titre des auto-anticorps anti-protéine S et une élévation significative de la concentration de protéine S, par augmentation de la clairance des auto-anticorps anti-protéine S (8, 10, 15).

- Echanges plasmatiques avec restitution par du PFC (3, 10, 15, 18) permettant la clairance des anticorps. Le rythme et la durée des échanges doivent être décidés en fonction de l'évolution clinique et des contrôles des concentrations de protéine S. Il est logique de proposer des échanges quotidiens tant que la protéine S n'est pas normalisée puis de les espacer progressivement. Un cas a nécessité des échanges biquotidiens (3). La seule persistance des anticorps ne doit pas être un critère pour la poursuite des échanges puisque ces anticorps persistent de façon prolongée après l'épisode aigu et que cette persistance n'est pas toujours pathogène (11).

- Traitements immunomodulateurs : les traitements les plus fréquemment cités sont les corticoïdes et les perfusions d'immunoglobulines intraveineuses (1 à 2 g/kg) sans qu'il y ait de schéma bien établi (8, 10, 13-15). Les inconvénients possibles d'une corticothérapie dans un contexte infectieux doivent être pris en compte. Dans le cas d'un contexte post-infectieux, il n'y a pas lieu de proposer des traitements immunosuppresseurs de longue durée puisqu'il s'agit d'un accident aigu conjoncturel. Il n'y a ainsi pas de place pour un traitement par rituximab. Ce type de traitement doit en revanche être discuté lorsque les anticorps anti-protéine S apparaissent dans le cadre d'une maladie systémique.

Surveillance sous traitement

• Clinique :

L'efficacité du traitement sera jugée sur la régression, souvent spectaculaire, des lésions cutanées et/ou la stabilisation des thromboses.

• Biologique :

Les examens biologiques recommandés pour évaluer l'efficacité des traitements sont les suivants :

- D-dimères et/ou marqueurs d'activations de la coagulation : leur diminution sera le témoin d'une régression de l'état d'hypercoagulabilité.

- mesures de la protéine S avant et après échange plasmatique : une élévation et une stabilisation des concentrations de protéine S seront des marqueurs importants d'efficacité du traitement.

Les échanges plasmatiques sont espacés en fonction de l'évolution clinique et d'une remontée de la protéine S. Il existe en miroir une décroissance progressive des anticorps anti-protéine S. Ces derniers peuvent persister plusieurs mois à un titre faible (15).

Conclusion

Les déficits acquis en protéine S peuvent conduire à des désordres thrombotiques graves de type purpura fulminans. Ces déficits sont rares et sont principalement décrits chez le jeune enfant après une varicelle. Toutefois, l'existence d'autres étiologies ne doit pas être méconnue. En l'absence de traitement adapté, l'évolution est dramatique. Dans les formes symptomatiques, surtout cutanées, il s'agit d'une urgence diagnostique et thérapeutique.

Références

1. Alessi MC, Aillaud MF, Boyer-Neumann C, Viard L, Camboulives J, Juhan-Vague I. Cutaneous necrosis associated with acquired severe protein S deficiency. *Thromb Haemost* 1993;69(5):524-6.
2. Bergmann F, Hoyer PF, D'Angelo SV, Mazzola G, Oestereich C, Barthels M, et al. Severe autoimmune protein S deficiency in a boy with idiopathic purpura fulminans. *Br J Haematol* 1995;89(3):610-4.
3. Boccara O, Lesage F, Regnault V, Lasne D, Dupic L, Bourdon-Lanoy E, et al. Nonbacterial purpura fulminans and severe autoimmune acquired protein S deficiency associated with human herpesvirus-6 active replication. *Br J Dermatol* 2009;161(1):181-3.
4. Boinot C, Planchard D, Giraudeau G, Turhan A, Agius G, Guicheteau M. Autoimmune protein S activity deficiency following a Q fever. *Thromb Haemost* 2007;98(1):255-7.
5. Phillips WG, Marsden JR, Hill FG. Purpura fulminans due to protein S deficiency following chickenpox. *Br J Dermatol* 1992;127(1):30-2.
6. D'Angelo A, Della Valle P, Crippa L, Pattarini E, Grimaldi LM, Vigano D'Angelo S. Brief report: autoimmune protein S deficiency in a boy with severe thromboembolic disease. *N Engl J Med* 1993;328(24):1753-7.
7. Nguyen P, Reynaud J, Pouzol P, Munzer M, Richard O, Francois P. Varicella and thrombotic complications associated with transient protein C and protein S deficiencies in children. *Eur J Pediatr* 1994;153(9):646-9.
8. Levin M, Eley BS, Louis J, Cohen H, Young L, Heyderman RS. Postinfectious purpura fulminans caused by an autoantibody directed against protein S. *J Pediatr* 1995;127(3):355-63.
9. Manco-Johnson MJ, Nuss R, Key N, Moertel C, Jacobson L, Meech S, et al. Lupus anticoagulant and protein S deficiency in children with postvaricella purpura fulminans or thrombosis. *J Pediatr* 1996;128(3):319-23.
10. Busuttill DP, Hay CR, Lewis MA, Wynn RF. Aggressive multiple modality therapy for varicella-associated purpura fulminans. *Br J Haematol* 2000;110(4):1012-3.
11. Josephson C, Nuss R, Jacobson L, Hacker MR, Murphy J, Weinberg A, et al. The varicella-autoantibody syndrome. *Pediatr Res* 2001;50(3):345-52.
12. van Ommen CH, van Wijnen M, de Groot FG, van der Horst CM, Peters M. Postvaricella purpura fulminans caused by acquired protein s deficiency resulting from antiprotein s antibodies: search for the epitopes. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002;24(5):413-6.
13. Campanelli A, Kaya G, Ozsahin AH, La Scala G, Jacquier C, Stauffer M, et al. Purpura fulminans in a child as a complication of chickenpox infection. *Dermatology* 2004;208(3):262-4.
14. Regnault V, Boehlen F, Ozsahin H, Wahl D, de Groot PG, Lecompte T, et al. Anti-protein S antibodies following a varicella infection: detection, characterization and influence on thrombin generation. *J Thromb Haemost* 2005;3(6):1243-9.
15. Larakeb AS, Evrard S, Louillet F, Kwon T, Djaffar H, Llanas B, et al. Acute renal cortical necrosis due to acquired antiprotein S antibodies. *Pediatr Nephrol* 2009;24(1):207-9.
16. Cameron JC, Allan G, Johnston F, Finn A, Heath PT, Booy R. Severe complications of chickenpox in hospitalised children in the UK and Ireland. *Arch Dis Child* 2007;92(12):1062-6.
17. Thomson JJ, Retter A, Hunt BJ. Novel management of post varicella purpura fulminans owing to severe acquired protein S deficiency. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010;21(6):598-600.

18. Januario G, Ramroop S, Shingadia DV, Novelli V. Postinfectious purpura fulminans secondary to varicella-induced protein S deficiency. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29(10):981-3.
19. Baur A, Pouyau R, Meunier S, Nougier C, Teyssedre S, Javouhey E, et al. [Varicella-associated purpura fulminans and deep vein thrombosis: a pediatric case report]. *Arch Pediatr* 2011;18(7):783-6.
20. Sorice M, Griggi T, Arcieri P, Circella A, d'Agostino F, Ranieri M, et al. Protein S and HIV infection. The role of anticardiolipin and anti-protein S antibodies. *Thromb Res* 1994;73(3-4):165-75.
21. Mallet VO, Varthaman A, Lasne D, Viard JP, Gouya H, Borgel D, et al. Acquired protein S deficiency leads to obliterative portal venopathy and to compensatory nodular regenerative hyperplasia in HIV-infected patients. *Aids* 2009;23(12):1511-8.
22. Dillmon MS, Saag MS, Hamza SH, Adler BK, Marques MB. Unusual thromboses associated with protein S deficiency in patients with acquired immunodeficiency syndrome: case reports and review of the literature. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005;21(9):753-6.
23. Merrill JT, Zhang HW, Shen C, Butman BT, Jeffries EP, Lahita RG, et al. Enhancement of protein S anticoagulant function by beta2-glycoprotein I, a major target antigen of antiphospholipid antibodies: beta2-glycoprotein I interferes with binding of protein S to its plasma inhibitor, C4b-binding protein. *Thromb Haemost* 1999;81(5):748-57.
24. Song KS, Park YS, Kim HK. Prevalence of anti-protein S antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43(3):557-60.
25. Guermazi S, Regnault V, Gorgi Y, Ayed K, Lecompte T, Dellagi K. Further evidence for the presence of anti-protein S autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000;11(5):491-8.
26. Bertolaccini ML, Sanna G, Ralhan S, Gennari LC, Merrill JT, Khamashta MA, et al. Antibodies directed to protein S in patients with systemic lupus erythematosus: prevalence and clinical significance. *Thromb Haemost* 2003;90(4):636-41.
27. Nojima J, Iwatani Y, Ichihara K, Tsuneoka H, Ishikawa T, Yanagihara M, et al. Acquired activated protein C resistance is associated with IgG antibodies to protein S in patients with systemic lupus erythematosus. *Thromb Res* 2009;124(1):127-31.
28. Laurat E, Frouget T, Joyeux V, Arvieux C, Pommereuil M, Chevrant-Breton J. [Spontaneous skin necrosis from acquired protein S deficiency in a renal transplant recipient]. *Presse Med* 2005;34(22 Pt 1):1710-2.
29. Molino D, De Lucia D, Marotta R, Perna A, Lombardi C, Cirillo M, et al. In uremia, plasma levels of anti-protein C and anti-protein S antibodies are associated with thrombosis. *Kidney Int* 2005;68(3):1223-9.
30. Deitcher SR, Erban JK, Limentani SA. Acquired free protein S deficiency associated with multiple myeloma: a case report. *Am J Hematol* 1996;51(4):319-23.
31. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Kawasaki T, Machii T, Kitani T, et al. Acquired activated protein C resistance associated with anti-protein S antibody as a strong risk factor for DVT in non-SLE patients. *Thromb Haemost* 2002;88(5):716-22.
32. Borrell M, Tirado I, Mateo J, Oliver A, Santamaria A, Fontcuberta J. IgM anti-protein S antibodies as a risk factor for venous thrombosis. *Haematologica* 2008;93(7):1115-7.
33. Edlich RF, Winters KL, Woodard CR, Britt LD, Long WB, 3rd. Massive soft tissue infections: necrotizing fasciitis and purpura fulminans. *J Long Term Eff Med Implants* 2005;15(1):57-65.
34. Monagle P, Chalmers E, Chan A, DeVeber G, Kirkham F, Massicotte P, et al. Antithrombotic therapy in neonates and children: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008;133(6 Suppl):887S-968S.