

# Comparación del rango terapéutico de heparina obtenido con diferentes protocolos que utilizan muestras *ex vivo* o muestras de plasma normal adicionadas con heparina *in vitro*.

Comparison of heparin therapeutic range obtained with different protocols using *ex vivo* or *in vitro* heparin spiked normal plasma samples.

Rosa CM<sup>1</sup>, Burdet J<sup>1</sup>, Rojas YN<sup>2</sup>, Zirpoli MM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bioquímico. <sup>2</sup>Técnico. Laboratorio del Hospital Universitario Austral. Pilar, Buenos Aires, Argentina.

crosa@cas.austral.edu.ar

Fecha recepción: 07/07/2017  
Fecha aprobación: 15/08/2017



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 21 n° 2: 119-126  
Mayo - Agosto 2017

**Palabras claves:** Heparina no fraccionada,  
Tiempo de tromboplastina parcial activado,  
Anti-Xa,  
Rango terapéutico de heparina.

**Keywords:** Unfractionated heparin,  
Activated partial thromboplastin time,  
Anti-Xa,  
Heparin therapeutic range.

## Resumen

En el monitoreo de la terapia con heparina no fraccionada (HNF) hay numerosas variables pre-analíticas, analíticas y biológicas asociadas al uso del tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT), por lo que el tradicional rango de 1,5-2,5 veces el valor basal puede conducir a una heparinización inadecuada, resultando en trombosis. Las guías recomiendan que el rango terapéutico de heparina (RTH) sea obtenido con muestras *ex vivo* de pacientes bajo tratamiento con infusión continua de heparina, mi-

diendo heparinemia por anti-Xa, ya que cuando se utilizan plasmas adicionados con HNF *in vitro* se puede conducir a una sobrestimación del rango terapéutico. El objetivo de este trabajo fue comparar los resultados de los RTH obtenidos utilizando muestras *ex vivo* y muestras de plasma normal adicionadas con heparina *in vitro*. El RTH obtenido, midiendo heparinemia por anti-Xa, con muestras *ex vivo* fue 56-87 seg y con muestras adicionadas *in vitro* fue 55-127 seg. Con otro protocolo alternativo *in vitro*

correlacionando el APTT con la concentración de HNF entre 0,2 y 0,4 UI/ml, el RTH resultó de 55-85 seg. De la comparación entre los resultados pudimos observar que hay una sobrestimación del RTH con el protocolo *in vitro* sobre todo a altas concentraciones, mientras que el valor inferior del rango no

tiene diferencias significativas al obtenido con las muestras *ex vivo*. Los laboratorios que no cuentan con la determinación de anti-Xa podrían utilizar un protocolo alternativo *in vitro* para obtener una estimación del valor inferior del RTH.

### Abstract

For the monitoring of unfractionated heparin therapy (UFH) there are numerous pre-analytical, analytical and biological variables associated with the use of activated partial thromboplastin time (APTT), so the traditional range of 1.5-2.5 times the baseline value can lead to inadequate heparinization, resulting in thrombosis. Guidelines recommend to obtain the heparin therapeutic range (HTR) with *ex vivo* samples from patients under continuous heparin infusion therapy, measuring heparinemia by anti-Xa assay, since when *in vitro* UFH spiked plasmas are used, an overestimation of the therapeutic range is noted. The objective of this study was to compare the results of HTR obtained

using *ex vivo* samples and *in vitro* heparin spiked normal plasma samples. HTR for *ex vivo* samples resulted in 56-87 sec by anti-Xa assay. For *in vitro* spiked samples HTR was 55-127 sec. Using an alternative *in vitro* protocol correlating the APTT with UFH concentration between 0.2 and 0.4 IU/ml, the HTR was 55-85 sec. The results also showed that there is an overestimation of HTR with the *in vitro* protocol especially at high concentrations, whereas the lower value of the range does not have significant differences when we compared both methods. Laboratories that do not have anti-Xa assay could obtain an estimate of the lower value of the HTR with an alternative protocol *in vitro*.

### Introducción

La heparina no fraccionada (HNF) es la forma menos procesada del glicosaminoglicano (GAG) natural, la cual se aísla como una mezcla de GAG sulfatados principalmente de la mucosa intestinal porcina o pulmonar bovina. Posee una fuerte carga negativa y su peso molecular varía entre 5.000 y 30.000 Da<sup>(1)</sup>. La heparina se une a la antitrombina a través de un pentasacárido de alta afinidad. Su actividad anticoagulante es heterogénea por diversos factores: por un lado, sólo un tercio de las moléculas administradas tienen la secuencia pentasacárida específica, siendo responsables del 90% de su actividad inhibitoria<sup>(2,3)</sup>. Por otra parte, el largo de la molécula influye en el perfil anticoagulante y también en su depuración, ya que las especies de mayor peso molecular son depuradas de circulación dos veces más rápido que las de menor peso molecular. Esto se debe a que la depuración es renal y, fundamentalmente, a la capacidad de la molécula de unirse a proteínas (factor plaquetario 4, glicoproteína rica en histidina, vitronectina, fibronectina, lipoproteínas, fibrinógeno) y a ciertas células (endoteliales y macrófagos)<sup>(4,5)</sup>. En el organismo se encuentran las proteínas unidoras de heparina que

neutralizan su efecto anticoagulante y para compensar esta acción, se requiere el uso de dosis mayores de heparina<sup>(6)</sup>. Estos efectos son variables entre los distintos pacientes y, sumado a la estrecha ventana terapéutica, hace que sea importante que la terapia con HNF sea monitoreada por el laboratorio. El tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) es actualmente la prueba de laboratorio más frecuentemente utilizada para el monitoreo de la terapia con HNF. El objetivo del monitoreo de laboratorio es seleccionar la dosis que logre un efecto anticoagulante óptimo, previniendo la formación de trombos o su progresión, mientras se minimiza el riesgo de sangrado. En el monitoreo de la terapia con HNF hay numerosas variables pre-analíticas, analíticas y biológicas asociadas al uso del APTT, por lo que el tradicional rango de 1,5-2,5 veces el valor basal puede conducir a una heparinización inadecuada, resultando en trombosis<sup>(7)</sup>. Kitchen y Preston demostraron que con niveles de heparinemia terapéutica entre 0,3-0,7 UI/ml determinada por medio de la actividad antifactor Xa (anti-Xa), los reactivos y coagulómetros modernos producen razones de

APTT que van entre 1,6-2,7 y 3,7-6,2 veces el valor basal, dependiendo de la combinación reactivo-coagulómetro<sup>(8)</sup>. Actualmente en la práctica clínica existen más de 300 combinaciones reactivo-instrumento. El CAP (College of American Pathologists) y el ACCP (American College of Chest Physicians) recomiendan que cada institución establezca su propio rango terapéutico de APTT<sup>(9,10)</sup>. Cada laboratorio debe determinar con su equipamiento el rango de APTT, reactivo específico y lote específico, que corresponda a concentraciones de heparina entre 0,3 y 0,7 UI/ml de actividad anti-Xa<sup>(11-13)</sup>. El ensayo de anti-Xa es una forma directa y más específica de medir heparinemia. Esta metodología está menos influenciada por variables biológicas, aunque se ve afectada de igual forma por las variables pre-analíticas y analíticas<sup>(7,14,15)</sup>. Las guías recomiendan que el rango terapéutico sea validado con muestras *ex vivo* de pacientes bajo tratamiento con infusión continua de heparina, midiendo heparinemia por anti-Xa, ya que cuando se utilizan plasmas adicionados con HNF *in vitro* no se tienen en cuenta los efectos que ejercen *in vivo* las proteínas unidoras de heparina, así como tampoco los efectos de su depuración y puede conducir a una sobrestimación del rango terapéutico. Esta calibración del APTT debe realizarse cuando se comienza a trabajar con un nuevo par reactivo-coagulómetro. Cuando hay un cambio de lote de reactivo puede utilizarse un método denominado suma acumulada de diferencias, donde se comparan los resultados de pacientes obtenidos con el lote de reactivo viejo y el nuevo para validar el rango que ya se venía utilizando<sup>(9)</sup>. Sin embargo Marlar y col, en un artículo de reciente publicación, ha desaconsejado la utilización de este método<sup>(12)</sup>. De lo contrario, se debe realizar todo el estudio de calibración del APTT de nuevo con muestras *ex vivo*.

El primer objetivo de este trabajo fue obtener el rango terapéutico de APTT correspondiente a un nivel de heparinemia de 0,3 y 0,7 UI/ml determinada por un ensayo de anti-Xa, utilizando muestras *ex vivo* de pacientes bajo infusión continua con heparina sódica. Un segundo objetivo fue comparar los resultados obtenidos de las muestras *ex vivo* con un protocolo de calibración del APTT con anti-Xa *in vitro*, realizado con muestras de *pool* de plasmas normales adicionadas con cantidades crecientes de HNF.

Teniendo en cuenta que no todos los laboratorios cuentan con el ensayo de actividad anti-Xa para la

heparinemia, el último objetivo que nos propusimos fue comparar los resultados obtenidos con el protocolo alternativo *in vitro* utilizando muestras de *pool* de plasma normales adicionadas con heparina para el ajuste del APTT con concentraciones de HNF entre 0,2 y 0,4 UI/ml.

### Materiales y métodos

Para la obtención del rango terapéutico de heparina (RTH) con muestras *ex vivo*:

Se procesaron 56 muestras de 25 pacientes entre febrero y julio de 2017, que se encontraban bajo infusión intravenosa continua de heparina sódica para profilaxis o tratamiento de diferentes enfermedades tromboembólicas. Estos pacientes se encontraban hospitalizados en las áreas de Unidad Coronaria, Unidad de Cuidados Intensivos, Unidad de Trasplante de Médula Ósea o Clínica Médica del Hospital Universitario Austral. Las edades de los pacientes estuvieron entre los 20 y los 86 años, con una mediana de 57. Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos con citrato de sodio 3,2% (BD Vacutainer®) en una relación de 9 partes de sangre a 1 parte de anticoagulante. En todos los casos las muestras fueron centrifugadas dentro de la hora de la extracción y procesadas dentro de las 4 horas para las pruebas TP, APTT y anti-Xa. Se verificó que las muestras no hayan sido tomadas del brazo donde se encontraba la vía de infusión y que la misma haya sido extraída luego de más de 4 horas de su inicio o cambio de dosis. Ninguno de los pacientes incluidos recibió antagonistas de la vitamina K, inhibidores directos de trombina ni inhibidores directos de factor Xa. Se incluyeron hasta dos resultados del mismo paciente. Se excluyeron tres pacientes por presentar un RIN > 1,4 y un paciente por presentar una marcada hipofibrinogenemia. Los resultados se procesaron con el programa Excel (Microsoft Corporation) mediante un análisis de regresión lineal. El rango terapéutico se obtuvo de los valores de APTT que correspondieron a 0,3 y 0,7 UI/ml de heparinemia medidos por el ensayo de actividad anti-Xa.

Para la obtención del RTH con muestras preparadas *in vitro*:

*Pool* de plasma normal: se prepararon a partir de 30 plasmas frescos de pacientes normales seleccionados del día. Se centrifugó el *pool* para lograr un recuento de plaquetas menor a  $10 \times 10^9$  plaquetas/ul. Se midió el TP, APTT, fibrinógeno y anti-Xa.

Preparación de las muestras de *pool* de plasma adicionados con HNF *in vitro*: se adicionó heparina sódica al *pool* de plasmas normales para obtener muestras en concentraciones crecientes entre 0 y 1,0 UI/ml de HNF. Las mismas se procesaron en tres corridas realizadas en tres días diferentes por duplicado y se midió APTT y anti-Xa. Se utilizó el programa Excel (Microsoft Corporation) para analizar los resultados, se realizaron las gráficas y se trazó la curva que mejor ajusta a los datos utilizando un análisis de regresión lineal. El rango terapéutico se obtuvo de los valores de APTT que correspondieron a 0,3 y 0,7 UI/ml de HNF por anti-Xa, calculados de la ecuación de la curva.

En el protocolo alternativo *in vitro* se utilizaron muestras de *pool* de plasmas adicionadas con HNF para obtener la correlación entre el APTT y la concentración de HNF. Las mismas se procesaron en tres corridas realizadas en tres días diferentes por duplicado y se midió el APTT. Con el programa Excel se graficaron en el eje x las concentraciones de HNF en UI/ml y en el eje y los resultados de APTT en segundos. Se trazó la curva que mejor ajusta a los datos utilizando un análisis de regresión lineal. El rango terapéutico se obtuvo de los valores de APTT que correspondieron a 0,2 y 0,4 UI/ml de HNF, calculados de la ecuación de la curva.

Reactivos: APTT-SP liquid (HemosIL, Instrumentation Laboratory). Este reactivo contiene fosfolípidos sintéticos y sílica coloidal. Liquid Anti-Xa (HemosIL, Instrumentation Laboratory), ensayo cromogénico automatizado. Heparin Calibrators (HemosIL, Instrumentation Laboratory), tres niveles de calibradores liofilizados preparados a partir de plasma citratado humano con concentraciones de 0, 0,8 y 2 UI/ml, que son trazables a los estándares internacionales de la OMS para HBPM y HNF. LMW Heparin Controls (HemosIL, Instrumentation Laboratory), dos niveles de controles preparados a partir de plasma humano citratado para evaluar precisión a niveles bajos y altos de HBPM. UF Heparin Controls (HemosIL, Instrumentation Laboratory), dos niveles de controles preparados a partir de plasma humano citratado para evaluar precisión a niveles bajos y altos de HNF. Heparina sódica (Sobrius, Fada Pharma).

Todos los ensayos fueron realizados en un coagulómetro automatizado ACL TOP 300 CTS. Instrumentation Laboratory.

## Resultados

Entre febrero y junio de 2017 se procesaron 56 muestras correspondientes a 25 pacientes internados en el Hospital Universitario Austral que se encontraban bajo tratamiento con infusión continua de HNF. Con los criterios aplicados se incluyeron 35 muestras de 21 pacientes para el cálculo del RTH.

Se realizó un diagrama de dispersión entre los valores de APTT y anti-Xa obtenidos. El RTH correspondiente a los valores de anti-Xa de 0,3 y 0,7 UI/ml fue de 56 a 87 seg, calculado a partir de la ecuación de regresión lineal. De este análisis se observó un  $R^2$ : 0,786 (**Figura 1**).

En el estudio de correlación entre la actividad anti-Xa y el APTT realizado con las muestras preparadas *in vitro* por la adición de cantidades crecientes de heparina sódica a un *pool* de plasma normal, el RTH fue de 55 a 127 seg para una actividad anti-Xa entre 0,3 y 0,7 UI/ml. En el análisis por regresión lineal se observó un  $R^2$ : 0,959 (**Figura 2**).

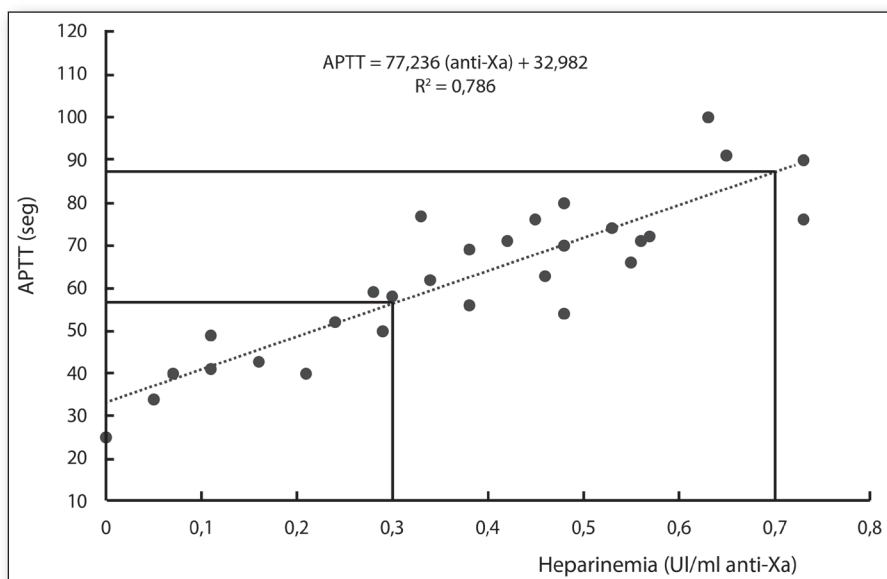
Con respecto al protocolo alternativo donde se midió el rango de APTT en correlación con las distintas concentraciones de HNF realizado sobre muestras preparadas *in vitro* por la adición de cantidades crecientes de heparina sódica a un *pool* de plasma normal, el RTH resultó de 55 a 85 seg para una concentración de HNF entre 0,2 y 0,4 UI/ml. En el análisis por regresión lineal se observó un  $R^2$ : 0,9157 (**Figura 3**).

## Discusión

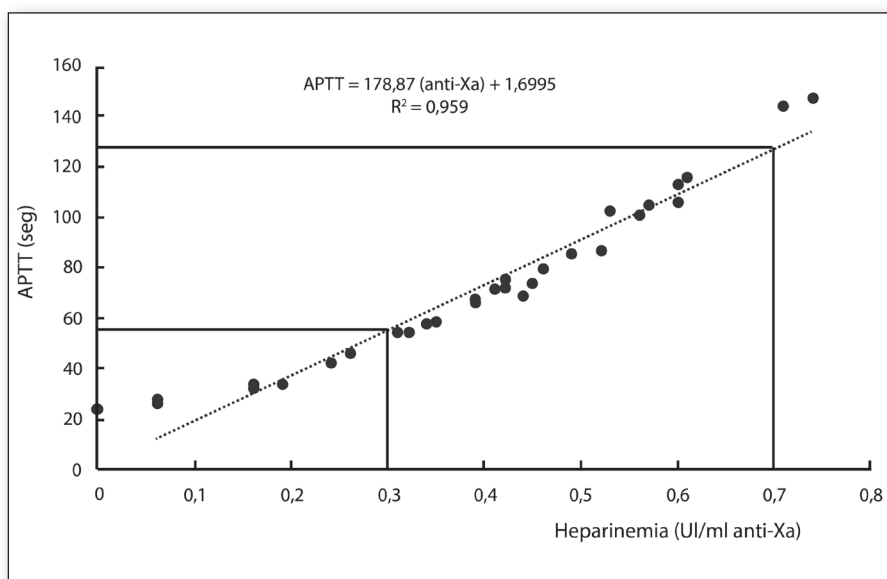
Se ha demostrado en distintos trabajos que el método recomendado para obtener el RTH en el monitoreo del tratamiento con HNF es la calibración del APTT con la heparinemia por anti-Xa, utilizando muestras *ex vivo* de pacientes bajo infusión continua con HNF<sup>(11,12,16-22)</sup>. Dado que este rango debe ser calculado en cada laboratorio con su par reactivo-coagulómetro, en este estudio quisimos obtener el RTH para nuestra institución. Pudimos establecer nuestro RTH en 56-87 seg para una heparinemia de 0,3-0,7 UI/ml (**Figura 1**). En un estudio previo, Mariné y col<sup>(19)</sup> utilizaron el mismo coagulómetro y reactivo de APTT que en nuestro caso, aunque diferente reactivo de anti-Xa, y obtuvieron un RTH de 50-80 seg. Si bien estos valores pueden ser comparables con nuestros resultados, esto demuestra que no debemos utilizar el RTH realizado en otro laboratorio, ya que los pacientes con resultados entre 50 y 56

seg de APTT estarían subterapéuticos. Si lo comparamos con el RTH de 87-129 seg publicado por Byun y col<sup>(20)</sup> con un par reactivo-coagulómetro de otra marca y diferente principio de detección, concluimos que no son comparables. Al igual que lo observado por otros autores<sup>(12)</sup>, confirmamos que en la correlación del APTT con anti-Xa *in vitro* hay una sobrestimación de los valores con respecto al estu-

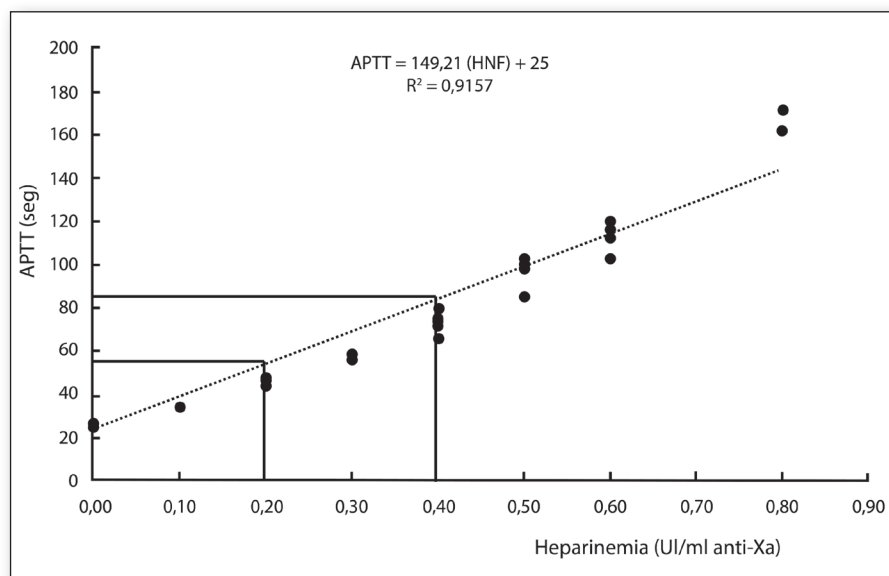
dio con muestras *ex vivo* (Figura 4), ya que no se tienen en cuenta los efectos que ejercen *in vivo* las proteínas unidoras de heparina, así como tampoco los efectos de su depuración. Esta sobrestimación se ve acentuada en los valores más altos de la curva, mientras que los valores obtenidos para el límite inferior del RTH no fueron significativamente diferentes (Figura 4).



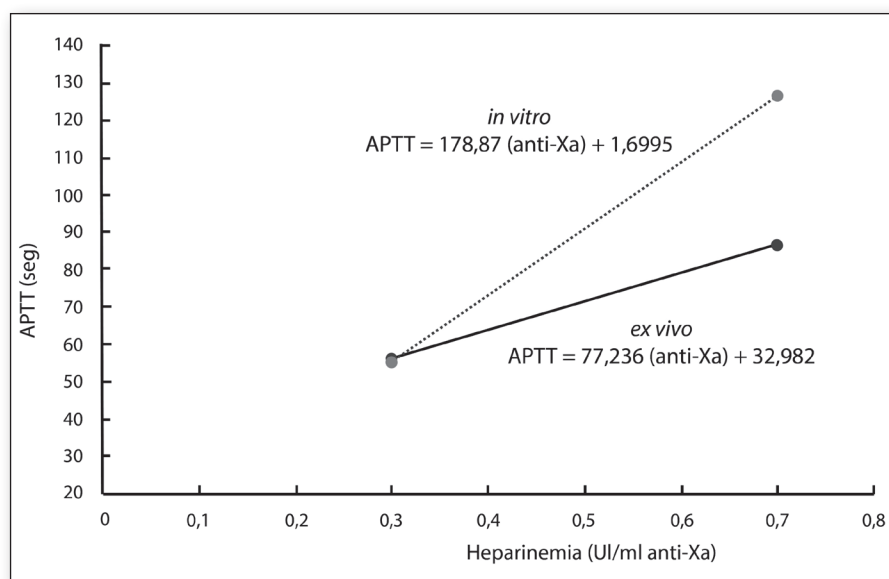
**Figura 1. Rango terapéutico de heparina *ex vivo*.** El RTH obtenido con muestras *ex vivo* fue de 56-87 seg, para una heparinemia por anti-Xa entre 0,3 y 0,7 UI/ml, con la heparina sódica Sobrius (Fada Pharma), el reactivo HemosIL APTT-SP (IL) y el reactivo HemosIL Liquid Anti-Xa, en un coagulómetro ACL TOP 300 CTS.



**Figura 2. Rango terapéutico de heparina *in vitro*.** El RTH obtenido con muestras preparadas *in vitro* a partir de pool de plasmas normales adicionado con heparina sódica fue de 55-127 seg, para una heparinemia por anti-Xa entre 0,3 y 0,7 UI/ml, con la heparina sódica Sobrius (Fada Pharma), el reactivo HemosIL APTT-SP (IL) y el reactivo HemosIL Liquid Anti-Xa, en un coagulómetro ACL TOP 300 CTS.



**Figura 3. Rango terapéutico HNF con el protocolo alternativo in vitro.** El RTH obtenido con muestras preparadas in vitro a partir de pool de plasmas normales adicionado con heparina sódica fue de 55-85 seg, para una concentración de HNF entre 0,2 y 0,4 UI/ml, con la heparina sódica Sobrius (Fada Pharma), el reactivo HemosIL APTT-SP (IL) y el reactivo HemosIL Liquid Anti-Xa, en un coagulómetro ACL TOP 300 CTS.



**Figura 4. Comparación del RTH ex vivo vs in vitro.** Comparación de las rectas de regresión lineal obtenidas utilizando el protocolo con muestras ex vivo versus el protocolo con muestras de plasma normal adicionadas con heparina in vitro, midiendo heparinemia por anti-Xa. Protocolo ex vivo (línea sólida), protocolo in vitro (línea punteada).

También pudimos comprobar que el rango fijo tradicional de 1,5 a 2,5 veces el valor basal del APTT no es válido en nuestro laboratorio. Este rango debería ser de 44-74 seg, si utilizamos el valor medio del intervalo de referencia para nuestro reactivo de APTT (22-37 seg). De acuerdo al RTH que obtuvimos para nuestro par reactivo-coagulómetro tendríamos un rango de razones de APTT de 1,9 a 2,9 veces el va-

lor basal. Esto demuestra que si utilizáramos el rango tradicional, los pacientes con valores de APTT entre 44 y 56 seg estarían subterapéuticos y por lo tanto en riesgo aumentado de trombosis.

Cuando comenzamos a utilizar en la práctica diaria el RTH calculado para nuestra institución, encontramos casos de pacientes con resultados discordantes entre el APTT y el anti-Xa. Price y col. han obser-

vado que ciertos pacientes presentan un APTT relativamente elevado para su actividad anti-Xa, como así también resultados relativamente bajos para su anti-Xa<sup>(23)</sup>. Existen situaciones donde está recomendado utilizar la heparinemia por anti-Xa para el monitoreo y no el APTT, como por ejemplo en pacientes con resistencia a la heparina y también en pacientes con anticoagulante lúpico positivo o deficiencia de factores de la fase de contacto, en los cuales el valor basal de APTT está elevado. Lo mismo ocurre en pacientes con una respuesta alterada a la heparina por niveles marcadamente elevados de factor VIII y/o FBG<sup>(11,12)</sup>.

El objetivo final de obtener un RTH correcto es prevenir dosificaciones inadecuadas, especialmente subterapéuticas. El método *ex vivo* para determinar el RTH es el mejor protocolo actualmente disponible, pero no nos resultó fácil reclutar la cantidad de muestras *ex vivo* de pacientes bajo tratamiento necesarias para realizarlo. A pesar de que hay estudios publicados en los que no se recomienda el ensayo *in vitro* para establecer el RTH<sup>(12)</sup>, observamos que el valor inferior del rango obtenido por el protocolo *in vitro* puede ser útil para aquellas instituciones en donde no tienen un número de pacientes adecuado que les permita realizar la calibración del APTT con muestras *ex vivo*. Como ha sido demostrado previamente por Cheluja y col<sup>(24)</sup>, nosotros también hemos observado que, para el caso de los laboratorios que no cuentan con el método de dosaje de heparinemia por anti-Xa, sería recomendable al menos estudiar localmente la correlación del reactivo de APTT con el protocolo alternativo *in vitro*, para tener una aproximación del valor inferior del RTH.

#### Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés.

#### Agradecimientos

A la empresa Werfen Medical Argentina S.A. que brindó apoyo a nuestro proyecto con reactivos para la realización de la curva de calibración del APTT con la heparinemia por anti-Xa, utilizando muestras *ex vivo* de pacientes.

#### Bibliografía

1. Oduah EI, Linhardt RJ, Sharfstein ST. Heparin: Past, Present, and Future. *Pharmaceuticals*. 2016 Set; 9(3):38.
2. Lindahl U, Bäckström G, Höök M y col. Structure of the Antithrombin-Binding Site in Heparin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1979; 76: 3198–3202.
3. Oosta GM, Gardner WT, Beeler DL y col. Multiple Functional Domains of the Heparin Molecule. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981; 78: 829–833.
4. Nakkache M, Martinuzzo M. Control de la terapia anticoagulante con heparina. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis (Grupo CAHT). Segunda Edición. Cap 7. Pág 346-354.
5. Lane DA, Denton J, Flynn AM y col. Anticoagulant Activities of Heparin Oligosaccharides and Their Neutralization by Platelet Factor 4. *Biochem J*. 1984; 218: 725–732.
6. Adcock D, Moser K. Mechanism and Monitoring of Anticoagulant agents. *An Algorithmic Approach to Hemostasis Testing*. Second edition. CAP Press eBooks. Kandice Kottke-Marchant Editor. 2016; Cap 28: p 39-40.
7. Rosa CM, Burdet J. Monitoreo de la terapia con heparina no fraccionada: el APTT tradicional versus la heparinemia por anti-Xa. *Hematología*. 2017; 21(1): 86-92. <http://www.sah.org.ar//revista/index.asp>.
8. Kitchen S, Preston FE. The therapeutic range for heparin therapy: relationship between six activated partial thromboplastin time reagents and two heparin assays. *Thromb Haemost*. 1996 May; 75(5): 734-9.
9. Olson JD, Arkin CF, Brandt JT y col. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of unfractionated heparin therapy. *Arch Pathol Lab Med*. 1998; 122:782-798.
10. College of American Pathologists (CAP). Heparin Therapeutic Range. HEM.23453. Phase I. Revised 07/29/2013.

11. Smythe MA, Priziola J, Dobesh P y col. Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016; 41: 165-186.
12. Marlar RA, Clement B, Gausman J. Activated partial thromboplastin time monitoring of unfractionated heparin therapy: issues and recommendations. *Semin Thromb Hemost*. 2016; 43(3): 253-260.
13. Marlar RA, Gausman JN. The effect of instrumentation and laboratory site on the accuracy of the APTT-based heparin therapeutic range. *Int J Lab Hematol*. 2012 Dec; 34(6): 614-20.
14. Vandiver JW, Vondracek TG. Antifactor Xa Levels versus Activated Partial Thromboplastin time for monitoring Unfractionated Heparin. *Pharmacotherapy*. 2012; 32(6):546-558.
15. McGlasson DL, Kaczor DA, Krasuski RA y col. Effects of pre-analytical variables on the anti-activated factor X chromogenic assay when monitoring unfractionated heparin and low molecular weight heparin anticoagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2005 Apr; 16(3):173-6.
16. Guervill DJ, Rosenberg AF, Winterstein AG y col. Activated Partial Thromboplastin Time Versus Antifactor Xa Heparin Assay in Monitoring Unfractionated Heparin by Continuous Intravenous Infusion. *Ann Pharmacother*. 2011; 45:861-8.
17. Lehman CM, Frank EL. Laboratory monitoring of heparin therapy: partial thromboplastin time or anti-Xa assay? *Labmedicine.com*. CE Update Jan 2009; 40: 47-51.
18. Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: time for a fresh look. *Thromb Haemost*. 2006; 96:547-552.
19. Mariné L, Sánchez G, Vargas J.F. y col. Correlación de valores de TTPa con anti factor Xa para establecer rango terapéutico en tratamiento anticoagulante con heparina sódica. *Rev. Med. Chile*. 2014;142: 1392-1397.
20. Byun J-H, Jang I-S, Kim JW y col. Establishing the heparin therapeutic range using aPTT and anti-Xa measurements for monitoring unfractionated heparin therapy. *Blood Res*. 2016; 51: 171-4.
21. Wayne, PA. CLSI. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. 2nd ed. CLSI document H47-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008 20.
22. Olson JD. How to validate heparin sensitivity of the aPTT. *CAP Today* 2004; 18:72-78.
23. Price EA, Jin J, Nguyen H y col. Discordant aPTT and Anti-Xa values and Outcomes in Hospitalized Patients Treated with Intravenous Unfractionated Heparin. *Ann Pharmacother*. 2013; 47:151-158.
24. Cheluja MG, Lorenzón MV, D'Adamo A y col. Cálculo del rango terapéutico de APTT para el tratamiento con Heparina no Fraccionada. Poster Xº Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis del Grupo CAHT. 2016.