

Évaluation du citrate théophylline adénosine dipyridamole (CTAD) et du citrate comme anticoagulant dans la surveillance du traitement par héparine non fractionnée : validation d'une centrifugation différée pour le dosage de l'anti-Xa *

Theophylline adenosine dipyridamole (CTAD) and citrate evaluation to survey unfractionated heparin treatment: a delayed centrifugation validation for anti-Xa measurement?

Paul Billoir^{1,3}
Thomas Clavier^{2,3}
Arnaud Guilbert²
Virginie Barbay⁴
Marie Hélène Chrétien⁴
Marielle Fresel⁴
Caroline Abriou²
Christophe Girault⁵
Véronique Le Cam Duchez^{1,3}

¹ Service d'hématologie biologique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

² Département d'anesthésie-réanimation, Inserm U1096, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

³ Inserm U1096, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

⁴ Unité d'hémostase vasculaire, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

⁵ Département de réanimation médicale, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

Article reçu le 12 juin 2019,
accepté le 20 janvier 2020

Résumé. L'héparine non fractionnée (HNF) est l'anticoagulant majeur utilisé en unité de soin intensif. Elle est monitorée par le temps de céphaline + activateur (TCA) ou l'activité anti-Xa (anti-Xa). Une centrifugation retardée induit un relargage de facteur 4 plaquettaire (PF4) et une diminution de l'anti-Xa. Plusieurs études ont démontré que les dosages devaient être réalisés dans les 2 heures après prélèvement sur citrate, et pouvaient être différés sur citrate théophylline adénosine et dipyridamol (CTAD). L'objectif de cette étude a été de comparer la stabilité du TCA et de l'anti-Xa sur prélèvement citrate et CTAD, et d'évaluer l'effet d'une centrifugation différée sur le TCA, l'anti-Xa sur tube citrate. **Méthodes.** Le TCA et l'anti-Xa ont été comparés sur 93 couples de prélèvements sur tubes citrate et CTAD provenant de patients de réanimation. L'étude des effets de la centrifugation différée de 1 à 6 heures a été réalisée sur 31 patients avec mesure du TCA et de l'anti-Xa. Chez 14 de ces patients, le relargage de PF4 a été évalué par Human CXCL4/PF4 Quantikine Elisa Kit. **Résultats.** Le TCA ($r^2 = 0,94$) et l'anti-Xa ($r^2 = 0,95$) montrent une bonne corrélation entre le citrate et le CTAD sans réelle influence du délai préanalytique. Par ailleurs, dans l'étude sur l'effet de la centrifugation retardée, la corrélation de Bland-Altman retrouve un biais mineur pour l'anti-Xa ($-0,025 \pm 0,041$). Une excellente concordance a été retrouvée entre 1 heure et 4 heures pour le TCA ($-4,0 \pm 5,3$ s) et l'anti-Xa ($1.10^{-9} \pm 0,058$ UI/mL). De plus, le relargage de PF4 était très faible entre 1 heure ($31,5 \pm 14,7$ ng/mL) et 4 heures ($33,8 \pm 11,8$ ng/mL). **Conclusion.** Nous avons démontré que la mesure du TCA et l'anti-Xa pour monitorer l'HNF pouvait être réalisée jusqu'à 4 heures après prélèvement sur tube citrate avec nos réactifs.

Correspondance : P. Billoir
<paul.billoir@chu-rouen.fr>

* Cet article est la version française d'un travail publié en langue anglaise : Billoir P, Clavier T, Guilbert A, Barbay V, Chrétien MH, Fresel M, *et al.* Is citrate theophylline adenosine dipyridamole (CTAD) better than citrate to survey unfractionated heparin treatment? Has delayed centrifugation a real impact on this survey? *J Thromb Thrombolysis* 2019 ; 48(2) : 277-83. <https://doi.org/10.1007/s11239-019-01882-1>(38). Copyright © Springer, tous droits réservés.

Mots clés : héparine non fractionnée, mesure de l'anti-Xa, CTAD, centrifugation différée, facteur 4 plaquettaire

Abstract. Unfractionated heparin (UFH) is the main anticoagulant used in intensive care unit. The anticoagulant effect is monitored by activated partial thrombin time (aPTT) and anti-Xa activity (anti-Xa) measurement. However, delayed centrifugation induces platelet factor 4 (PF4) release and anti-Xa decrease. Several studies have concluded that aPTT and anti-Xa measurement should be performed within 2 hours in citrated anticoagulant but may be delayed longer in citrate theophylline adenosine and dipyridamol (CTAD) anticoagulant. The objective of this study was to compare the stability of both aPTT and anti-Xa in citrate and CTAD samples, and to determine the effect of delayed centrifugation on both aPTT, anti-Xa results, and PF4 release in citrate samples only. *Methods.* aPTT and anti-Xa were measured in citrate and CTAD anticoagulant samples from 93 patients. Delayed centrifugation was performed in citrate samples from 31 additional patients, with hourly aPTT and anti-Xa measurement from 1 to 6 hours. In 14 of these last patients, PF4 release was also evaluated with Human CXCL4/PF4 Quantikine ELISA Kit. *Results.* We observed a significant correlation between citrate and CTAD anticoagulant for aPTT ($r^2=0.94$) and anti-Xa ($r^2=0.95$). With Bland-Altman correlation, a minor bias was observed for anti-Xa (-0.025 ± 0.041). Delayed centrifugation in citrated anticoagulant showed an excellent concordance from 1 to 4 hours for aPTT (-4.0 ± 5.3 s) and anti-Xa ($1.10^{-9}\pm0.058$ UI/mL) measurements. Moreover, PF4 release was not different between 1 hour (31.5 ± 14.7 ng/mL) and 4 hours (33.8 ± 11.8 ng/mL). *Conclusion.* We have demonstrated that anti-Xa measurement for unfractionated heparin should be done 4 hours in citrated plasma and that CTAD was not better than citrate. However, these initial findings require confirmation using other aPTT and calibrated anti-Xa assays.

Key words: unfractionated heparin, anti-Xa measurement, CTAD, delayed centrifugation, platelet factor 4

L'héparine non fractionnée (HNF) a été le traitement anticoagulant majeur pendant 80 ans [1]. Ces glycosaminoglycanes sulfates sont le co-facteur de l'antithrombine qui se lie de façon covalente avec la thrombine et inhibe la coagulation [2]. Son profil pharmacocinétique est une demi-vie de 60 à 120 min [3], une élimination cellulaire et une clairance rénale non saturable [4], ce qui est un avantage en unité de soins intensifs (USI). Historiquement, l'effet anticoagulant de l'HNF était couramment monitoré par le temps de céphaline + activateur (TCA) [5] avec une zone d'efficacité entre 1,5 et 2,5 [5] pour le TCA ratio (patient/contrôle). Cependant, le TCA peut être raccourci en présence d'une concentration élevée de facteur VIII [6] ou de fibrinogène [7]. L'inflammation induit une résistance à l'héparine et le monitoring du traitement devient compliqué [8-10]. D'autre part, la présence d'un lupus anticoagulant ou d'une maladie hépatique peut allonger spontanément le TCA initial [11, 12]. Ainsi, la mesure de l'activité anti-Xa (anti-Xa) de l'HNF est une alternative

quand le TCA est ininterprétable [13, 14]. Comme le TCA, la mesure de l'anti-Xa est très sensible aux variations pré-analytiques. Plusieurs recommandations préconisent une mesure dans les deux heures si le prélèvement est réalisé sur un tube contenant du citrate de sodium (citrate) [15, 16]. Une mesure différée induit une activation des plaquettes et un relargage de facteur 4 plaquettaire (PF4) qui se complexe avec l'HNF et diminue l'anti-Xa [17] et raccourcit le TCA. Les prélèvements sur tubes contenant du citrate théophylline, adénosine et dipyridamol (CTAD) de sodium permettent une mesure de l'anti-Xa jusqu'à 6 heures après prélèvement, en effet le CTAD inhibe l'activation des plaquettes [18, 19]. Cependant, les tubes CTAD sont plus chers et ne permettent pas d'étudier les fonctions plaquettaires ce qui peut être problématique pour un établissement hospitalier.

L'objectif de cette étude a été de comparer la stabilité du TCA et de l'anti-Xa sur prélèvement citrate et CTAD ; et de déterminer l'effet d'une centrifugation différée sur le TCA

et l'anti-Xa sur tube citrate. Le relargage de PF4 a aussi été évalué.

Matériel et méthodes

Cette étude a été menée en deux parties et a recruté des patients de réanimation médicale et chirurgicale du centre hospitalo-universitaire de Rouen entre juin 2016 et septembre 2018. Au total, 124 patients ont été inclus : 93 pour la comparaison entre le citrate et le CTAD, et 31 pour l'étude sur la centrifugation différée. Cette étude a été approuvée par notre comité institutionnel local « Comité d'éthique pour la recherche non interventionnelle du Centre hospitalo-universitaire de Rouen ».

Comparaison entre prélèvement citrate et CTAD

Pour la première partie de l'étude, 93 patients hospitalisés en réanimation chirurgie cardiaque traités par HNF ont été inclus. Pour chaque patient, deux échantillons ont été prélevés au même instant pour monitorer le traitement anticoagulant : citrate et CTAD.

Les tubes utilisés étaient pour le citrate de sodium : 3,2 %, 0,109 M (Greiner) et le CTAD : 3,5 %, (Beckton-Dickinson). Les deux tubes étaient acheminés dans l'unité d'hémostase dans les conditions habituelles et ont été centrifugé 15 min à $2\,250\text{ g} \pm 250\text{ g}$ à température ambiante ($20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) comme recommandé par le Groupe français d'étude sur la thrombose et l'hémostase (GFHT) [16]. Les plasmas hémolysés étaient exclus pour éviter les interférences analytiques du test chromogénique anti-Xa. Le TCA et l'anti-Xa ont été réalisés sur plasma citrate et CTAD.

Le TCA a été mesuré avec le STA R-PTT Automate® (PTT-A, Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France). Le temps du plasma contrôle (CT) était 32,8 sec. L'activité Anti-Xa a été réalisée avec une méthode chromogénique : STA R-Liquid Anti-Xa (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France). Un calibrant spécifique a été utilisé pour l'HNF (Multi Hep Calibrator, Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France). Chaque test a été réalisé sur un STA R Max coagulation analyzer (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France).

Étude de la centrifugation différée

Pour la deuxième partie de l'étude, 31 patients hospitalisés en réanimation médicale ont été inclus. Pour chaque patient, trois tubes citrate ont été collectés en même temps pour monitorer le traitement anticoagulant et ont été envoyés rapidement au laboratoire d'hémostase. À l'arrivée au laboratoire, chaque tube citrate a été divisé en deux aliquotes égales, et chaque aliquote a été centrifugé chaque heure de 1 à 6 heures après prélèvement. Après centrifugation, le

TCA et l'anti-Xa ont été réalisés. La centrifugation et les tests ont été réalisés comme décrit ci-dessus.

Enfin, le plasma restant de 14 des 31 patients a été centrifugé une seconde fois et congelé à -80 °C pour la mesure du PF4. Les concentrations de PF4 plasmatiques ont été mesurées avec Human CXCL4/PF4 Quantikine Elisa Kit (R & D Systems, MI, USA). La numération plaquettaire a été réalisée sur tube EDTA avec un XN-1000 (Sysmex, Villepinte, France).

Analyses statistiques

Les données sont exprimées en moyenne \pm déviation standard (SD). Une corrélation de Pearson et un test de Kruskal-Wallis complété par un test post-hoc de comparaison multiple de Dunn, ont été réalisés. Une analyse de Bland-Altman a été réalisée pour évaluer la concordance entre les prélèvements citrate et CTAD. Le taux de recouvrement a été réalisé pour évaluer la stabilité de la centrifugation différée pour l'activité anti-Xa sur tube citrate (biais global = $\text{anti-Xa}_{4h}/\text{anti-Xa}_{1h}$). Le Bland-Altman était considéré comme acceptable si 95 % des valeurs étaient comprises dans la cible. Le taux de recouvrement était considéré comme acceptable si les limites de variation recommandées, au 90^e percentile, étaient celles publiées par le GFHT (14,6 % pour le TCA) et 15 % pour l'anti-Xa. La corrélation, la régression linéaire, le test de Kruskal-Wallis complété par un test post-hoc de comparaison multiple de Dunn, et la comparaison de Bland-Altman ont été réalisés avec Graphpad Prism 5.0. Une p value $< 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

Résultats

Comparaison entre prélèvement citrate et CTAD

Quatre-vingt-treize patients ont été inclus pour la comparaison entre les prélèvements citrates et CTAD. Le délai moyen entre le prélèvement et l'analyse était de 119 ± 44 min [maximal : 55-251 min]. La valeur moyenne du TCA était de $57,5 \pm 20,8$ sec et $58,5 \pm 21,2$ sec pour les prélèvements citrate et CTAD, respectivement. La valeur moyenne de l'activité anti-Xa de $0,18 \pm 0,16$ UI/mL et $0,21 \pm 0,16$ UI/mL pour les tubes citrate et CTAD, respectivement.

Il y avait une corrélation importante entre les prélèvements citrate et CTAD pour le TCA ($r^2 = 0,94$, CI95% [0,86-1,02]) (figure 1A) et l'anti-Xa ($r^2 = 0,95$, CI95% [0,90-1,00]) (figure 1B). La figure 1 ne montre aucune différence en fonction du temps entre les prélèvements citrate et CTAD pour le TCA (1C) et l'anti-Xa (1D) respectivement. Finalement, le TCA et l'anti-Xa ont été réalisés sur 42 échantillons au-delà de deux heures (158 ± 36 min). Dans ce sous-groupe, la comparaison de Bland-Altman a démontré une excellente

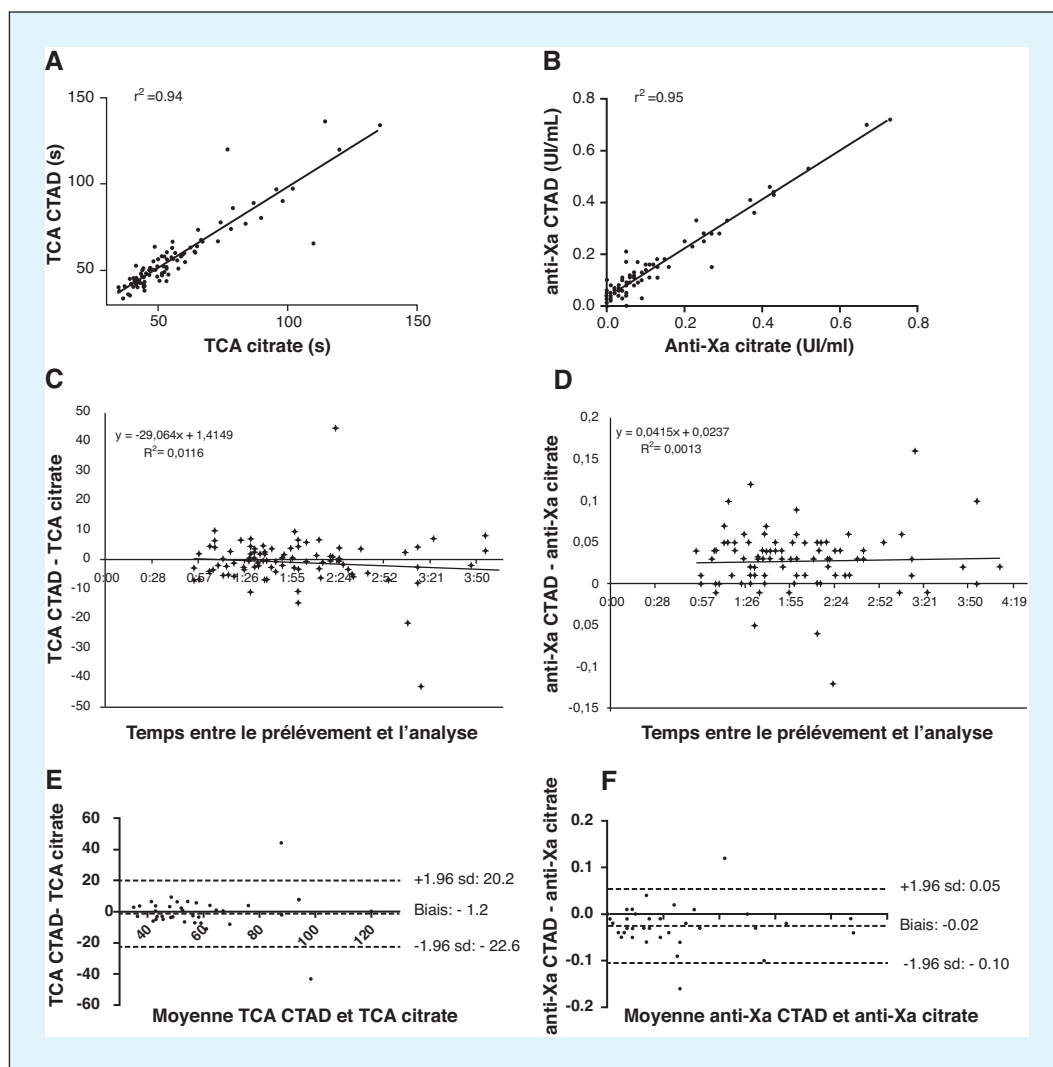


Figure 1. Corrélation entre les prélèvements citrates et CTAD. Corrélation de Pearson pour le TCA (A) et l'anti-Xa (B). Évolution au cours du temps de la différence entre le citrate et le CTAD pour le TCA (C) et l'anti-Xa (D). Comparaison de Bland-Altman sur le TCA (E) et l'anti-Xa (F) lorsque l'analyse a été effectuée au-delà de 2 heures post prélèvement.

concordance des analyses entre les différents anticoagulants. La différence moyenne \pm SD entre les échantillons citrate et CTAD était $-1,2 \pm 10,9$ sec et $-0,03 \pm 0,04$ UI/mL pour le TCA (figure 1E) et pour l'anti-Xa (figure 1F), respectivement.

Étude de la centrifugation différée

Trente et un patients ont été inclus pour comparer le TCA et l'anti Xa sur tube citrate à différents temps de centrifugation. La valeur moyenne du TCA était de $66,9 \pm 19,7$ sec, $71,4 \pm 18,9$ sec, et $74,1 \pm 19,9$ sec à 1, 4 et 6 heure(s) après prélèvement respectivement (figure 2A et tableau 1). Le biais global pour le TCA était de 107 ± 9 % et 112 ± 14 % entre 1 et 4 heures, et 1 et 6 heures, respectivement. La valeur moyenne de l'anti-Xa était de $0,37 \pm 0,21$

UI/mL, $0,37 \pm 0,20$ UI/mL, et $0,35 \pm 0,22$ IU/mL à 1, 4 et 6 heure(s) respectivement (figure 2B). Le taux de recouvrement entre 1 et 4 heures était de 106 ± 16 %. Cinq patients étaient au-delà du biais global de 15 % (biais global = $\text{anti-Xa}_{4h}/\text{anti-Xa}_{1h}$), 3 au-dessus (200 %, 125 % et 119 %), et deux en dessous (84 %, 83 %). Cette variation entre l'activité mesurée entre t4h et t1h était sans impact clinique. Le biais global était plus faible entre 1 et 6 heures mais avec une déviation standard plus importante ($98,5 \pm 25,4$ %).

La comparaison de Bland-Altman démontrait une excellente concordance entre les temps de centrifugation différée. La différence moyenne \pm SD entre 1 heure et 4 heures était $-4,0 \pm 5,3$ sec et $1,10^{-9} \pm 0,06$ UI/mL pour le TCA (figure 2C) et anti-Xa (figure 2D), respectivement.

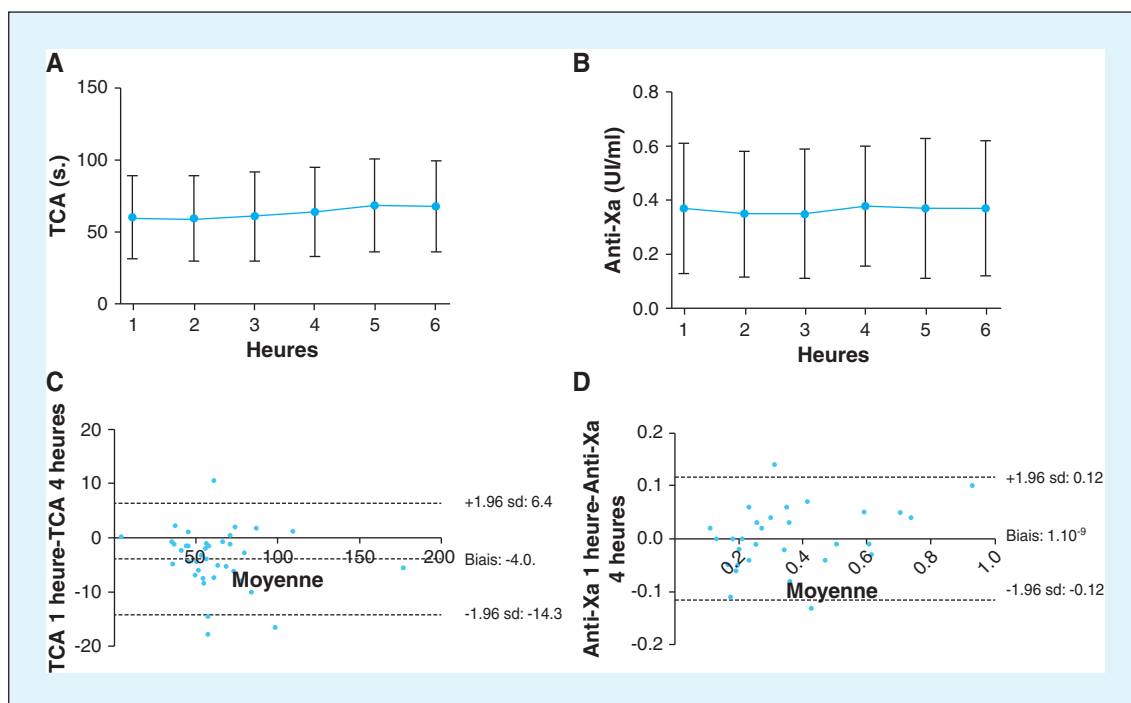


Figure 2. Évaluation de la centrifugation différée sur le TCA et l'anti-Xa. Valeur moyenne du TCA (A) et de l'anti-Xa (B) au cours du temps sur plasma citrate. Comparaison de Bland-Altman entre la première et la quatrième heure sur le TCA (C) et l'anti-Xa (D).

Tableau 1. Impact de la centrifugation différée sur le TCA et l'anti-Xa.

	1 heure	2 heures	3 heures	4 heures	5 heures	6 heures
TCA (s.)	66,8 ± 19,6	67,6 ± 21,1	66,5 ± 20,5	71,5 ± 18,9	73,9,4 ± 24,6	74,1 ± 19,9
Anti-Xa (UI/mL)	0,37 ± 0,21	0,37 ± 0,21	0,35 ± 0,22	0,37 ± 0,20	0,36 ± 0,26	0,35 ± 0,22
Biais moyen TCA		99 ± 18	100 ± 10	107 ± 9	108 ± 23	112 ± 14
Biais moyen Anti-Xa		102 ± 22	97 ± 22	106 ± 16	99 ± 25	99 ± 25
Bland Altman TCA (s.)		-0,9 ± 6,1	0,2 ± 6,4	-4,0 ± 5,3	-6,7 ± 10,0	-7,2 ± 7,8
Bland Altman Anti-Xa (UI/mL)		0,02 ± 0,05	0,02 ± 0,05	$1.10^{-9} \pm 0,06$	0,01 ± 0,06	0,02 ± 0,07

Le biais moyen correspond au ratio : (Résultat_{mesure différée}/Résultat_{1 heure} × 100). Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

La concordance entre 1 heure et 6 heures était plus faible avec $-7,2 \pm 7,8$ sec et $0,02 \pm 0,07$ UI/mL pour le TCA et l'anti-Xa, respectivement.

Effet de la centrifugation différée sur le relargage de facteur 4 plaquettaire

Quatorze patients ont été inclus pour mesurer l'effet de la centrifugation différée sur le relargage de PF4. La concentration en PF4 était $31,5 \pm 14,7$ ng/mL, $33,8 \pm 11,8$ ng/mL et $33,5 \pm 10,0$ ng/mL à 1, 4 et 6 heures(s) après prélèvement, respectivement (figure 3). Avec un test de Kruskal-Wallis associé un test post-hoc de comparaison multiple de Dunn, aucune différence n'a été retrouvée entre les différentes

heures pour le relargage de PF4 ($p = 0,51$). La numération plaquettaire était de 262 ± 109 G/L. Aucune corrélation n'a été retrouvée entre la numération plaquettaire et le relargage de PF4 ($p = 0,062$).

Discussion

Dans cette étude, nous avons démontré que la mesure de l'activité anti-Xa peut être réalisée sur tubes citrate et CTAD avec des résultats équivalents. Nous avons aussi démontré que la mesure du TCA et de l'anti-Xa pouvait être différée sur tubes citrate.

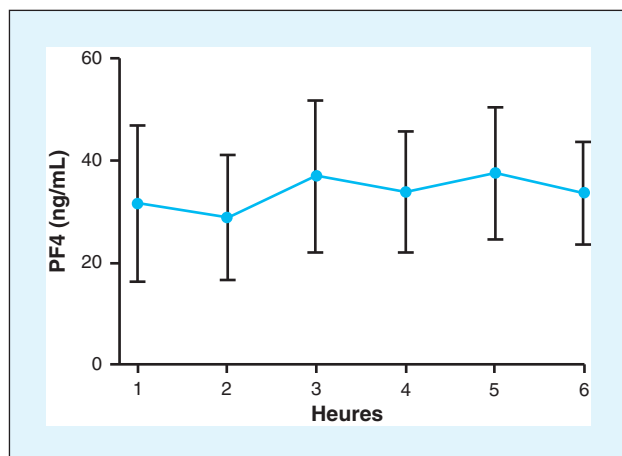


Figure 3. Effet de la centrifugation différée sur le relargage de facteur 4 plaquettaire.

De précédentes études ont rapporté des résultats contradictoires pour la surveillance de l'HNF avec le TCA et l'anti-Xa. Heil *et al.* ont observé une réduction de 13 % sur le TCA à 8 heures à température ambiante [20]. D'autres auteurs ont démontré une stabilité du TCA de 8 à 24 heures sur des plasmas sans traitement anticoagulant à température ambiante [15, 21, 22]. Chez les patients anticoagulés, Adcock *et al.* rapportent une stabilité d'une heure et recommandent de ne pas différer la centrifugation [23]. Narayan *et al.* recommandent l'utilisation du CTAD pour la mesure du TCA, avec une activation moindre des plaquettes [24]. À l'inverse, nous avons démontré qu'il n'y avait pas de différence entre l'utilisation du citrate et du CTAD comme anticoagulant pour la mesure du TCA et de l'anti-Xa. De plus, la mesure de l'efficacité de l'héparine était stable au-delà de 2 heures sur plasma citrate pour la mesure du TCA et l'anti-Xa.

Les tubes citrate sont 2 à 4 fois moins chers que les tubes CTAD et les fonctions plaquettaires peuvent être réalisées sur tube citrate. Cette caractéristique peut être importante pour les laboratoires réalisant le monitoring des traitements par héparines et l'évaluation des fonctions plaquettaires. Le *Clinical and laboratory standards institute* recommande une centrifugation jusqu'à 1 heure et 4 heures après prélèvement pour la mesure de l'anti-Xa et le TCA sur plasma citrate, respectivement [18]. Les recommandations françaises sont une centrifugation dans les deux heures ou dans la première heure si l'analyse doit être différée [16]. Dans notre étude, nous avons observé plus de variation sur le TCA que sur l'anti-Xa. L'augmentation du TCA a été décrite sur les prélèvements stockés à 4 °C, par activation et consommation du facteur VIII [25], mais aucune différence n'a été observée à température ambiante. Adcock *et al.* ont démontré une diminution de 45 % de l'héparine *in vitro* à

4 heures sur le TCA [21]. Cependant, cette étude a été réalisée sur 3 patients. Nos résultats démontrent une bonne stabilité à 4 heures avec la comparaison de Bland-Altman. Pour 5 patients au-delà du biais global, le résultat est en dessous de la déviation standard relative de la méthode d'anti-Xa. De plus, chez certains patients, nous avons observé une activité anti-Xa plus importante à 4 heures qu'à une heure. Cependant, nos résultats ont confirmé une certaine stabilité à 6 heures, suggérant la possibilité de différer les dosages sur tubes citrate.

Le PF4 est le composant majeur des granules α [26, 27]. Ce peptide est normalement lié au chondroïtine-4-sulphate mais son association peut être déplacée par l'HNF circulante [28]. Cette grande affinité pour l'héparine peut être une cause majeure de sous-estimation de l'héparinémie [29, 30]. Une étude *in vitro* a démontré que 27 UI d'HNF sont neutralisées par 1 mg de PF4 [31]. Le relargage de PF4 est causé par l'activation plaquettaire [32], qui peut être observé lors d'une centrifugation différée sur tube citrate [17] et nécessite un anticoagulant CTAD si l'anti-Xa ne peut être réalisée dans les deux heures. De plus, le relargage du PF4 est diminué quand l'échantillon est stocké à 4 °C [21]. Cependant, Mussbacher *et al.* ont trouvé qu'il n'y avait pas de différence dans le relargage du PF4 entre l'utilisation de tube citrate et CTAD [33]. De façon similaire, nos résultats ne suggèrent aucune différence dans le relargage du PF4 lors d'une centrifugation différée sur plasma citrate. De plus, nous avons réalisé les tests à température ambiante. Une étude a démontré une concentration plasmatique plus faible de PF4 ($5,3 \pm 2,6$ ng/mL) chez des volontaires sains [34]. Les concentrations plus importantes retrouvées dans notre population peuvent être expliquées par le syndrome inflammatoire observé fréquemment en USI [35]. Le PF4 n'est pas le seul dérivé qui peut être une source d'erreur *in vitro*. La présence de sulfate de dextran est une source potentielle d'erreur par surestimation de l'activité anti-Xa *in vitro* [36]. Le sulfate de dextran déplace la liaison de l'héparine aux protéines plasmatiques. Cependant, notre kit Liquid Anti-Xa ne contient pas de sulfate de dextran dans le réactif.

Notre étude présente des limitations. D'abord, nos prélèvements provenant de patients de réanimation avaient probablement une variation de leurs facteurs de la coagulation pouvant perturber initialement le TCA [10]. Cependant, cette étude a été réalisée dans des conditions de "vraie vie" sur une large cohorte de patients sous HNF. De plus, nous n'avons pas évalué l'effet de la centrifugation différée sur les tubes anticoagulés par CTAD. Cependant, notre objectif était d'étudier la possibilité de réaliser la mesure de l'anti-Xa sur tube citrate au-delà des deux heures recommandées pour notre pratique quotidienne. Nous n'avons effectué les tests que sur un seul réactif de TCA et d'anti-Xa. Cependant, une étude récente

confirme la possibilité de réaliser le dosage 4 heures après pour l'anti-Xa avec un autre réactif [37]. Enfin, notre étude a été réalisée en monocentrique et nos résultats ne sont pas complètement représentatifs de la pratique de tous les laboratoires.

Conclusion

Nous avons démontré que la mesure du TCA et l'anti-Xa pour monitorer l'HNF pouvait être réalisée jusqu'à 4 heures après prélèvement sur tube citrate avec nos réactifs. Cependant, cette étude doit être confirmée en utilisant d'autres kits de TCA et d'anti-Xa [38].

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

Références

1. Cuker A. Unfractionated heparin for the treatment of venous thromboembolism: best practices and areas of uncertainty. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38 : 593-9.
2. Lindahl U, Bäckström G, Höök M, Thunberg L, Fransson LA, Linker A. Structure of the antithrombin-binding site in heparin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76 : 3198-202.
3. Björnsson TD, Wolfram KM, Kitchell BB. Heparin kinetics determined by three assay methods. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 31 : 104-13.
4. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JI, 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 : e24S-43S.
5. 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 : 324-7.
6. Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: time for a fresh look. *Thromb Haemost* 2006; 96 : 547-52.
7. Harr JN, Moore EE, Chin TL, Ghasabyan A, Gonzalez E, Wohlauer MV, et al. Postinjury hyperfibrinogenemia compromises efficacy of heparin-based venous thromboembolism prophylaxis. *Shock* 2014; 41 : 33-9.
8. Levine MN, Hirsh J, Gent M, Turpie AG, Cruickshank M, Weitz J, et al. A randomized trial comparing activated thromboplastin time with heparin assay in patients with acute venous thromboembolism requiring large daily doses of heparin. *Arch Intern Med* 1994; 154 : 49-56.
9. Francis JL, Groce JB, Heparin Consensus Group. Challenges in variation and responsiveness of unfractionated heparin. *Pharmacotherapy* 2004; 24 : 108S-19S.
10. Harr JN, Moore EE, Chin TL, Ghasabyan A, Gonzalez E, Wohlauer MV, et al. Postinjury hyperfibrinogenemia compromises efficacy of heparin-based venous thromboembolism prophylaxis. *Shock* 2014; 41 : 33-9.
11. Cloherty T, Golden EA, Lind SE. Use of a modified activated partial thromboplastin time to detect lupus anticoagulants. *Thromb Res* 1996; 83 : 137-42.
12. Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, Macik BG, Northup PG, Reddy KR, et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology* 2006; 44 : 1039-46.
13. McGlasson DL, Kaczor DA, Krasuski RA, Campbell CL, Kostur MR, Adinoro JT. 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; 16 : 173-6.
14. Vandiver JW, Vondracek TG. Antifactor Xa levels versus activated partial thromboplastin time for monitoring unfractionated heparin. *Pharmacotherapy* 2012; 32 : 546-58.
15. van Balveren JA, Huijskens MJ, Gemen EF, Péquériau NC, Kusters R. Effects of time and temperature on 48 routine chemistry, haematology and coagulation analytes in whole blood samples. *Ann Clin Biochem* 2017; 54 : 448-62.
16. Boissier E, Calmette L, Delahousse B, Flaujac C, Hurtaud-Roux MF, Mauge L. *Recommandations préanalytiques en hémostase : stabilité des paramètres d'hémostase générale et délais de réalisation des examens*. 2017.
17. Ray M. Stability of the activated partial thromboplastin time used to monitor unfractionated heparin. *J Thromb Haemost* 2008; 6 : 1817-9.
18. Clinical laboratory standards institute. *H21-A5. Collection transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline*, 5th edition. Wayne : PCaLSI, 2008.
19. Martin Rowan R, van Assendelft OW, Eric Preston F. *Advanced laboratory methods in haematology*, 1st ed. London : Edward Arnold, 2001.
20. Heil W, Grunewald R, Amend M, Heins M. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36 : 459-62.
21. Adcock D, Kressin D, Marlar RA. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998; 9 : 463-70.
22. Salvagno GL, Lippi G, Montagnana M, Franchini M, Poli G, Guidi GC. Influence of temperature and time before centrifugation of specimens for routine coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2009; 31 : 462-7.
23. Adcock DM, Favalaro EJ, Lippi G. Critical pre-examination variables in the hemostasis laboratory and their quality indicators. *Clin Biochem* 2016; 49 : 1315-20.
24. Narayanan S. Preanalytical aspects of coagulation testing. *Haematologica* 1995; 80 : 1-6.
25. Favalaro EJ, Soltani S, McDonald J. Potential laboratory misdiagnosis of hemophilia and von Willebrand disorder owing to cold activation of blood samples for testing. *Am J Clin Pathol* 2004; 122 : 686-92.
26. Zucker MB, Katz IR. Platelet factor 4: production, structure, and physiologic and immunologic action. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991; 198 : 693-702.
27. Denton J, Lane DA, Thunberg L, Slater AM, Lindahl U. Binding of platelet factor 4 to heparin oligosaccharides. *Biochem J* 1983; 209 : 455-60.

28. Horne MK. The effect of secreted heparin-binding proteins on heparin binding to platelets. *Thromb Res* 1993 ; 70 : 91-8.
29. 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 : 585-96.
30. Michalski R, Lane DA, Pepper DS, Kakkar VV. Neutralization of heparin in plasma by platelet factor 4 and protamine sulphate. *Br J Haematol* 1978 ; 38 : 561-71.
31. Lane DA, Denton J, Flynn AM, Thunberg L, Lindahl U. Anticoagulant activities of heparin oligosaccharides and their neutralization by platelet factor 4. *Biochem J* 1984 ; 218 : 725-32.
32. Lord MS, Cheng B, Farrugia BL, McCarthy S, Whitelock JM. Platelet Factor 4 Binds to Vascular Proteoglycans and Controls Both Growth Factor Activities and Platelet Activation. *J Biol Chem* 2017 ; 292 : 4054-63.
33. Mussbacher M, Schrottmaier WC, Salzmann M, Brostjan C, Schmid JA, Starlinger P, *et al*. Optimized plasma preparation is essential to monitor platelet-stored molecules in humans. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0188921.
34. Placanica G, Migliau G, Nasso G, Rosso R, Tallarico D, Migliau G. Short-term effect of exercise on platelet factor 4 in normal subjects and in patients with coronary artery disease. *Cardiologia* 1999 ; 44 : 993-6.
35. Can U, Buyukinan M, Guzelant A, Ugur A, Karaibrahimoglu A, Yabanciun S. Investigation of the inflammatory biomarkers of metabolic syndrome in adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2016 ; 29 : 1277-83.
36. Mouton C, Calderon J, Janvier G, Vergnes M-C. Dextran sulfate included in factor Xa assay reagent overestimates heparin activity in patients after heparin reversal by protamine. *Thromb Res* 2003 ; 111 : 273-9.
37. Toulon P, Appert-Flory A, Fischer F, Buvat S, Jambou D, Mahagne M-H. Monitoring unfractionated heparin therapy. 4 hour-stability of anti-Xa activity in unspun citrated tubes. *Thromb Res* 2020 ; 186 : 7-12.
38. Billoir P, Clavier T, Guilbert A, Barbay V, Chrétien MH, Fresel M, *et al*. Is citrate theophylline adenosine dipyridamole (CTAD) better than citrate to survey unfractionated heparin treatment? Has delayed centrifugation a real impact on this survey? *J Thromb Thrombolysis* 2019 ; 48(2) : 277-83.