

Utjecaj DOAK lijekova na rezultate koagulacijskih pretraga

Sandra Margetić

Odjel za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju

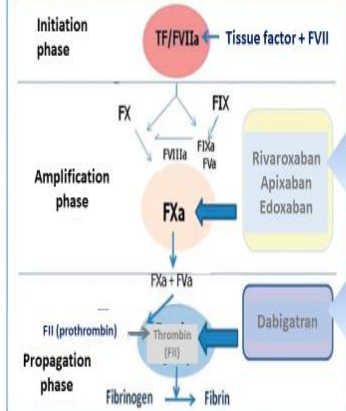
Klinički zavod za kemiju

KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

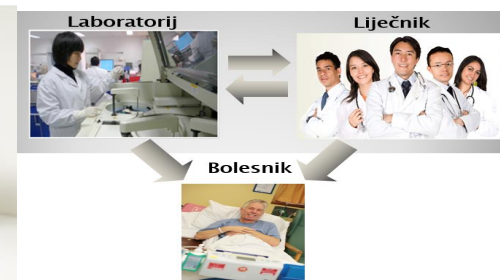
4. listopada 2025.



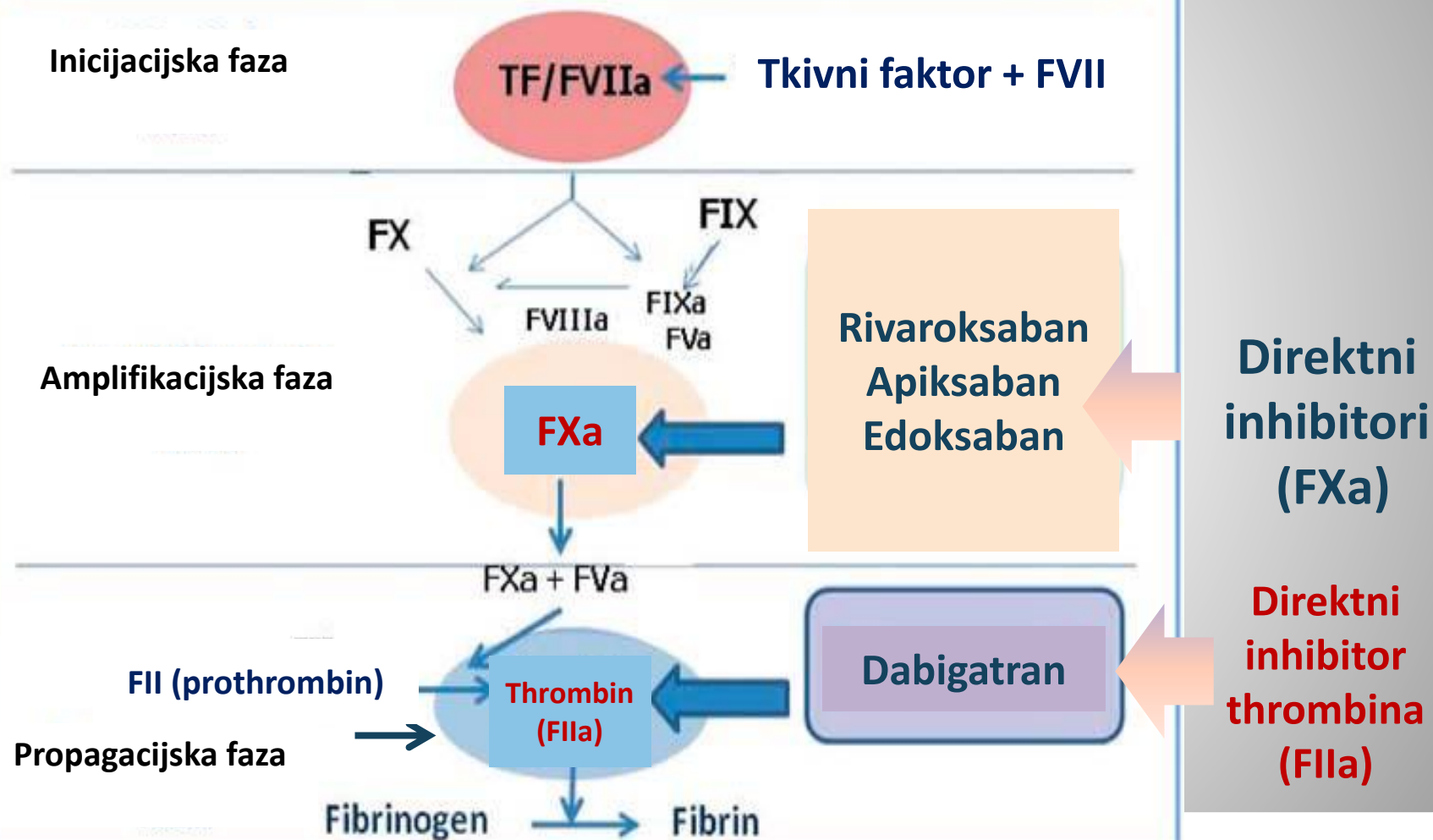
DOAK lijekovi: skupine, mehanizmi djelovanja, kliničke indikacije za primjenu



Postupak s bolesnicima na DOAK lijekovima prije hitnog operativnog zahvata



Mehanizam djelovanja DOAC lijekova

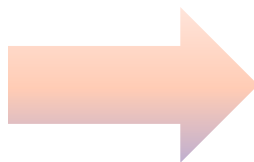


1. Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga hemostaze



Pretraga
PV
APTV
TV
Fibrinogen
D-dimer

2. Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze



Pretraga
Protein C
Protein S
Antitrombin
Lupus antikoagulans (LA)
APCR
Čimbenici zgrušavanja (FII – FXIII)
Anti-Xa LMWH

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga hemostaze (PV, APTV, TV) ovisi o:

1. **Vrsti DOAK lijeka/mehanizmu djelovanja**
(DTI vs. INH. FXa)
2. **Specifičnom lijeku unutar iste skupine**
(Inh. FXa: Rivaroksaban, Apiksaban, Edoksaban)
3. **Vremenu uzorkovanja krvi u odnosu na zadnju dozu lijeka**
(minimalna. vs. vršna konc. lijeka)
4. **Osjetljivosti različitih komercijalnih reagensa za pojedini test** (npr. tromboplastini različitog sastava/podrijetla, sastav APTV reag. FL/aktivator)

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga hemostaze ovisi o:

1. Vrsti DOAK lijeka/mehanizmu djelovanja (DTI vs. INH. FXa)

2. Specifičnom lijeku unutar iste skupine (Inh. FXa: Rivaroksaban, Apiksaban, Edoksaban)

3. Vremenu uzorkovanja u odnosu na zadnju dozu (min. vs. vršna konc. lijeka)

4. Osjetljivosti različitih komercijalnih reagensa za pojedini test
(npr. tromboplastini različitog sastava/podrijetla)

Test	Direktni inhibitor trombina (DTI)	Direktni inhibitori FXa
PV	↑	↑ ↑
APTV	↑ ↑	↑
TV	↑ ↑ ↑	Ne

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga hemostaze ovisi o:

1. Vrsti DOAK lijeka (DTI vs. INH. FXa)

2. Specifičnom lijeku unutar iste skupine (Inh. FXa - Rivaroksaban, Apiksaban, Edoksaban)

Inhibitori FXa	PV	RIVARO- KSABAN ng/mL	Konc. (ng/mL) Medijan (95%CI), IQR	PV (% akt.) Medijan (95%CI), IQR	APIKSABAN ng/mL	Konc. (ng/mL) Medijan (95%CI) IQR,	PT (% akt.) Median(95% CI) IQR
Rivaroksaban	↑↑	VRŠNA (n = 35)	229 (168 – 280) 124 - 276	63 (55 – 67) 53-70	VRŠNA KONC. (n = 44)	180 (160 – 206) 142 – 224	87 (80 – 94) 74 – 96
Edoksaban	↑	MINIMA- LNA (n = 35)	36 (23 – 93) 15 - 109	85 (72 – 91) 70-93	MINIMA-LNA KONC. (n = 44)	89 (67 – 125) 56 – 135	91 (83 – 96) 81 – 102
Apiksaban	-/↑						
		P	< 0,001	0.001	P	<0.001	0.150

3. Vremenu uzorkovanja krvi u odnosu na zadnju
dozu lijeka (min. vs. vršna konc. lijeka)

IP-2016-06-8208 LAB-NOAC

4. Osjetljivosti različitih komercijalnih reagensa za pojedini test
(npr. tromboplastini različitog sastava/podrijetla)

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga hemostaze ovisi o:

1. Vrsti DOAK lijeka (DTI vs. INH. FXa)
2. Specifičnom lijeku unutar iste skupine (Inh. FXa: Rivaroksaban, Apiksaban, Edoksaban)

3. Vremenu uzorkovanja krvi u odnosu na zadnju dozu lijeka – minimalna (ostatna) vs. vršna konc. lijeka

DABIGATRAN ng/mL (n=42) Doza: 2x150 mg	Medijan (95%CI)	IQR	P
Vršna koncentracija	165 (125 – 204)	102 - 249	<0,001
Minimalna koncentracija	97 (61 – 120)	52 - 157	
RIVAROXBAN (n=35) ng/mL Doza: 1x20 mg	Medijan (95%CI)	IQR	P
Vršna koncentracija	229 (168 -280)	124 - 276	<0,001
Minimalna koncentracija	36 (23 – 93)	15 - 109	
APIXABAN (n=44) ng/mL Doza: 2x5 mg	Medijan (95%CI)	IQR	P
Vršna koncentracija	180 (160 – 206)	142 - 224	<0,001
Minimalna koncentracija	89 (67 – 125)	56 - 135	

Vršne (maks.)
i minimalne
(ostatne)
konc. DOAK
lijeakova se
značajno
razlikuju – a
time i utjecaj
na rezultate
koagulacijskih
pretraga !!!

VRŠNA KONC. = 2 SATA NAKON
PRIMJENE LIJEKA

MINIMALNA (OSTATNA) KONC.
= PRIJE SLIJEDEĆE DOZE LIJEKA

DABIGATRAN, klinička indikacija: NVAf, doza 2x150 mg

DABIGA- TRAN ng/mL	Konc. (ng/mL) Medijan (95%CI) IQR	PV% Medijan (95%CI) IQR	APTV (s) Medijan (95%CI) IQR	APTV omjer Medijan (95%CI) IQR	TV(s) Medijan (95%CI) IQR
VRŠNA (n = 42)	165 (125 – 204) 102 – 249	53 (48 – 66) 46 – 77	45,5 (42 – 49) 39 - 52	1,6 (1,4 – 1,7) 1,4 – 1,8	>150 (37/42) (>150) >150
MINIMA- LNA (n = 42)	97 (61 – 120) 52 – 157	72 (59 – 77) 55 – 86	37,5 (34 – 42) 33 - 44	1,3 (1,2 – 1,4) 1,1 – 1,5	>150 (25/42) (122 - >150) 111 - >150
P	<0.001	0.012	<0.001	<0.001	0.024



VRŠNA KONC. = 2 SATA NAKON PRIMJENE LIJEKA
MIN. KONC. = PRIJE SLIJEDEĆE DOZE LIJEKA

IP-2016-06-8208 LAB-NOAC

RIVAROKSABAN, klinička indikacija: NVAf, doza 1x20 mg

RIVARO- KSABAN ng/mL	Konc. (ng/mL) Medijan (95%CI), IQR	PV (% akt.) Medijan (95%CI), IQR	APTV (s, omjer) Medijan (95%CI), IQR	Fib (g/L) Medijan (95%CI), IQR
VRŠNA (n= 35)	229 (168 – 280) 124 - 276	63 (55 – 67) 53-70	33 (30 – 39) 28.5 – 40.0 1.1 (1.0 – 1.3) 1.0 – 1.4	3.6 (3.2 – 3.9) 3.1 – 4.0
MINIMA- LNA (n= 35)	36 (23 –93) 15 - 109	85 (72 – 91) 70-93	29 (28 – 30) 27 – 31 1.0 (0.9 – 1.1) 0.9 – 1.1	3.6 3.1 – 4.0 3.0 – 4.1
P	< 0,001	0.001	0.003 (s) 0.021 (o)	0.883



VRŠNA KONC. = 2 SATA NAKON PRIMJENE LIJEKA
MIN. KONC. = PRIJE SLIJEDEĆE DOZE LIJEKA

IP-2016-06-8208 LAB-NOAC

APIKSABAN, klinička indikacija: NVAf, doza 2x5 mg

APIKSABAN ng/mL	Konc. (ng/mL) Medijan (95%CI) IQR	PT (% akt.) Medijan (95%CI) IQR	APTT (s, omjer) Medijan (95%CI) IQR	Fibrinogen (g/L) Medijan (95%CI) IQR
VRŠNA KONC. (n = 44)	180 (160 – 206) 142 – 224	87 (80 – 94) 74 – 96	27 (27 – 28) 26 – 29 0.95 (0.9 – 1.0) 0.9 – 1.0	3.5 (3.3 – 3.8) 3.1 – 4.4
MINIMA- LNA KONC. (n = 44)	89 (67 – 125) 56 – 135	91 (83 – 96) 81 – 102	26 (26 – 27) 25 – 28 0.90 (0.9 – 1.0) 0.9 – 1.0	3.6 (3.2 – 4.0) 3.2 – 4.9
P	<0.001	0.150	0.103	0.511



VRŠNA KONC. = 2 SATA NAKON PRIMJENE LIJEKA

MIN. KONC. = PRIJE SLIJEDEĆE DOZE LIJEKA

IP-2016-06-8208 LAB-NOAC

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga hemostaze ovisi o:

1. Vrsti DOAK lijeka (DTI vs. INH. FXa)
2. Specifičnom lijeku unutar iste skupine (rivaroksaban, apiksaban, edoksaban)
3. Vremenu uzorkovanja u odnosu na zadnju dozu (minimalna. vs. vršna konc. lijeka)

4. Osjetljivosti različitih komercijalnih reagensa za pojedini test (npr. tromboplastini različitog sastava/podrijetla, APTV reagensi (sastav FL/aktivator))

Dunois C. Laboratory Monitoring of Direct Oral Anticoagulants (DOACs). *Biomedicines* 2021;21;9:445.

Ming SL et al. Sensitivity of routine coagulation assays to direct oral anticoagulants: patient samples versus commercial drug-specific calibrators. *Pathology* 2016;48:712-9.

Kitchen, S et al. BCSH committee Measurement of Non-Coumarin Anticoagulants and Their Effects on Tests of Haemostasis: Guidance from the British Committee for Standards in Haematology. *Br. J. Haematol.* 2014;166:830-41.

bjh guideline

Measurement of non-coumarin anticoagulants and their effects on tests of Haemostasis: Guidance from the British Committee for Standards in Haematology



Steve Kitchen,¹ Elaine Gray,² Ian Mackie,³ Trevor Baglin⁴ and Mike Makris^{1,5} on behalf

¹Sheffield Haemophilia and Thrombosis Centre, Sheffield Teaching Hospitals NHS Trust, Sheffield; ²Biotherapeutics Group, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar; ³Department of Haematology, University College London, London; ⁴Department of Haematology, Cambridge; and ⁵Department of Cardiovascular Science, University of Sheffield, Sheffield, UK

Review

Laboratory Monitoring of Direct Oral Anticoagulants (DOACs)

Claire Dunois

4.2. Routine Coagulation Screening Assays

The effect of DOACs on screening coagulation assays such as prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), and thrombin time (TT) has been widely studied [62]. These methods have a high throughput and are routinely available in all clinical laboratories, conferring an important benefit in the case of emergency situations to support clinical decisions. However, variability of the result can be important from reagent to reagent, depending on the sensitivity of the reagent to the DOAC. Screening tests can be used as first-line tests, but they are insufficient to assess the degree of anticoagulant effects,

Direktni inhibitor trombina (DTI): dabigatran

- APTV je pretraga veće osjetljivosti u odnosu na PV
- Različiti komercijalni reagensi za APTV i PV imaju različitu osjetljivost
- Rezultati pretraga APTV i PV unutar referentnog intervala ne isključuju terapijske konc. lijeka u cirkulaciji
- Nestandardizirane pretrage za DTI
- TV = preosjetljiv test (nemjerljive vrijednosti ; TV > 150 s) i kod vrlo niskih konc. dabigatrana (≤ 50 ng/mL)
- TV unutar referentnog intervala upućuje na odsutnost klinički značajne konc. (≥ 30 ng/mL)

Direktni inhibitori FXa: rivaroksaban, apiksaban, edoksaban

- PV je osjetljivija pretraga u odnosu na APTV
- Različiti komercijalni reagensi za PV i APTV imaju različitu osjetljivost za inh. FXa
- Rezultati pretraga PV i APTV unutar referentnog intervala ne isključuju terapijske konc. lijeka u cirkulaciji
- Nestandardizirane pretrage za inh. FXa
- Inh. FXa ne utječu na rezultat pretrage TV

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga: fibrinogen

Test	Direktni inhibitor trombina	Direktni inhibitor FXa
PV	↑	↑↑
APTV	↑↑	↑
TV	↑↑↑	ne
Fibrinogen	ne/↓*	ne
D-dimer	ne	ne

*Izuzetak (neki komerc. reagensi) – lažno niže vrijednosti fib. (različita dilucija uzorka plazme i koncentracija trombinskog reagensa)

RIVARO-KSABAN ng/mL	Medijan (95%CI) IQR	Fibrinogen (g/L) Medijan (95%CI) IQR
VRŠNA (n = 35)	189 (138 -240) 124 - 276	3.6 (3.2 – 3.9) 3.1 – 4.0
MINIMALNA (n = 35)	36 (23 –93) 15 - 109	3.6 3.1 – 4.0 3.0 – 4.1
P	< 0,001	0.883

APIKSABAN ng/mL	Medijan (95%CI) IQR	Fibrinogen (g/L) Medijan (95%CI) IQR
VRŠNA (n = 44)	180 (160 – 206) 142 – 224	3.5 (3.3 – 3.8) 3.1 – 4.4
MINI-MALNA (n = 44)	89 (67 – 125) 56 – 135	3.6 (3.2 – 4.0) 3.2 – 4.9
P	<0.001	0.511

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga: fibrinogen

Test	Direktni inhibitor trombina	Direktni inhibitor FXa
PV	↑	↑↑
APTV	↑↑	↑
TV	↑↑↑	Ne
Fibrinogen	ne/↓*	ne
D-dimer	ne	ne

*Izuzetak (neki komerc. reagensi) – lažno niže vrijednosti fib. (različita dilucija uzorka plazme i koncentracija trombinskog reagensa)

Table 1. Relationship between dabigatran concentrations and results of routine coagulation assays.

Assay	DABIG ng/mL	TT sec	PT % activity	PT INR	APTT sec	APTT ratio	Fibrinogen g/L
Commercial reagent (Siemens)	Innovance DTI	BC Thrombin	Innovin	Innovin	Actin FS	Actin FS	Multifibren U
N= 25, Median	54	69	82	1.1	37.5	1.36	4.0
95%CI	43 - 70	45-90	64 - 90	1.1 - 1.3	35 - 41	1.3 - 1.5	3.1 - 5.2
IQR	43 - 70	45-90	66 - 89	1.1 - 1.2	35 - 41	1.3 - 1.5	3.2 - 5.2
N=18, Median	209		50	1.5	65.0	2.35	3.1
95%CI	141 - 321	>150	44 - 55	1.3 - 1.6	50 - 69	1.8 - 2.5	2.3 - 3.7
IQR	141 - 305		44 - 54	1.3 - 1.6	52 - 70	1.9 - 2.5	2.3 - 3.7
P	<0.0001	<0.0001	0.0003	0.0007	0.0001	0.0001	0.0208

IQR = interquartile range

TT was unmeasurable (>150s) in all patients with dabigatran levels above 100ng/ml with significantly higher ($P<0.0001$) dabigatran levels compared to patients with TT<150s (median 69s).

Among all patients, 16/43=0.37 had PT and 5/43=0.12 had APTT results in the reference range (PT>70%, APTT 23-32 sec, 0.8-1.2 ratio) while 27/43=0.63 and 38/43=0.88 had prolonged PT (<70%) and APTT (>32 sec; >1.2 ratio) respectively.

Margetić S, Bronić A, Čelap I, Vuga I. Relationship between dabigatran concentrations in plasma and results of routine coagulation assays PT, APTT, TT and fibrinogen. Res Pract Thromb Haemost 2018;2(Suppl1):226.

- utjecaj dabigatrana na fibrinogen ovisi o komercijalnom reagensu (dilucija uzorka, konc. trombina u sastavu fib. reagensu)
- deklaracija proizvođača

RELATIONSHIP BETWEEN DABIGATRAN CONCENTRATIONS IN PLASMA AND RESULTS OF ROUTINE COAGULATION ASSAYS FOR PT, APTT, TT AND FIBRINOGEN
Margetić Sandra, Bronić Ana, Čelap Ivana, Vuga Ivana
Department of Clinical Chemistry, University Hospital Center Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

BACKGROUND Routine coagulation tests prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT) and fibrinogen are affected by dabigatran therapy, but these assays are not standardized for assessment of its anticoagulant effect. However, exact knowledge of dabigatran impact on routine coagulation tests is a precondition for their correct interpretation.

AIM was to assess relationship between dabigatran concentrations and results of routine coagulation assays.

METHODS The study included 43 patients on dabigatran therapy. Plasma dabigatran concentrations were determined with DTI Innovance assay (Siemens, Germany) on BC5XP analyzer. All routine coagulation assays (PT, APTT, TT, fibrinogen) were also determined on BC5XP analyzer using commercial reagents (Table 1). The study was performed as an integral part of Croatian Science Foundation project HRZZ-IP-2016-06-8208.

RESULTS Dabigatran plasma concentrations ranged from 22 to 401 ng/mL (median 101 ng/mL; 95%CI 59-157 ng/mL).

Table 1. Relationship between dabigatran concentrations and results of routine coagulation assays.

Assay	DABIG ng/mL	TT sec	PT % activity	PT INR	APTT sec	APTT ratio	Fibrinogen g/L
Commercial reagent (Siemens)	Innovance DTI	BC Thrombin	Innovin	Innovin	Actin FS	Actin FS	Multifibren U
N= 25, Median	54	69	82	1.1	37.5	1.36	4.0
95%CI	43 - 70	45-90	64 - 90	1.1 - 1.3	35 - 41	1.3 - 1.5	3.1 - 5.2
IQR	43 - 70	45-90	66 - 89	1.1 - 1.2	35 - 41	1.3 - 1.5	3.2 - 5.2
N=18, Median	209		50	1.5	65.0	2.35	3.1
95%CI	141 - 321	>150	44 - 55	1.3 - 1.6	50 - 69	1.8 - 2.5	2.3 - 3.7
IQR	141 - 305		44 - 54	1.3 - 1.6	52 - 70	1.9 - 2.5	2.3 - 3.7
P	<0.0001	<0.0001	0.0003	0.0007	0.0001	0.0001	0.0208

TT was unmeasurable (>150s) in all patients with dabigatran levels above 100ng/ml with significantly higher ($P<0.0001$) dabigatran levels compared to patients with TT<150s (median 69s).

Among all patients, 16/43=0.37 had PT and 5/43=0.12 had APTT results in the reference range (PT>70%, APTT 23-32 sec, 0.8-1.2 ratio) while 27/43=0.63 and 38/43=0.88 had prolonged PT (<70%) and APTT (>32 sec; >1.2 ratio) respectively.

CONCLUSION The results of routine coagulation tests are strongly dependent on dabigatran plasma concentrations. Due to its high sensitivity, TT could be useful for detecting minimal dabigatran levels in plasma, but is too sensitive for dabigatran levels above 100 ng/mL. PT lacks sensitivity in detecting therapeutic levels of dabigatran but neither the APTT was invariably prolonged in patients with dabigatran levels below 100 ng/mL. In summary, routine coagulation tests PT, APTT and TT, although dependent on dabigatran concentrations, could not be used to assess therapeutic response to dabigatran therapy through a wide range of its plasma concentrations.

margeticsandra@gmail.com

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga: D-dimeri

Test	Direktni inhibitor trombina	Direktni inhibitor FXa
PV	↑	↑↑
APTV	↑↑	↑
TV	↑↑↑	Ne
Fibrinogen	ne/↓*	ne
D-dimer	ne	ne

*Izuzetak (neki komerc. reagensi) – lažno niže vrijednosti fib. (različita dilucija uzorka plazme i koncentracija trombinskog reagensa)

RESULTS

As shown in Table 1, the concentrations of all three DOACs have shown statistically significant differences between peak and trough levels ($P < 0.001$). On the contrary, concentrations of D-dimer did not show significant differences in samples with peak and trough concentrations of all three DOACs drugs ($P = 0.852$, $P = 0.274$ and $P = 0.833$).

Table 1. Results of DOACs peak and trough concentrations and appropriate D-dimer values.

DOAC drug	Peak drug conc. (ng/mL) Median (95%CI) IQR	Trough drug conc. (ng/mL) Median (95%CI) IQR	D-dimer (mg/L FEU) at peak drug conc. Median (95%CI) IQR	D-dimer (mg/L FEU) at trough drug conc. Median (95%CI) IQR
Dabigatran N=35	154 (112-186) 97-248	70 (59-92) 50-119	0.35 (0.28-0.62) 0.27-0.77	0.37(0.26-0.62) 0.25-0.73
P	<0.001		0.852	
Rivaroxaban N=37	205 (175-235) 133-243	22 (11-51) 9-81	0.53 (0.40-0.67) 0.34-0.89	0.47 (0.40-0.62) 0.37-0.81
P	<0.001		0.274	
Apixaban N=37	184 (154-211) 142-234	109 (84-129) 71-139	0.53 (0.46-0.72) 0.37-0.76	0.55 (0.42-0.74) 0.37-0.81
P	<0.001		0.833	

IQR = interquartile range; $P < 0.05$ was considered statistically significant

Klinički važno:

- **hitna stanja – isključivanje VTE**
- **praćenje D-dimera – odluka o duljini antikoagulacijske terapije**

Margetić S, Čelap I, Razum M, Mihić R, Šupraha-Goreta S. Comparison of D-dimer values at peak and trough concentrations of direct oral anticoagulants: result of D-dimer testing is not affected by plasma drug concentration. Res Pract Thromb Haemost 2021;5(Suppl 1):e12589:256.

Utjecaj DOAK-a na rezultate probirnih pretraga (priručnik, Tablica 1)

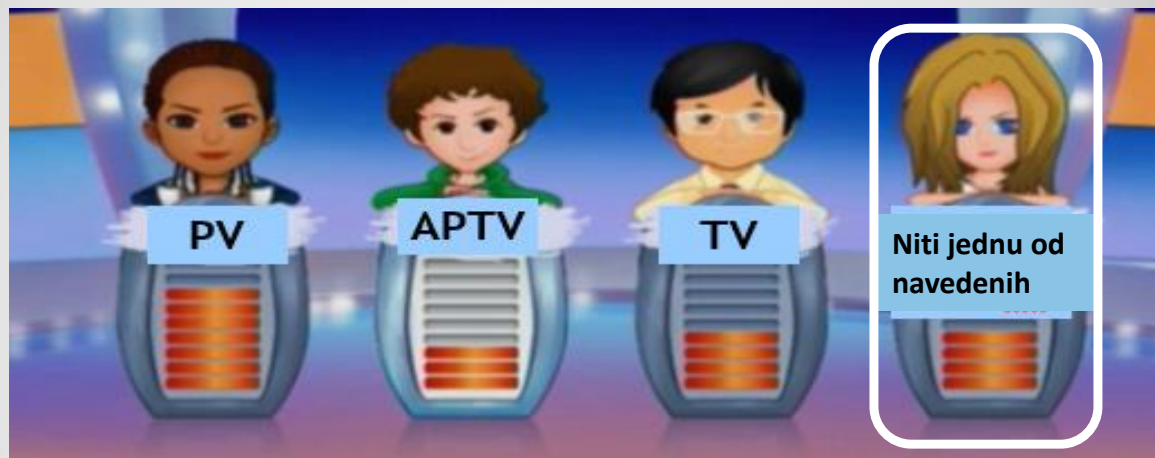
Priručnik Tablica 1.



Pretraga	Direktni inhibitor trombina	Direktni inhibitori FXa	Obrazloženje
Protrombinsko vrijeme (PV)	+/-	+/**	Najveća osjetljivost na prisutnost rivaroksabana, umjerena za edoksaban, a pretraga je neosjetljiva na prisutnost apiksabana i pri vršnim koncentracijama lijeka Različita je osjetljivost za isti lijek ovisno o korištenom reagensu (različiti tromboplastini) Nedovoljna osjetljivost i specifičnost – pretraga nije prikladna ni za kvalitativnu niti za kvantitativnu procjenu DOAK lijekova Rezultat PV-a unutar referentnog raspona ne isključuje terapijske vrijednosti DOAK lijeka
Aktivirano parcijalno trombo-plastinsko vrijeme (APTV)	++	+/-	Najveća osjetljivost za dabigatran Slaba osjetljivost za lijekove iz skupine inhibitora FXa Različita osjetljivost za isti lijek ovisno o korištenom reagensu (različiti aktivatori i fosfolipidi) Nedovoljna osjetljivost i specifičnost – pretraga nije prikladna ni za kvalitativnu niti za kvantitativnu procjenu DOAK lijekova Rezultat APTV-a unutar referentnog raspona ne isključuje terapijske vrijednosti DOAK lijeka
Trombinsko vrijeme (TV)	+++	-	Rezultat TV-a unutar referentnog intervala isključuje klinički značajnu koncentraciju dabigatrana (> 30 ng/mL) – može se koristiti kao brza probirna metoda u hitnim stanjima u nedostatku kvantitativne metode za dabigatran Rezultat TV-a produžen je već kod minimalnih koncentracija lijeka (> 30 ng/mL) pa je pretraga zbog preosjetljivosti neprikladna za procjenu koncentracije dabigatrana Pri terapijskim koncentracijama lijeka, rezultat TV-a je najčešće iznad gornje granice mjernog raspona (> 150 s) za sve komercijalne reagense
Fibrinogen	-/+	-	DOAK lijekovi nemaju značajan utjecaj na funkcionalnu aktivnost fibrinogena. Nije utvrđen utjecaj ni jedne kvantitativne metode za lijekove iz skupine inhibitora FXa Za neke reagense, aktivnost fibrinogena može biti lažno snižena u prisutnosti terapijskih vrijednosti dabigatrana.
D-dimer	-	-	DOAK lijekovi nemaju utjecaj na određivanje D-dimera

Probirne koagulacijske pretrage (PV, APTV, TV) i DOAK lijekovi

Možemo li probirne pretrage koristiti za procjenu koncentracije i/ili antikoagulacijskog učinka DOAK-a?



Nisu prikladne za procjenu koncentracije i/ili antikoagulacijskog učinka DOAK lijekova



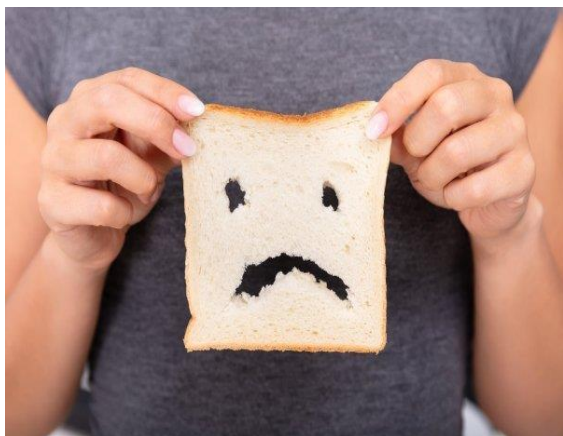
Poznavanje utjecaja DOAK lijekova na rezultate probirnih koagulacijskih pretraga preduvjet je njihove pravilne interpretacije

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

1. Pretrage probira na trombofiliju:

- interferirajući utjecaj DOAK-a na većinu fenotipskih pretraga
 - lažno pozitivan ili
 - lažno negativan rezultat
- pogrešna dijagnoza!!!
- liječenje bolesnika!!!

Pretraga
Protein C
Protein S
Antitrombin
Lupus antikoagulans (LA)
APCR



- utjecaj na rezultat ovisi i o metodi za pojedinu pretragu (koagulometrijske metode vs. kromogene ili imunokemijske)

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Pretraga	Dabigatran (DTI)	Direktni inhibitori FXa
Protein C aktivnost koagulometrijska metoda	↑ (LN)	↑ (LN)
Protein C aktivnost kromogena metoda	Ne utječe	Ne utječe
Protien S koagulom. metoda Protein S sl. i uk. Ag. – imunokem. metode	↑ (LN) Ne utječe	↑ (LN) Ne utječe
Lupus antikoagulans (probirne, potvrđne pretrage)	↑ (LP)	↑ ↑ (LP)
APCR	↑ (LP)	↑ (LP)
Antitrombin (FIIa metoda)	↑ (LN)	Ne utječe
Antitrombin (FXa metoda) AT konc. (Ag) – imunokem. metode	Ne utječe Ne utječe	↑ (LN) Ne utječe

Većinu fenotipskih pretraga probira na trombofiliju nije moguće izvoditi u bolesnika na DOAK lijekovima zbog interferirajućeg utjecaja lijekova na rezultat pretrage u smislu LP ili LN rezultata!!!

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Antitrombin

Pretraga	DTI utječe da/ne	INH. FXa utječe da/ne	Obrazloženje
Antitrombin (AT) aktivnost	da	ne	Metoda s trombinom (FIIa) - lažno negativan rezultat (lažno veća vrijednost AT) kod bolesnika na dabigatranu. Inhibitori FXa ne utječu na rezultat. Za određivanje u nativnoj plazmi koristiti isključivo metodu koja ne interferira za pojedinu skupinu DOAK-a.
	ne	da	Metoda s FXa - lažno negativan rezultat (lažno veća vrijednost AT) kod bolesnika na inhibitorima FXa Dabigatran ne utječe na rezultat. Za određivanje u nativnoj plazmi koristiti isključivo metodu koja ne interferira za pojedinu skupinu DOAK-a.
Antitrombin (AT) antigen	ne	ne	Imunokemijska metoda - DOAK lijekovi ne utječu na rezultat pretrage. Problem: vrlo rijetko zastupljene u odnosu na mjerenje AT aktivnosti obavezan test jer otkriva i kval. i kvant. manjak AT, za razliku od AT:Ag!!!

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Protein C

Pretraga	DTI utječe da/ne	INH. FXa utječe da/ne	Obrazloženje
Protein C (PC) aktivnost	da	da	Koagulometrijska metoda - lažno negativan PC (lažno veća vrijednost PC)
	ne	ne	Kromogena metoda – DOAK lijekovi ne utječu na rezultat Općenito: preporučena metoda za PC (ne interferiraju i drugi čimbenici: ↑FVIII, LA, APCR/FVL)!
Protein C (PC) antigen	ne	ne	Imunokemijska metoda - DOAK lijekovi ne utječu na rezultat pretrage

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Protein S

Pretraga	DTI utječe da/ne	INH. FXa utječe da/ne	Obrazloženje
Protein S (PS) aktivnost	da	da	Koagulometrijska metoda – lažno negativan PS (lažno veća vrijednost PS)
Slobodni i ukupni protein S (PS) antigen	ne	ne	Imunokemijska metoda DOAK lijekovi ne utječu na rezultat pretrage Pretraga se može izvoditi kod bolesnika na DOAK-u Općenito: Sl. PS:Ag = preporučena metoda za PS (jer ne interferiraju i drugi čimbenici)!!!

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Lupus antikoagulans (LA)

Pretraga	DTI utječe da/ne	INH. FXa utječe da/ne	Obrazloženje
Probirne: APTV, APTV tm, dRVVT prob. Potvrдна: dRVVT potv.	da	da	Koagulometrijske metode probira i potvrde - lažno pozitivan rezultat LA. Utjecaj DOAK-a na pretrage probira i potvrde je različitog intenziteta, ovisno o pojedinom lijeku i koncentraciji lijeka u plazmi!

Ostala antifosfolipidna antitijela: **aCL i anti-β2-GP1**

- Imunokemijske metode – DOAK lijekovi ne utječu na rezultat!!!

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Rezistencija na aktivirani protein C (APCR)/Faktor V Leiden (FVL)

Pretraga	DTI utječe da/ne	INH. FXa utječe da/ne	Obrazloženje
APCR koagulometrijska metoda	da	da	Koagulometrijska metoda - lažno negativan APCR/FVL (lažno veća vrijednost APCR-a)
FVL – molekularna dg.	ne	ne	DOAK lijekovi na utječu na metodu genotipizacije FVL

Utjecaj DOAK-a na rezultate specifičnih pretraga hemostaze

Čimbenici zgrušavanja (FII – FXIII)

Pretraga	DTI utječe da/ne	INH. FXa utječe da/ne	Obrazloženje
Čimbenici zgrušavanja FII, FV, FVII, FX	da	da	Koagulometrijska metoda (modifikacija PV metode) - lažno snižena aktivnost faktora zgrušavanja Veći utjecaj inhibitora FXa - rivaroksabana i edoksabana nego dabigatrana Apiksaban u terapijskim koncentracijama ne utječe na rezultat
Čimbenici zgrušavanja FVIII, FIX, FXI, FXII	da	da	Koagulometrijska metoda - modifikacija APTV metode - lažno snižena aktivnost čimbenika zgrušavanja Veći utjecaj dabigatrana nego inhibitora Fxa
FXIII	ne/da*	ne	Kromogena metoda – moguća lažno snižena aktivnost uz dabigatran* DOAK lijekovi iz skupine inhibitora FXa ne utječu na rezultat

Utjecaj heparina (UFH i LMWH) na koncentraciju DOAK lijekova

- LMWH i DOAK (inh. FXa): ista metoda (anti-Xa) uz kalibraciju specifičnim lijekom koji se određuje
- zamjena DOAK-a LMWH-om preoperativno – interferencija u određivanju DOAK-a: **lažno veće koncentracije DOAK-a (rivaroksaban, apiksaban, edoksaban)!!!**
- **važno u hitnim stanjima kad je potrebno isključiti klinički značajnu koncentraciju DOAK-a preoperativno (≥ 30 ng/mL ili ≥ 50 ng/mL kod bolesnika s krvarenjem)!!!**

Margetić S, Bronić A, Magdić Turković T, Tomić F, Čelap I. Concentrations of Direct Oral Anticoagulants Acting as FXa Inhibitors Could Not Be Accurately Determined in Patients Treated with Therapeutic Doses of Low Molecular Heparin as Bridging Therapy. *Res Pract Thromb Haemost* 2023;7(Suppl2):458-9.

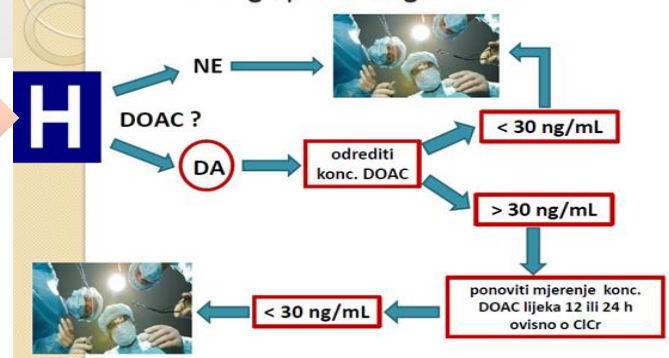
Direktni inhibitori FXa

Anti-Xa

Kromogena metoda uz primjenu kalibratora specifičnih za lijek (DOAK, heparini)



Postupak s bolesnicima na DOAC lijekovima prije hitnog operativnog zahvata



CONCLUSIONS Therapeutic doses of LMWH bridging therapy after DOAC discontinuation interfere with measurements of DOAC acting as FXa inhibitors causing falsely increased concentrations of DOACs. In order to avoid result misinterpretation, both laboratory experts and clinicians should be aware of interference of heparin interference on measurement of FXa inhibitors in plasma.

Određivanje specifičnih pretraga hemostaze na koje DOAK lijekovi imaju interferirajući utjecaj:

1. Fenotipske pretrage na čiji rezultat DOAK lijekovi imaju interferirajući učinak – odgoditi najmanje 3 nakon završetka ili prekida terapije DOAK lijekom (ili duže u bolesnika s bubrežnom insuficijencijom)

➤ **primjenjivo samo kod bolesnika s niskim rizikom (ukidanje DOAK-
apovećava rizik rekurentne tromboze kod bolesnika s visokim
rizikom)!!!**

**1. Primjena postupka neutralizacije DOAK lijekova u plazmi
metodom s medicinskim aktivnim ugljenom**

➤ **omogućuje određivanje specifičnih pretraga hemostaze tijekom
terapije DOAK lijekom**

Primjena postupka neutralizacije DOAK lijekova u plazmi metodom s medicinskim aktivnim ugljenom (adsorbens za DOAK-e u plazmi)



Evaluation of the DOAC-Stop® Procedure to Overcome the Effect of DOACs on Several Thrombophilia Screening Tests

Julien Favresse¹ Benjamin Lardinois¹ Lina Sabor¹ Bérangère Devalet² Julie Vandepapeliere²
Maximilien Braibant³ Sarah Lessire⁴ Bernard Chatelain¹ Hugues Jacqmin¹ Jonathan Douxfils^{5,6}
François Mullier¹

¹ Université Catholique de Louvain, CHU UCL Namur, Hematology Laboratory, Namur Thrombosis and Hemostasis Center, NARILIS, Yvoir, Belgium

² Department of Hematology, CHU UCL Namur, Namur Thrombosis and Hemostasis Center, Université Catholique de Louvain, Yvoir, Belgium

³ Department of Pharmacy, CHU UCL Namur, Namur Thrombosis and Hemostasis Center, Université Catholique de Louvain, Yvoir, Belgium

⁴ Department of Anesthesiology, CHU UCL Namur, Namur Thrombosis and Hemostasis Center, Université Catholique de Louvain, Yvoir, Belgium

⁵ Department of Pharmacy, Namur Thrombosis and Hemostasis Center, Université de Namur, Yvoir, Belgium

⁶ UCLouvain, Université de Namur, Yvoir, Belgium

Address for correspondence: Prof. François Mullier, PharmD, PhD, EUSPLM, Hematology Laboratory, CHU UCL Namur, Université Catholique de Louvain, Avenue G. Thérasse, 1, 5530 Yvoir, Belgium (e-mail: francois.mullier@uclouvain.be)

TH Open 2018;2:e202-e209.

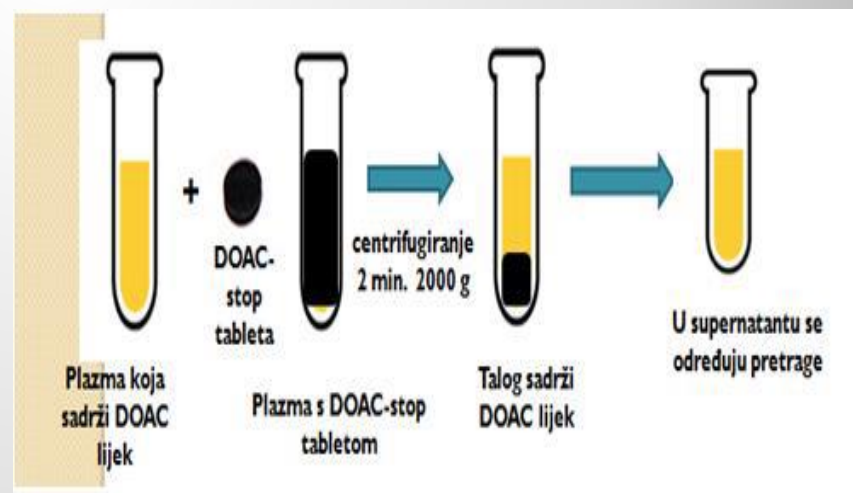
Abstract

The impact of direct oral anticoagulants (DOACs) on laboratory assays used for thrombophilia testing (e.g., antithrombin, protein S, protein C, lupus anticoagulant and activated protein-C resistance) is a well-known issue and may cause false-positive and -negative results. Therefore, the correct interpretation of tests that are performed in patients taking DOACs is mandatory to prevent misclassification and the subsequent clinical consequences. We aimed at evaluating the efficiency of a new and simple procedure (DOAC-Stop®; Haematex Research, Hornsby, Australia) to overcome the effect of all DOACs in real-

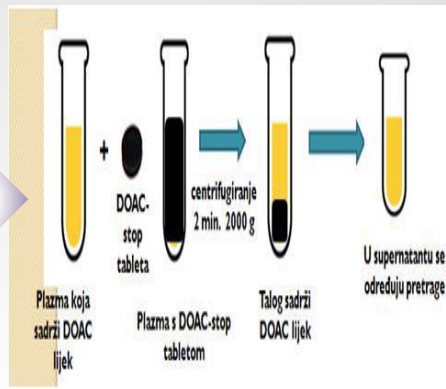
DOAC-Stop™, Haematex, Australia



DOAC_Remove, 5-Diagnostics, Švicarska



In house optimirana metoda primjene medicinskog aktivnog ugljena kao adsorbensa u uklanjanju interferencije DOAK lijekova u određivanju pretraga na trombofiliju



Ćelap I, Margetić S, Šupraha Goreta S, Buben J. **Activated charcoal is an effective in vitro removal agent of dabigatran and rivaroxaban in plasma of patients who need lupus anticoagulant testing.** *Res Pract Thromb Haemost* 2019;3(Suppl1):161

Margetić S, Ćelap I, Šupraha Goreta S, Buben J, Mihić Roman. **Effect of direct oral anticoagulants on dilute Russell's viper venom time screen and confirm assays for lupus anticoagulant testing.** 20th DLTH International Meeting Book of Abstracts, 2019:pp 29.

Jelena Buben. **Ispitivanje i usporedba učinka komercijalne DOAC-stop tablete i in house optimirane metode s medicinskim aktivnim ugljenom na uklanjanje interferencije direktnih oralnih antikoagulantnih lijekova u određivanju pretrage lupus antikoagulans.** Rektorova nagrada za studentski znanstveni rad Sveučilišta u Zagrebu za akademsku godinu 2018./2019.

Margetić S, Ćelap I, Šupraha-Goreta S, Buben J, Mihić R. **Effect of Activated Charcoal in Removing Interference in Thrombophilia Assays: Resistance to Activated Protein C, Activity of Coagulation Factor VIII and Antithrombin Activity.** *Res Pract Thromb Haemost* 2020;4(Suppl 1):264.

Margetić S, Ćelap I, Buben J, Razum M, Šupraha-Goreta S. **Activated charcoal can be used as an effective in vitro removal agent of direct oral anticoagulants dabigatran, rivaroxaban and apixaban in plasma of patients with protein S activity testing.** *Res Pract Thromb Haemost* 2021;5(Suppl 1):e12589:279.

Pretrage ispitivanja trombofilije koje se ne izvode u bolesnika na oralnoj antikoagulantnoj terapiji VKA lijekovima (1)

i pretrage u bolesnika na DOAK lijekovima za čije je određivanje potrebno prethodno provesti postupak neutralizacije DOAK lijeka u plazmi (2)

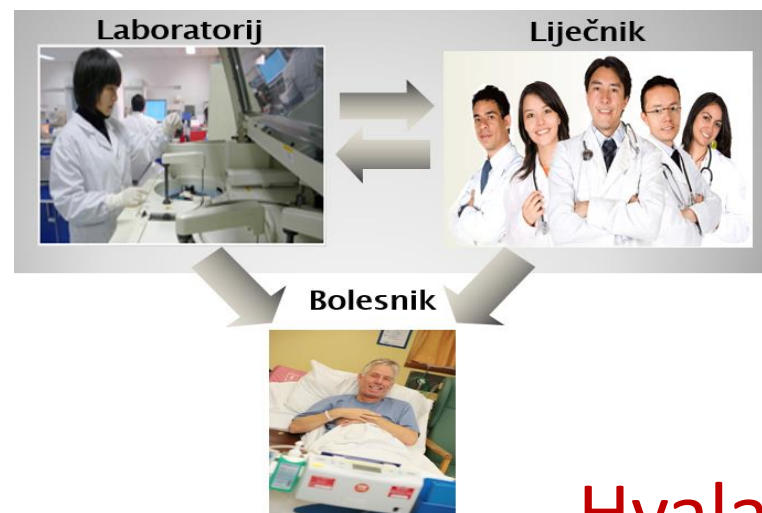
Lijek	Pretrage koje se NE izvode
1) Skupina: Antagonisti vitamina K (VKA): <i>Martefarin, Marivarin, Sintrom, Pelentan, Coumadin</i>	Protein C Protein S Ac i Sl. PS:Ag Lupus antikoagulans (LAC) APCR (koagulacijska metoda)*
2) DOAK lijek	Pretrage za koje je potrebno prethodno provesti postupak neutralizacije DOAK lijeka u plazmi medicinskim aktivnim ugljenom
Dabigatran: <i>Daxanlo, Daogax, Gribero, Fluxitra, Pradaxa, Tuxanuva</i>	Protein S:Ac** Lupus antikoagulans (LAC) APCR (koagulacijska metoda)*
Rivaroxaban: <i>Aban, Bevilmar, Cloter, Dovequa, Ribas, Robarox, Rocavys, Roxelana, Rufixalo, Runaplast, Vixargio, Xaboplast, Xarelto, Xerdoxo</i>	Antitrombin Protein S:Ac** Lupus antikoagulans (LAC) APCR (koagulacijska metoda)*
Apixaban: <i>Abatixent, Abidalo, Avoclod, Axipto, Banxiol, Eliquis, Elyes, Siargena, Voziberin</i>	Antitrombin Protein S:Ac** Lupus antikoagulans (LAC) APCR (koagulacijska metoda)*
Edoxaban: <i>Cagluen, Deliada, Ebozen, Eduflusio, Lixiana, Roteas, Setiapo, Zorraten</i>	Antitrombin Protein S:Ac** Lupus antikoagulans (LAC) APCR (koagulacijska metoda)*

*ne odnosi se na molekularnu dijagnostiku mutacije FVL

** u bolesnika na DOAK lijekovima izvodi se isključivo Sl. PS:Ag

Laboratorijska dijagnostika DOAK-a:

- **Poznavanje utjecaja DOAK lijekova na rezultate pretraga hemostaze**
- **Poznavanje prednosti i ograničenja pojedinih metoda za odgovarajuću pretragu (interferencije) kod bolesnika liječenik DOAK lijekovima**
- **Korištenje interpretativnih komentara uz rezultat kad god je to potrebno (preporuke za alternativne metode/pretrage, vremenski okvir ponavljanja testiranja, interpretacija graničnih/nejasnih rezultata...)**



Hvala...