

BIO MED 2024

LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA BIOLOGIE MÉDICALE

JEUDI 23 &
VENDREDI 24
MAI 2024

Gestion des AOD au laboratoire, comment s'affranchir des interférences

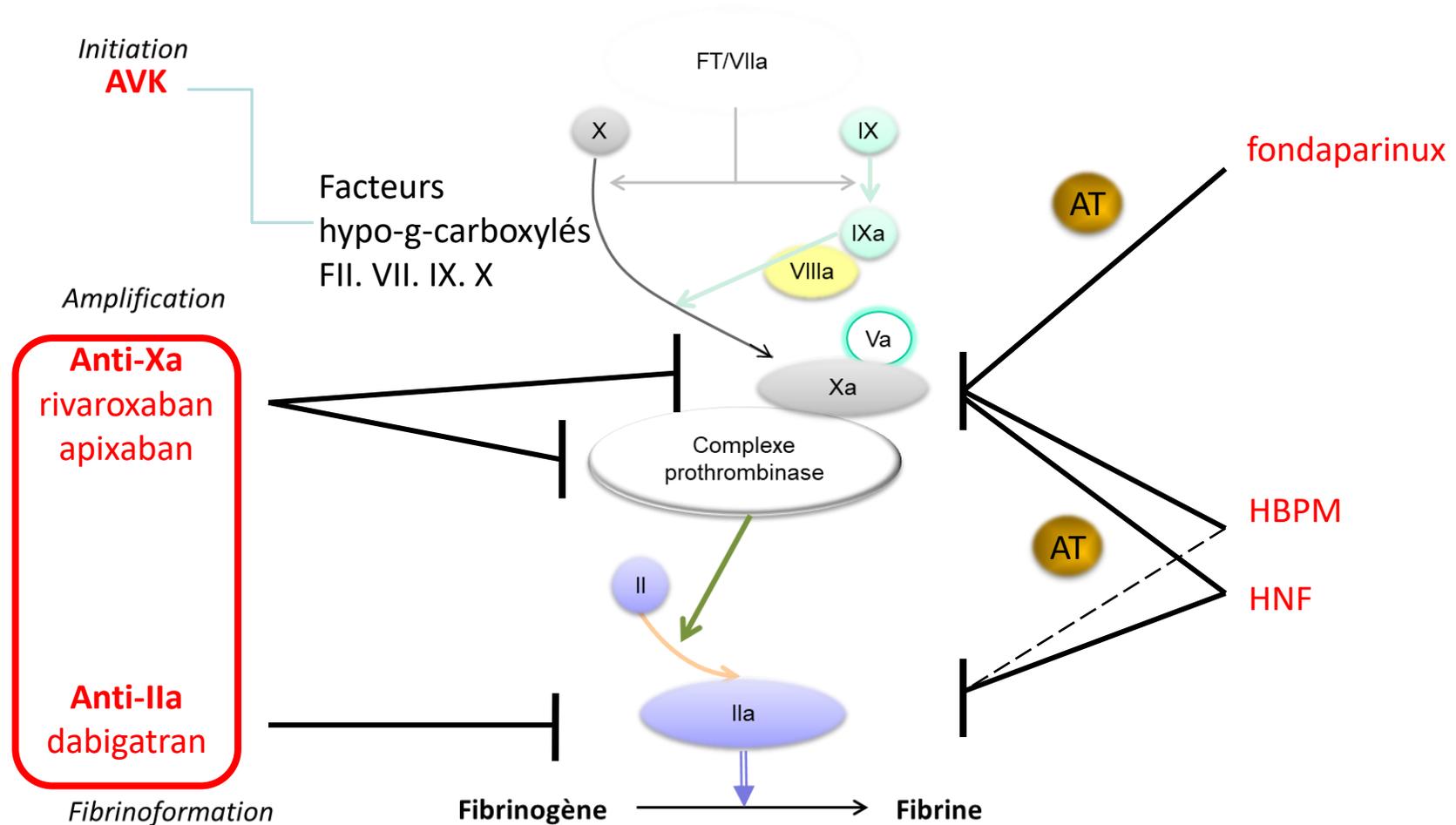
Dr Laetitia MAUGE

Service d'Hématologie biologique – Hôpital européen Georges Pompidou - Paris

Les anticoagulants oraux directs

Voie orale

Voie parentérale



Les anticoagulants oraux directs

Avantages

- Prise orale
- Meilleur profil de sécurité que les AVK, risque hémorragique persistant
- Pas de surveillance biologique requise
- Molécule à élimination partiellement rénale (adaptation posologique)
- Antidote disponible : idarucizumab, mais spécifique du dabigatran
andexanet pour les anti-Xa (AMM européenne)

Inconvénients

- Pas d'agent de réversion spécifique des anti-Xa en France
- Nombreuses interférences sur les analyses d'hémostase
→ Défi d'actualité

Gestion des AOD au laboratoire

- Interférences des AOD sur les tests d'hémostase
- Comment s'affranchir des interférences ?
- Quelle attitude devant un bilan sous AOD ?



Interférence des AOD sur les tests d'hémostase

Les interférences vont dépendre :

- Du principe analytique
- Du réactif
- De la nature de l'AOD
- De la concentration d'AOD

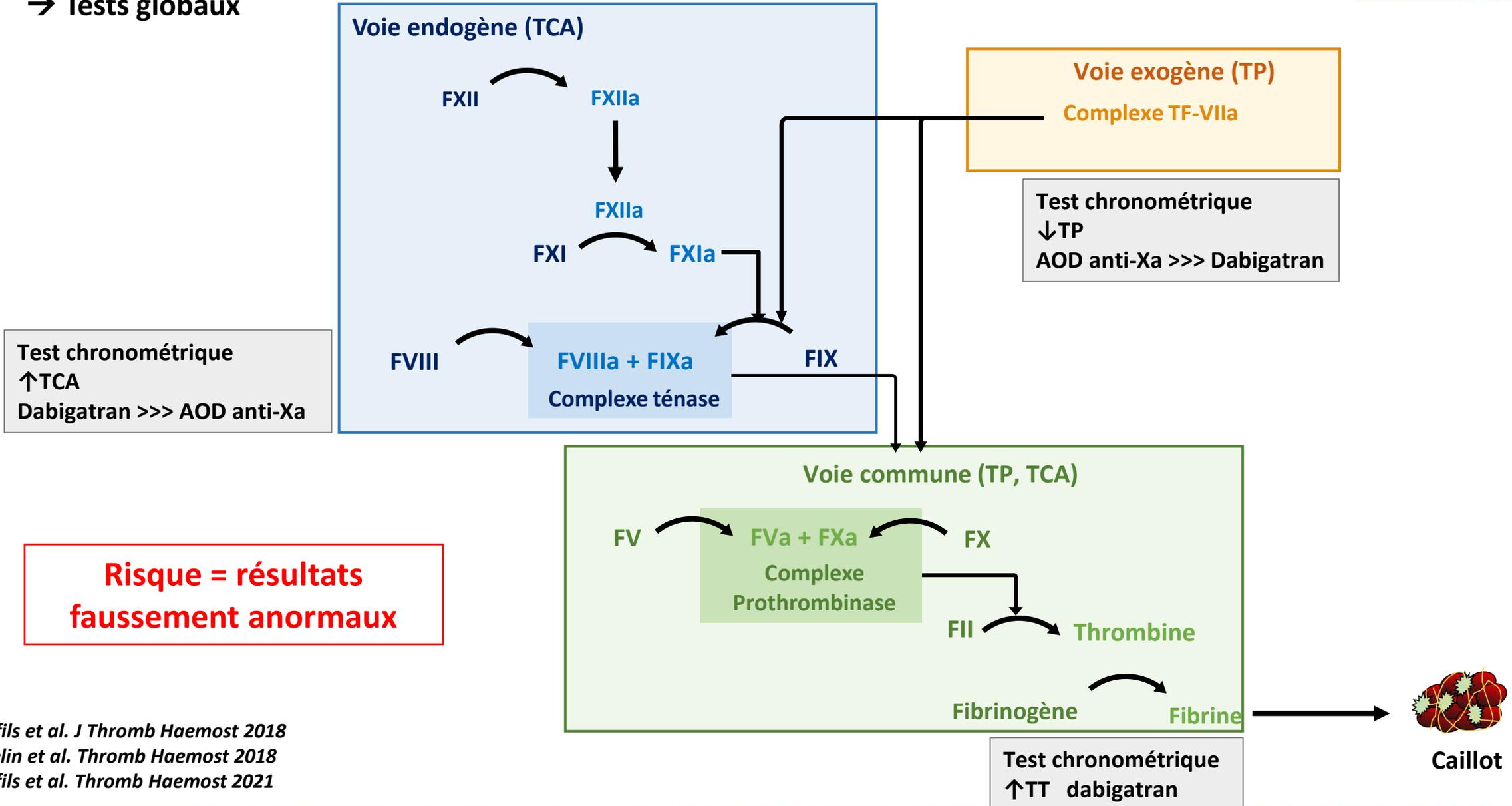
Table 1. Patterns of DOAC interference in hemostasis/thrombosis assays

Expected change	Assays	Notes
Clotting time prolongation	<ul style="list-style-type: none">• aPTT (dabigatran > direct Xa inhibitors)• PT (rivaroxaban > edoxaban > apixaban)• Thrombin time (dabigatran)	Effects on clotting times are reagent dependent. aPTT and PT mixing tests are expected to show incomplete correction in the presence of DOACs.
False increase	<ul style="list-style-type: none">• Clot-based protein C activity• Clot-based protein S activity• Antithrombin activity (in factor IIa-based assays with dabigatran, in factor Xa-based assays with direct Xa inhibitors)• Activated protein C resistance ratio	False increase in protein C, protein S, and antithrombin activities may result in misdiagnosis of a patient with true deficiency as normal. Falsely elevated activated protein C resistance ratio may result in misdiagnosis of a patient with factor V Leiden mutation as normal.
False decrease	<ul style="list-style-type: none">• aPTT-based factor assays (VIII, IX, XI, XII)• PT-based factor assays (II, V, VII, X)	Dilutions in factor assays may show nonspecific inhibitor effect.
False positive (or potentially false negative)	<ul style="list-style-type: none">• LA assays	Includes aPTT- and DRVVT-based assays, among other clotting time-based LA assays; effects are drug and reagent dependent.
No change	<ul style="list-style-type: none">• Clauss fibrinogen activity (for most reagents, rare methods show false decrease in presence of high concentrations of dabigatran)• D-dimer• Chromogenic protein C activity• Free and total protein S antigen• Anticardiolipin, anti-β2GPI ELISAs• von Willebrand activity and antigen assays• DNA-based assays (eg, factor V Leiden mutation, prothrombin G20210A mutation)	

Les conséquences sont variables selon le paramètre : résultat **faussement anormal** ou **faussement normal** !

Interférence des AOD sur les tests d'hémostase

→ Tests globaux

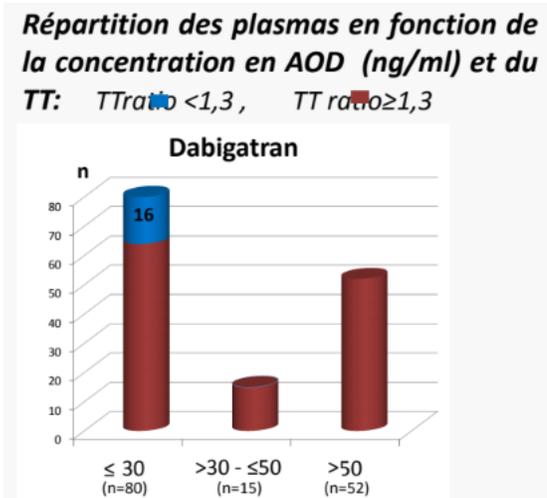
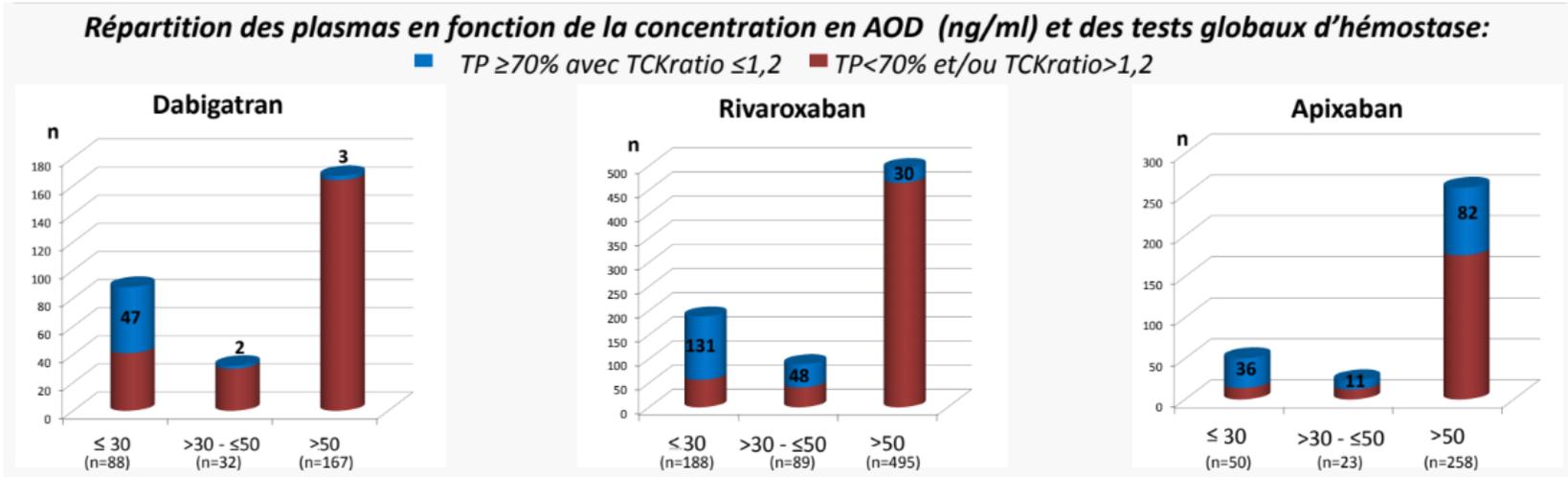


Douxflis et al. J Thromb Haemost 2018
Gosselin et al. Thromb Haemost 2018
Douxflis et al. Thromb Haemost 2021

Place des tests globaux d'hémostase (TP, TCK, TT) pour la prise en charge des patients traités par un AOD dans les situations d'urgence ?

Situations d'urgence = saignement sous AOD ou geste invasif non programmé

TP : Néoplastine CI-10 (Stago)
TCK : CK prest® (Stago)
TT : Thrombin-10 (Stago ou Human Thrombin Sigma)
STAR® (Stago)



- ❑ Un TP et/ou TCA normal n'exclut pas la présence d'un AOD !
- ❑ Un TT normal exclut la présence de dabigatran
- ❑ Mais un TT allongé ne signifie pas que le dabigatran est >30 ng/mL

Place des tests globaux d'hémostase (TP, TCK, TT) pour la prise en charge des patients traités par AOD dans les situations d'urgence ?

TABLE 1] Sensitivity of Coagulation Tests (PT, APTT, TT) and NPV of Normal Tests for the Detection of Rivaroxaban, Apixaban, or Dabigatran Levels Greater Than Three Different Concentrations (30, 50, or 100 ng/mL) of DOACs

Laboratory Test	Performance	Rivaroxaban Concentration (n = 490) ^a % (95% CI) ^b			Apixaban Concentration (n = 108) ^c % (95% CI) ^b			Dabigatran Concentration (n = 68) ^d % (95% CI) ^b		
		> 30 ng/mL	> 50 ng/mL	> 100 ng/mL	> 30 ng/mL	> 50 ng/mL	> 100 ng/mL	> 30 ng/mL	> 50 ng/mL	> 100 ng/mL
PT	Sensitivity	74.3 (69.8-78.3)	89.0 (84.9-92.0)	100 (97.6-100)	55.6 (46.8-63.9)	59.4 (49.9-68.3)	73.2 (61.9-82.2)	86.4 (72.9-94.0)	88.1 (74.5-95.3)	93.1 (76.9-99.1)
	NPV	65.0 (59.4-70.2)	88.4 (84.2-91.6)	100 (98.5-100)	26.3 (17.7-37.2)	43.4 (32.9-54.6)	75.0 (64.2-83.4)	82.4 (66.1-92.0)	85.3 (69.4-94.0)	94.2 (79.9-99.4)
APTT	Sensitivity	49.3 (44.5-54.3)	58.3 (52.7-63.7)	70.9 (64.1-79.9)	47.6 (39.0-56.3)	47.6 (38.1-57.1)	54.4 (42.7-65.7)	97.7 (88.8-100)	100 (89.8-100)	100 (86.1-100)
	NPV	48.2 (43.3-53.2)	67.0 (62.2-71.5)	85.8 (82.0-89.0)	22.6 (14.9-32.7)	35.7 (26.3-46.4)	63.1 (52.4-72.7)	95.7 (77.3-100)	100 (83.1-100)	100 (83.1-100)
Combined PT and aPTT	Sensitivity	77.5 (73.1-81.4)	91.1 (87.4-93.9)	100 (97.6-100)	64.7 (55.9-72.7)	66.0 (56.4-74.5)	73.5 (61.9-82.6)	97.7 (86.8-100)	100 (89.8-100)	100 (86.1-100)
	NPV	65.6 (59.6-71.2)	89.5 (85.6-92.7)	100 (98.2-100)	24.5 (15.1-37.2)	38.6 (27.0-51.6)	68.4 (55.5-79.1)	94.7 (73.5-100)	100 (80.2-100)	100 (80.2-100)
TT	Sensitivity	100.0 (80.2-100.0)	100.0 (87.3-100.0)	100.0 (87.9-100.0)
	NPV	100 (62.8-100.0)	100 (62.8-100)	100 (62.8-100)

PT was performed with Neoplastin CI+ (Stago). The normal PT ratio is ≤ 1.30 . APTT was performed with TriniCLOT aPTT (TCoag). The normal range is < 1.20 . TT was performed with Thrombin Reagent (Stago). The normal range is < 1.30 . aPTT = activated partial thromboplastin time; DOAC = direct oral anticoagulant; NPV = negative predictive value; PT = prothrombin time; TT = thrombin time.

Un TP et/ou TCA normal n'exclut pas la présence d'un AOD !

Un TT normal exclut la présence de dabigatran

→ Il faut disposer de tests adaptés pour mesurer la concentration des AOD

Recommandations pour la quantification des AOD

TABLE 3 ICSH Laboratory Measurements of DOAC recommendations¹⁶

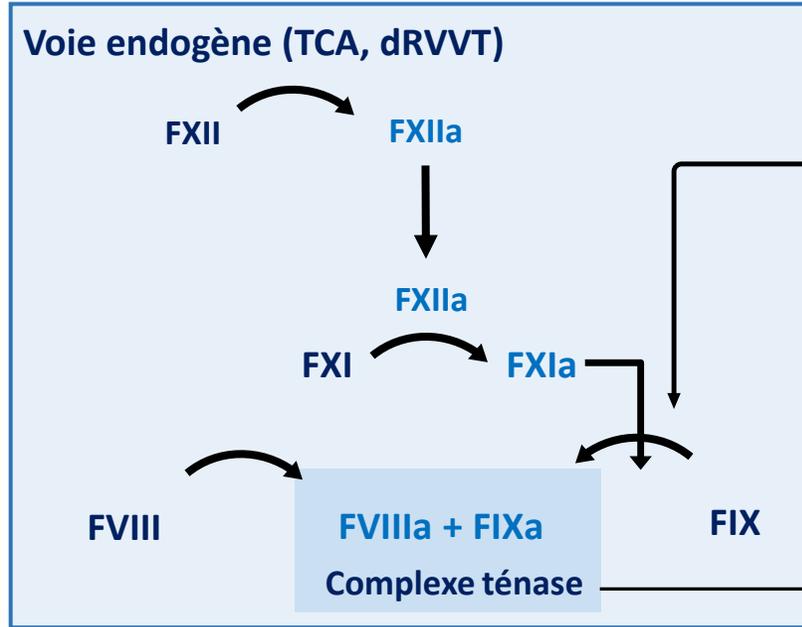
Screening test	<p>The PT and/or APTT not reliable measurements of DOAC, especially apixaban, and should not be used to quantify DOAC concentrations.</p> <p>In a patient with known DOAC exposure, a prolonged PT or APTT should be considered secondary to drug effect until proven otherwise.</p> <p>A normal TT excludes the presence of significant dabigatran concentration.</p> <p>TEG, ROTEM, and other POC not sufficient for assessing DOACs.</p> <p>Nonspecific POC methods may not have sufficient responsiveness to detect DOAC presence.</p> <p>Urine screening tests may provide a rapid qualitative and semiquantitative of recent DOAC exposure.</p>
Tandem mass spectrometry	LC-MS/MS to be the gold standard test for measuring DOAC concentration, with active metabolites being reported.
Other quantitative method	<p>Drug-calibrated DTT, ECA, ECT, and anti-FIIa chromogenic methods are suitable methods to provide quantitation of dabigatran.</p> <p>Drug-calibrated anti-FXa is suitable methods to provide quantitation of anti-Xa DOACs.</p> <p>Antithrombin supplement anti-FXa methods should not be used for DOAC assessment.</p>
Method performance	Prior to test implementation and result reporting, DOAC method validation or verification of performance is required requiring a written protocol, to include precision, accuracy, linearity, and other parameters as necessary.
External quality assessment	Each laboratory must enroll in a DOAC EQA program, with at least two sample per dispatch, performed at least twice annually.

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
TP			
INR			
TCA			
TT			
dTT, ECT			
Anti-Xa			

Interférence des AOD sur les tests d'hémostase

→ Facteurs

Test chronométrique
↓ Facteurs du TCA
Dabigatran >>> Anti-Xa

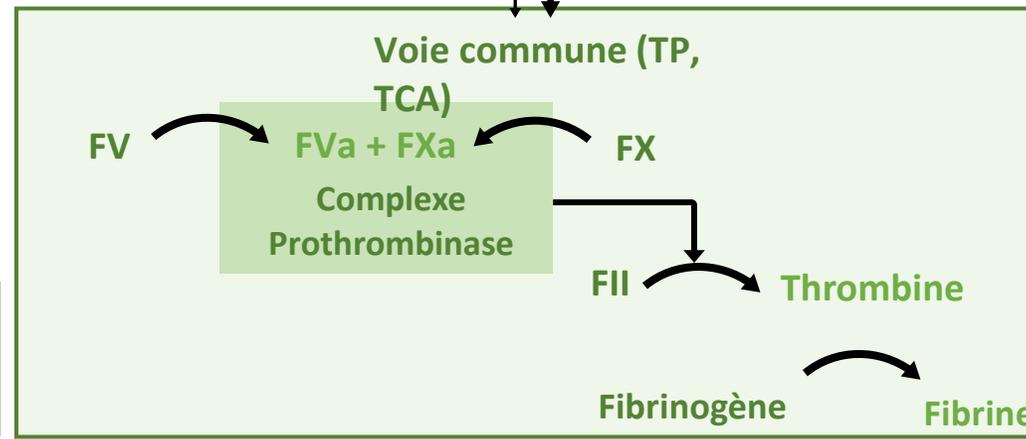


Voie exogène (TP)
Complexe TF-VIIa

Test
chronométrique
↓ Facteurs
Anti-Xa, dabigatran

Risque = résultats
faussement anormaux

Test chronométrique
↓ Facteurs
Anti-Xa, dabigatran



Uniquement test de Clauss en présence de
dabigatran, rares cas ↓ fibrinogène



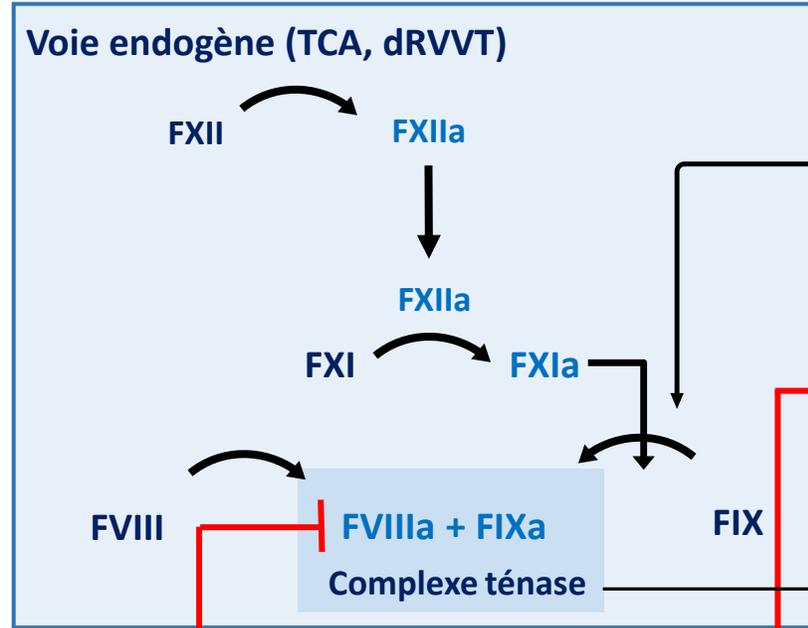
Caillot

Douxfils et al. J Thromb Haemost 2018
Gosselin et al. Thromb Haemost 2018
Douxfils et al. Thromb Haemost 2021

Interférence des AOD sur les tests d'hémostase

→ Thrombophilie

Test chromométrique
↑ TCA-LA
Anti-Xa, dabigatran



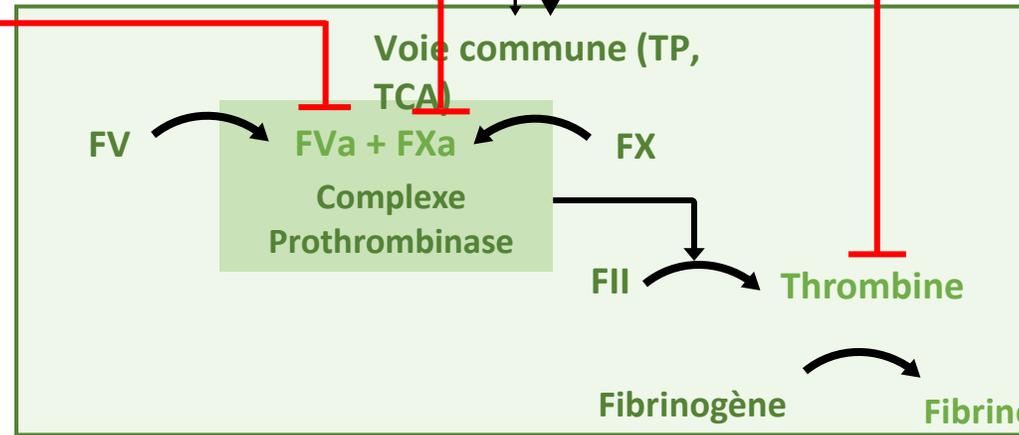
Voie exogène (TP)
Complexe TF-VIIa

Test chromogénique basé sur l'inhibition du FXa ou du FIIa
↑ activité cofacteur de l'héparine de l'antithrombine
Anti-Xa (Xa) et dabigatran (IIa)

Antithrombine

Test chromométrique
↑ activité anticoagulante protéine C et protéine S
Anti-Xa et dabigatran

Protéine C activée
Protéine S



Test chromométrique
↑ ↑ dRVVT
Anti-Xa, dabigatran

**Risque = résultats faussement anormaux (LA)
Ou faussement normaux (AT/PC/PS)**



Caillot

Comment s'affranchir des interférences ?

Décaler l'examen ou suspendre le traitement



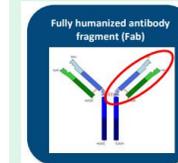
Pas forcément faisable : risque thrombotique
Prélèvement en résiduel

Utiliser des conditions/tests insensibles aux AOD

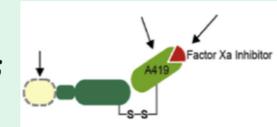


Dilution (facteurs)
Autre réactif (thrombophilie, HNF)

Neutraliser *in vitro* les AOD avant réalisation du test



Antidotes



Peut fonctionner mais coût +++

Agents adsorbants

Charbon activé

DOAC-Stop™
(Haematex, Australie)
DOAC-Remove™
(5-Diagnostics, Suisse)
DOAC Stop Liquid™
(Haematex, Australie)

Filtres

DP-Filter®
(5-Diagnostics, Suisse)
DOAC Filter
(Stago, France)



Simple, peu coûteux mais nécessite une validation, du temps et du plasma

Exemple du bilan de thrombophilie



Interférence des AOD sur le bilan de thrombophilie

TABLE 2 Effect of DOAC on thrombophilia testing^{11,15-21,23-25}

	Test Bias	Dabigatran (ng/mL)	Apixaban (ng/mL)	Betrixaban (ng/mL)	Edoxaban (ng/mL)	Rivaroxaban (ng/mL)
Antithrombin-IIa method ^a	False ↑	~25	No effect	No effect	No effect	No effect
Antithrombin-Xa method ^a	False ↑	No effect	~40-110	No effect	~120-270	~100-130
Protein C-clot based ^a	False ↑	~25	>750	Unknown	~280	~22
Protein C—chromogenic	-	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect
Protein S-activity ^a	False ↑	~25	~470	~30	~270	~220
Protein S—antigen	-	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect
LA screen ^a	↑	~25	~80-110	~10	~20-35	~10-30
LA confirm ^a	↑	~25	~80	~10	~20	~20-30
LA ratio ^{a,b}	False ↑	~25 ^{a,b}	~200->750 ^{a,b}	~50 ^{a,b}	~30->500 ^{a,b}	~10->720 ^{a,b}
APCr ^{a,b,c}	Biased Ratios ^c	~25-200 ^{a,b}	>740 ^{a,b}	Unknown	>300 ^{a,b}	>300 ^{a,b}

This table reflects minimum DOAC concentration that affected thrombophilia testing, from cited studies. These DOAC concentrations may not be reflective of all reagents or methods.

^aReagent and method dependent APCR.

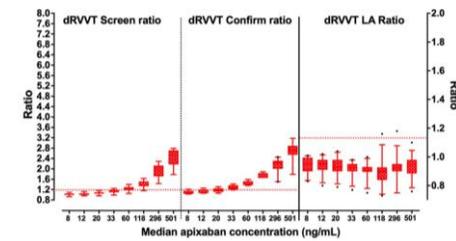
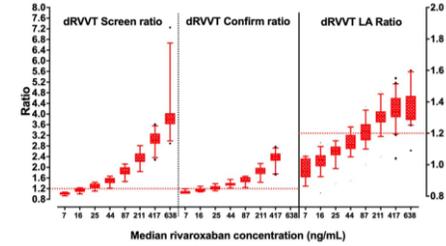
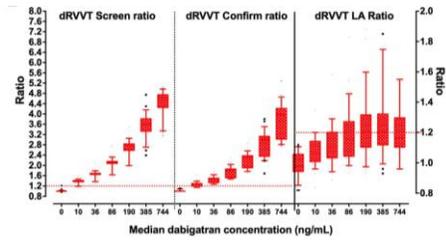
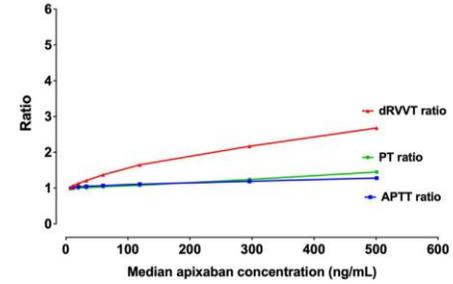
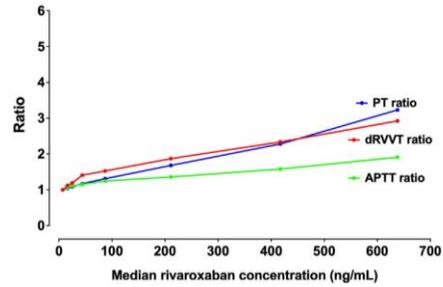
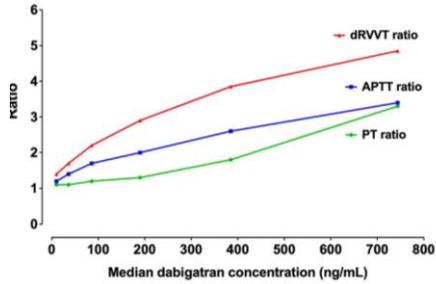
^bMethod dependent, including no DOAC effect on test result.

^cAPCr ratio bias can be either falsely low or falsely high with some methods, resulting in mis-identifying of V Leiden mutation or missing V Leiden mutation respectively.

APCr: activated protein C resistance ratio.

Interférence de l'AOD dépendante de la nature de l'AOD, sa concentration et le réactif utilisé.

Interférence des AOD sur le bilan de thrombophilie



Interférence de l'AOD dépendante de la nature de l'AOD, sa concentration et le réactif utilisé.

Retarder la prescription ou suspendre le traitement



- Pas toujours possible car risque thrombotique pour le patient.
- Arrêt 3 jours pas toujours suffisant car interférence possible pour le LA même si <30 ng/mL (selon l'AOD et le réactif)

Utiliser des conditions/tests insensibles aux AOD



TABLE 2 Effect of DOAC on thrombophilia testing^{11,15-21,23-25}

	Test Bias	Dabigatran (ng/mL)	Apixaban (ng/mL)	Betrixaban (ng/mL)	Edoxaban (ng/mL)	Rivaroxaban (ng/mL)
Antithrombin-IIa method ^a	False ↑	~25	No effect	No effect	No effect	No effect
Antithrombin-Xa method ^a	False ↑	No effect	~40-110	No effect	~120-270	~100-130
Protein C-clot based ^a	False ↑	~25	>750	Unknown	~280	~22
Protein C—chromogenic	–	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect
Protein S-activity ^a	False ↑	~25	~470	~30	~270	~220
Protein S—antigen	–	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect
LA screen ^a	↑	~25	~80-110	~10	~20-35	~10-30
LA confirm ^a	↑	~25	~80	~10	~20	~20-30
LA ratio ^{a,b}	False ↑	~25 ^{a,b}	~200->750 ^{a,b}	~50 ^{a,b}	~30->500 ^{a,b}	~10->720 ^{a,b}
APCr ^{a,b,c}	Biased Ratios ^c	~25-200 ^{a,b}	>740 ^{a,b}	Unknown	>300 ^{a,b}	>300 ^{a,b}

This table reflects minimum DOAC concentration that affected thrombophilia testing, from cited studies. These DOAC concentrations may not be reflective of all reagents or methods.

^aReagent and method dependent APCr.

^bMethod dependent, including no DOAC effect on test result.

^cAPCr ratio bias can be either falsely low or falsely high with some methods, resulting in mis-identifying of V Leiden mutation or missing V Leiden mutation respectively.

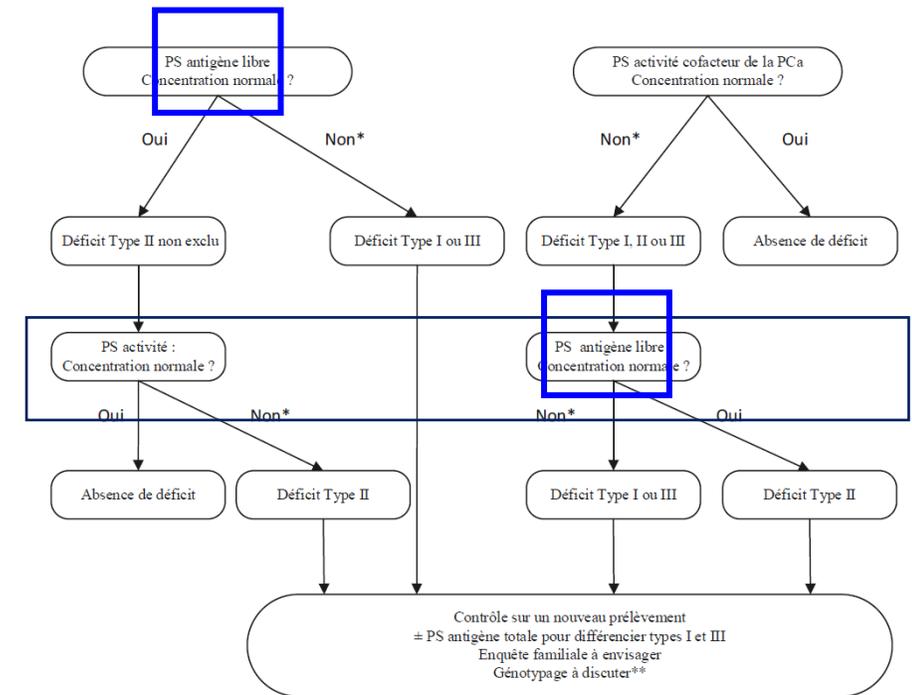
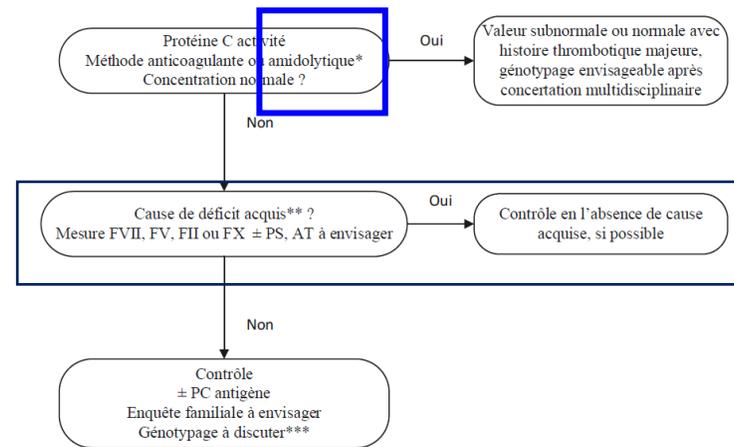
APCr: activated protein C resistance ratio.

→ Adapter le test à l'AOD présent

Limite : disponibilité du réactif au laboratoire

Alternatives pour la réalisation du bilan de thrombophilie

Utiliser des conditions/tests insensibles aux AOD



→ Utiliser un test insensible aux AOD :
activité amidolytique de la PC, taux antigénique PS libre

*Limite : ces tests ne détectent pas les déficits de type qualitatif
(2b pour PC ; 2 pour PS)*

Utiliser des conditions/tests insensibles aux AOD



- Développement de tests insensibles aux AOD : **TSVT/ET** :
 - **Indépendant du FXa** :
 - Taipan Snake Venom Time : FXa et FVa like → activent le FII de manière PL et Ca++ dépendante
 - Ecarine : activation directe de la thrombine indépendante des PL
 - Validé pour la détection des LA chez les patients sous AOD anti-Xa ou sous AVK
- Autres tests en cours d'étude

→ Utiliser un test insensible aux AOD

- *Limites : valable pour les AOD anti-Xa uniquement et attention à la sensibilité des tests indépendants du FXa pour les anticorps anti-phospholipides non dirigés contre la prothrombine, tests peu disponibles*

Neutraliser *in vitro* les AOD
avant réalisation du test

Agents adsorbants

Charbon activé

DOAC-Stop™

(Haematex, Australie)

DOAC-Remove™

(5-Diagnostics,

Xenometrics, Suisse)

DOAC Stop Liquid™

(Haematex, Australie)



Filtres

DP-Filter®

(5-Diagnostics, Suisse)

DOAC Filter

(Diagnostica Stago,

France)



L'utilisation de ces systèmes nécessitent une **étape de validation** :

1. Vérifier les performances de **neutralisation** des AOD
2. Vérifier **l'absence d'impact** du traitement du plasma par le système de neutralisation sur le test à réaliser

1. Performances de neutralisation des AOD

Tableau 2. Performances des systèmes d'élimination *in vitro* des AOD anti-Xa.

	Jourdi 2019 [20]	Platton 2019 [22]	Farkh 2021 (24)	Favre 2021 [21]	Melicine 2021 [14]	Linskens 2022 [23]	Linskens 2022 [23]
Système de neutralisation	DOAC-Remove	DOAC-Stop	DOAC-Filter	DOAC-Remove	DOAC-Remove	DOAC-Filter	DOAC-Stop
Méthode de mesure de l'AOD	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	HPLC-MS/MS	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène
Apixaban n	49	20	41	15	42	9	4
LOQ apixaban	20 ng/mL	13 ng/mL	2 ng/mL	23 ng/mL	23 ng/mL	20 ng/mL	20 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	94 [< 20 -479] Med [min-max]	154 (95-214) Mean (95 %CI)	92,1 [37,1-390,7] Med [min-max]	165 [80-634] Med [min-max]	116 [31-396] Med [min-max]	[51-350] [min-max]	[51-279] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -85] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -9,6] Med [min-max]	23 [23-95] Med [min-max]	100 % $< LOQ$	< 20 -33] [min-max]	< 20
n (%) neutralisation incomplète	9 (18)	2 (10) 494→123 ng/mL 102 → 15 ng/mL	17,0 (41,5) Med [min-max] des échecs : 3,26 [2,1-9,6]	1 (6,7) 510→95 ng/mL	0 (0)	2 (22,2) 94 →28 ng/mL 191 → 33 ng/mL	0 (0)
Rivaroxaban n	48	20	37	26	41	25	20
LOQ rivaroxaban	20 ng/mL	17 ng/mL	2 ng/mL	25 ng/mL	25 ng/mL	21 ng/mL	21 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	107 [< 20 -501] Med [min-max]	165 (100-231) Moyenne (IC95 %)	64,8 [17,6-311,4] Med [min-max]	140 [57-922] Med [min-max]	121 [34-359] Med [min-max]	[27-508] [min-max]	[27-508] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -45] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -2,4] Med [min-max]	25 [25-32] Med [min-max]	< 25	< 21	< 21
n (%) neutralisation incomplète	1 (2 %)	1 (5 %) 495→24 ng/mL	2 (5 %)	1 (4 %) 344→32 ng/mL	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

LOQ : limite de détection ; Med [min-max], médiane [minimum-maximum], Moyenne (IC95 %), moyenne intervalle de confiance à 95 %.

1. Performances de neutralisation des AOD

Tableau 2. Performances des systèmes d'élimination *in vitro* des AOD anti-Xa.

	Jourdi 2019 [20]	Platton 2019 [22]	Farkh 2021 (24)	Favre 2021 [21]	Melicine 2021 [14]	Linskens 2022 [23]	Linskens 2022 [23]
Système de neutralisation	DOAC-Remove	DOAC-Stop	DOAC-Filter	DOAC-Remove	DOAC-Remove	DOAC-Filter	DOAC-Stop
Méthode de mesure de l'AOD	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	HPLC-MS/MS	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène
Apixaban n	49	20	41	15	42	9	4
LOQ apixaban	20 ng/mL	13 ng/mL	2 ng/mL	23 ng/mL	23 ng/mL	20 ng/mL	20 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	94 [< 20 -479] Med [min-max]	154 (95-214) Mean (95 %CI)	92,1 [371-390,7] Med [min-max]	165 [80-634] Med [min-max]	116 [31-396] Med [min-max]	[51-350] [min-max]	[51-279] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -85] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -9,6] Med [min-max]	23 [23-95] Med [min-max]	100 % $< LOQ$	< 20 -33] [min-max]	< 20
n (%) neutralisation incomplète	9 (18)	2 (10) 494→123 ng/mL 102 → 15 ng/mL	17,0 (41,5) Med [min-max] des échecs : 3,26 [2,1-9,6]	1 (6,7) 510→95 ng/mL	0 (0)	2 (22,2) 94 →28 ng/mL 191 → 33 ng/mL	0 (0)
Rivaroxaban n	48	20	37	26	41	25	20
LOQ rivaroxaban	20 ng/mL	17 ng/mL	2 ng/mL	25 ng/mL	25 ng/mL	21 ng/mL	21 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	107 [< 20 -501] Med [min-max]	165 (100-231) Moyenne (IC95 %)	64,8 [17,6-311,4] Med [min-max]	140 [57-922] Med [min-max]	121 [34-359] Med [min-max]	[27-508] [min-max]	[27-508] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -45] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -2,4] Med [min-max]	25 [25-32] Med [min-max]	< 25	< 21	< 21
n (%) neutralisation incomplète	1 (2 %)	1 (5 %) 495→24 ng/mL	2 (5 %)	1 (4 %) 344→32 ng/mL	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

LOQ : limite de détection ; Med [min-max], médiane [minimum-maximum], Moyenne (IC95 %), moyenne intervalle de confiance à 95 %.

1. Performances de neutralisation des AOD

Tableau 2. Performances des systèmes d'élimination *in vitro* des AOD anti-Xa.

	Jourdi 2019 [20]	Platton 2019 [22]	Farkh 2021 (24)	Favre 2021 [21]	Melicine 2021 [14]	Linskens 2022 [23]	Linskens 2022 [23]
Système de neutralisation	DOAC-Remove	DOAC-Stop	DOAC-Filter	DOAC-Remove	DOAC-Remove	DOAC-Filter	DOAC-Stop
Méthode de mesure de l'AOD	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	HPLC-MS/MS	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène
Apixaban n	49	20	41	15	42	9	4
LOQ apixaban	20 ng/mL	13 ng/mL	2 ng/mL	23 ng/mL	23 ng/mL	20 ng/mL	20 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	94 [< 20 -479] Med [min-max]	154 (95-214) Mean (95 %CI)	92,1 [37,1-390,7] Med [min-max]	165 [80-634] Med [min-max]	116 [31-396] Med [min-max]	[51-350] [min-max]	[51-279] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -85] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -9,6] Med [min-max]	23 [23-95] Med [min-max]	100 % $< LOQ$	< 20 -33] [min-max]	< 20
n (%) neutralisation incomplète	9 (18)	2 (10) 494→123 ng/mL 102 → 15 ng/mL	17,0 (41,5) Med [min-max] des échecs : 3,26 [2,1-9,6]	1 (6,7) 510→95 ng/mL	0 (0)	2 (22,2) 94 →28 ng/mL 191 → 33 ng/mL	0 (0)
Rivaroxaban n	48	20	37	26	41	25	20
LOQ rivaroxaban	20 ng/mL	17 ng/mL	2 ng/mL	25 ng/mL	25 ng/mL	21 ng/mL	21 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	107 [< 20 -501] Med [min-max]	165 (100-231) Moyenne (IC95 %)	64,8 [17,6-311,4] Med [min-max]	140 [57-922] Med [min-max]	121 [34-359] Med [min-max]	[27-508] [min-max]	[27-508] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -45] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -2,4] Med [min-max]	25 [25-32] Med [min-max]	< 25	< 21	< 21
n (%) neutralisation incomplète	1 (2 %)	1 (5 %) 495→24 ng/mL	2 (5 %)	1 (4 %) 344→32 ng/mL	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

LOQ : limite de détection ; Med [min-max], médiane [minimum-maximum], Moyenne (IC95 %), moyenne intervalle de confiance à 95 %.

Le DOAC Filter n'est plus commercialisé

1. Performances de neutralisation des AOD

Tableau 2. Performances des systèmes d'élimination *in vitro* des AOD anti-Xa.

	Jourdi 2019 [20]	Platton 2019 [22]	Farkh 2021 (24)	Favre 2021 [21]	Melicine 2021 [14]	Linskens 2022 [23]	Linskens 2022 [23]
Système de neutralisation	DOAC-Remove	DOAC-Stop	DOAC-Filter	DOAC-Remove	DOAC-Remove	DOAC-Filter	DOAC-Stop
Méthode de mesure de l'AOD	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	HPLC-MS/MS	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène	Anti-Xa chromogène
Apixaban n	49	20	41	15	42	9	4
LOQ apixaban	20 ng/mL	13 ng/mL	2 ng/mL	23 ng/mL	23 ng/mL	20 ng/mL	20 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	94 [< 20 -479] Med [min-max]	154 (95-214) Mean (95 %CI)	92,1 [37,1-390,7] Med [min-max]	165 [80-634] Med [min-max]	116 [31-396] Med [min-max]	[51-350] [min-max]	[51-279] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -85] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -9,6] Med [min-max]	23 [23-95] Med [min-max]	100 % $< LOQ$	< 20 -33] [min-max]	< 20
n (%) neutralisation incomplète	9 (18)	2 (10) 494→123 ng/mL 102 → 15 ng/mL	17,0 (41,5) Med [min-max] des échecs : 3,26 [2,1-9,6]	1 (6,7) 510→95 ng/mL	0 (0)	2 (22,2) 94 →28 ng/mL 191 → 33 ng/mL	0 (0)
Rivaroxaban n	48	20	37	26	41	25	20
LOQ rivaroxaban	20 ng/mL	17 ng/mL	2 ng/mL	25 ng/mL	25 ng/mL	21 ng/mL	21 ng/mL
Concentration avant traitement ng/mL	107 [< 20 -501] Med [min-max]	165 (100-231) Moyenne (IC95 %)	64,8 [17,6-311,4] Med [min-max]	140 [57-922] Med [min-max]	121 [34-359] Med [min-max]	[27-508] [min-max]	[27-508] [min-max]
Concentration après traitement ng/mL	< 20 [< 20 -45] Med [min-max]	-	$< 2,0$ [$< 2,0$ -2,4] Med [min-max]	25 [25-32] Med [min-max]	< 25	< 21	< 21
n (%) neutralisation incomplète	1 (2 %)	1 (5 %) 495→24 ng/mL	2 (5 %)	1 (4 %) 344→32 ng/mL	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

LOQ : limite de détection ; Med [min-max], médiane [minimum-maximum], Moyenne (IC95 %), moyenne intervalle de confiance à 95 %.

Echecs de neutralisation possibles. Pas expliqués par une saturation.

2. Impact sur le test

Neutraliser *in vitro* les AOD
avant réalisation du test

Agents adsorbants

Charbon activé

DOAC-Stop™

(Haematex, Australie)

DOAC-Remove™

(5-Diagnostics,

Xenometrics, Suisse)

DOAC Stop Liquid™

(Haematex, Australie)



Filtres

DP-Filter®

(5-Diagnostics, Suisse)

DOAC Filter

(Diagnostica Stago,

France)



	DOAC-Stop®	DOAC remove®	DOAC-Filter®
Antithrombin	no impact [39,40,52,62]	no impact [51,62]	no impact [61]
Protein C	no impact [40,52,62]	no impact [51,53,62]	no impact [61]
Protein S	no impact [40,52,62]	no impact [51,53,62]	

→ absence d'impact sur le test (AT) ou la protéine à tester (PC/PS)

Alternatives pour la réalisation du bilan de thrombophilie

Neutraliser *in vitro* les AOD avant réalisation du test

Agents adsorbants

Charbon activé

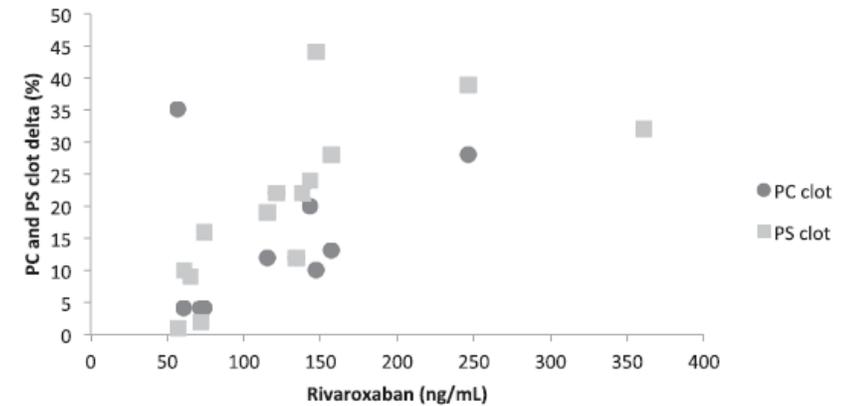
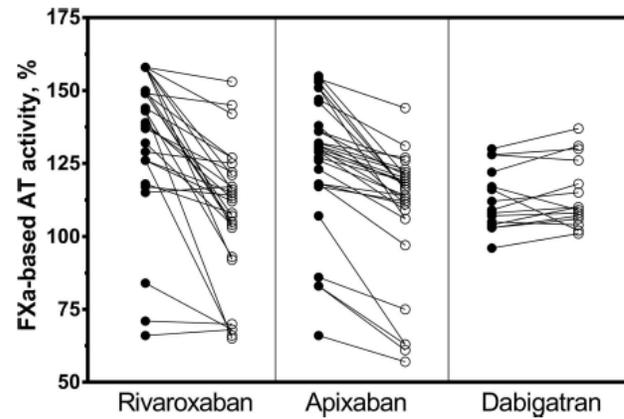
- DOAC-Stop™ (Haematex, Australie)
- DOAC-Remove™ (5-Diagnostics, Xenometrics, Suisse)
- DOAC Stop Liquid™ (Haematex, Australie)

Filtres

- DP-Filter® (5-Diagnostics, Suisse)
- DOAC Filter (Diagnostica Stago, France)



	DOAC-Stop®	DOAC remove®	DOAC-Filter®
Antithrombin	Anti-FXa activity (Innovance) in rivaroxaban and apixaban-treated patients [39]		
Protein C		Protein C anticoagulant activity (Staclot Protein C) in rivaroxaban and apixaban-treated patients [53]	
Protein S		Protein S anticoagulant activity (Staclot Protein S) in rivaroxaban and apixaban-treated patients [53]	



Identification d'un patient avec un déficit qualitatif : 92
→ 53% déficit confirmé par étude génétique de PROS1

Neutraliser *in vitro* les AOD avant réalisation du test

Agents adsorbants

Charbon activé

DOAC-Stop™

(Haematex, Australie)

DOAC-Remove™

(5-Diagnostics, Xenometrics, Suisse)

DOAC Stop Liquid™

(Haematex, Australie)



Filtres

DP-Filter®

(5-Diagnostics, Suisse)

DOAC Filter

(Diagnostica Stago, France)



DOAC-Stop® (Haematex Research)	<p>✓ Normalise dRVVT (dépistage et confirmation), aPTT-LA</p> <p>✗ Possible faux-négatif en cas de LA faiblement positif</p>
DOAC-Remove® (5-Diagnostics)	<p>✓ Normalise dRVVT (dépistage et confirmation), aPTT-LA, SCT</p> <p>✗ Possible interférence sur le dRVVT, y compris avec des concentrations d'AOD inférieures au seuil de détection</p>
DOAC-Filter® (Diagnostica Stago)	<p>✓ Normalise dRVVT (dépistage et confirmation) et SCT</p> <p>✗ Pas d'influence sur les tests de contrôle de LA (négatif et positif)</p>



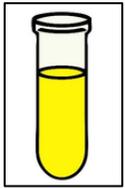
A valider localement.

**Utilisation seulement pour les patients sous AOD.
Lors de la réalisation des tests recommandés en 1^{ère} intention pour la recherche d'un LA chez un patient sous AOD, on ne peut exclure la possibilité d'un faux positif malgré la réalisation du test sur du plasma traité par un système d'adsorption des AOD.**

DOAC-Remove pour le dosage des protéines C et S par tests de coagulation

Expérience Hôpital Européen Georges Pompidou

- Bilan de thrombophilie prélevé sous AOD anti-Xa (Hôpital européen Georges Pompidou)



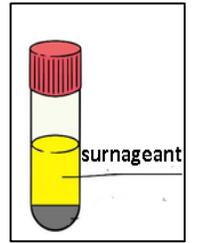
- Activité anti-Xa AOD
- PC activité anticoagulante (Hémoclot ProteinC, HyphenBiomed)
- PS activité anticoagulante (Staclot PS, Diagnostica Stago)

STA R Max® (Diagnostica Stago)



- Activité anti-Xa AOD
- PC activité anticoagulante (Hémoclot ProteinC, HyphenBiomed)
- PS activité anticoagulante (Staclot PS, Diagnostica Stago)

STA R Max® (Diagnostica Stago)



1) Etude de la neutralisation des AOD par DOAC Remove™

2) Etude de l'interférence des AOD sur les dosages :

- corrélation entre les variations et les concentrations d'AOD
- Impact de l'interférence (variation >2,8SD) sur la recherche de déficits en protéines C et S

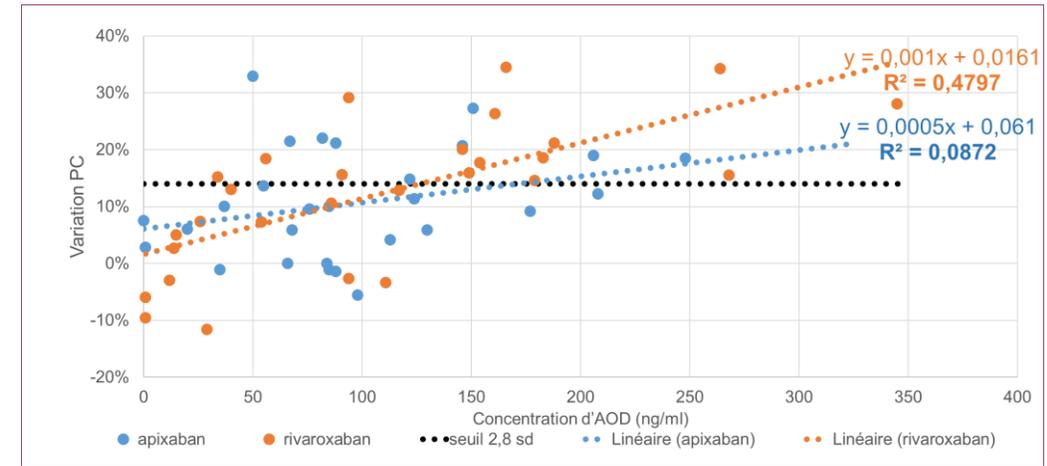
1) Etude de la neutralisation des AOD par DOAC Remove™

- Les dosages ont été réalisés chez :
 - ✓ 32 patients traités par **rivaroxaban**, med 85 ng/mL [min < 30; max 345]
 - ✓ 36 patients traités par **apixaban**, med 93 ng/mL [min < 30; max 326]
- **Après DOAC-R**, le taux d'AOD était < 30 ng/mL pour les 68 patients, témoignant de l'efficacité du DOAC-R même avec des taux élevés d'AOD et sans différence entre apixaban ou rivaroxaban.
- Pas d'impact des AOD sur les dosages chez les patients non traités par AOD (n=10)

2) Etude de l'interférence des AOD sur les dosages : PC

- Interférence **rivaroxaban** :
 - ✓ 15/28 (53%)
 - ✓ variation relative médiane 15%, corrélée avec le taux d'AOD ($R^2=0.48$) (avant : 104% (43-140) ; après : 89% (40-121%))
 - ✓ interférence systématique >117 ng/mL (n=12) et absente si < 30 ng/mL (n=7)
 - ✓ 4 sujets avec déficit, taux < 70% même sous AOD

- Interférence **apixaban** :
 - ✓ 10/31 (32%)
 - ✓ variation relative médiane de 9,7%, non corrélée avec le taux d'AOD (avant : 106% (42-138%) ; après : 90% (38-137%))
 - ✓ interférence absente si < 50 ng/mL (n=6)
 - ✓ 2 sujets avec déficit dont 1 avec taux normalisé sous AOD (type I expliqué par le génotypage)

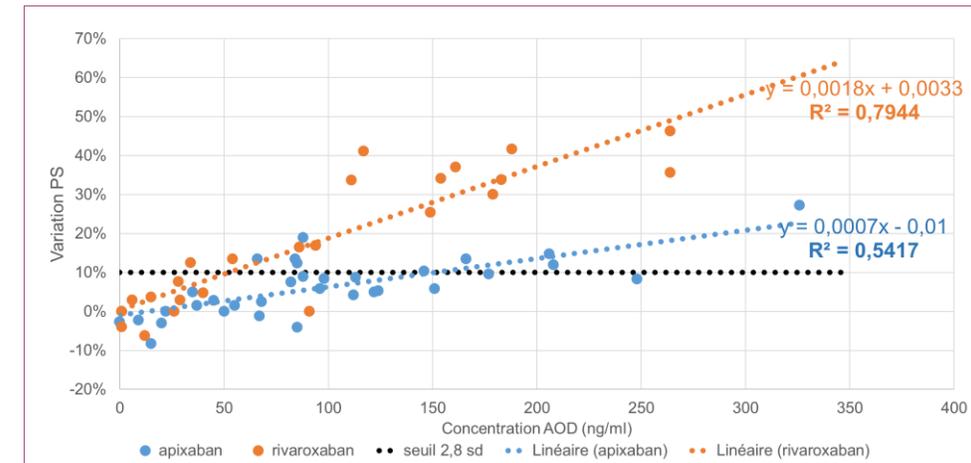


C% AOD (ng/mL)	Act anticoag PC (%)	Act amidolytique PC (%)	Taux antigénique PC (%)	Génotypage PROC
50	Avant : 70 Après : 47	53	62	c.1211G>T, p.Gly404Val

2) Etude de l'interférence des AOD sur les dosages : PS

- Interférence **rivaroxaban** :
 - ✓ 18/28 (64%)
 - ✓ variation relative médiane 15%, corrélée avec le taux d'AOD ($R^2=0.79$) (avant : 91% (16-134) ; après : 74% (17-132%))
 - ✓ interférence systématique >94 ng/mL (n=14) et absente si < 30 ng/mL (n=8)
 - ✓ 4 sujets avec déficit dont 1 avec taux normalisé sous AOD (**type II** expliqué par le génotypage)

- Interférence **apixaban** :
 - ✓ 8/34 (23%)
 - ✓ variation relative médiane de 5,5%, corrélée avec le taux d'AOD ($R^2=0.54$) (avant : 85% (37-126) ; après : 83% (30-115%))
 - ✓ interférence absente si < 82 ng/mL (n=15)
 - ✓ 4 sujets avec déficit, <70% déjà sous AOD



C% AOD (ng/mL)	Act anticoag PS (%)	Taux antigénique PS libre (%)	Génotypage <i>PROS1</i>
183	Avant : 68 Après : 45	65	c.121C>T p.(Arg41Cys)

- Neutralisation par DOAC Remove satisfaisante
- Interférence du rivaroxaban > apixaban
- Interférence sur la PS > PC
- Pas d'interférence du rivaroxaban et de l'apixaban si <30 ng/mL

Conduite à tenir validée dans notre laboratoire :

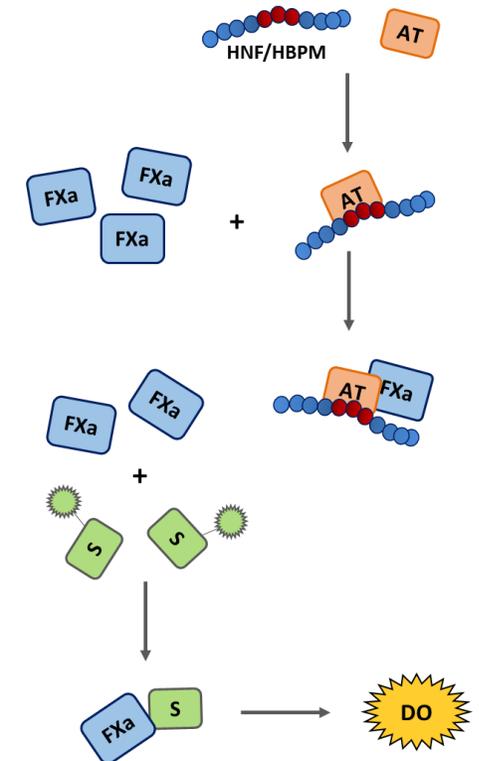
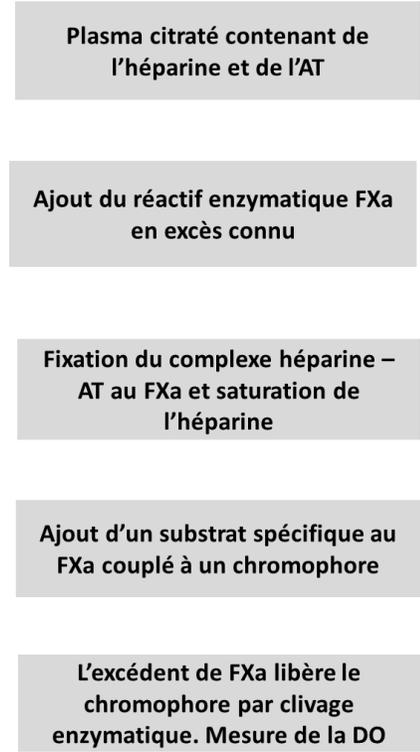
1. Quantification de l'AOD
2. Si <30 ng/ml → mesure des activités PC/PS par technique de coagulation
Si ≥30 ng/mL → traitement du plasma par DOAC-R
mesure de l'AOD post DOAC-Remove
mesure des activités PC/PS par technique de coagulation

Exemple de la surveillance de l'HNF par mesure de l'activité anti-Xa



Interférence des AOD sur la mesure de l'activité anti-Xa HNF

- Surveillance de l'activité biologique de l'HNF au moins quotidienne
- Activité anti-Xa +++
- Mesure de l'activité anti-Xa non spécifique du traitement



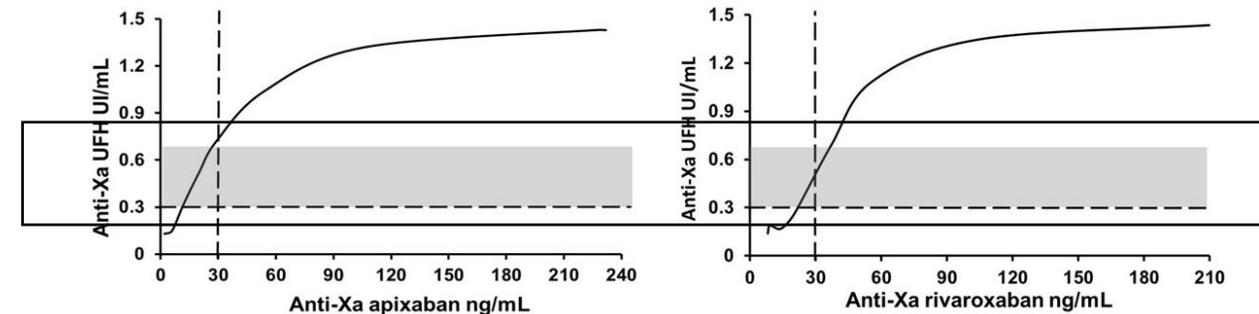
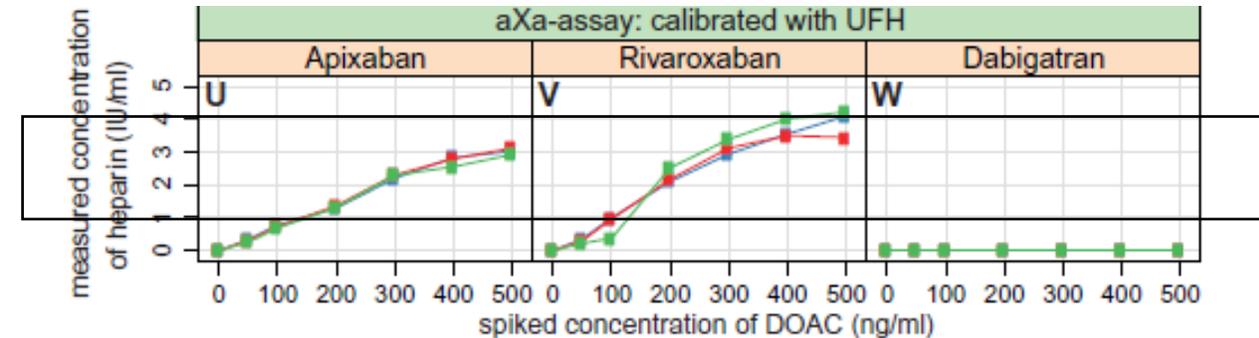
Interférence des AOD sur la mesure de l'activité anti-Xa HNF

- Surveillance de l'activité biologique de l'HNF au moins quotidienne
- Activité anti-Xa +++
- Mesure de l'activité anti-Xa non spécifique du traitement

Risque de surestimation de l'activité anti-Xa en présence d'AOD anti-Xa

Interférence significative même à des concentrations <30 ng/mL

- ❑ Une activité anti-Xa héparine <0,15 UI/ml exclut la présence d'AOD anti-Xa



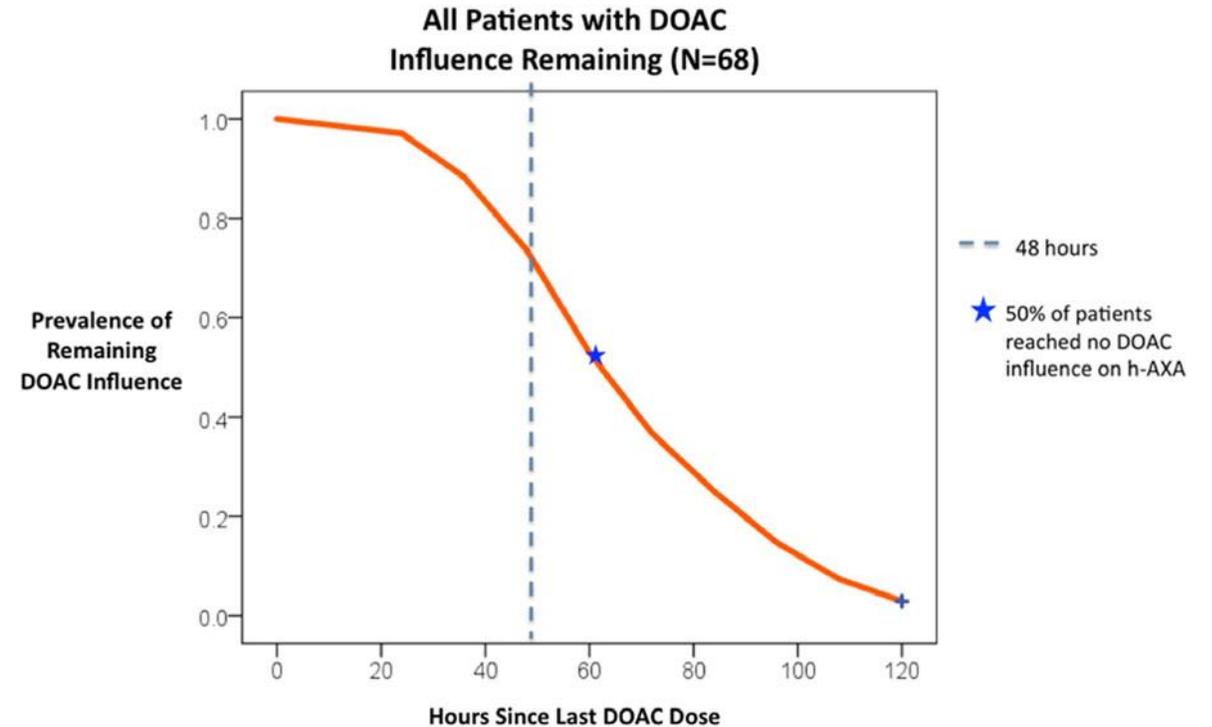
Interférence des AOD sur la mesure de l'activité anti-Xa HNF

- Surveillance de l'activité biologique de l'HNF au moins quotidienne
- Activité anti-Xa +++
- Mesure de l'activité anti-Xa non spécifique du traitement

Risque de surestimation de l'activité anti-Xa en présence d'AOD anti-Xa

Interférence significative même à des concentrations <30 ng/mL

Durée de l'interférence de plusieurs jours
→ risque de défaut d'anticoagulation



Retarder ou suspendre le traitement



- Non applicable

Utiliser des conditions/tests insensibles aux AOD



Utilisation du TCA

- ✓ Test usuel d'hémostase disponible dans tous les laboratoires
- Test sensible à la présence d'héparine
- Interférence moindre des AOD anti-Xa

- ✗ Manque de spécificité (inflammation, lupus anticoagulant...)
- Variabilité de la sensibilité à l'héparine selon le réactif

Faust et al. Am J Health-Syst Pharm 2016
Dingus et al. Ann Pharmacother 2022
May et al. Am J Clin Pathol March 2002

Mesure de l'activité anti-IIa (BIOPHEN™ anti-IIa)

- Disponible
- Pas d'interférence des AOD anti-Xa

- Mise en place nécessaire
- Surcoût
- Apport d'exogène d'antithrombine
- Non validée pour cette indication

Stuart et al. J Thromb Haemost 2020

Neutraliser *in vitro* les AOD
avant réalisation du test

Agents adsorbants

Charbon activé

DOAC-Stop™

(Haematex, Australie)

DOAC-Remove™

(5-Diagnostics,

Xenometrics, Suisse)

DOAC Stop Liquid™

(Haematex, Australie)



Filtres

DP-Filter®

(5-Diagnostics, Suisse)

DOAC Filter

(Diagnostica Stago,

France)



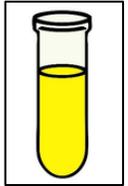
Données avec traitement du plasma par héparanase.

Données sur les systèmes de neutralisation uniquement avec DOAC-Remove.

DOAC-Remove pour le suivi biologique de l'HNF par mesure de l'activité anti-Xa

Expérience Hôpital Européen Georges Pompidou

- Patient initialement traité par apixaban ou rivaroxaban, relayé par HNF au décours d'une hospitalisation (Hôpital européen Georges Pompidou)



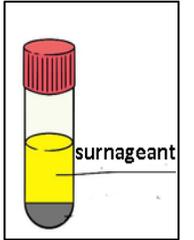
- Activité anti-Xa HNF
(Liquid anti-Xa, Diagnostica Stago)

STA R Max® (Diagnostica Stago)



- Activité anti-Xa HNF
(Liquid anti-Xa, Diagnostica Stago)

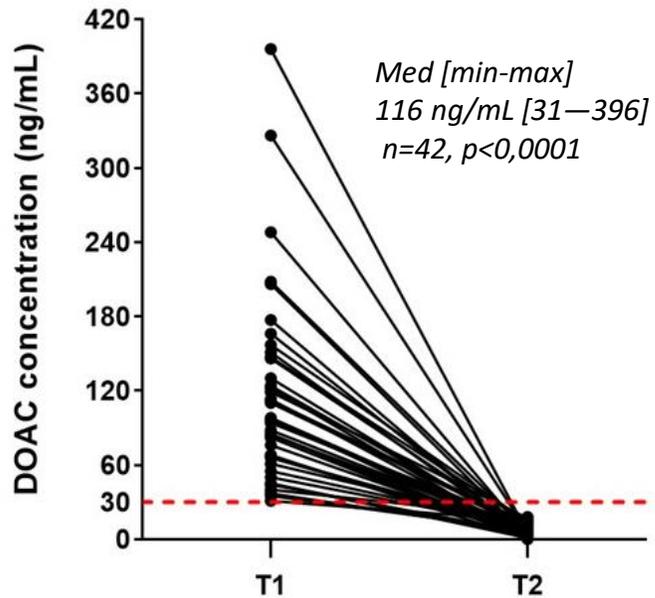
STA R Max® (Diagnostica Stago)



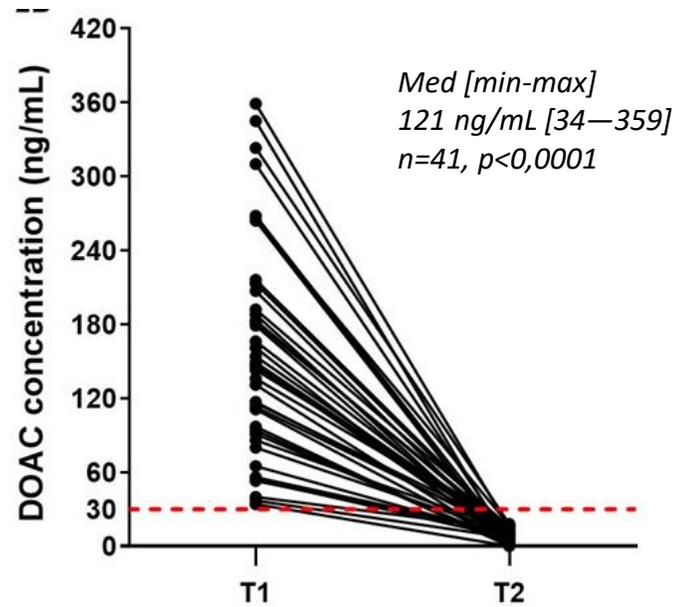
- 1) Validation de l'utilisation du DOAC-Remove dans cette indication
- 2) Evaluation de la durée d'interférence et recherche de marqueurs prédictifs

1) Etude de la neutralisation des AOD par DOAC Remove™

rivaroxaban



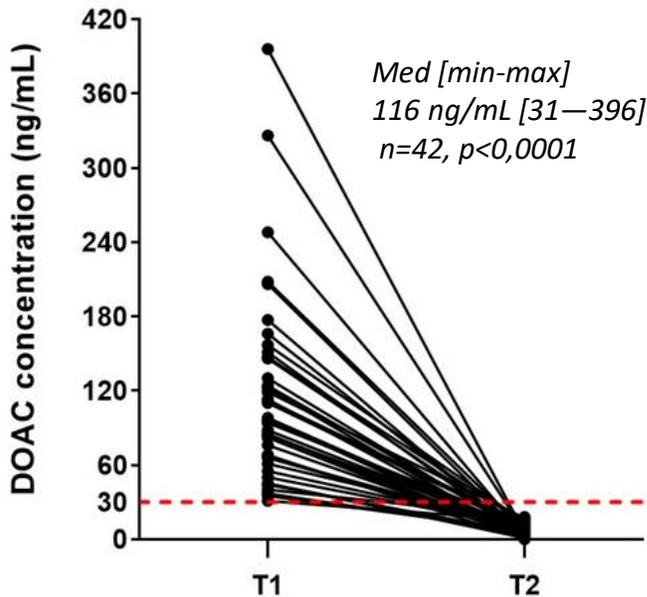
apixaban



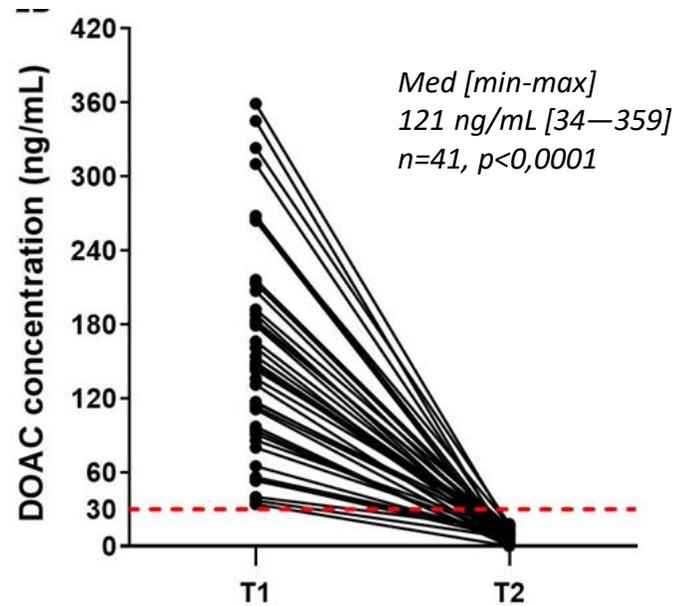
- DOAC-Remove neutralise efficacement l'apixaban et le rivaroxaban (activité anti-Xa hep <0,15 UI/mL)

1) Etude de la neutralisation des AOD par DOAC Remove™

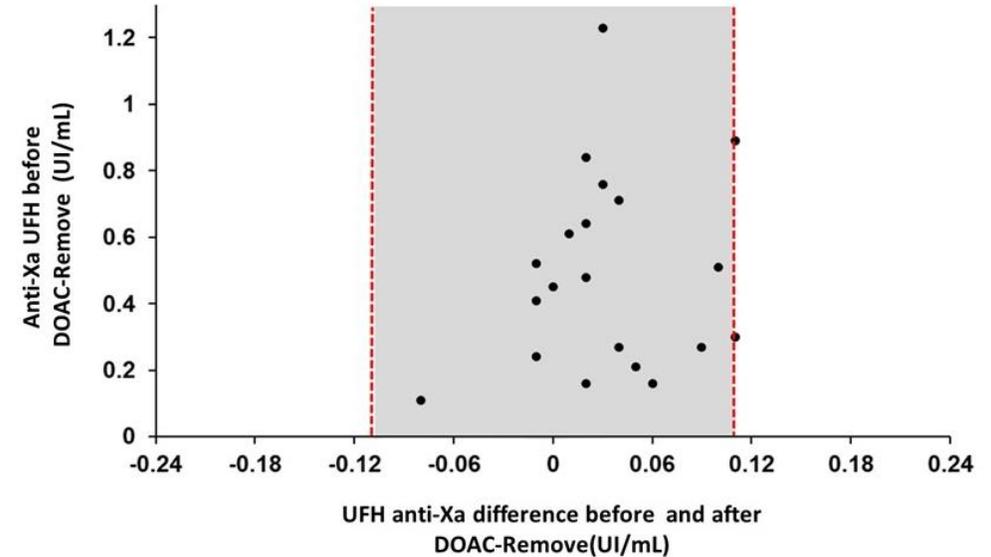
rivaroxaban



apixaban



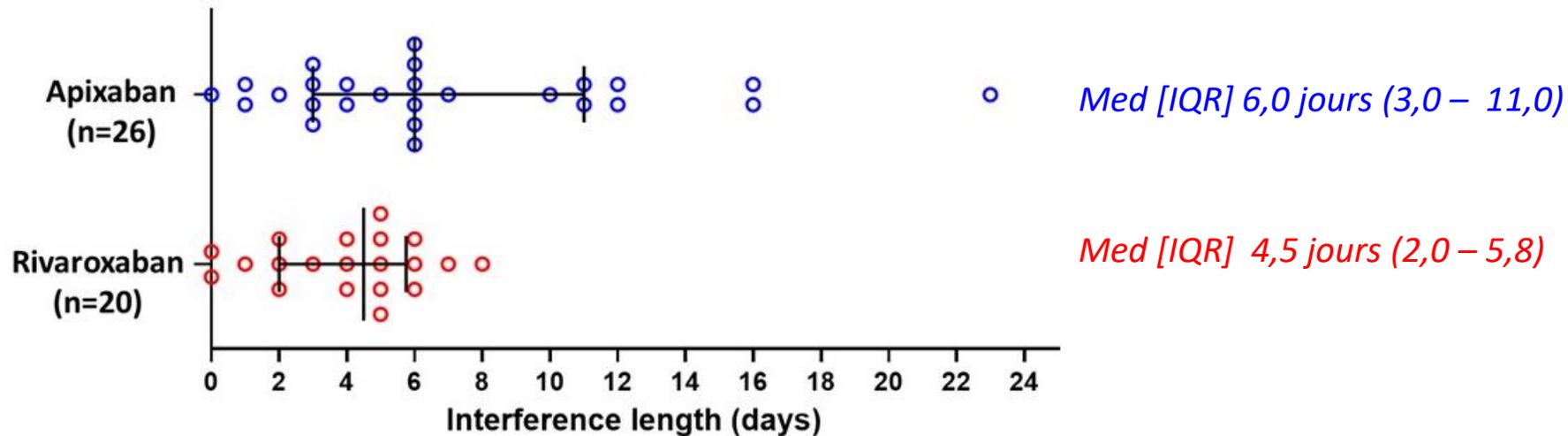
Med [IQR] avant 0,465 [0,248 – 0,693]
Med [IQR] après 0,435 [0,190 – 0,658]
p<0,005



- DOAC-Remove neutralise efficacement l'apixaban et le rivaroxaban (activité anti-Xa hep <0,15 UI/mL)
- Pas de neutralisation cliniquement significative de l'HNF par DOAC-Remove

2) Evaluation de la durée d'interférence

= nombre de jours depuis l'arrêt de l'AOD jusqu'à une différence avant/après DOAC-R < 2,8SD



- Durée d'interférence > 3 jours pour 31 (69,4%) patients
- Durée d'interférence > 5 jours plus importante avec l'apixaban (57,7% v 25,0%, p=0,0266) mais patients plus âgés et avec une moins bonne fonction rénale
- Corrélation entre la durée d'interférence et la créatininémie chez les patients traités par rivaroxaban et l'âge pour les patients traités par apixaban

- Neutralisation par DOAC Remove satisfaisante
- Durée d'interférence souvent > 3 jours
- Durée d'interférence possiblement plus longue avec l'apixaban chez les sujets âgés
- Durée d'interférence possiblement plus longue avec le rivaroxaban chez les sujets avec une créatininémie augmentée

Conduite à tenir validée dans notre laboratoire :

1. Mesure de l'activité anti-Xa HNF avant et après DOAC-R quand suspicion d'interférence par AOD ou information d'une prise récente d'AOD chez un patient relayé par HNF
2. Si différence >2,8SD : poursuite des dosages avant/après DOAC-R tant que la différence est significative

Attention, cela ne permet pas d'évaluer le risque hémorragique réel du patient
car on n'a pas d'information sur la concentration d'AOD résiduelle
→ discuter avec le clinicien l'intérêt d'un dosage d'AOD avant introduction/poursuite de l'HNF

Interférences des AOD en hémostase : que retenir ?

- **Les AOD interfèrent sur de nombreux tests d'hémostase**
- **L'interférence des AOD sur les tests d'hémostase dépend**
 - Du type d'AOD
 - De la concentration en AOD
 - Des réactifs utilisés
- **Une concentration d'AOD <30ng/mL n'exclut pas la possibilité d'interférence pour certains tests (LA, activité anti-Xa HNF)**

Une information sur le traitement en cours ou récemment arrêté par le médecin prescripteur est essentielle afin d'adapter les tests à réaliser.

Interférences des AOD en hémostase : que retenir ?

- **Les AOD interfèrent sur de nombreux tests d'hémostase**
- **L'interférence des AOD sur les tests d'hémostase dépend**
 - Du type d'AOD
 - De la concentration en AOD
 - Des réactifs utilisés
- **Une concentration d'AOD <30ng/mL n'exclut pas la possibilité d'interférence pour certains tests (LA, activité anti-Xa HNF)**

- **Un TP/TCA normal n'exclut pas la présence d'un AOD à une concentration > seuils hémostatiques**
- **Utiliser les tests dédiés pour quantifier les AOD mais :**
 - Un TT normal permet d'exclure la présence de dabigatran
 - Une activité anti-Xa héparine <0,15 UI/mL permet d'exclure la présence d'un AOD anti-Xa

Quelle attitude devant un bilan sous AOD ?

Recommandations internationales

- La réalisation et l'interprétation de tout test d'hémostase en présence d'AOD doit faire l'objet de prudence
- Les systèmes de neutralisation *in vitro* doivent faire l'objet d'une validation locale avant d'être utilisés



Gosselin RC et al. TH 2018
Doux fils J et al. TH 2021

En pratique, devant un bilan sous AOD :

1. **Vérifier l'indication** du bilan avec le prescripteur (contexte clinique du patient)
2. **Inform**er sur les tests « possibles » sous AOD (campagnes d'information auprès des prescripteurs)
→ **Adapter la prescription**

Quelle attitude devant un bilan sous AOD ?

Recommandations internationales

- La réalisation et l'interprétation de tout test d'hémostase en présence d'AOD doit faire l'objet de prudence
- Les systèmes de neutralisation *in vitro* doivent faire l'objet d'une validation locale avant d'être utilisés



Gosselin RC et al. TH 2018
Doux fils J et al. TH 2021

En pratique, devant un bilan sous AOD :

1. **Vérifier l'indication** du bilan avec le prescripteur (contexte clinique du patient)
2. **Inform**er sur les tests « possibles » sous AOD (campagnes d'information auprès des prescripteurs)
→ **Adapter la prescription**

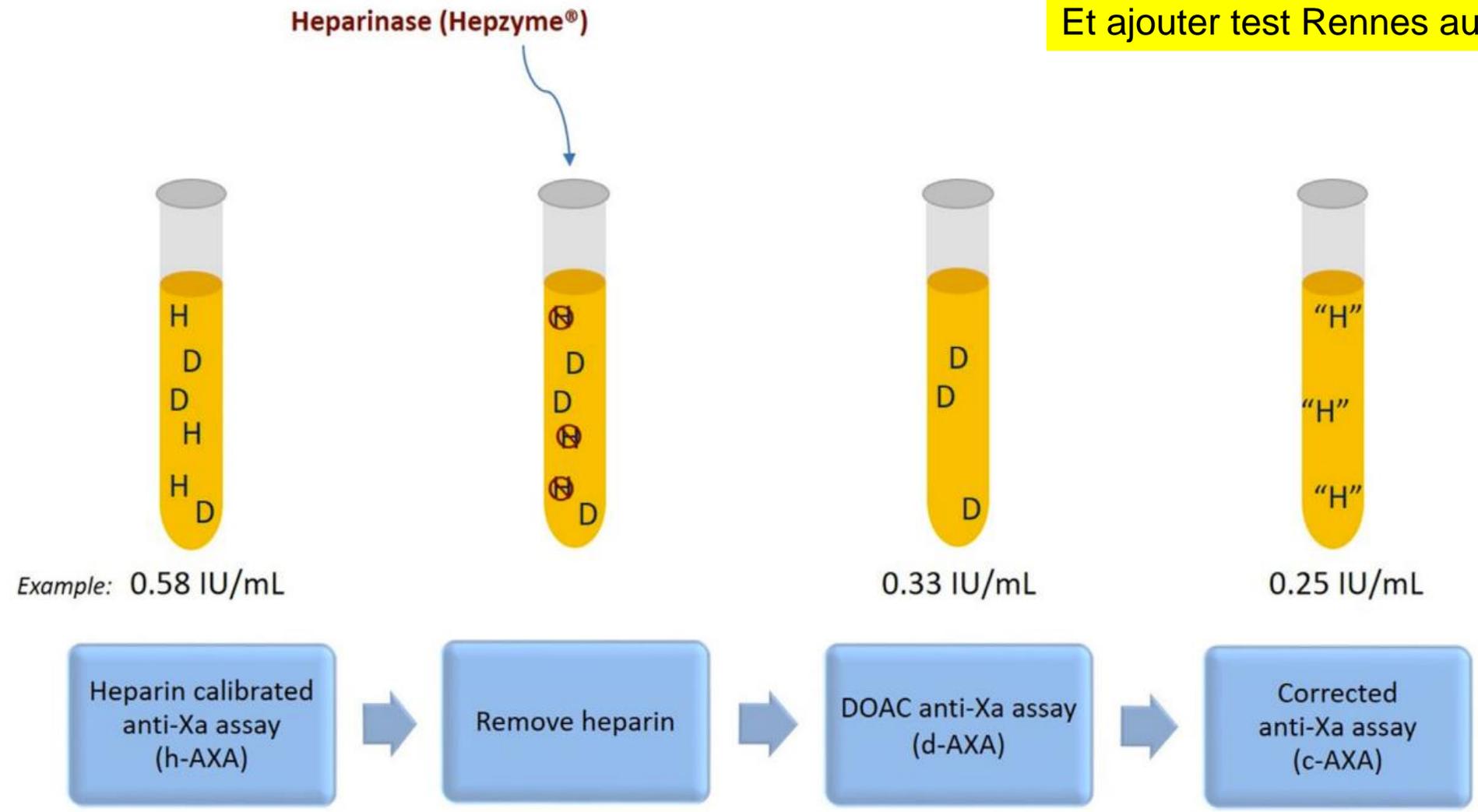
En pratique, quand suspecter la présence d'un AOD ?

1. Discordance TP/facteurs du TP-fibrinogène
 2. Activité anti-Xa >0,9 UI/mL à l'introduction d'un traitement par HNF (anti-Xa)
- Entre autres...

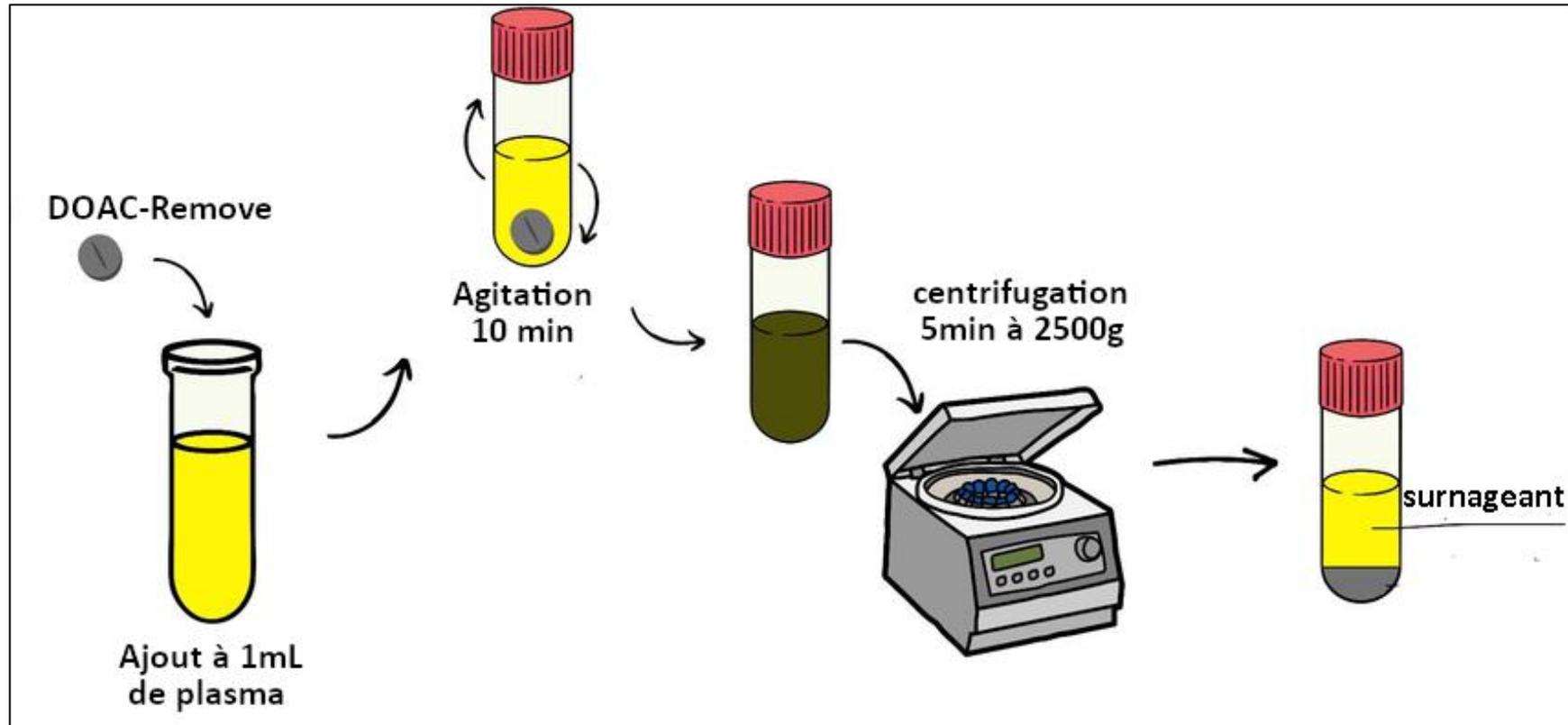
Merci pour votre attention



Et ajouter test Rennes aussi+++



Matériel et méthode : utilisation du DOAC-Remove



Réactifs STA[®]-Liquid Anti-Xa sur l'analyseur STA R (Stago, France)

Figure d'après Frackiewicz et al. Thromb J 2023

Interférence = Mesure avant – mesure après > 2,8*ET