

El laboratorio de hemostasia en la era de los anticoagulantes orales directos (DOACs)

The hemostasis laboratory in the era of direct oral anticoagulants (DOACs)

¿Cómo interfieren los anticoagulantes orales directos (DOACs) en los estudios de hemostasia?

How direct oral anticoagulants (DOACs) interfere in hemostasis tests?

Rosa, CM

Laboratorio de Hematología. Hospital Universitario Austral. Pilar

croso@cas.austral.edu.ar



CURSO
PRE-CONGRESO

HEMATOLOGÍA
Volumen 20 • Número Extraordinario
XII Congreso del Grupo CAHT: 31-36
Septiembre 2016

Palabras clave: Dabigatrán,
Rivaroxabán,
Apixabán.

Keywords: Dabigatran,
Rivaroxaban,
Apixaban.

Introducción

Los anticoagulantes orales directos (DOACs), también denominados nuevos anticoagulantes orales (NOACs), son los inhibidores directos de trombina (IIa), como por ejemplo el dabigatrán y los inhibidores directos de factor Xa como el rivaroxabán o el apixabán. Las terapias con los DOACs ofrecen ventajas sobre los antagonistas de la vitamina K (AVK) como el acenocumarol o la warfarina. En diversos estudios clínicos han demostrado ser al menos tan efectivos como los AVK, pero con una incidencia reducida de hemorragia intracraneal. Estos agentes tienen farmacodinamia y farmacocinética predecibles y una amplia ventana terapéutica, por lo que no requieren monitoreo de rutina.

Los DOACs actúan rápidamente sobre sus blancos específicos e inhiben a las serinoproteasas, tanto en las formas libres como formando parte de los complejos enzimáticos en los que participan, a diferen-

cia de la heparina que puede inhibir sólo a las proteasas libres⁽¹⁾.

Numerosos estudios han demostrado que estos agentes tienen efectos sobre las pruebas de rutina y especiales del laboratorio de Hemostasia. La magnitud del efecto depende del tiempo transcurrido entre la toma de la droga y la extracción de la muestra, la concentración de los DOACs en sangre y también de la sensibilidad de los distintos reactivos y métodos utilizados en el laboratorio.

Objetivo

El objetivo de esta presentación es hacer una revisión de las evidencias que han sido reportadas en la literatura acerca de los efectos que producen los DOACs en las pruebas de rutina y en las pruebas especiales del laboratorio de Hemostasia.

Efecto de los DOACs sobre las pruebas de rutina del laboratorio

Tiempo de trombina (TT)

El dabigatrán produce prolongación del TT. Esta determinación es extremadamente sensible a la presencia de la droga. Se prolonga aun en concentraciones menores a 30 ng/ml. Tiene una alta variabilidad y baja reproducibilidad^(2,5).

Un TT normal descarta la presencia de dabigatrán en circulación.

El rivaroxabán y el apixabán no tienen efecto en el TT^(6,7).

Tiempo de tromboplastina parcial activado (aPTT)

Con respecto al aPTT, el dabigatrán produce una prolongación dosis dependiente con una relación curvilínea hasta 200 ng/ml, lineal entre 200 y 400 ng/ml y llega a una meseta a altas concentraciones (mayores a 800 ng/ml). La respuesta es dependiente del reactivo y del método de detección utilizados en el laboratorio^(3,4). Es sensible a concentraciones mayores a 50 ng/ml. ***Un aPTT normal no descarta la presencia de dabigatrán.***

En cuanto al rivaroxabán y el apixabán tienen un efecto menor sobre el aPTT y también depende del reactivo utilizado. Para el rivaroxabán el efecto puede ser no evidenciable en dosis profilácticas. En general hay poca prolongación y midiendo en el valle más del 80% de los resultados son normales. En el caso del apixabán, aún a concentraciones terapéuticas, el aPTT se mantiene dentro del rango de referencia y la correlación es no lineal, sino amesetada⁽⁶⁾.

En los estudios de mezcla el dabigatrán no corrige o muestra corrección incompleta con plasma normal y para el rivaroxabán en general la corrección es parcial o completa, dependiendo de su concentración en plasma.

Tiempo de protrombina (TP)

En lo que concierne al TP, el dabigatrán produce una alteración de la prueba en menor grado, dependiendo de la concentración de la droga, en una relación no lineal, con una baja sensibilidad a bajas concentraciones y también en el rango terapéutico. La respuesta es dependiente del reactivo y del método de detección utilizados⁽⁴⁾.

En el caso del rivaroxabán y el apixabán, ambos producen prolongación del TP (disminución del porcentaje de actividad del TP).

En presencia de rivaroxabán se encuentra una relación lineal del TP con la concentración de la droga, si bien las tromboplastinas de distintos orígenes y marcas comerciales tienen distinta sensibilidad⁽⁸⁾. La mayoría de los reactivos prolongan los tiempos si la toma de muestra es realizada en el pico (T max), pero si es en el valle (T min) hay reactivos que presentan una alta frecuencia de resultados normales de TP. Sin embargo el TP medido en plasmas de pacientes tratados con rivaroxabán no correlacionó bien con el método de HPLC y tiene una alta variación interindividual. Por lo tanto ***el TP no sirve para estimar las concentraciones de rivaroxabán.***

En el caso del apixabán la correlación también es lineal y tiene una baja sensibilidad dependiente del reactivo, siendo menor la sensibilidad a bajas dosis. ***El TP puede ser normal en presencia de apixabán en bajas concentraciones con reactivos sensibles y aún a concentraciones terapéuticas cuando se utilizan reactivos poco sensibles.***

Se recomienda no informar la razón internacional normatizada (RIN) en pacientes anticoagulados con rivaroxabán o apixabán, ya que los índices de sensibilidad internacional (ISI) de las tromboplastinas fueron obtenidos por los fabricantes en poblaciones de pacientes tratados con anticoagulantes AVK y ha sido demostrado que son completamente diferentes a los hallados recalibrando las tromboplastinas para estos DOACs.

En los estudios de mezclas ambos DOACs pueden mostrar una corrección incompleta.

Dosaje de fibrinógeno (FBG)

El dabigatrán puede dar resultados falsamente disminuidos en el dosaje de FBG si se utiliza el método de Clauss con una trombina de concentración menor a 80 UI/ml. Se observó que, en caso de acumulación de la droga en una concentración mayor a 500 ng/ml, puede haber una disminución importante del dosaje de FBG, aún con reactivos que utilizan trombina de 100 UI/ml. En el caso de utilizar reactivos con 40 UI/ml de trombina, la subestimación en el resultado puede ser aún mayor con concentraciones menores de la droga en sangre. La sensibilidad de cada ensayo es altamente variable, dependiendo de la concentración de trombina y de la dilución del plasma^(2,5).

El FBG por el método de Clauss no es afectado por la presencia de rivaroxabán ni apixabán⁽⁶⁾. En cam-

bio el FBG derivado del TP puede estar disminuido dependiendo del reactivo utilizado en algunas situaciones.

Reptilasa

El tiempo de reptilasa no está afectado por el dabigatrán y puede ser usado para descartar su presencia ante un dosaje de FBG disminuido que altere el TT. El rivaroxabán y el apixabán no afectan la prueba⁽⁹⁾.

Efectos de los DOACs sobre las pruebas globales

Tiempo de generación de trombina (TGT)

El dabigatrán prolonga el tiempo de latencia (*lag time*) y reduce el potencial endógeno de trombina (ETP)⁽⁴⁾.

El rivaroxabán produce un *lag time* prolongado y reduce el ETP⁽⁶⁾.

El apixabán no afecta demasiado el *lag time* ni el ETP, dependiendo de los reactivos utilizados, pero disminuye el *peak*^(6,7).

Tromboelastografía

El dabigatrán prolonga los parámetros R y k con una amplitud normal.

El rivaroxabán y apixabán no afectan significativamente los parámetros de esta prueba a concentraciones terapéuticas.

Efecto de los DOACs sobre el dosaje de factores de la coagulación

En lo que respecta al efecto del dabigatrán sobre el dosaje de los factores de la coagulación se ha observado que se pueden obtener resultados falsamente disminuidos y se sugiere que hay que dosarlos en al menos tres diluciones para detectar el efecto inhibitorio no específico⁽⁹⁾.

En presencia de rivaroxabán y de apixabán, también se pueden encontrar resultados falsamente disminuidos de los factores de la coagulación, dependiendo de la concentración de la droga y de los reactivos utilizados. También se sugiere dosarlos en al menos tres diluciones para detectar el efecto inhibitorio no específico^(6,7).

Dosaje de factor XIII

En pacientes recibiendo dabigatrán el dosaje de factor XIII puede ser subestimado cuando es medido utilizando sustratos cromogénicos, simplemente porque el factor XIII es activado por trombina⁽¹⁰⁾.

Dosaje de factor VIII por método cromogénico

En pacientes con dabigatrán no hay efecto.

En pacientes con rivaroxabán o apixabán se puede producir una falsa disminución de la actividad debido a que en la reacción se mide la formación de factor Xa a través de un sustrato cromogénico específico⁽¹¹⁾.

Efecto de los DOACs sobre las pruebas especiales de hemostasia

Anticoagulante lúpico

Si analizamos el efecto del dabigatrán sobre las pruebas utilizadas para chequeo de anticoagulante lúpico (AL), en lo que respecta al tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (dRVVT), se observa que las razones de los tiempos de la prueba dRVVT *Screen* y dRVVT *Confirm* resultan falsamente positivas por la presencia de la droga en el plasma del paciente⁽⁵⁾. La persistencia de pruebas confirmatorias prolongadas puede ayudar a la discriminación de los resultados falsos positivos⁽¹²⁾. No obstante, debido a la interferencia que produce la presencia de esta droga podemos informar resultados falsamente positivos para AL. Actualmente la recomendación es que no se debe evaluar AL en pacientes que reciben dabigatrán y que debemos realizar un TT para descartar la posible presencia de esta droga en la muestra.

En lo que respecta a la presencia de rivaroxabán y apixabán, también puede provocar resultados falsamente positivos en las pruebas de dRVVT y tiene menos efecto sobre las pruebas de chequeo Silica Clotting Time (SCT) o Staclot LA.

En conclusión, teniendo en cuenta las evidencias, ***no se debe investigar la presencia de AL en pacientes que reciben DOACs***, porque podemos obtener resultados falsos positivos o no concluyentes.

Estudios de trombofilia

En cuanto a las pruebas que evalúan estados de trombofilia existen evidencias de la interferencia tanto del dabigatrán, rivaroxabán y apixabán sobre las determinaciones de antitrombina (AT), proteína C (PC), proteína S (PS) y resistencia a la proteína C activada (RPCa).

Dosaje de AT

En presencia de dabigatrán existe el riesgo de obtener un resultado falsamente normal en un paciente con deficiencia de AT si se usa un método basado en la inhibición de trombina (IIa)⁽⁵⁾. En presencia de rivaroxabán o apixabán va a estar falsamente aumen-

tada cuando se utilice un test basado en la inhibición de factor Xa^(6,7).

Dosaje de PC y PS

En presencia de dabigatrán, rivaroxabán o apixabán existe el riesgo de obtener un resultado falsamente normal en un paciente con deficiencia de PC o PS si se usa una técnica funcional coagulante⁽⁵⁻⁷⁾. En los ensayos cromogénicos no hay efecto de los DOACs⁽⁶⁾.

Los DOACs no interfieren en el dosaje de PS libre realizado por el método inmunoturbidimétrico⁽⁶⁾.

Resistencia a la proteína C activada

En presencia de dabigatrán o rivaroxabán en la muestra podría obtenerse un resultado falsamente normal de esta prueba en un paciente con factor V de Leiden, utilizando un método basado en el aPTT con agregado de plasma deficiente en factor V, produciendo una falsa elevación de la razón o ratio.

En presencia de apixabán la razón puede ser sobrestimada ligeramente en concentraciones mayores a 447 ng/ml⁽⁷⁾.

Detección de inhibidor de factor VIII

Se ha evidenciado que en muestras con altas concentraciones de dabigatrán existe el riesgo de obtener un resultado falsamente positivo en la prueba de Bethesda o Nijmegen⁽⁵⁾. La recomendación es realizar siempre un TT para descartar la presencia de esta droga en la muestra.

También está descrito en la bibliografía que puede aparecer un falso inhibidor en presencia de rivaroxabán o apixabán.

Otras pruebas no afectadas por los DOACs

Es importante mencionar que tanto las pruebas para *dosaje de factor de von Willebrand* inmunológicas y las que determinan su actividad, así como las pruebas que evalúan *función plaquetaria*, como la agregación plaquetaria por transmisión de luz (LTA), por impedancia (Multiplate), liberación de ADP y PFA no se ven afectadas por la presencia de los DOACs.

Discusión

Por todo lo expuesto anteriormente es importante tener en cuenta que para validar un resultado en un paciente anticoagulado con DOACs debemos conocer qué droga recibe y debemos conocer los nombres comerciales: para el dabigatrán es Pradaxa®, para el rivaroxabán es Xarelto® y para el apixabán es Elikvis®.

En caso de desconocer cuál es la droga que recibe el paciente podemos hacer un TT para detectar la presencia de dabigatrán o una actividad anti-Xa para detectar la presencia de rivaroxabán o apixabán.

Es importante conocer el horario en que recibió la última dosis, si la toma de la muestra fue en el pico (T máx) o en el valle (T mín). Es importante conocer la sensibilidad del reactivo y del método a la presencia de los DOACs y sospechar de la posible interferencia de los mismos en la pruebas del laboratorio de Hemostasia.

Por lo tanto es importante que ante un resultado de un coagulograma alterado en un paciente sin antecedentes, se debe pensar siempre en la posibilidad de que pueda estar anticoagulado con DOACs e interrogar al paciente antes de validar los resultados.

A modo de ejemplo se desarrollan dos casos clínicos.

Caso clínico 1

Paciente de 64 años de edad, sexo masculino, con antecedentes de fibrilación auricular (FA) no valvular de reciente diagnóstico, que se presenta en el sector ambulatorio para un control de rutina, obteniéndose los siguientes resultados:

TP: 85% (V. ref: 70 - 100%)

aPTT: 52 seg (V. ref: 22 - 37 seg)

Fib: 200 mg/dl (V. ref: 200 - 400 mg/dl)

Se revisa la historia clínica del paciente y no se encuentra información acerca de la medicación que recibe el paciente, ya que el mismo se atiende con un médico cardiólogo de otra institución. Se consulta en los registros del sector preanalítico (planillas de extracciones) para chequear si la técnica extraccionista que realizó la toma de muestra había recabado información extra acerca de algún tratamiento anticoagulante que recibía el paciente, pero no hay datos registrados.

Se realiza un estudio de mezcla al aPTT.

aPTT P+N: 48 seg / aPTT del plasma normal: 28 seg.

El aPTT no corrige con el agregado de plasma normal.

Se realiza un tiempo de trombina, sospechando la posible presencia de un DOACs teniendo en cuenta la patología de base del paciente.

Se obtiene el siguiente resultado:

TT: 220 seg. (V. ref: 10 - 18 seg)

El TT muy prolongado nos hace pensar en la posible presencia de dabigatrán. Se confirmó telefóni-

camente que el paciente estaba tomando Pradaxa® desde hacía una semana. De esta forma se valida el resultado, ya que el aPTT prolongado es causado por el dabigatrán. Se informa en observaciones: paciente anticoagulado con dabigatrán.

Caso clínico 2

Paciente de 70 años, sexo femenino que ingresa por el sector de Urgencias con un cuadro de melena. Cuando los médicos emergentólogos interrogan a la paciente, la misma refiere que estaba tomando “anticoagulantes caros” por vía oral. Se constata que la paciente recibía Xarelto® por una trombosis venosa profunda que había sufrido en una pierna.

Se envían muestras al laboratorio arrojando los siguientes resultados:

TP: 45% (V. ref: 70-100%)

aPTT: 36 seg (V. ref: 22-37 seg)

Fib: 350 mg/dl (V. ref: 200 - 400 mg/dl)

TT: 15 seg (V. ref: 10 - 18 seg)

El laboratorio consulta a los médicos por el dato del horario de la última toma de la droga y en el interrogatorio la paciente refiere que lo había dejado de tomar desde el día anterior porque se había olvidado. Los médicos preguntan si hay alguna forma de detectar la presencia del rivaroxabán en circulación. Como no contamos en nuestro laboratorio con la curva calibrada con rivaroxabán, sugerimos medir la actividad anti-Xa utilizando la curva para los dosajes de heparina de bajo peso molecular (HBPM). En este caso si el anti-Xa nos diera cero podríamos decir que no hay actividad de la droga en circulación.

Anti-Xa: 0,70 UI/ml. (curva realizada con calibradores de HBPM)

Con este resultado concluimos que hay actividad del anticoagulante pero no podemos determinar la cantidad, ya que la curva no está realizada utilizando calibradores de rivaroxabán. En este punto se decide investigar la función renal de la paciente, que resultó estar alterada. Por lo tanto se interpretó que la falla renal provocó una acumulación del anticoagulante en circulación que fue responsable del sangrado gastrointestinal de la paciente. Nótese que habiendo suspendido el día previo la toma del mismo aún seguía teniendo actividad de la droga en sangre, que en primera instancia se evidenció en el laboratorio por la alteración del TP.

Es importante destacar que para dosar la cantidad

de rivaroxabán hay que utilizar una curva realizada con los calibradores de rivaroxabán y expresar el resultado obtenido en ng/ml. Con la curva que se utiliza para los dosajes de heparina se puede detectar actividad anti-Xa pero no se puede cuantificar.

Estos casos descriptos sirven para ejemplificar los efectos de los DOACs sobre las pruebas de laboratorio de rutina.

Declaración de conflictos de interés:

El autor declara que no posee conflictos de interés

Bibliografía

1. Adcock DM, Gosselin R. Direct Oral Anticoagulants (DOACs) in the Laboratory: 2015 Review. *Thromb Res.* 2015;136:7-12.
2. Dager W, Gosselin R, Kitchen S et al. Dabigatrán Effects on the International Normalized Ratio, Activated Partial Thromboplastin Time, Thrombin Time, and Fibrinogen: A Multicenter, In Vitro Study. *Ann Pharmacother.* 2012;46:1627-1636.
3. Harenberg J, Giese C, Marx S et al. Determination of dabigatrán in human plasma samples. *Semin Thromb Hemost.* 2012;38(1):16-22.
4. Douxfils J, Mullier F, Robert S et al. Impact of dabigatrán on a large panel of routine or specific coagulation assays. *Thromb Haemost.* 2012;107:985-997.
5. Bonar R, Favalaro E, Mohammed S et al. The effect of dabigatrán on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples. *Pathology.* 2015;47(4):355-364.
6. Bonar R, Favalaro E, Mohammed S et al. The effect of the direct factor Xa inhibitors apixabán and rivaroxabán on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples. *Pathology.* 2016;48(1) 60-71.
7. Douxfils J, Chatelain C, Chatelain B et al. Impact of apixabán on routine and specific coagulation assays: a practical laboratory guide. *Thromb Haemost.* 2013;110:283-294.
8. Francart SJ, Hawes EM, Deal AM et al. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of rivaroxabán. A cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels. *Thromb Haemost.* 2014 Jun;111(6):1133-40.

9. Eby C. Novel anticoagulants and laboratory testing. *Int Jnl Lab Hem.* 2013; 35:262-268.
10. Tripodi. The laboratory and the direct oral anticoagulants. *Blood.* 2013;121: 4032-4035.
11. Gosselin RC, Adcock DM. The laboratory's 2015 perspective on direct oral anticoagulant testing. *J Thromb Haemost.* 2016;14:886-893.
12. Martinuzzo ME, Barrera LH, D'Adamo MA et al. Frequent False-positive results of lupus anticoagulant tests in plasmas of patients receiving the new oral anticoagulants and enoxaparin. *Int Jnl Lab Hem.* 2014;36:144-150.
13. Baglin T, Keeling D, Kitchen S. Effects on routine coagulation screens and assessment of anticoagulant intensity in patients taking oral dabigatrán or rivaroxabán: Guidance from the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2012;159:427-429.
14. Helin TA, Pakkanen A, Lassila R et al. Laboratory Assessment of Novel Oral Anticoagulants: Method Suitability and Variability between Coagulation Laboratories. *Clin Chem.* 2013;59(5):807-814.
15. Tripodi. The laboratory and the New Oral Anticoagulants. *Clin Chem.* 2013;59(2):353-362.
16. Favaloro E, Lippi G. Laboratory Testing in the Era of Direct or Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants: A Practical Guide to Measuring Their Activity and Avoiding Diagnostic Errors. *Semin Thromb Hemost.* 2015;41:208-227.
17. Van Blerk M, Bailleul E, Chatelain B et al. Influence of dabigatrán and rivaroxabán on routine coagulation assays. *Thromb Haemost.* 2015;113:154-164.
18. Wong WH, Yip C, Sum C et al. A Practical Guide to Ordering and Interpreting Coagulation Test for Patients on Direct Oral Anticoagulants in Singapore. *Ann Acad Singapore.* 2016;45:98-105.
19. Gosselin RC, Adcock DM. Letter to the Editor. Comment: Analysis of the influence of dabigatrán on coagulation factors and inhibitors. *Int Jnl Lab Hem.* 2016;38:e4.
20. Tsutsumi Y. Letter to the Editor. Response to comment on Analysis of the influence of dabigatrán on coagulation factors and inhibitors. *Int Jnl Lab Hem.* 2016;38:e8-e9.