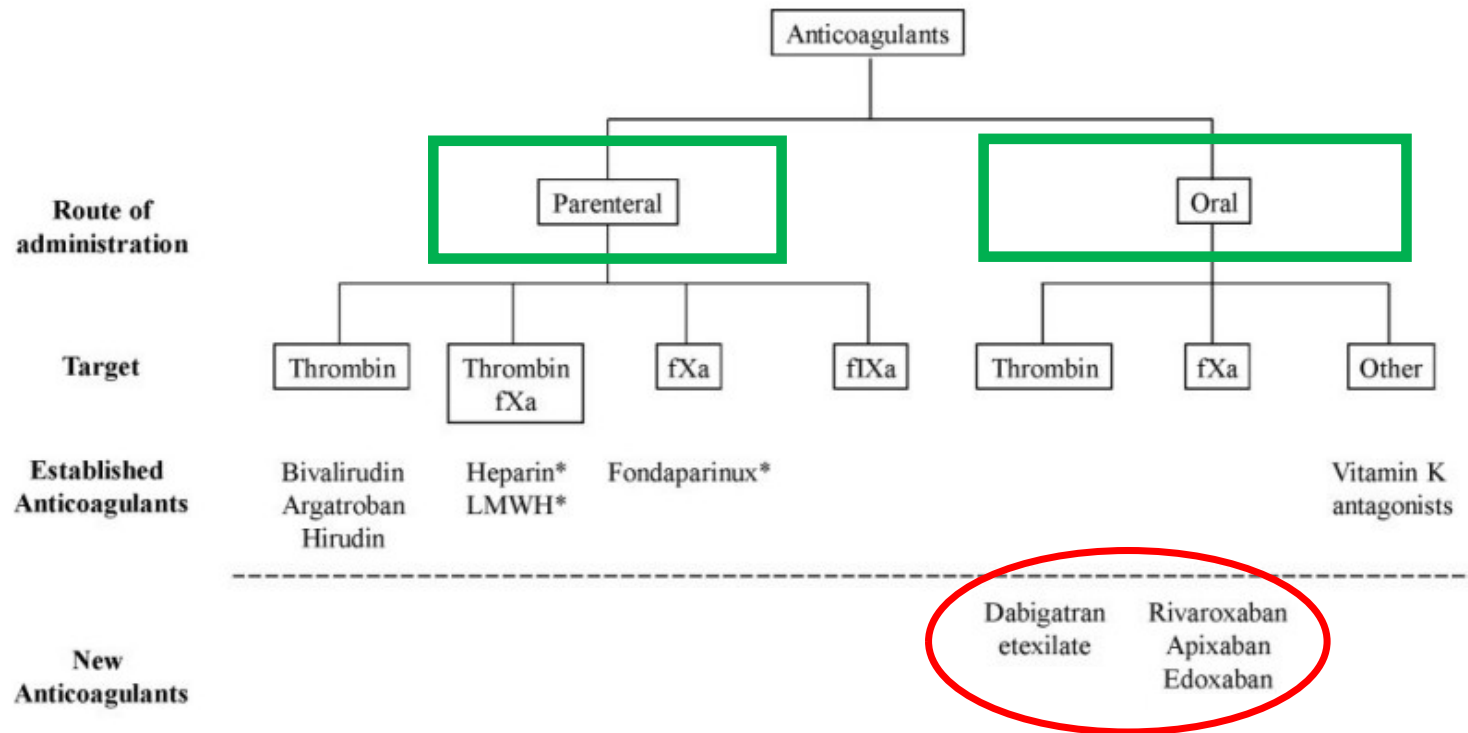


“Oltre i numeri: un nuovo approccio alla medicina in laboratorio”
***Dalla richiesta alla refertazione dei
farmaci anticoagulanti orali diretti
(DOAC)***

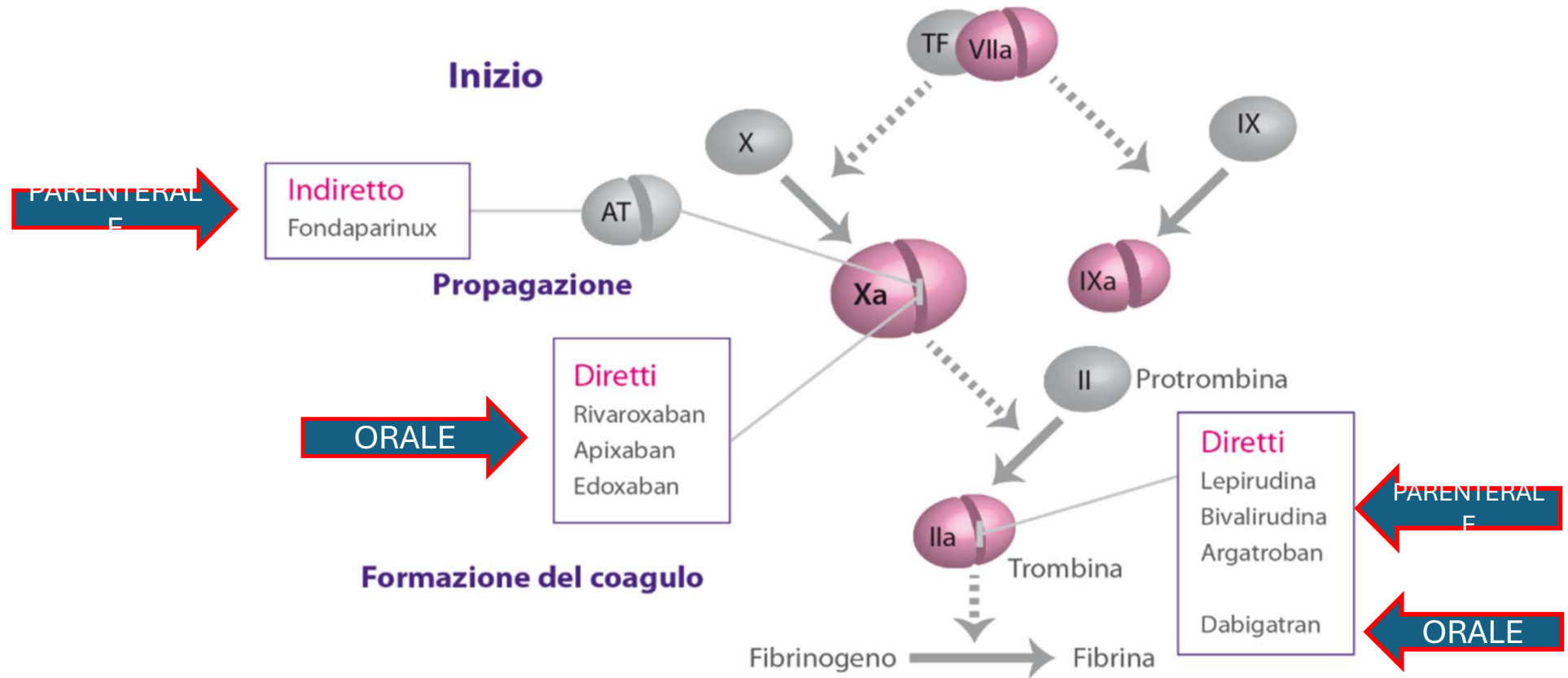


Elisabetta Fontanini
15 novembre 2025

I farmaci anticoagulanti



SITO D'AZIONE DEI PRINCIPALI FARMACI ANTICOAGULANTI ORALI DIRETTI, INIBITORI DELLA TROMBINA O DEL FXa, E DEL FONDAPARINUX, INIBITORE INDIRETTO DEL FXa.



I bersagli delle molecole appartenenti agli anticoagulanti orali diretti (DOAC) sono due punti importanti della cascata coagulativa.

MECCANISMO D'AZIONE DEGLI INIBITORI DIRETTI ED INDIRETTI DEL FATTORE Xa

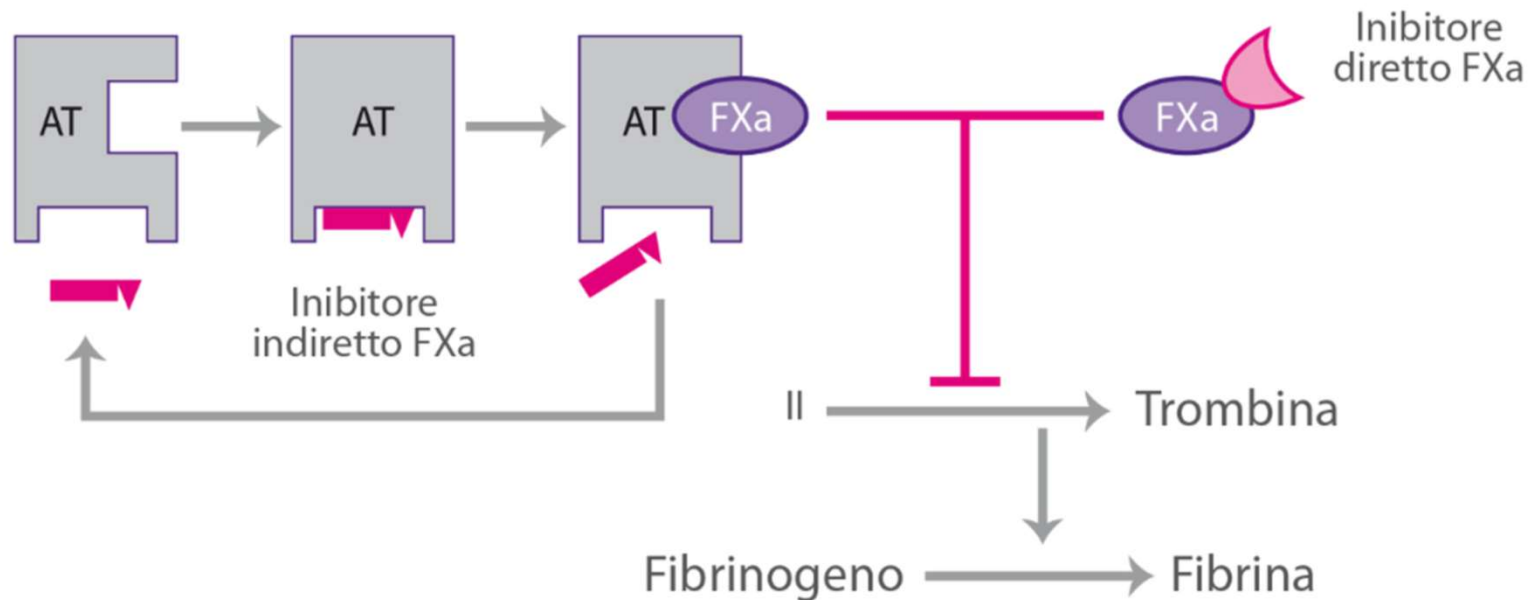
Xa

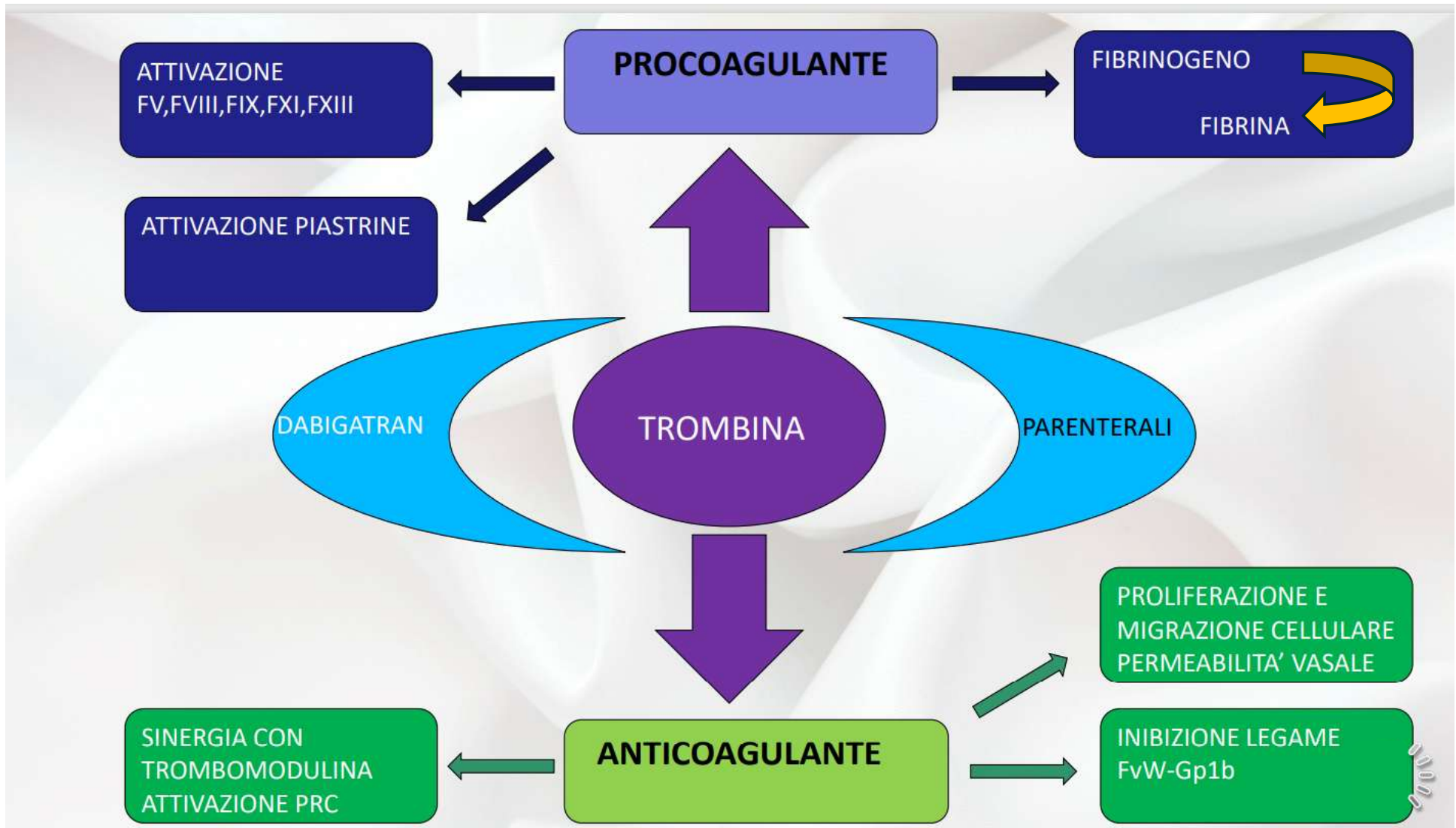
Indiretti

Si legano ad AT e ne potenziano l'attività verso il FXa (es. fondaparinux, eparine)

Diretti

Si legano direttamente al sito attivo del FXa, bloccando l'interazione con il substrato (es. rivaroxaban, apixaban, edoxaban)



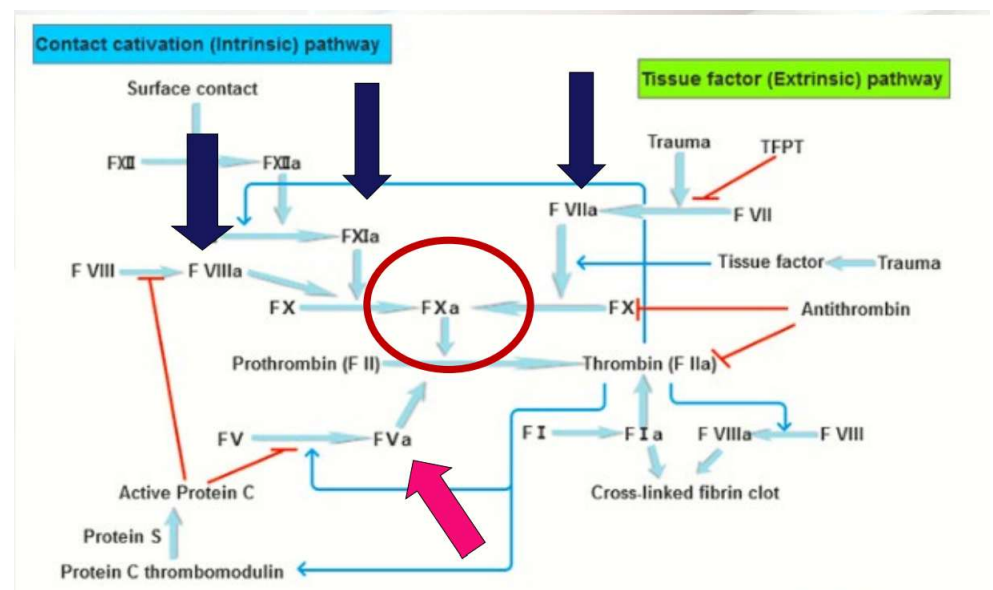


Il FX è una glicoproteina e costituisce lo zimogeno della serin-proteasi FXa.

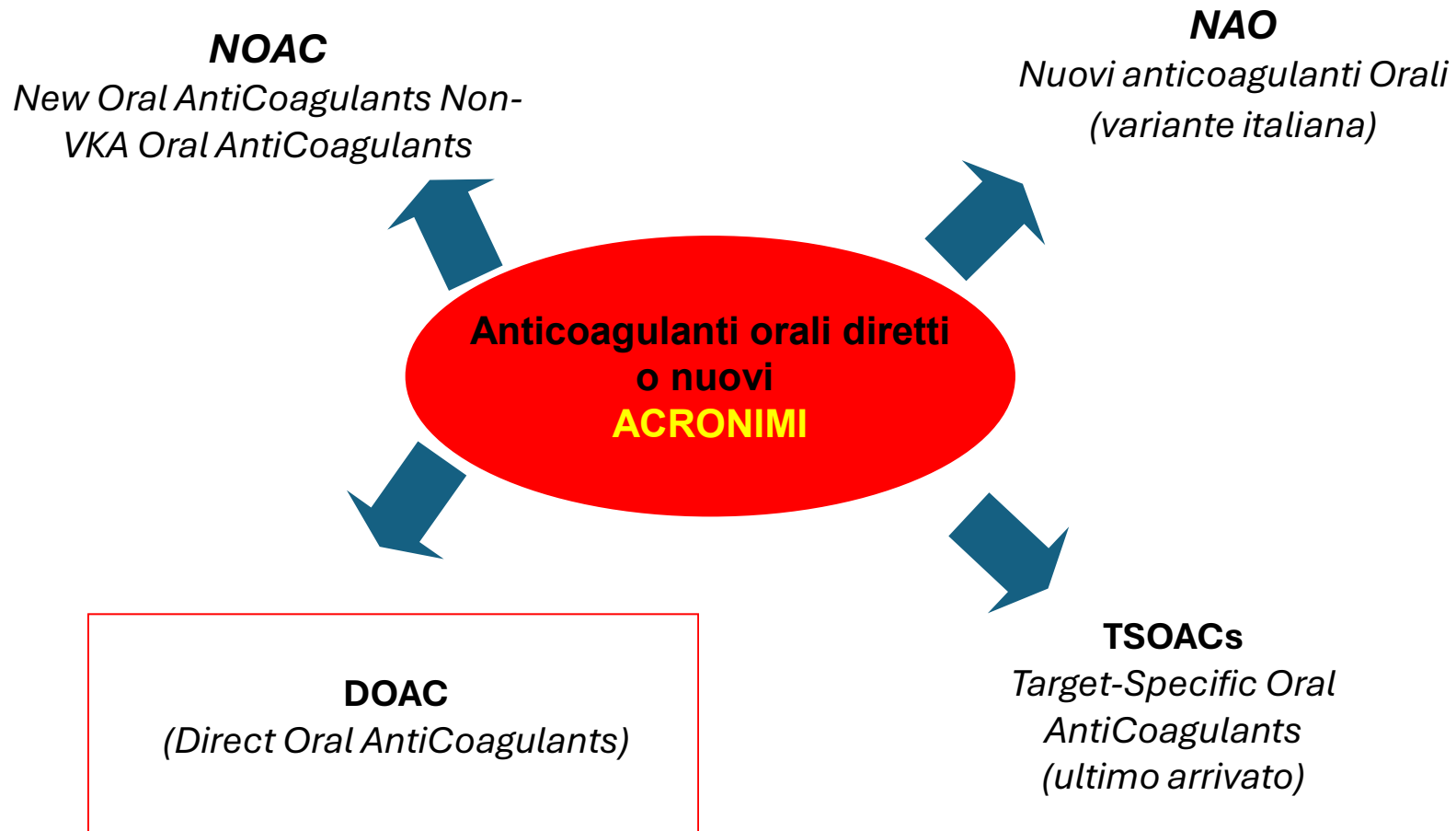
L'attivazione del FX avviene per intervento di FXIa, FVIIIa, VIIa in presenza di ioni Calcio e fosfolipidi.

Costituisce il punto di congiunzione della via estrinseca ed intrinseca con la via comune.

Il FXa lega il FVa formando il complesso protrombinasi che svolge azione su protrombina.



Un po' di acronimi....giusto per confondere le idee....



DOAC – SSC/ISTH

*Scientific and Standardization Committee of
International Society of Thrombosis and Haemostasis*

RECOMMENDATIONS AND GUIDELINES

Recommendation on the nomenclature for oral anticoagulants: communication from the SSC of the ISTH

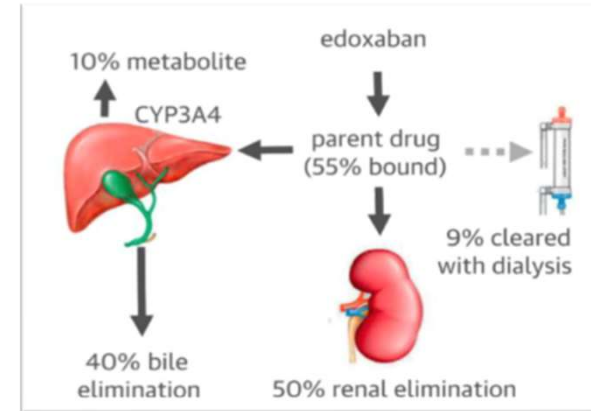
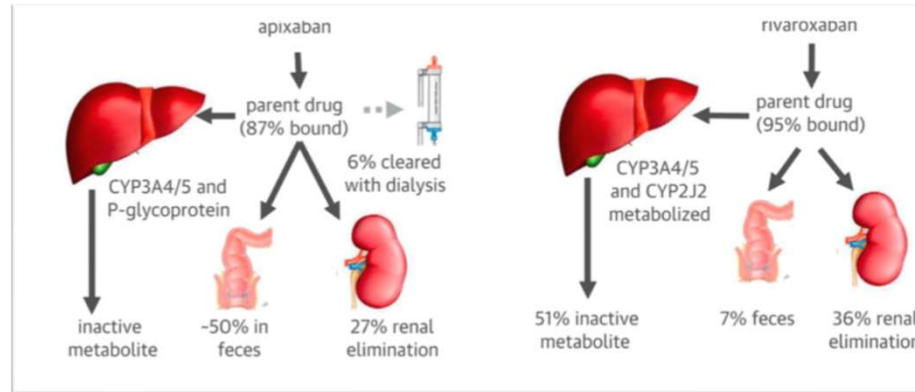
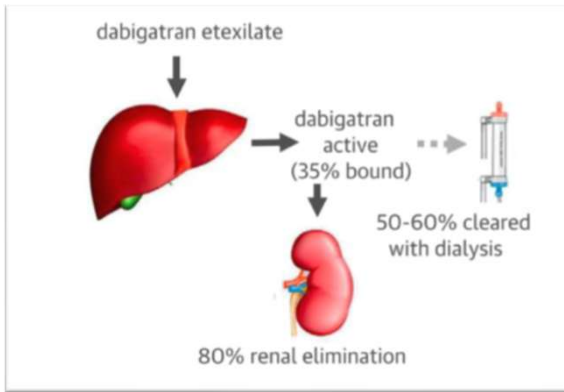
G. D. BARNES,* W. AGENO,† J. ANSELL‡ and S. KAATZ,§ FOR THE SUBCOMMITTEE ON THE
CONTROL OF ANTICOAGULATION

*Frankel Cardiovascular Center and Institute for Healthcare Policy and Innovation, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA; †Division of
Internal Medicine, University of Insubria, Varese, Italy; ‡Department of Internal Medicine, Lenox Hill Hospital, New York, NY; and §Hurley
Medical Center, Michigan State University, Flint, MI, USA

Recommendation statement for the use of DOAC

- 1 We suggest using the term **'direct oral anticoagulant'** (DOAC) to reference the class of oral anticoagulants that directly inhibit a single target and have similar clinical properties (e.g. dabigatran, rivaroxaban, apixaban, edoxaban, and betrixaban).
- 2 We suggest that a drug's specific mechanism of action (e.g. direct FXa inhibitor or direct thrombin inhibitor) should be used when it is clinically important to distinguish between the various DOAC medications.
- 3 We suggest that the abbreviation **NOAC** should not be used to describe any class of oral anticoagulant.

Caratteristiche generali dei DOAC



Zaman and Bhandari, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 2019

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
Mechanism of action	Direct, reversible inhibitor of free and clot-bound thrombin	Direct, reversible inhibitors of free and prothrombinase bound factor Xa		
Bioavailability	3-7%	80-100%	50%	62%
Protein binding	35%	92-95%	87%	55%
Primary clearance	80% renal	36% renal	56% faecal	50% renal
Tmax	1.5-3 h	2-3 h	3-4 h	1-2 h
Half-life ^a	12-14 h	5-13 h	12 h	10-14 h

Gosselin R et al, *Thromb Haemost* 2018

ANTICOAGULANT THERAPY: CLINICAL INDICATIONS

CLINICAL INDICATION	Heparin/LMWH	AVK	DOACs
VTE prophylaxis	YES	YES	ELECTIVE MAJOR ORTHOPEDIC SURGERY (Hip and Knee)
Venous Thromboembolism Therapy	YES	YES	YES (no APA Syndrome, study interrupted for increased complications in DOAC treated patients)
Non Valvular Atrial Fibrillation	NO	YES	YES
Dilatative Cardiomyopathy	-	YES	NO
Valvulopathy	-	YES	NO
Prosthetic Heart Valves (biological and mechanical)	Pregnancy	YES	NO (studied interrupted for increased complications in DOAC treated patients)
Dilatative Cardiomyopathy	-	YES	NO
Valvulopathy	-	YES	NO
Prosthetic Heart Valves (biological and mechanical)	Pregnancy	YES	NO (studied interrupted for increased complications in DOAC treated patients)
ACS PAD	YES	NO	<u>Rivaroxaban and Studies ongoing</u>

FARMACI

UH

AVK

UH/LMWH

DOAC

Table. Major Advances in the Treatment of Venous Thromboembolism

1960s	<p>Barritt and Jordan demonstrate that anticoagulant therapy reduces death and recurrent venous thromboembolism in patients with pulmonary embolism</p> <p>The Mobin-Uddin umbrella is introduced</p>
1970s	<p>Recurrent venous thromboembolism is found to occur more often in patients who have subtherapeutic activated partial thromboplastin times within the first 24 hours of treatment</p> <p>The Kimray-Greenfield filter is introduced</p> <p>Low-molecular-weight heparin is discovered</p>
1980s	<p>Lower-intensity oral anticoagulation is shown to be as effective as but safer than high-intensity regimens</p> <p>The international normalized ratio is introduced for oral anticoagulant monitoring</p>
1990s	<p>4 to 5 days of initial heparin therapy is found to be as effective as 10 days</p> <p>The combination of initial heparin therapy and oral anticoagulation is demonstrated to be more effective than oral anticoagulation alone in deep venous thrombosis</p> <p>Low-molecular-weight heparin is found to be as effective as intravenous unfractionated heparin in deep venous thrombosis and pulmonary embolism</p> <p>Outpatient treatment with low-molecular-weight heparin is shown to be safe and effective</p> <p>It is recognized that patients with idiopathic venous thromboembolism are at higher risk for recurrence than those with thrombosis secondary to transient risk factors</p> <p>A randomized trial demonstrates that inferior vena caval filters increase the long-term risk for recurrent venous thrombosis and do not reduce long-term mortality rates in patients who receive 3 months of anticoagulant therapy</p>
2000	<p>Designer anticoagulants are compared with established anticoagulants</p>

TEST DI LABORATORIO

aPTT

PT-INR

Anti-Xa

dTT-antiXa

Punti di discussione

•

Perché parlare di laboratorio?

Quando misurare i DOAC?

Come misurare i DOAC?

Metodi consolidati per i Gatrani e per
gli Xabani

Come interpretare i risultati?

The Laboratory and the New Oral Anticoagulants

Armando Tripodi^{1,2*}

Monitoring vs Measurement

The laboratory may be involved in the management of antithrombotic drugs in 2 ways. The first (here referred to as “monitoring”) implies the use of specific laboratory tests to assess the drug’s anticoagulant effect and to adjust the dosage to maintain anticoagulation within a pre-specified therapeutic interval. This concept applies

Monitoraggio vs Misurazione

Uso di specifici test di laboratorio per definire l'effetto anticoagulante dei farmaci e aggiustare la dose per mantenere il livello di scoagulazione entro un predefinito range terapeutico.

La percentuale del tempo in range è inversamente proporzionale al rischio di eventi avversi

VKA e UFH

Uso di specifici test di laboratorio per valutare l'effetto anticoagulante dei farmaci senza necessariamente usare il risultato per aggiustare la dose ma semplicemente per vedere se il paziente è sotto o sopra scoagulato. Informazione che è fondamentale per le decisioni cliniche in specifiche circostanze

**Dabigatran Rivaroxaban
Apixaban Edoxaban**



DOACs

Studi di farmacologia hanno mostrato che la risposta anticoagulante con i DOAC e' prevedibile in condizioni cliniche "standard".

Da ciò consegue:

- somministrazione a dosaggio fisso giornaliero;
 - non necessità di antidoti (breve emivita)
 - la non indicazione al monitoraggio di laboratorio routinario;
 - efficacia e sicurezza non inferiore alla terapia tradizionale con warfarin in NVAf and VTE
-

DOACs DOSAGE

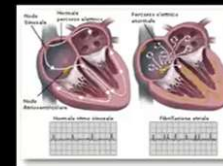
**DOSING
ADJUSTEMENT IS
BASED ON
PHARMACOKINETIC
CONSIDERATIONS
(Clinical
characteristics and
renal function)**

Table 4. Dosing adjustments based on pharmacokinetic considerations

	Dabigatran (mg BID)	Rivaroxaban (mg OD)	Apixaban (mg BID)
<u>Renal impairment</u>			
Mild (CrCl 51-80 mL/min)	150	20	5
Moderate (CrCl 30-50 mL/min)	110	15	5
Severe (CrCl < 30 mL/min)	n.r.	15	2.5
<u>Hepatic impairment</u>			
Mild (Child-Pugh A)	150	20	5
Moderate (Child-Pugh B)	150	n.r.	5
Severe (Child-Pugh C)	n.r.	n.r.	n.r.
Hepatic dysfunction	n.r.	n.r.	n.r.
<u>Demographic variables</u>			
Ethnicity, Asian	150	15	5
Age, older than 75-80 y	110	20	2.5
Weight, < 50 kg	150	20	2.5
<u>Drug-drug interactions</u>			
P-gp inhibitor	110	15	2.5
CYP3A4 inhibitor	150	15	2.5
P-gp/CYP3A4 inducer	n.r.*	n.r.	n.r.

Interazioni farmacologiche dei DOAC

Antiarritmici



Dronedrone contrindicato



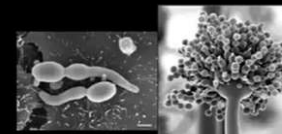
St John's wort
controindicata

Antibiotici



Rifampicina controindicata

Antimicotici

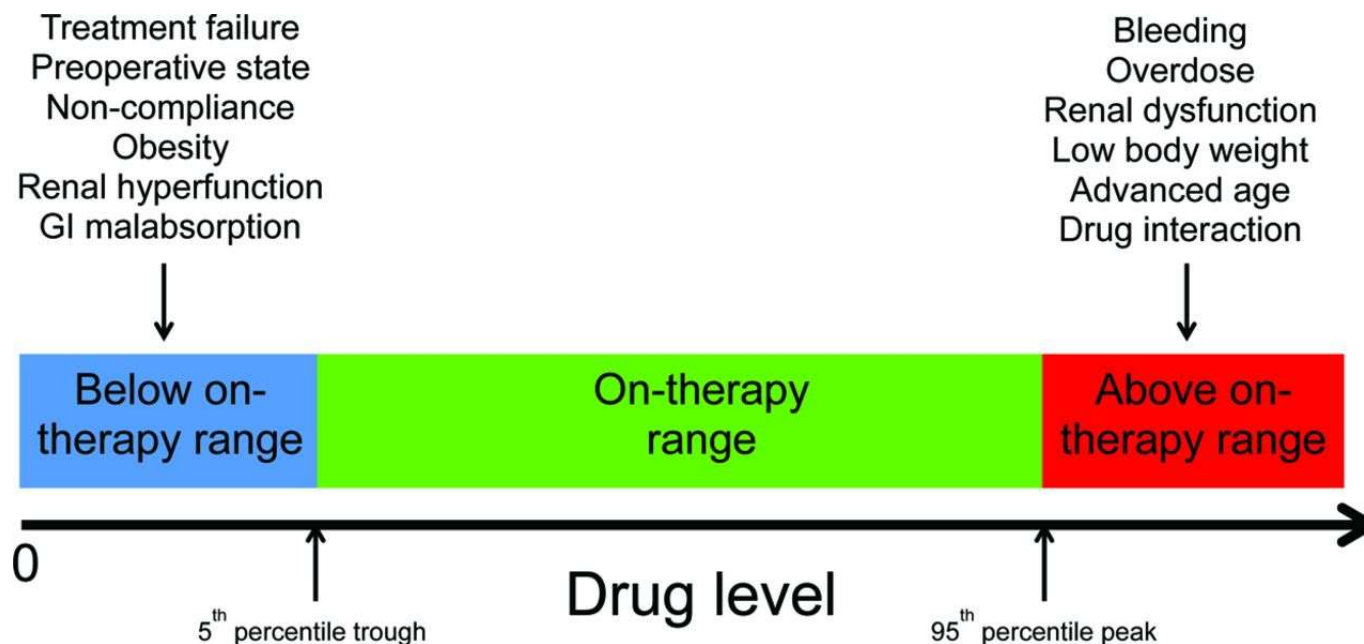


Tutti gli azolici sono
controindicati



Antinfiammatori
non steroidei e DOAC
aumento del rischio
emorragico
(HR=1.79).

Based on PK models, “ a priori” DOAC plasma levels are supposed as follow



Therapeutic ranges for the DOACs have not been established. The “on-therapy” range is defined as the interval from the 5th to 95th percentile of DOAC concentration. Drug levels below this range may be regarded as “below on-therapy”, those exceeding this range as “above on-therapy”.

***But, the
reality is
that...***

- High inter/intra individual variability has been demonstrated in the real world patient population
- Pharmacological modifications have been showed in relation to: drug interaction, liver and renal function, age, weight, comorbidities...
- After DOAC introduction in clinical practice specific antidotes have been requested and are now available
- Laboratory measurements are recommended, at the moment, at least in particular clinical conditions

Dosaggio DOAC: è utile?

MONITORAGGIO PERIODICO:

- Non è raccomandato

CONTROLLO IN CONDIZIONI CLINICHE PARTICOLARI:

- Non conosciamo i range terapeutici e valori critici dei DOAC, abbiamo solo informazioni sulla variabilità biologica (esiste una grande variabilità non solo inter-individuale ma anche intra-individuale per cui parliamo di valori attesi per farmaco).
- Ad oggi non sono noti i livelli di anticoagulazione (cut-off) SICURI per procedere a chirurgia/manovre invasive

Dosaggio DOAC

- **CONTROLLO IN CONDIZIONI CLINICHE PARTICOLARI**

BLEEDING

DOAC contribution ?
Specific reversal agents?

INVASIVE PROCEDURE

Significant DOAC levels?
Specific reversal agents?

STROKE

Therapeutic failure ?
Thrombolysis?

MODIFIED PK*

Drug accumulation?
Therapeutic failure?

* Risk factors: Extreme body weight, renal impairment, drug interactions

Interpretazione dati laboratorio in Emergenza

Surgery with high risk of bleeding

< 30 ng/ml

Drug reversal in case of serious bleeding

> 50 ng/ml

Risk of bleeding

> 200 ng/ml at trough

Thombolysis

No consensus
< 50 ng/ml, < 100 ng/ml

Douxflis et al, J Thromb Haemost 2018

U
R
G
E
N
Z
A

D
O
A
C

APIXABAN
RIVAROXABAN < 20 ng/mL



PORTARE IN SALA OPERATORIA E SE SANGUINAMENTO FARE PCC 4F 25 UI/Kg o PFC 15 ml/Kg

DABIGATRAN < 20 ng/mL



PORTARE IN SALA OPERATORIA E SE SANGUINAMENTO FARE PCC 4F 25 UI/Kg o PFC 15 ml/Kg

APIXABAN
RIVAROXABAN 20-50 ng/mL



SE POSSIBILE ATTENDERE E RIPETERE DOSAGGIO; SE NECESSARIO PORTARE IN SALA OPERATORIA E IN CASO DI DABIGATRAN > di 30 ng/mL

DABIGATRAN 20-50 ng/mL



SOMMINISTRARE IDARUCIXUMAB 5 g EV PER ANTI Xa SE SANGUINAMENTO SOMMINISTRARE PCC 4F 25-40 UI/Kg o PFC 15 ML/Kg

APIXABAN
RIVAROXABAN > 50 ng/mL



SE POSSIBILE ATTENDERE E RIPETERE DOSAGGIO; SE EMERGENZA

DABIGATRAN > 50 ng/mL



SOMMINISTRARE IDARUCIXUMAB 5 g EV PER DABIGTRAN (RIPETIBILE) E RIDOSARE IL FARMACO DOPO QUALCHE ORE, PER ANTI Xa SE SANGUINAMENTO SOMMINISTRARE PCC 4F 25-40 UI/Kg o PFC 15 ML/Kg

Quando fare il test

Scenario	Tempo prelievo
Estremi di peso (<50 kg o > 100 kg)	< 50 kg: Nadir > 100 kg: Picco
Overdose o sospetto sovradosaggio	Quando paziente si presenta al PS (necessario conoscere orario ultima assunzione)
Per stabilire se il sanguinamento o la trombosi sono dovuti ad alti o bassi livelli NAO	Quando paziente si presenta al PS (necessario conoscere orario ultima assunzione)
Insufficienza renale o epatica	Nadir
Interazione con altri farmaci	Nadir
Per confermare assunzione dal farmaco	Picco
Prima intervento chirurgico emergenza	Sempre: idealmente 24 prima intervento
Prima di somministrare antidoto	Quando paziente si presenta al PS (necessario conoscere orario ultima assunzione)
Trombolisi	Sempre

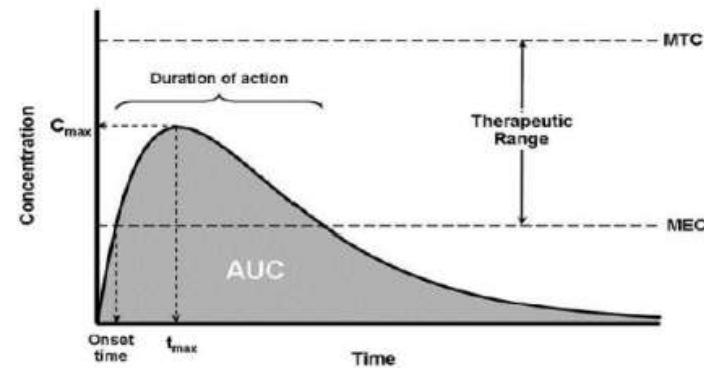
COME MISURARE I DOAC



	APIXABAN	DABIGATRAN	EDOXABAN	RIVAROXABAN
T_{MAX}	3-4 h	0.5-2 h	1-2 h	2-4 h
Half-life	8-15 h (healthy individuals)	12-14 h (healthy individuals)	10-14 h (healthy individuals)	5-9 h (healthy individuals) 11-13 h (elderly)

! Dabigatran: Half-life = 28h in case of severe renal impairment

Interpretation according to the delay between the last drug intake and blood sampling



Heidbuchel et al. Europace 2015

TEST IDEALE

Facilmente disponibile
H24 gg 7/7 gg

Facile esecuzione
Corto TAT

Misurazione attendibile a basse
ed alte concentrazioni

Gold standard:
LC MS/MS

QUALI TEST? NO TEST COAGULATIVI ROUTINE!

Impact of DOAC on routine coagulation assays

	DABIGATRAN	RIVAROXABAN	APIXABAN	EDOXABAN
aPTT	+	±	±	±
PT	±	+	±	+
TT	+++	-	-	-

SCREENING TESTS

Assay	DOAC	Interpretation	Characteristics
Routine coagulation assays			
aPTT	Dabigatran	Exclusion of above on-therapy levels if normal	Qualitative assessment Rapid turnaround time 24/7, all laboratories Reagent dependence
TT	Dabigatran	Exclusion of clinically relevant levels if normal	
PT	Rivaroxaban Edoxaban	Exclusion of above on-therapy levels if normal (only at peak for edoxaban)	

Ogni farmaco ha un effetto diverso sui test coagulativi

Bassa correlazione fra i livelli del farmaco e i risultati dei test coagulativi

Non sono test specifici per i DOAC: forniscono una valutazione approssimativa e qualitativa dell'intensità dell'effetto anticoagulante raggiunto (dipendente dal reagente-strumento utilizzato)

Quali test specifici

Table 1. DOAC-specific tests

DOAC	Test	Mechanism	Interpretation
Dabigatran Conventional*	TT	Clot-based assay	Normal range: dabigatran concentration not affecting coagulation Elevated: dabigatran present and affecting coagulation
Specific†	LC-MS/MS‡ dTT§ ECT ECA	Molecular detection Clot-based assay Clot-based assay Chromogenic assay	ng/mL ng/mL ng/mL ng/mL
Factor Xa inhibitors Conventional*	Anti-Xa for LMHW/UFH¶	Chromogenic assay	Normal range: Xai concentration not affecting coagulation Elevated: Xai present and affecting anticoagulation
Specific†	LC-MS/MS‡ DOAC-specific anti-Xa¶	Molecular detection Chromogenic assay	ng/mL ng/mL



ECA, ecarin chromogenic assay; ECT, ecarin clotting time; LMWH, low molecular weight heparin; UFH, unfractionated heparin.

MISURAZIONE QUANTITATIVA DOAC

The most accurate means of assessing DOAC exposure is by measuring concentration using LC-MS/MS or drug-calibrated clot-based or chromogenic methods. The availability and complexity associated with LC-MS/MS testing may limit its widespread use, whereas drug-calibrated clot-based or chromogenic methods can be adapted to automated coagulation analysers.

International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants

Robert C. Gosselin¹ Dorothy M. Adcock² Shannon M. Bates³ Jonathan Douxfils⁴
Emmanuel J. Favaloro⁵ Isabelle Gouin-Thibault⁶ Cecilia Guillermo⁷ Yohko Kawai⁸
Edelgard Lindhoff-Lax⁹ Steve Kitchen¹⁰

Thromb Haemost 201

MISURAZIONE QUANTITATIVA DOAC LC-MS/MS

Vantaggi

- Metodo non affetto da variazioni nei livelli dei fattori della coagulazione
- Metodo non affetto dalla presenza del LAC
- Metodo non affetto da variabili preanalitiche (contaminazione eparina..)

Svantaggi

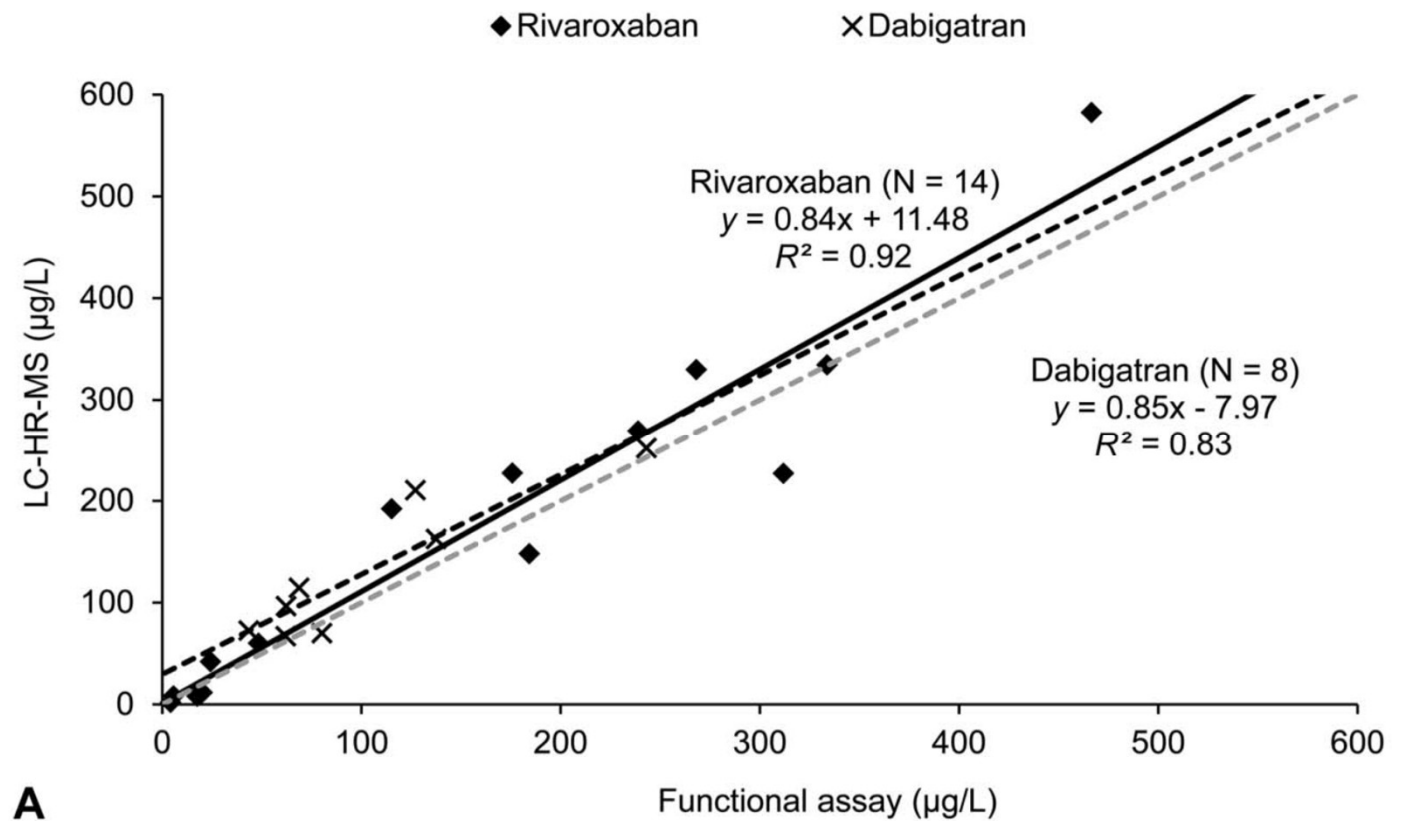
- Time consuming (non sempre)
- Preparazione dei campioni laboriosa
- Scarsa disponibilita' strumento
- High level of expertise
- Non implementabile in urgenza
- In house, no standardizzazione, assenza calibratore/standard internazionale

MISURAZIONE QUANTITATIVA DOAC

Measurement of the Direct Oral Anticoagulants Apixaban, Dabigatran, Edoxaban, and Rivaroxaban in Human Plasma Using Turbulent Flow Liquid Chromatography With High-Resolution Mass Spectrometry

Tracey Gous, MSc,* Lewis Couchman, MSc,*† Jignesh P. Patel, PhD,†‡ Chitongo Paradzai, MSc,‡ Roopen Arya, PhD,‡ and Robert J. Flanagan, PhD*

Anti Xa – Stago
Anti IIa -
ecarin/chromogenic
/Hyphen cals



DABIGATRAN: TEST SPECIFICI

Target	Farmaco	Test	Produttore
Trombina (IIA)	Dabigatran	Tempo di Trombina Diluito (dTT)	<ul style="list-style-type: none">• Hyphen Hemoclot• IL Thrombin• Siemens DTI• Siemens Thrombin• Stago Thrombin• Technoclone DTI
		Anti-IIa chromogenic	<ul style="list-style-type: none">• Hyphen Biomed DTI• Siemens Innovance DTI• Stago ECA-II• LC-MS/MS
		Ecarin clotting Time	<ul style="list-style-type: none">• ECT Stago

Tempo di trombina diluito

M. Gavillet Cardiovascular Medicine 2012;15 (5): 170-179

- L'aggiunta di trombina in eccesso ad una diluizione del plasma paziente ne determina la coagulazione, che in condizioni normali impiega pochi secondi.
- Se presente, il dabigatran inibisce la trombina determinando un allungamento del tempo di coagulazione, che sarà proporzionale alla concentrazione del farmaco.
- Si utilizzano plasmi standard a concentrazione nota di dabigatran con i quali è possibile costruire una curva di taratura (concentrazione vs. tempo di coagulazione).
- I risultati del test vengono, quindi, essere espressi in ng/mL di dabigatran, mediante interpolazione del tempo di coagulazione del plasma paziente sulla curva di taratura.

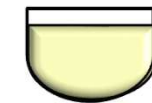
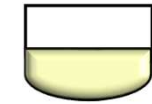
Diluyente NP

+

Plasma Paziente

Trombina

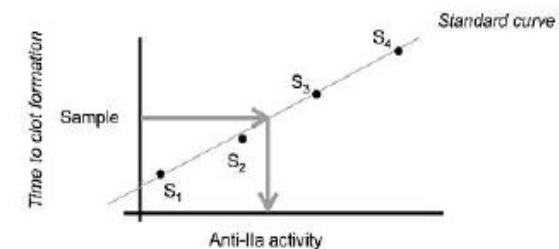
Start



Caratteristiche:

- LOD= 2-8 ng/ml
- LOQ = 20-30 ng/ml
- CV intra assay < 5%
- CV inter assay 6-16%
- Buona correlazione con LC-MS/MS
- Relazione lineare dose risposta

Time to clot formation is proportional to anti-IIa activity



XABANI TEST SPECIFICI

Target	Farmaco	Test	Produttore
Fattore Xa	Rivaroxaban	Anti X attivato calibrato	<ul style="list-style-type: none"> • Hyphen Biomed Biophen LRT, Heparin • Chromgenix Coamatic Heparin • IL HemosiL • LC-MS/MS • Siemens Berichrom e Innovin • Stago Liquid e Stachrom Heparin • Technoclone Technocrom anti Xa
	Apixaban	Anti X attivato calibrato	<ul style="list-style-type: none"> • Hyphen Biomed Biophen LRT, Heparin • Chromgenix Coamatic Heparin • IL HemosiL • LC-MS/MS • Siemens Berichrom e Innovin • Stago Liquid e Stachrom Heparin • Technoclone Technocrom anti Xa
	Edoxaban	Anti X attivato calibrato	<ul style="list-style-type: none"> • Hyphen Biomed Biophen LRT, Heparin • Chromgenix Coamatic Heparin • IL HemosiL • LC-MS/MS • Siemens Berichrom e Innovin • Stago Liquid e Stachrom Heparin • Technoclone Technocrom anti Xa

Attività anti-Xa

(M. Gavillet Cardiovascular Medicine 2012;15 (5): 170-179)

Test cromogenico anti-Xa con calibratori dedicati

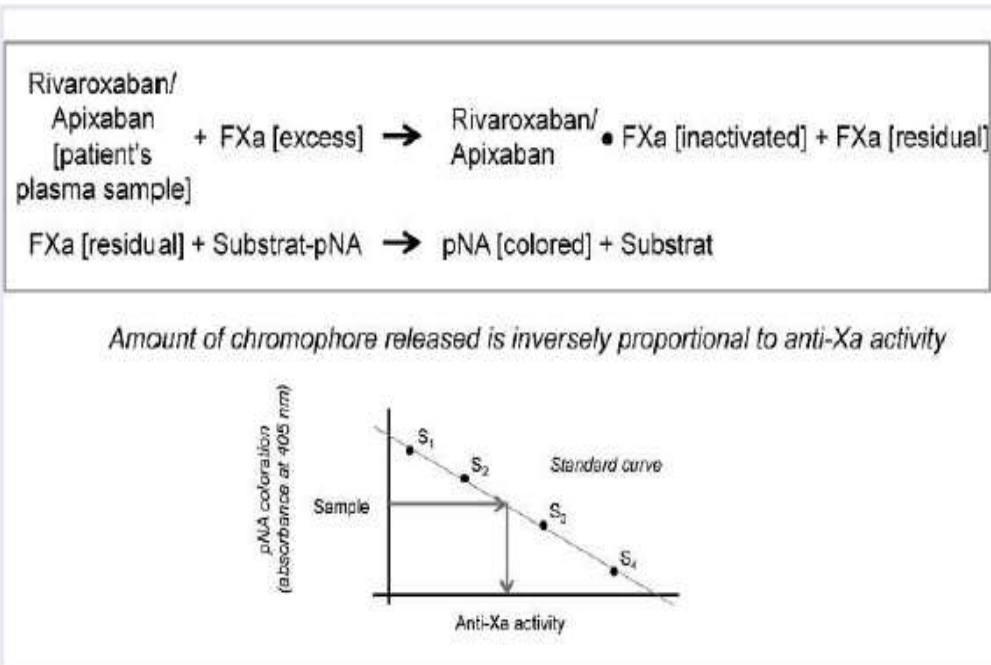


Figure 5

Quantification of anti-activated factor X (anti-Xa) activity – chromogenic method. These assays measure changes in color (optical density or light absorbance) after cleavage of a synthetic substrate tagged with a chromophore, para-nitroanilide (pNA), by a constant amount of exogenously added excess-activated factor X (FXa). This process is inhibited by anti-Xa anticoagulants (rivaroxaban or apixaban) present in the plasma sample to be tested. The generation of pNA is inversely proportional to the plasma concentration of dabigatran. Using dabigatran standards (S1-S4), a calibration curve is established and dabigatran plasma level back-calculated from the amount of chromophore.

- Lo xabano presente nel campione va a legarsi al fattore Xa presente in eccesso nel reattivo.
- Il fattore Xa residuo resterà libero nel plasma. In seguito all'aggiunta di un substrato cromogeno si forma un nuovo peptide (complesso cromogeno-Xa), dal quale si stacca una parte (pNA, para-nitroanilina) che verrà quantificata con un metodo colorimetrico ad una lunghezza d'onda di 405 nm.
- La paranitroanilina rilasciata è inversamente proporzionale alla concentrazione di xabano presente nel plasma del paziente.

AntiXa attivato

- I risultati vengono espressi in ng/mL, mediante interpolazione dell'attività cromogenica del paziente su una curva dose-risposta ottenuta utilizzando plasmi calibranti a concentrazione note del farmaco in esame.
- Calibratori e controlli specifici per rivaroxaban, apixaban e edoxaban, ma anche per eparina e fondaparinux, sono disponibili in commercio e possono essere utilizzati per la misura dei rispettivi farmaci.

RIVAROXABAN

Caratteristiche

- LOD e LOQ dipendono dal metodo in uso
- LOD varia fra 5-59 ng/ml
- LOQ circa 30 ng/ml
- CV intra assay 3-7%
- CV inter assay 6-16%
- Buona correlazione con LC-MS/MS
- Relazione lineare dose risposta

APIXABAN

Caratteristiche

- LOD e LOQ dipendono dal metodo in uso
- LOD varia fra 3-49 ng/ml
- LOQ circa 30 ng/ml
- CV intra assay 3-7%
- CV inter assay 6-16%
- Buona correlazione con LC-MS/MS
- Relazione lineare dose risposta

EDOXABAN

Caratteristiche

- LOD e LOQ dipendono dal metodo in uso
- LOQ circa 10 ng/ml
- CV intra assay 3-7%
- CV inter assay 6-16%
- Buona correlazione con LC-MS/MS
- Relazione lineare dose risposta

COME RICHIEDERE IL TEST?



Altri materiali biologici (special.)

- Feci Calprotectina
- Feci Elastasi pancreatica
- Liquor Bande Oligoclonali
- Liquor Altri Autoanticorpi* +Rich.
- **Liquor x Alzheimer (inLab<60')
- Saliva IgA secretorie
- Cortisolo salivare notturno*
- Sperma:Chimico

Coagulazione (specialistica) Laboratorio

- LAC*
- Fattore II*
- Fattore V*
- Fattore VII*
- Fattore VIII*
- Fattore IX*
- Fattore X*
- Fattore XI*
- Fattore XII*
- Fattore XIII*
- Eparina (Anti-Xa)
- Apixaban (Anti-Xa)
- Dabigatran (T.Trombina diluito)
- Edoxaban (Anti-Xa)
- Rivaroxaban (Anti-Xa)
- F1+2,Tramim.Protrombina
- PAI(inib.att.plasm.)
- Proteina S coagulativa
- Tempo di trombina TT
- tPA antigene
- Von Willebrand Antigene*

Reparti ASUFC → Laboratorio HUB (Udine)

- Provetta in citrato
- Invio al laboratorio della provetta accompagnata dal cartaceo con la stampa della richiesta in ADT



Posologia
Ora e data ultima
assunzione

COME RICHIEDERE IL TEST?

MMG → Laboratorio HUB (Udine)

- | | |
|-------------------------------------|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Dosaggio attività apixaban sangue |
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Dosaggio attività edoxaban sangue |
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Edoxaban sangue |
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Apixaban sangue |
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Rivaroxaban sangue |
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Dosaggio attività rivaroxaban sangue |
| <input checked="" type="checkbox"/> | ✓ Dabigatran sangue |



“ Sono una cittadina
dello Stato
Confusionale ”



SCHEDA ANAMNESTICA per la diagnostica di secondo livello degli esami di Patologia dell'Emostasi

Cognome _____ Nome _____

Data di nascita ___/___/___ Sesso: F M data prelievo ___/___/___

Apporre qui l'etichetta
anagrafica se disponibile

QUESTIONARIO

Da compilare e far firmare al / alla paziente - Barrare le risposte SI/No e completare ove richieste

Motivo dell'esame: _____

Medico Richiedente: _____

Ha mai sofferto di:

Sanguinamenti ricorrenti, quali sangue dal naso, ematomi, mestruazioni abbondanti o altro ?	SI	NO
Se SI, quali ?		
Sanguinamenti abnormi dopo traumi, interventi chirurgici o estrazioni dentarie ?	SI	NO
Trombosi venose profonde (TVP) ?	SI	NO
Se SI, quando è avvenuta	In quale parte del corpo?	
Embolie polmonari ?	SI	NO
Se SI, quando		
Ischemie cerebrali o cardiache (Stroke, Ictus, Infarto cardiaco, Angina, ...)?	SI	NO
Malattie autoimmuni e/o reumatologiche ?	SI	NO
Se SI, quali ?		
In famiglia qualcuno che soffre delle patologie sopraelencate ?	SI	NO
Se SI, quali ?		
E' affetto o ha sofferto di altre patologie ?	SI	NO
Se SI, indicate quali e da quando:		
E' in trattamento con farmaci anticoagulanti (TAO e/o NAO; eparina a basso e/o alto peso molecolare)	SI	NO
Se SI, quali ?		
Assume altri farmaci (compresa la pillola e/o estro progestinici per terapia sostitutiva)	SI	NO
Se SI, quali ?		
Nell'ultima settimana, ha assunto farmaci antidolorifici/antinfiammatori	SI	NO
Se SI, quali ?		
E' in gravidanza ? Se SI, di quante settimane ?	SI	NO
Ha avuto altre gravidanze ? Se SI, quante portate a termine ?	SI	NO
Quanti aborti spontanei ?	a che periodo di gestazione	

Ospedale di provenienza
(a cura dell'operatore che ritira il modulo)

Firma _____

Quando non si voglia rispondere alle domande del questionario barrare la casella sottostante:

Dichiaro di NON voler rispondere alle domande del questionario Firma _____

Moduli anamnestici

DOSAGGIO FARMACI ANTICOAGULANTI (DOAC e/o Eparina) SCHEDA ANAMNESTICA

etichetta paziente
numero di richiesta

Motivo dell'esame: _____

Medico Richiedente: _____

Nome del farmaco: _____

Dosaggio giornaliero: _____

Data e ora ultima somministrazione: _____

E' in gravidanza? SI NO Se SI, di quante settimane? _____

Ospedale di provenienza:
(a cura dell'operatore che ritira il modulo)

Firma _____

Interpretazione dati di laboratorio nei pazienti in terapia con DOAC

Tipo di farmaco

Posologia

Timing di prelievo

Caratteristiche del paziente

Come scrivere il referto....

- If nonemergent testing is necessary, recommend trough drug level assessment (► **Table 2**).
- Recommend DOAC levels be reported in ng/mL units.
- Recommend a comment with each reported DOAC result to indicate lack of DOAC 'therapeutic ranges', but cite expected trough levels (correlating with dose) for DOAC-treated patients from published studies (► **Table 2**).

Drug and dose (mg)	Peak (ng/mL)		Trough (ng/mL)	
	Mean	Range	Mean	Range
Dabigatran 150	175	117-275	91	61-143
Rivaroxaban 20	215	22-535	32	6-239
Apixaban for prevention of VTE: elective hip or knee replacement				
2.5 b.d.	77	41-146	51	23-109
Apixaban for prevention of stroke and systemic embolism				
2.5 b.d.	123	69-221	79	34-162
5 b.d.	171	91-321	103	41-230
Apixaban for treatment of DVT, treatment of PE and prevention of recurrent DVT and PE				
2.5 b.d.	67	30-153	32	11-90
5 b.d.	132	59-302	63	22-177
10 b.d.	251	111-572	120	41-335
Edoxaban 30	n.a.	n.a.	27	15-45
Edoxaban 60	n.a.	n.a.	36	19-62

VTE: venous thromboembolism; DVT: deep vein thrombosis; PE: pulmonary embolism; n.a.: not available; b.d.: twice daily.

International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants

Robert C. Gosselin¹ Dorothy M. Adcock² Shannon M. Bates³ Jonathan Douxfils⁴
 Emmanuel J. Favalaro⁵ Isabelle Gouin-Thibault⁶ Cecilia Guillermo⁷ Yohko Kawai⁸
 Edelgard Lindhoff-Last⁹ Steve Kitchen¹⁰

Table 2 Expected peak and trough DOAC concentrations in patients treated for stroke prevention in NVAF or treatment of PE/VTE^{1,4,14,15,19,26-28}

Indication	Dabigatran		Rivaroxaban		Apixaban		Edoxaban	
	Stroke prevention in NVAF	Treatment PE/VTE	Stroke prevention in NVAF	Treatment PE/VTE	Stroke prevention in NVAF	Treatment PE/VTE	Stroke prevention in NVAF	Treatment PE/VTE
Dose	150 mg bid	150 mg bid	20 mg qd	20 mg qd	5 mg bid	5 mg bid	60 mg qd	60 mg qd
Peak concentration, ng/mL	175 ^a (117-275)	175 ^a (117-275)	249 ^b (184-343)	270 ^b (189-419)	171 ^c (91-321)	132 ^c (59-302)	170 ^d (125-245)	234 ^e (149-317)
Trough concentration, ng/mL	91 ^a (61-143)	60 ^a (39-95)	44 ^b (12-137)	26 ^b (6-87)	103 ^c (41-230)	63 ^c (22-177)	36 ^e (19-62)	19 ^e (10-39)

Abbreviations: bid, twice daily; IQR, interquartile range; NVAF, non-valvular atrial fibrillation; PE, pulmonary embolism; qd, once daily; VTE, venous thromboembolism.

Gosselin et al. Thromb Haemost 2018;118:437-450.

Position Paper on laboratory testing for patients on direct oral anticoagulants. A Consensus Document from the Siset, FCSA, SIBioC and SIPMeL (Tripodi A Blood Transfus 2018)

**Il nostro
referto....**

Dabigatran
(metodo coagulativo T. di Trombina diluito)

ultima somministrazione in data 17.03.2022-

Intervallo concentrazioni plasmatiche (110 mg/2 die)

punto di valle: 28-155 ng/mL

punto di picco: 52-275 ng/mL

Reilly PA. J. Coll. Cardiol. 2014 Feb. 4; 63 (4): 321-8

Indicazione: prevenzione eventi cardio-embolici in pazienti con FANV (150 mg/2 die)

punto di valle: 61-143 ng/mL

punto di picco: 117-275 ng/mL

Gosselin RC Thromb. Haemost. 2018;118 (3): 437-50

Indicazione: trattamento del tromboembolismo venoso e prevenzione delle recidive (150 mg/2 die)

punto di valle: 39-95 ng/mL

punto di picco: 117-275 ng/mL

Gosselin RC Thromb. Haemost. 2018;118 (3): 437-50

Apixaban
(metodo cromogenico anti-Xa)

in terapia con apixaban 5 mg/die; ultima assunzione ore 8 del 9.3.22 (come segnalato telefonicamente dal reparto)

Intervallo concentrazioni plasmatiche (2.5 mg/2 die)

punto di valle: 30-160 ng/mL

punto di picco: 70-220 ng/mL

Tripodi A. Blood Transfus. 2018; 16(5) 462-70

Indicazione: prevenzione eventi cardio-embolici in pazienti con FANV (5 mg/2 die)

punto di valle: 41-230 ng/mL

punto di picco: 90-320 ng/mL

Gosselin RC Thromb. Haemost. 2018;118 (3): 437-50

Indicazione: trattamento del tromboembolismo venoso e prevenzione delle recidive (5 mg/2 die)

punto di valle: 22-177 ng/mL

Queste molecole che hanno ormai una diffusione importante rappresentano un elemento da tenere ben in considerazione quando si eseguono e si richiedono i test di coagulazione.

L'impatto di questi farmaci su test di primo e secondo livello è noto, tuttavia non è infrequente imbattersi in pazienti in terapia che si sottopongono ad esami coagulativi.

Poiché gli anticoagulanti orali diretti (DOAC) hanno come obiettivo l'inibizione diretta e selettiva della trombina (fattore IIa) o del fattore Xa, è possibile riscontrare alcuni effetti della loro azione anche sui test di laboratorio di secondo livello.^{5, 6, 7, 8, 9, 10}

** Tutti i dati sono stati ottenuti *in vitro*, analizzando plasmi normali addizionati con DOAC.

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
Antitrombina (anti Xa)	○	▲▲▲	▲▲▲	▲▲▲
Proteina C (test cromogenico)	○	○	○	○
Proteina C (test coagulativo)	▲▲	▲	▲	▲
Proteina S (test coagulativo)	▲▲	▲▲	▲	▲
Proteina S (test antigenico)	○	○	○	○
APCR-V	▲▲	▲	▲	▲
dRVVT (screen e confirm)	▲	▲▲	▲▲	▲▲
Fattori VIII, IX, XI e XII (APTT)	▼	▼▼	▼▼	▼
Fattori II, V, VII e X (PT)	▼▼	▼	▼	▼
Fattore VIII (cromogenico)	○	▼	▼	▼
Fattore XIII (immunologico)	○	○	○	○

▲▲▲▲ = Marcata sovrastima ▲▲▲ = Media sovrastima ▲▲ = Sovrastima ○ = Nessun effetto
▼ = Sottostima ▼▼ = Media sottostima

COMPORTAMENTO DEGLI ESAMI DI PRIMO E SECONDO LIVELLO NEI PAZIENTI IN DOAC

Questa tabella riassume l'influenza che i DOAC possono avere sui risultati di PT, APTT, TT, Fibrinogeno e D-Dimero

	PT	APTT	TT	Fibrinogeno (100 UI di trombina)	D-Dimero
Dabigatran	▲	▲▲	▲▲▲	○	○
Rivaroxaban	▲▲	▲	○	○	○
Apixaban	▲	▲	○	○	Non disponibile
Edoxaban	▲	▲	○	○	○

▲ = Poco sensibile / Moderato allungamento ▲▲ = Sensibile / Medio allungamento ▲▲▲ = Molto sensibile / Marcato allungamento ○ = Nessun effetto

TABELLA IV.—Influenza dei DOAC sui più comuni parametri emocoagulativi.

Parametri emocoagulativi	Effetto atteso
Attività Antitrombina (metodo cromogenico)	Sovrastima
PC e PS (metodo coagulativo)	Sovrastima
Fattori della coagulazione	Sottostima
Fibrinogeno	Sottostima ^a
Resistenza alla proteina C attivata (APC)	Sovrastima
Lupus Anticoagulant	Difficile interpretazione dei risultati

^aNei pazienti trattati con dabigatran.

CASO CLINICO

Donna di 65 anni in seguito a visita cardiologica ambulatoriale riceve diagnosi di fibrillazione atriale (FA) con indicazione a terapia anticoagulante

Normale funzionalità renale, inizia somministrazione di Dabigatran 150 mg x 2

Dopo 1 mese di terapia il cardiologo prescrive PT e aPTT: PTRatio=1.5; aPTT Ratio=3.6
Il Dabigatran viene sospeso.

Dopo 4 giorni, l'aPTT viene ripetuto e risulta 2.4 ratio (con funzionalità renale normale)
Nello storico: riscontro di un aPTT normale 2 anni prima; non eseguiti PT e aPTT prima di iniziare il Dabigatran.

A distanza di 10 giorni, richieste indagini di II Livello: LAC e anticorpi antifosfolipidi.

Conclusione: LAC fortemente positivo e marcato aumento del livello degli ACA e anti Beta2GPI

N.B. La paziente con fibrillazione atriale e LAC positivo (sospetta sindrome antifosfolipidi) non ha eseguito terapia anticoagulante per almeno un mese!!!!

Quando eseguire i test dell'emostasi in pazienti in terapia anticoagulante con i DOAC?



Poiché le interferenze dei DOAC sui test dell'emostasi sono numerose e la possibilità di errori diagnostici (false-negatività e/o false-positività) è elevata e dipende da molti elementi (tipo di farmaco, posologia, tempo intercorso tra il momento del prelievo e l'ultima somministrazione/assunzione, tipo di test coagulativo, cromogenico, immunologico e reagente commerciale utilizzati dal laboratorio) si raccomanda di richiedere i test solo:

dopo 4-5 giorni dalla sospensione dei DOAC (?)

- Nel caso sia indispensabile richiedere i test, il passaggio temporaneo all'eparina a basso peso molecolare potrebbe rappresentare una valida soluzione perché questo è il farmaco che interferisce in misura minore sul risultato dei test.
- Un'alternativa può essere quella di eseguire il prelievo al punto di valle (subito prima della successiva assunzione del farmaco), meglio se dopo sospensione dell'assunzione di una o due dosi, per i farmaci che vengono assunti una o due volte al giorno rispettivamente.
- Nel caso in cui i test vengano richiesti senza sospendere la terapia anticoagulante si raccomanda di comunicare al laboratorio il tipo di terapia cui il paziente è sottoposto, il dosaggio e il momento dell'ultima somministrazione/assunzione rispetto al momento del prelievo. In queste circostanze, si raccomanda, comunque di interpretare con molta cautela i risultati ottenuti.
- Sono disponibili prodotti commerciali (DOAC-Stop, DOAC-Filter, DOAC-Remove, DP-Filter) che inibiscono l'attività dei DOAC anti Fattore Xa e anti Trombina, e che quindi possono essere utilizzati nel caso sia indispensabile eseguire test per rischio emorragico o trombotico in pazienti in trattamento con DOAC.

Richiedere il dosaggio del farmaco e non attività anti-Xa né FX

In un plasma la presenza di uno qualunque dei farmaci con attività anti-Xa, sia indiretta che diretta, causa una misurabile attività anti-Xa.

Per risalire al livello di farmaco, l'attività anti-Xa misurata deve essere rapportata ad una curva di calibrazione eseguita con il farmaco specifico

→ Pertanto deve essere richiesto il dosaggio dell'anticoagulante specifico.

Il dosaggio del 'FX' è un altro test da non confondere in questo contesto. Quest'ultimo esame dosa l'attività funzionale di FX presente in un plasma e non la capacità di un plasma di inibire FXa.



CASO CLINICO

Uomo 71 aa ultima assunzione rivaroxaban il 18.10 alle 18.00

In infusione continua di eparina 1000UI/h dalle ore 24.00 del 19.10

Richiesta del reparto il 20.10 : dosaggio rivaroxaban prima di andare in sala.

	Rivaroxaban ng/mL	AntiXa IU/mL	
Plasma pz	64.5*	0.40	*sto dosando eparina, calcolata sulla curva di calibrazione del rivaroxaban
Dopo eparinasi	17.8	0.12	
Dopo II eparinasi	12.2	0.07	Escludendo l'eparina, doso solo il rivaroxaban

In caso di contemporanea assunzione di EPARINA il risultato dello Xabano risulta falsamente aumentato!!!!!!



In conclusion, this study confirms the hypothesis that the presence of enoxaparin interferes with apixaban, edoxaban, or rivaroxaban measurement by dedicated chromogenic assays, causing falsely elevated xabans levels, the over-estimation being dependent on the anti-Xa assay and the enoxaparin concentration. The results of this study may have a practical relevance for managing potential problems due to concomitant use of xabans and enoxaparin. Though DOACs have been approved for fixed-dose administration, with no requirement for routine laboratory monitoring, in some emergency situations, the assessment of their anticoagulant levels is useful or even necessary. When DOAC measurement is required, it is important that the laboratory be aware of a concomitant or recent enoxaparin treatment to avoid results misinterpretation and erroneous clinical management decisions.

How to cite this article: Cini M, Legnani C, Testa S, Tripodi A, Cosmi B, Palareti G. An in vitro study to investigate the interference of enoxaparin on plasma levels of direct oral factor Xa inhibitors measured by chromogenic assays. *Int J Lab Hematol.* 2019;41:309–315. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12974>

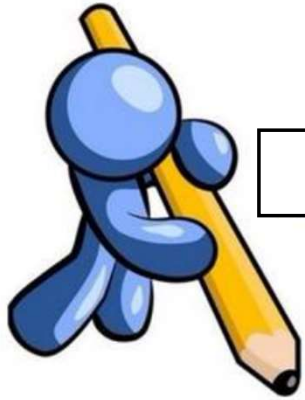
La misura dell'attività anticoagulante dell'eparina a basso peso molecolare si basa sullo stesso principio utilizzato per valutare l'attività dei farmaci ad azione anti-FXa. Perciò la presenza di eparina può erroneamente mimare l'effetto di questi farmaci. Per superare l'interferenza indotta dall'eparina alcune metodiche commerciali contengono prodotti neutralizzanti l'eparina.⁵⁰

Valori critici in pazienti in trattamento con DOAC

TRIPODI FCSA 2016

Overall Conclusions

- If available in emergency, lab testing may be useful
- Although accurate alarming values for DOAC are not yet defined, it can be assumed that extreme values (**>400 or <30 ng/mL**) are potentially associated with adverse events
- Results interpretation for DOAC requires knowledge of the time elapsing between the last dose intake and blood drawing



CONCLUSIO

NI:

- Nonostante non vi sia la raccomandazione al monitoraggio, ci può essere la **necessità di misurare l'effetto del farmaco** sulla coagulazione o la sua concentrazione
- Le caratteristiche del paziente possono modificarsi nel tempo (ad es. età, funzione renale, terapia concomitante → **anche la terapia (dosaggio o tipo di farmaco) deve modificarsi di conseguenza**)
- I **test di screening non sono specifici** e possono solo dare una indicazione **semi-quantitativa** per valutare la **presenza** dei DOAC o per **l'esclusione**; ad esempio APTT/TT per Dabigatran, PT per Rivaroxaban.
- **Test quantitativi** (calibrati con il farmaco in questione) sono necessari quando si vuole misurare il livello del farmaco (esempio DTI per Dabigatran, test Anti-Xa per Rivaroxaban, Apixaban ed Edoxaban) e dovrebbero essere disponibili **non solo in routine ma soprattutto in urgenza**
- E' importante sapere per la valutazione del test di laboratorio quanto **tempo** è passato (ore) **dall'ultima assunzione del farmaco** sino al momento del **prelievo** (valutazione del test al "picco" o a "valle")

LE TERAPIE ANTICOAGULANTI IN TASCA

Cristina Legnani

©2015 Fondazione Arianna Anticoagulazione

INDICE

1. Le terapie anticoagulanti: monitoraggio e controllo di laboratorio	4
Tavola 1. Indicazioni relative a tutte le terapie anticoagulanti	5
Tavola 2. Test di laboratorio raccomandati per il monitoraggio/controllo delle terapie anticoagulanti, espressione dei risultati, range terapeutici e timing del prelievo	6
Tavola 3. Intervalli di concentrazioni plasmatiche in pazienti in trattamento con DOAC	16
Tavola 4. Valori critici in pazienti in trattamento con DOAC	16
2. Alterazioni indotte dalle terapie anticoagulanti e interferenze sui test dell'emostasi	17
3. Quando eseguire i test dell'emostasi in pazienti in terapia anticoagulante	26
4. Bibliografia	27

