



Trombotické
Centrum



VYŠETŘOVÁNÍ DOAC V BĚŽNÉ PRAXI

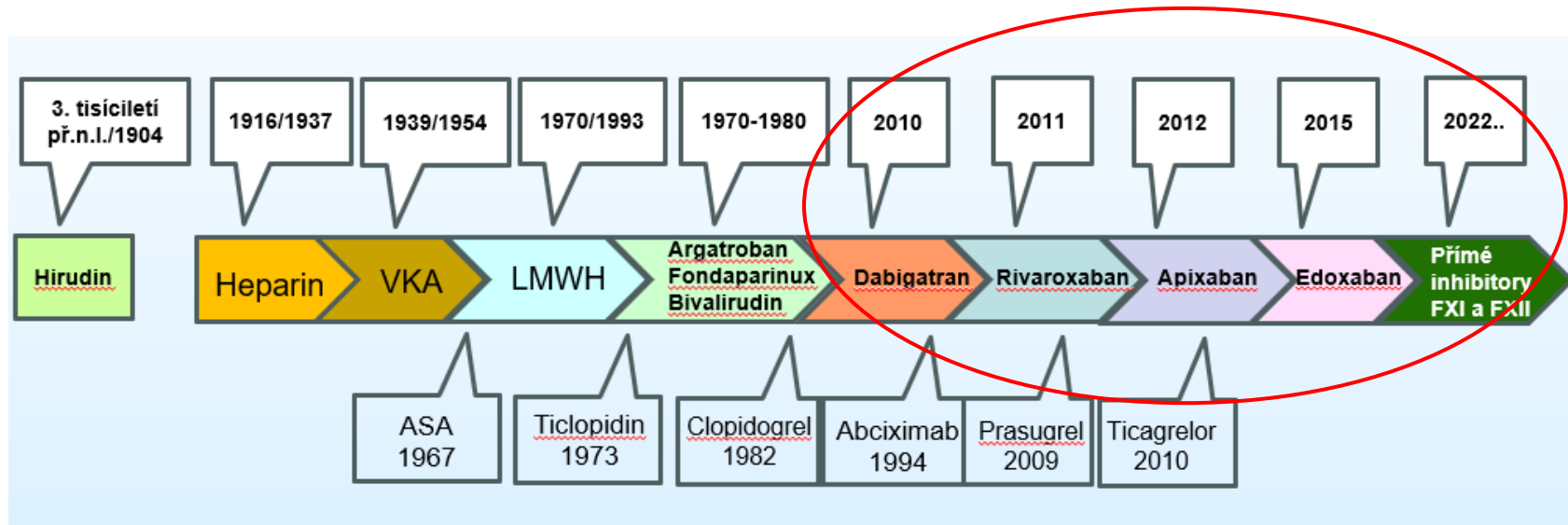
I. Malíková, M. Husáková, T. Kvasnička

ÚLBDL Centrální hematologická laboratoř a Trombotické centrum VFN, Praha



Úvod

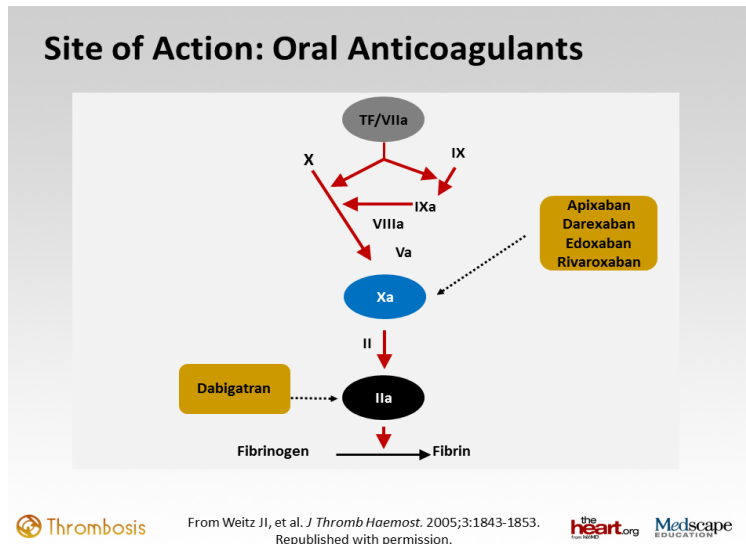
- při podávání antikoagulační léčby je hemostatický systém ovlivněn různým způsobem závislým na druhu použitého antikoagulancia



- při užití přímých inhibitorů koagulace (DOAC) dochází k velmi specifickým změnám

Přímé inhibitory koagulace (DOAC)

- a) přímé inhibitory aktivovaného faktoru X (FXa) - rivaroxaban, apixaban a edoxaban
- b) přímé inhibitory trombinu (FIIa) - dabigatran etexilát, argatroban, hirudin
- c) přímé inhibitory faktoru XI (FXI, FXIa) – abelacimab, milvexian



přímé inhibitory FXa - rychlý nástup účinku (30–60 minut) s maximálním účinkem za 2–4 hodiny po užití tablety

přímý inhibitor trombinu – dabigatran - rychlý nástup účinku (30 minut) s maximem účinku za 0,5–2 hodiny

přímé inhibitory faktoru FXI – abelacimab, dlouhodobý účinek 25 – 30 dnů, FXIa – milvexian – rychlý nástup účinku po užití tablety

Uvádění antikoagulační léčby na žadance

Koagulační vyšetření		Klinické laboratoře ÚLBDL VFN a 1. LF UK U Nemocnice 499/2, 128 00 Praha 2		Razítko - adresa žadatele (IČZ, IČP): Lékař (IČL a podpis):	
Osobní data pacienta (štítek): Příjmení: Jméno: Číslo pojistěnce: Datum narození: Pojišťovna: ☐ M ☐ Ž		Datum a čas odběru: Odebral: Datum a čas příjmu: Přijal:		Nákladové středisko: Telefon:	
Diagnóza:		Materiál: krev STATIM			
Centrální hematologické laboratoře Primář: MUDr. Martin Špaček, Ph.D.		U Nemocnice 499/2, 128 00 Praha 2 FP Karlovo nám. 554/32, 128 00 Praha 2		Tel.: 22496 2832 Tel.: 22496 6782	
Léčba vč. dávky:		typ LMWH:		Edoxaban (Lixiana)	
UFH		Rivaroxaban (Xarelto)		ASA	
Dabigatran (Pradaxa)		Apixaban (Eliquis)		Clopidogrel	
				jiné:	
Centrální hematologické laboratoře				Antikoagulační léčba	
SCREENING		SPECIÁLNÍ VYŠETŘENÍ		P DOAC: Hemoclot / Dabigatran ¹⁾	
P Quickův test (PT)	Z Krvácivost	P Protein C		P DOAC: DiXal/Rivaroxaban ¹⁾	
aPTT	P Retrakce koagula	Protein S		P DOAC: DiXal/Apixaban ¹⁾	
P Trombinový čas (TT)	Z Konzumce protrombinu	APC		P DOAC: DiXal/Edoxaban ¹⁾	
Fibrinogen (Clauss)	Z Fragilita kapilár	Koagulační faktory		P jiné:	
Ethanolový test	P Reptilasový čas	P II. V. VII. X.			
Antitrombin (AT)	P Fibrinolýza	VIII. IX. XI. XII.			
D-dimer	P HIT	P FXIII akt. FXIII Ag			
D-dimer konfirmace	P Cirkulující antikoagulans	P vWF RiCo aktivita			
P Plasminogen	P Lupus antikoagulans	P vWF antigen			
α-2-antiplasmin	P anti Xa/LMWH	jiné:			
jiné:	P anti Xa/UFH				
P = 5 ml citrátové plasmý S = 5 ml séra O = objednat tel.: 22496 2832					
Z = zvláštní odběr					
¹⁾ Speciální žadanka: http://ulbld.lf1.cuni.cz/zadanky-ke-stazeni Pokyny pro odběr a informace o laboratorních vyšetřeních: http://laboratore.vfn.cz					

Správné načasování odběru

Vyšetření účinnosti přímých inhibitorů koagulace		Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2		Razítko - adresa žadatele (IČZ, IČP): Lékař (IČL a podpis):	
Osobní data pacienta (štítek): Příjmení: Jméno: Číslo pojistěnce: Datum narození: ☐ M ☐ Ž		Datum a čas odběru: Odebral: Datum a čas příjmu: Přijal:		Nákladové středisko: Telefon:	
Diagnóza:					
Centrální hematologické laboratoře Klinické laboratoře ÚLBDL VFN a 1. LF UK		U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2 pavilon A4		Tel.: 2 2496 2832 (2878)	
Materiál k vyšetření: ☐ Periferní krev ☐ Jiný:					
Přímé inhibitory		Dávka léku denně		Čas podání léku	
Dabigatran (Pradaxa)					
Rivaroxaban (Xarelto)					
Apixaban (Eliquis)					
Hirudin, Lepirudin					
Jiné antikoagulanty nebo léky interferující s účinkem přímých inhibitorů		Obchodní název léku		Dávka léku denně	
Warfarin					
Nefrakcionovaný heparin					
LMWH, Pentasacharid					
Kyselina acetylsalicylová, clopidogrel					
Jiná					
Vyšetření je možné konzultovat na tel. 2 2496 2832 (2878).					
Při odběru na oddělení je nutné vzorek doručit nejdéle do dvou hodin od odběru.					
Pozn. k odběru: bližší info viz http://ulbld.lf1.cuni.cz					

Kombinace léků LMWH/UFH vs. xabany

Přímé inhibitory trombinu (FIIa) dabigatran, argatroban, hirudin

- aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT) - snadno dostupný
 - poskytuje přibližný údaj o intenzitě dosaženého antikoagulačního účinku dabigatranu
 - může upozornit na zvýšené riziko krvácení
- trombinový test
 - velmi orientační
 - nízká hodnota může upozornit na nedostatečnou dávku
- citlivější kvantitativní testy - kalibrovaný dilutovaný trombinový čas (dTT) – koagulační nebo chromogenní detekce
- ekarinový test
 - ecarin (hadí jed) přeměňuje protrombin na meziprodukt meizothrombin, přímé inhibitory trombinu inaktivují meizotrombin a tím prodlužují tvorbu trombu
 - nejcitlivější, není běžně dostupný, není standardizovaný

Praxe v laboratoři...

- aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT) - snadno dostupný
- může upozornit na zvýšené riziko krvácení
- trombinový test - pro rychlé zjištění zbytkové aktivity dabigatranu
- citlivější kvantitativní testy - kalibrovaný dilutovaný trombinový čas (dTT) – koagulační nebo chromogenní detekce

Dabigatran – kalibrační křivka, firemní kalibrátor, 1 – 4 hladiny dostupné kontroly, možnost EHK

Argatroban – kalibrační křivka, firemní kalibrátor nebo podávaný přípravek, 2 hladiny dostupné kontroly, možnost EHK

Hirudin, Lepirudin – není běžná monitorace

Přímé inhibitory FXa

rivaroxaban, apixaban, edoxaban

- **Protrombinový čas** – INR ~~(Neoplastin?)~~, nepřesné, nelze považovat za hodnoty odpovídající léčbě warfarinem), jen sec. - pro orientaci, R^(RIVA)
- aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT) - snadno dostupný
 - normální hodnoty, prodloužené hodnoty jen při vyšších dávkách léku, není vhodný
- trombinový test
 - normální hodnoty, není vhodný
- aktivita anti FXa
 - specifitější test, kalibrace, nejvhodnější z používaných testů
- citlivější kvantitativní testy
 - kalibrovaný test (DiXal)

Seřazení tromboplastinů podle Riva-SI

$$\text{Riva-PT-ratio} = \left| \frac{\text{PT pac.}}{\text{PT norm.}} \right| \text{ Riva - SI}$$

Tromboplastin	Riva-SI
Neoplastin Plus	1,00
Recombiplastin	1,00
Neoplastin	1,20
Triniclot	1,22
Thromborel S	1,38
Innovin	1,78

Praxe v laboratoři...

- **aktivita anti Xa** - snadno dostupná
 - může upozornit na zvýšené riziko krvácení
 - pro rychlé zjištění zbytkové aktivity xabanů
- citlivější kvantitativní testy - kalibrovaný test anti Xa přímo na jednotlivé preparáty, chromogenní detekce (PiCT se běžně nepoužívá)

Rivaroxaban – kalibrační křivka, firemní kalibrátor, 2 – 4 hladiny dostupné kontroly, možnost EHK

Apixaban – kalibrační křivka, firemní kalibrátor, 2 – 4 hladiny dostupné kontroly, možnost EHK

Edoxaban – kalibrační křivka, firemní kalibrátor, 2 – 4 hladiny dostupné kontroly, možnost EHK

Pozor na kombinaci léčby s LMWH/UFH!

Ovlivnění rutinních koagulačních testů

Test	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban	LMWH	UFH	Warfarin
PT (INR)	-	±	±	±	-	-	+++
aPTT	+	-	-	-	-	+++	+
TT	++++++	-	-	-	-	+++	-
Fibrinogen	-	-	-	-	-	-	-
D-dimery	-	-	-	-	-	-	-
aktiv. aXa	-	++++	++++	++++	+++	+++	-
DTI	+++	-	-	-	-	-	-
DI	-	+++	+++	+++	-	-	-

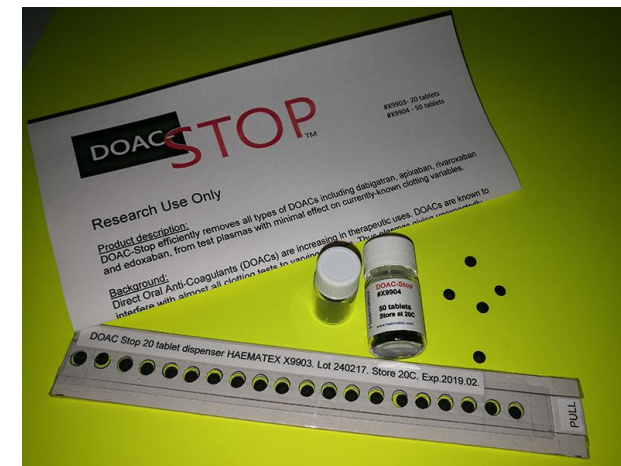
Vliv přímých inhibitorů na speciální koagulační testy (Pradaxa, Xarelto, Eliquis, Lixiana)

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
Protein S (koagulační)	++ Senzitivní	++ Senzitivní	+ - Málo senzitivní	+ - Málo senzitivní
Protein S (antigen)	Bez ovlivnění	Bez ovlivnění	Bez ovlivnění	Bez ovlivnění
Protein C (chromogenní)	Bez ovlivnění	Bez ovlivnění	Bez ovlivnění	Bez ovlivnění
Protein C (koagulační)	++ Senzitivní	Bez ovlivnění	Netestováno	Netestováno
Antitrombin (Xa)	Bez ovlivnění	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní
dRVVT Screen/Confirm	++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní
ICA index	++ Senzitivní	+ Senzitivní	+ Senzitivní	+ Senzitivní
Faktor II, V, VII	++ Senzitivní	++ Senzitivní	++ Senzitivní	++ Senzitivní
Faktor VIII, IX, XI, XII	++ Senzitivní	++ Senzitivní	++ Senzitivní	++ Senzitivní
Faktor XIII	++ Senzitivní	Bez ovlivnění	++ Senzitivní	Netestováno
Faktor VIII chromogenní	Bez ovlivnění	+ Senzitivní	+ Senzitivní	+ Senzitivní
APC rezistence	+ Senzitivní	+ Senzitivní	+ Senzitivní	+ Senzitivní
TGT (Peak trombin)	++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní
TGT (ETP, AUC)	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní	+++ Senzitivní

DOAC stop tablety

- tablety pro použití in vitro
- aktivní povrch, váže přímé inhibitory koagulace
- přidávají se k plazmě
- 1 tableta „zneutralizuje“ 0,5 – 1,5 ml plazmy
- po centrifugaci a oddělení plazmy probíhá analýza
- pouze pro výzkumné účely
- od 1.1.2025 úhrada použití

„96103 - POUŽITÍ DOAC STOP
TABLETY PŘI ELIMINACI VLIVU
ANTIKOAGULAČNÍ LÉČBY“



Dabigatran (Pradaxa 150 mg 2x denně)

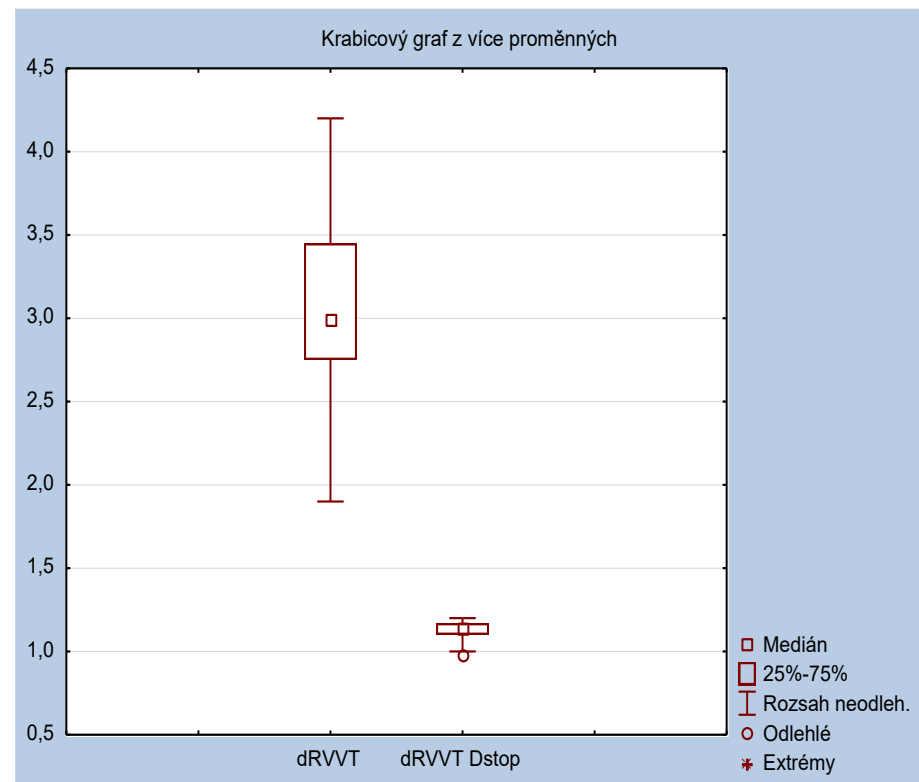
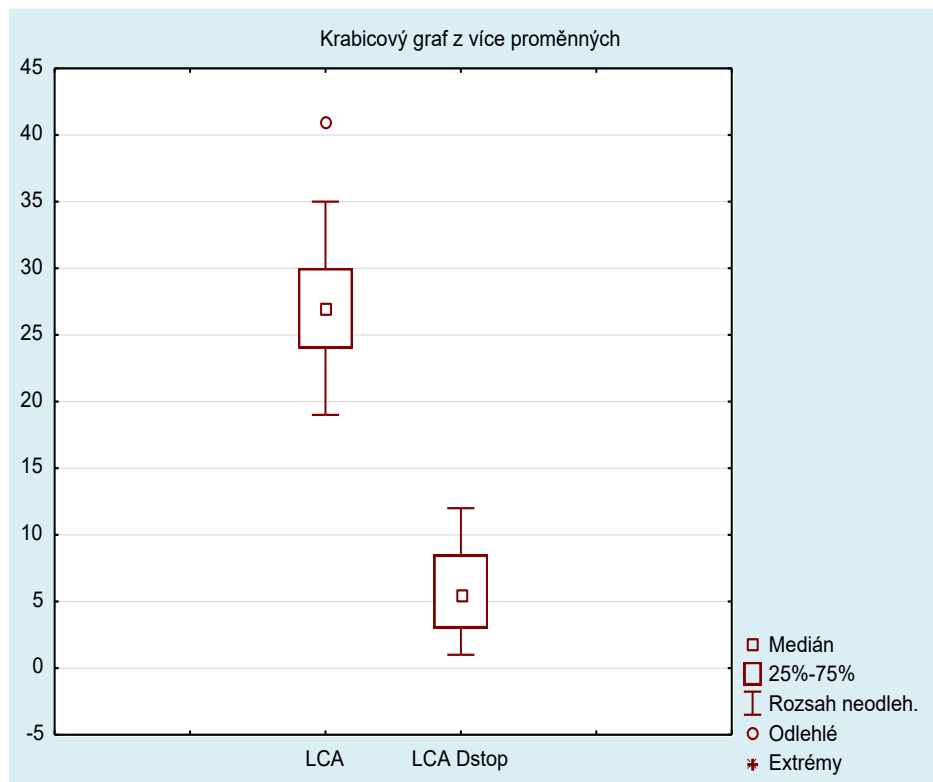
Název	Jednotka	27.01.25 10:11	T	27.01.25 10:11	27.01.25 10:00 DOAC STOP	27.01.25 08:06	T	27.01.25 08:06	27.01.25 08:06	T
Koagulační vyšetření krev- citrátová plasma										
Protrombinový test čas	s	15,50			12,30				13,10	
Protrombinový test INR	1	1,32			1,08				1,10	
APTT	s	57,2			27,7				39,2	
APTT kontrola	s	31,6			30,5				31,6	
APTT R	.	1,91			0,92				1,31	
Trombinový test	s	> 180,0			21,4				>180	
Trombinový čas (K)	s	18,8			19,5				18,8	
Fibrinogen koagul.	g/l	1,80							1,90	
Fibrinogen koag. (K)	g/l	2,75							2,75	
Antitrombin	%	80			74					
Antitrombin (K)	%	114			111					
D-dimery	µg/l	48							44	
Koagulace speciál.- krev - citrátová plasma										
Lupus antikoagulans	-				dodáme					
Protein C	%				97					
Protein C (K)	%				106					
Protein S	%				128					
Protein S (K)	%				78					
APC rezistence V	1				2,52					
APC rezistence V	s				fiktivní					
APC rezistence V (K)	1				2,42					
Anti Xa/LMWH aktiv.	IU/ml				0,05					
TDI Dabigatran	ng/ml	187	T						55	T

Apixaban (Eliquis 2,5 mg 2x denně)

Název	Jedn.	07.08.24 13:01	T	07.08.24 09:58	07.08.24 09:58	T	07.08.24 09:58	T	07.08.24 09:58	07.08.24 09:58 DOAC STOP
Koagulační vyšetření krev- citrátová plasma										
– Protrombinový test čas	s	13,30					12,90			10,40
– Protrombinový test INR	1	1,12					1,08			0,95
– APTT	s	30,5					29,8			25,7
– APTT kontrola	s	32,3					32,3			31,7
– APTT R	.	1,02					0,99			0,86
– Trombinový test	s	15,7					16,1			
– Trombinový čas (K)	s	15,8					15,8			
– Fibrinogen koagul.	g/l	3,43					3,51			
– Fibrinogen koag. (K)	g/l	2,94					2,94			
– Etanol gelifik.test	arb.j.									
– Antitrombin	%	114								90
– Antitrombin (K)	%	95								98
– D-dimery	µg/l	249					95			
Koagulace speciál.- krev - citrátová plasma										
– Lupus antikoagulans	-									negativ.
– LA dRVVT screen	-									0,95
– Protein C	%									126
– Protein C (K)	%									109
– Protein S	%									84
– Protein S (K)	%									63
– APC rezistence V	1									1,68
– APC rezistence V	s									fiktivní
– APC rezistence V (K)	1									2,55
– Anti Xa/LMWH aktiv.	IU/ml	2,78					2,03			< 0,01
– DI Apixaban	ng/ml	243	T				122	T		

DOAC stop tablety

Testy Lupus antikoagulant před a po přidání tablety do vzorku



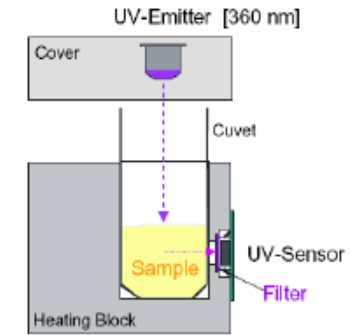
Wilcoxonův párový test $P < 0,001$

Vyhodnocení křivky generace trombinu

Princip měření: monitorování formace trombinu s fluorogenním substrátem při aktivaci koagulační kaskády tkáňovým faktorem

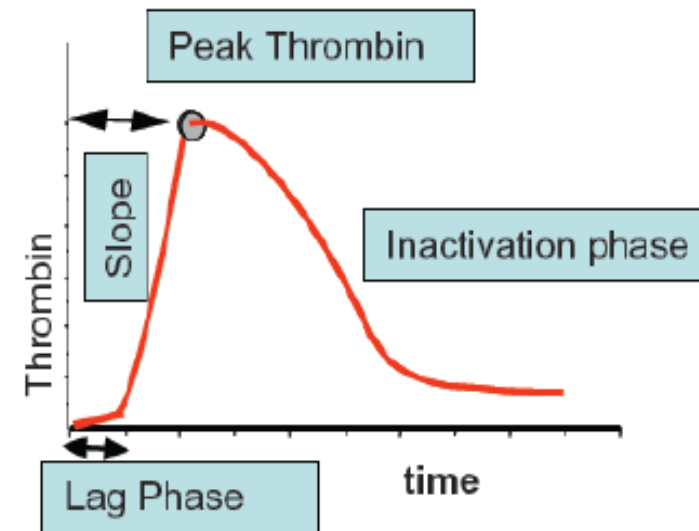


1. Fluorimetric module

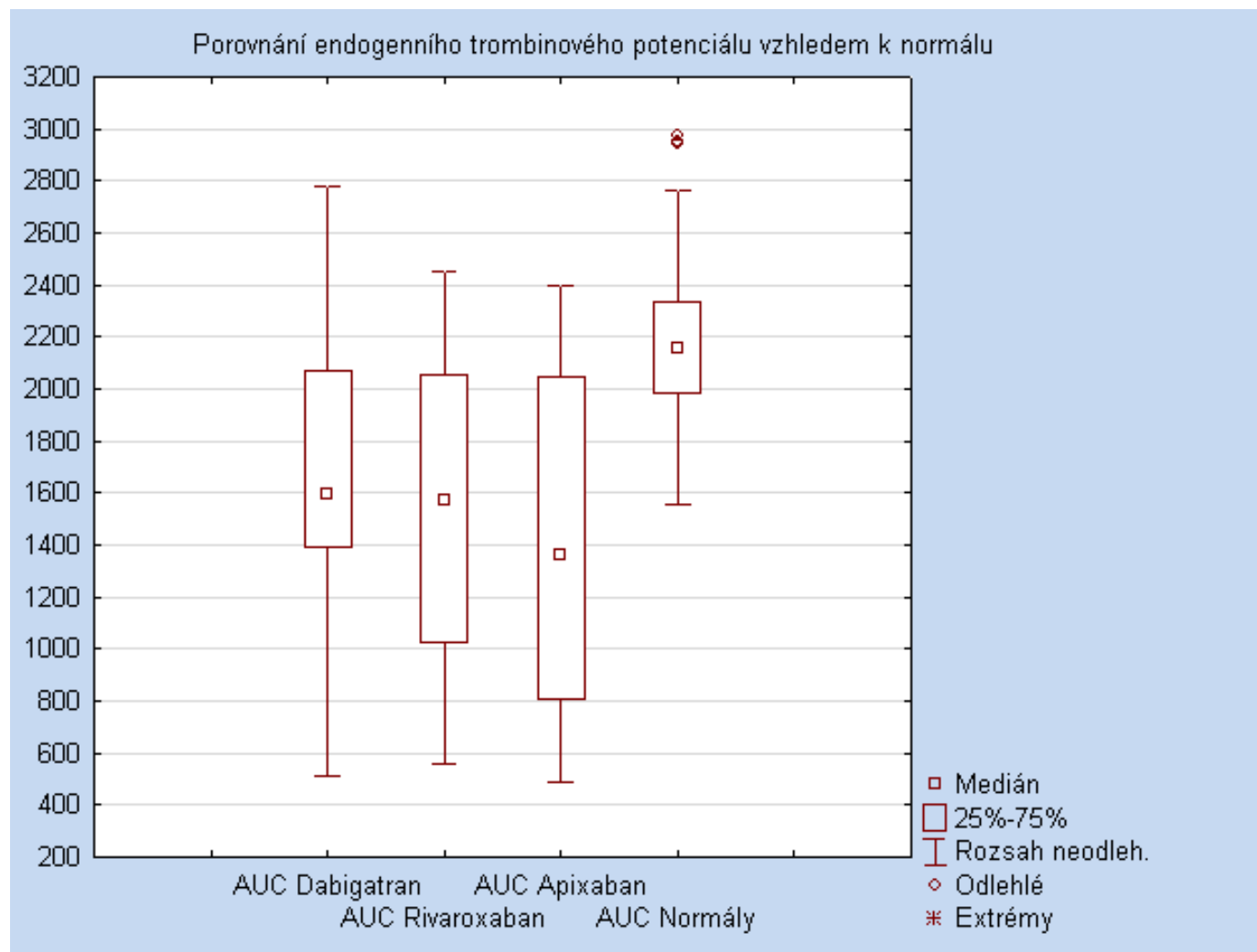


2. Measuring principal of the TGA module

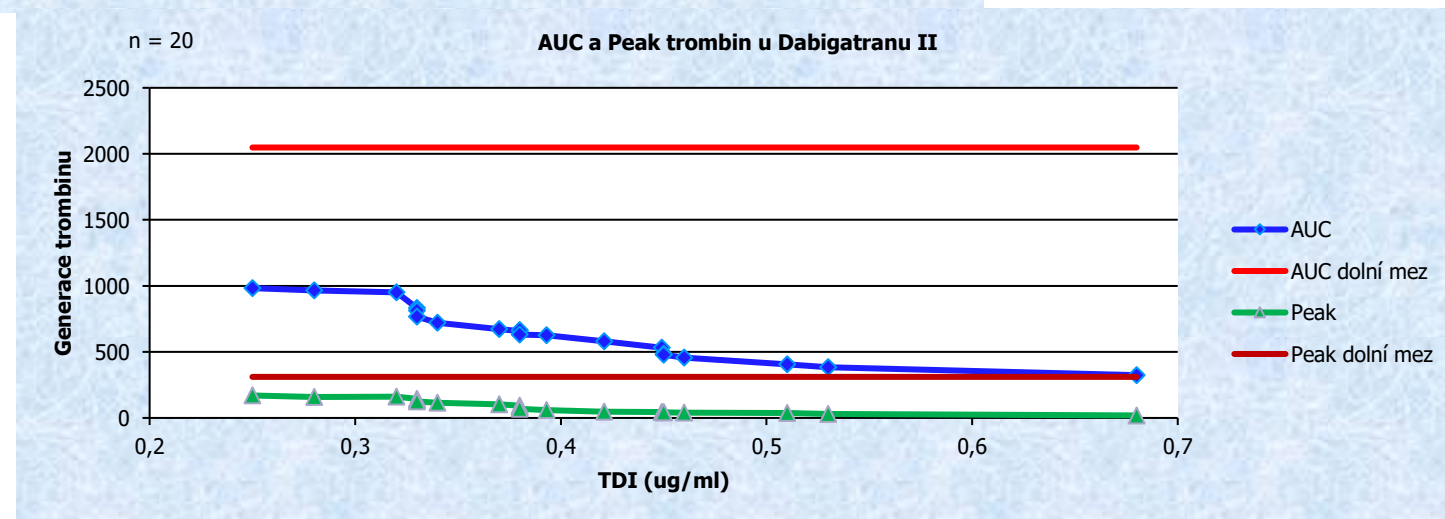
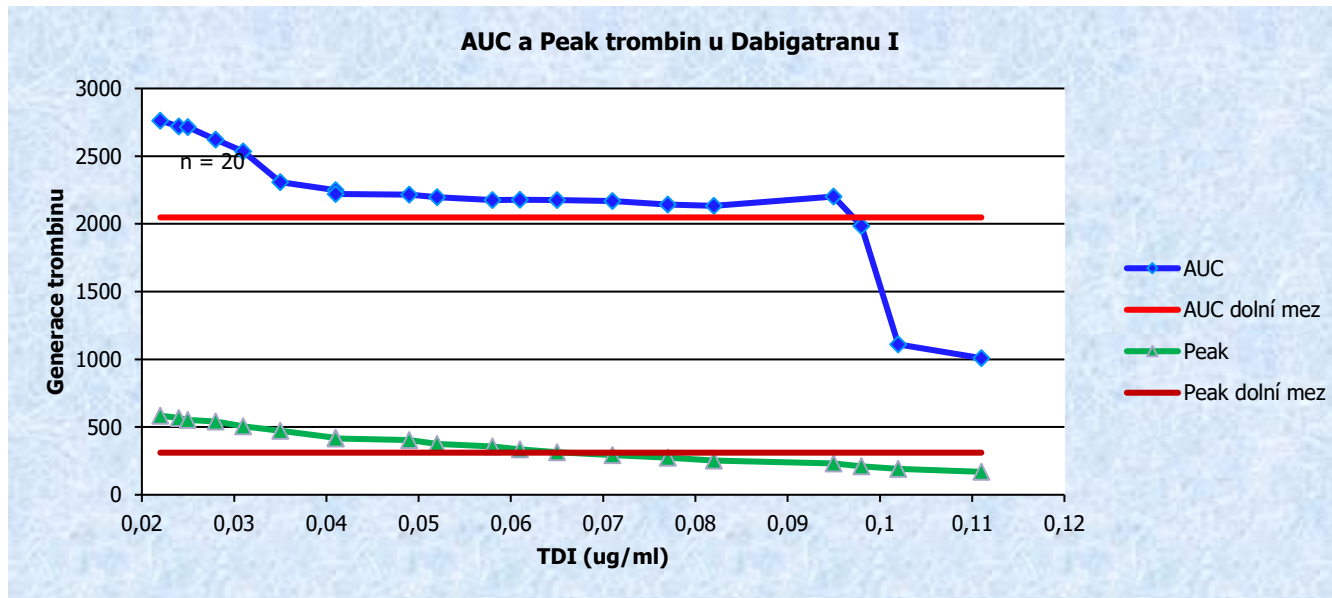
- **Lag phase** (= t_{lag})
 - Čas do začátku generace trombinu (min)
- **Peak** (= **Peak trombin**)
 - Maximální koncentrace formace trombinu (nM)
- **AUC** = ETP (Endogenní trombinový potenciál)



Snížení generace trombinu u jednotlivých typů DOAC



Vyhodnocení generace trombinu u Dabigatranu I a II



Doporučená hladina – TDI: 0,090 – 0,200 ug/ml

Závěr

Je důležité brát v úvahu, zda chceme znát koagulační odpověď organismu na antikoagulační léčbu nebo přesně stanovit koncentraci podávaného léku a podle toho volit vyšetření. Zároveň je potřeba si uvědomit všechny možné interakce a podle toho interpretovat výsledky.

Vybrané speciální testy by mohly doplnit běžně prováděná koagulační vyšetření a v kombinaci s DOAC stop tabletami by se mohl přesněji diagnostikovat trombofilní stav.

Děkujeme za pozornost

malikova.ivana@vfn.cz