

Suivi biologique des patients sous nouveaux anticoagulants oraux : qui, quand, comment ?

F. MULLIER^{1,2*}, J. DOUXFILS^{1*}, A. TAMIGNIAU², J.-M. DOGNÉ¹,
M.-H. HORELLOU³, C. FLAUJAC³, B. CHATELAIN²,
M.M.SAMAMA³, I. GOUIN-THIBAUT³

RÉSUMÉ

Plusieurs anticoagulants oraux directs (*non-VKA oral anticoagulants*, NOACs) sont maintenant largement utilisés dans la prévention et le traitement de la maladie thromboembolique. Contrairement aux antagonistes de la vitamine K, les NOACs possèdent une pharmacocinétique et une pharmacodynamique prédictibles. C'est pourquoi ils sont administrés le plus souvent à dose fixe sans suivi de la coagulation en routine. Cependant, pour certaines sous-populations ou circonstances cliniques, la mesure de l'exposition au médicament peut être utile : suspicion de surdosage, patients présentant un événement hémorragique ou thrombotique en cours de traitement, patients en insuffisance rénale, ou encore patients nécessitant une chirurgie ou un geste invasif en urgence. Cet article fournit des lignes de conduite pratiques et résume l'influence des NOACs sur les tests classiques de coagulation.

MOTS-CLÉS : monitoring, tests de coagulation, NOAC, anticoagulant, dabigatran, rivaroxaban, apixaban.

I. - INTRODUCTION

Les anticoagulants directs oraux (*non-VKA oral anticoagulants*, NOACs) (1) (rivaroxaban : Xarelto® ; dabigatran étexilate : Pradaxa® ; apixaban : Eliquis®) sont aujourd'hui largement répandus dans la pratique clinique. Leur utilisation implique une évolution des pratiques de prise en charge et du suivi des patients. Il est donc important d'en connaître la pharmacologie (Tableau I) (2-4).

La pharmacocinétique et la pharmacodynamique de ces nouvelles molécules ont été présentées comme largement prévisibles, rendant le suivi biologique inutile chez une grande majorité des patients (5-7). Cependant, une variabilité inter-individuelle et des interactions médicamenteuses ont été décrites avec les NOACs, pouvant entraîner des modifications de leurs concentrations circulantes. Ainsi, certaines catégories de patients risquent d'être exposées à des concentrations infra- ou supra-thérapeutiques lors de l'administration d'une posologie standard (5-11).

Cette revue a pour but de décrire pourquoi, quand et comment envisager une mesure de la concentration circulante des NOACs chez les patients traités. Une partie de cette publication sera également consacrée à l'interprétation des résultats des tests d'hémostase, utilisés par exemple dans les bilans réalisés lors de la recherche d'un facteur de risque biologique de thromboses, et à une mise au point concernant les accidents hémorragiques chez les patients traités par les NOACs. Tous les articles sur le monitoring des NOACs parus entre 2010 et mars 2014 ont été revus pour rédiger cet article de synthèse.

* Ont contribué de façon égale.

¹ Department of Pharmacy, Namur Thrombosis and Hemostasis Center (NTHC), Namur Research Institute for Life Sciences (NARILIS), University of Namur, Belgium.

² Hematology Laboratory, NTHC, NARILIS, CHU Dinant-Godinne UCL Namur, Université Catholique de Louvain, Belgium.

³ Groupe Hospitalier Cochin-Broca-Hôtel-Dieu, Paris, France.

Tableau I - Résumé des propriétés pharmacocinétiques des NOACs.

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
Cible	Thrombine	Facteur Xa	Facteur Xa
Prodrogue	Oui	Non	Non
Tmax (h)	1,5 - 3,0	2,0 - 4,0	3,0 - 4,0
Volume de distribution	60 - 70	± 50	23
Temps de demi-vie (h)	Individus sains : 11 Patients âgés : 12 - 13	Individus sains : 5 - 9 Patients âgés : 11 - 13	8 - 15 (individus sains)
Biodisponibilité	Dabigatran étexilate : 3 - 7 %, sensibilité au pH	10 mg : 80 - 100 % 15 - 20 mg à jeun : 66 %	± 50 %
Liaison aux protéines plasmatiques	35 %	> 90 %	87 %
Métabolisme	Conjugaison	Mécanisme dépendant et indépendant du cytochrome P450	Mécanisme dépendant du cytochrome P450
Métabolites actifs	Oui (glucurono-conjugués)	Non	Non
Élimination	80 % via les reins, 20 % par la bile (glucurono-conjugués)	33 % inchangés via les reins, 66 % métabolisés au niveau du foie et éliminés par voie rénale ou fécale dans un ratio 50/50	25 % inchangés via les reins, 75 % via le foie et éliminés via la voie hépato-biliaire dans les fèces
Effets de la nourriture	Tmax allongé ; Cmax et ASC inchangés	Tmax allongé ; Cmax et ASC augmentés (76 % et 30 - 40 %, respectivement)	Tmax allongé ; Cmax et ASC inchangés
Substrat CYP	Non	CYP3A4, CYP2J2	CYP3A4
Substrat P-gp	Dabigatran étexilate : oui	Oui	Oui

Abréviations. ASC : aire sous la courbe ; Cmax : concentration maximale dans l'intervalle de prise ; CYP : cytochrome P450 ; P-gp : glycoprotéine-P ; Tmax : temps après la prise où la concentration est maximale.

II. - POURQUOI MESURER L'ACTIVITÉ ANTICOAGULANTE DES NOACs ?

La majorité des données biologiques concernant les concentrations circulantes des NOACs ont été publiées avec le dabigatran.

Récemment, une nouvelle analyse de l'étude RE-LY, pour la prévention des accidents vasculaires cérébraux (AVC) et des embolies systémiques chez les patients atteints de fibrillation atriale (FA) non valvulaire, a mis en évidence une corrélation entre les concentrations plasmatiques en dabigatran et, d'une part, le risque d'AVC d'origine ischémique et, d'autre part et surtout, le risque d'hémorragie majeure (11). Les auteurs concluent qu'une adaptation personnalisée de la posologie sur la base des caractéristiques individuelles du patient pourrait améliorer la balance bénéfico-risque de l'utilisation du dabigatran (11).

Concernant le rivaroxaban et l'apixaban, on ne dispose actuellement pas de données aussi étayées sur la corrélation entre concentrations plasmatiques et un potentiel effet thérapeutique ou délétère. Cependant, selon la FDA

(*Food and Drug Administration*), une augmentation relative du risque de saignement majeur de 50 % est observée lorsque le pic de concentration (C_{max}) de rivaroxaban est augmenté de 200 % par des facteurs intrinsèques ou extrinsèques (12). Une approche similaire est mentionnée également pour l'apixaban (13).

La mesure de la concentration circulante des NOACs pourrait également être intéressante pour estimer si le patient est bon répondeur au traitement, compte tenu de l'importante variabilité inter-individuelle de réponse au traitement (14). Cependant, actuellement, aucune donnée clinico-biologique ne permet de définir la notion de « bon répondeur ».

Il est important de garder à l'esprit que les patients inclus dans les études cliniques ont été précautionneusement sélectionnés (exclusion des patients peu adhérents au traitement, des insuffisants rénaux sévères, des patients à risque hémorragique,...) et ne représentent pas une population dans un contexte d'utilisation courante. Même dans ces populations sélectionnées, un pourcentage significatif d'effets indésirables a été observé. Cela confirme

l'idée que le profil de sécurité et d'efficacité de ces molécules peut encore être optimisé, et que le concept d'une dose identique pour tous n'est peut-être pas la meilleure approche à adopter (15).

Par ailleurs, l'absence de suivi biologique tel qu'il est réalisé pour les patients traités par les anti-vitamines K (AVK) entraîne un risque de perte de vue du patient, ou du moins, de ne plus pouvoir assurer un suivi clinique régulier, avec pour conséquence un moindre contrôle de la tolérance, des effets indésirables et de l'observance du traitement (15).

Enfin, en cas de geste invasif urgent ou de saignement chez un patient traité par NOAC, la mesure de la concentration circulante pourra permettre d'optimiser la prise en charge des patients. En l'absence d'études publiées sur la gestion péri-opératoire des NOACs, des propositions françaises de gestion péri-opératoire de patients traités par rivaroxaban ou dabigatran et devant subir une chirurgie ou un acte invasif ou présentant un saignement, ont été émises par le GIHP (Groupe d'Intérêt en Hémostase Péri-opératoire) (16).

III. - QUAND FAUT-IL MESURER L'ACTIVITÉ ANTICOAGULANTE DES PATIENTS SOUS NOACs ?

La mesure de l'activité anticoagulante des NOACs est indiquée dans plusieurs situations cliniques aiguës (11, 14, 15, 17-19):

- récurrence d'épisodes thrombotiques ou hémorragiques ;
- avant toute procédure invasive ou chirurgie d'urgence (dernière administration datant de 24 heures, ou plus en cas de clairance à la créatinine (CL_{CR}) < 50 mL/min) ;
- avant l'instauration d'un traitement fibrinolytique pour AVC ischémique ;
- relais d'un anticoagulant par un autre ;
- patients « fragiles » présentant des facteurs de risque hémorragiques et/ou thrombotiques (âge, insuffisance rénale et/ou hépatique, interactions médicamenteuses) ;
- poids corporel extrême (< 50 kg ou > 120 kg) ;
- gestion des patients recevant un traitement antagoniste ;
- contrôle de compliance.

IV. - COMMENT MESURER L'ACTIVITÉ ANTICOAGULANTE DES PATIENTS SOUS NOACs ?

L'interprétation adéquate des résultats de laboratoire dans le cadre du suivi des NOACs nécessite la collecte de certaines informations : âge, poids, molécule, posologie, nombre d'administrations par jour, heure de la dernière administration, indication thérapeutique, fonction rénale et fonction hépatique.

A) Fonction rénale

Il est préférable de privilégier, y compris chez le sujet âgé, la formule de Cockcroft-Gault pour estimer la fonction rénale plutôt que la formule du MDRD (*Modification of the Diet in Renal Disease*). En effet, le MDRD a tendance à surestimer la fonction rénale dans les valeurs basses, ce qui risque de conduire à terme à la prescription des NOACs à des posologies inadaptées ou chez des patients non éligibles pour un tel traitement (20).

La fonction rénale doit être mesurée en cas de suspicion d'insuffisance rénale chronique, mais également dans des situations plus aiguës (déshydratation, hypovolémie,...). En cas d'altération de la fonction rénale, une grande prudence est de mise. Ainsi, le dabigatran est-il contre-indiqué chez les patients avec une CL_{CR} < 30 mL/min, et une réduction de la dose peut être considérée chez les patients ayant une CL_{CR} entre 30 et 50 mL/min présentant un risque hémorragique élevé. L'utilisation de rivaroxaban ou d'apixaban n'est pas recommandée chez des patients ayant une CL_{CR} < 15 mL/min. Pour les patients avec une CL_{CR} entre 15 et 50 mL/min, la dose de rivaroxaban doit être réduite à 15 mg 1 fois par jour dans la FA. Une réduction de la dose à 15 mg 1 fois par jour est proposée chez les patients traités pour la prévention de la thromboembolie veineuse et de l'embolie pulmonaire, pour autant que le risque hémorragique supplante le risque thromboembolique (5). Pour les patients sous apixaban, une adaptation de la dose à 2,5 mg 2 fois par jour est conseillée pour les patients avec un CL_{CR} entre 15 et 29 mL/min.

B) Quels tests de coagulation pour la mesure de l'activité anticoagulante ?

Les NOACs affectent les tests de coagulation de routine (temps de céphaline avec activateur [TCA], taux de prothrombine [TP], temps de thrombine [TT], dosage du fibrinogène), avec un effet maximal lorsque le pic plasmatique est atteint (2 à 4 heures après administration suivant la molécule). Pour interpréter un bilan réalisé chez un patient traité par NOAC, il est donc essentiel de connaître la dose et le délai écoulé depuis la dernière prise.

Le **tableau II** reprend les concentrations plasmatiques moyennes observées, dans les différentes indications cliniques, lorsque le patient a atteint l'état d'équilibre (4-7). Ces concentrations ont permis au GIHP de proposer plusieurs seuils décisionnels pour l'utilisation du dabigatran et du rivaroxaban dans un contexte péri-opératoire (**Tableau III**) (16).

1) Dabigatran

a) Temps de céphaline avec activateur

Les récentes recommandations de l'ISTH (*International Society on Thrombosis and Haemostasis*) suggèrent l'utilisation du TCA pour apprécier l'intensité relative de l'anticoagulation sous dabigatran (19). Cependant, ce test ne peut être utilisé pour mesurer directement la concentration plasmatique. En effet, il s'agit avant tout d'un test d'appré-

Tableau II - Concentrations plasmatiques du dabigatran et du rivaroxaban à l'état stationnaire, en fonction de l'indication^{a,b}.

Concentration plasmatique (ng/mL)		
	Dabigatran	Rivaroxaban
Thromboprophylaxie après athroplastie		
Cmax	Moyenne (25 ^{ème} - 75 ^{ème} percentile) : 70,8 (35,2 - 162,0)	Moyenne (10 ^{ème} - 90 ^{ème} percentile) : 101,0 (7,0 - 273,0)
Cmin	Moyenne (25 ^{ème} - 75 ^{ème} percentile) : 22,0 (13,0 - 35,7) Seuil de surdosage > 67	Moyenne (min - max dans l'intervalle de prise) : 14,0 (4,0 - 51,0)
Prévention des AVC dans les fibrillations auriculaires non valvulaires		
Cmax	Moyenne (25 ^{ème} - 75 ^{ème} percentile) : 175,0 (117,0 - 275,0)	Moyenne (5 ^{ème} - 95 ^{ème} percentile) : 249,0 (184,0 - 343,0)
Cmin	Moyenne (25 ^{ème} - 75 ^{ème} percentile) : 91,0 (61,0 - 143,0) Seuil de surdosage > 200	Moyenne (5 ^{ème} - 95 ^{ème} percentile) : 44,0 (12,0 - 137,0)
Traitement et prévention de la thrombose veineuse profonde et de l'embolie pulmonaire		
Cmax	Approuvé par la FDA	Moyenne (10 ^{ème} - 90 ^{ème} percentile) : 215,0 (22,0 - 535,0)*
Cmin	Pas de données sur les concentrations plasmatiques	Moyenne (10 ^{ème} - 90 ^{ème} percentile) : 32,0 (6,0 - 239,0)*
Prévention des événements athérotrombotiques		
Cmax	Indication non approuvée	Moyenne (10 ^{ème} - 90 ^{ème} percentile) : 47,0 (13,0 - 123,0)
Cmin		Moyenne (10 ^{ème} - 90 ^{ème} percentile) : 9,2 (4,4 - 18,0)

(a) Les données sont extraites du *Résumé des Caractéristiques du Produit* disponible sur le site de l'Agence Européenne du Médicament (*European Medicines Agency*, EMA) sauf * : données provenant d'une étude réalisée chez des patients présentant une fibrillation atriale non valvulaire, traités par rivaroxaban pour la prévention des AVC ($CL_{CR} \geq 50,0$ ml/min) (4).

(b) À l'heure actuelle, il n'existe pas de données spécifiques par indication concernant l'apixaban. Néanmoins, une étude ayant pour objectif d'évaluer la sécurité de l'utilisation concomitante d'apixaban à une dose de 20 mg par jour avec de l'énoxaparine mentionne des valeurs moyennes de Cmax à 469 ng/mL pour une prise unique, et de 267 ng/mL pour une prise bi-quotidienne (étude APPRAISE-1 (43)). Une autre étude mentionne qu'une dose de 5 mg par jour d'apixaban en une prise donne une Cmax moyenne de 96 ng/mL, tandis qu'une dose bi-quotidienne de 2,5 mg donne une Cmax moyenne de 68 ng/mL (44). Il a également été rapporté que les concentrations plasmatiques d'apixaban ne varient que de 15 à 20 % entre le pic (2 à 5 h post-prise) et la vallée (10 à 14 h post-prise), que ce soit à une dose bi-quotidienne de 2,5 mg ou de 10 mg. Dans une étude récente chez des volontaires sains, les valeurs moyennes de Cmax et Cmin après administration de doses répétées (n = 7) étaient de 62 ng/mL et 21 ng/mL, respectivement, pour une dose bi-quotidienne de 2,5 mg, et de 128 ng/mL et 48 ng/mL, respectivement, pour une dose bi-quotidienne de 5 mg (3). Chez des patients bénéficiant d'une prothèse de genou, les valeurs médianes de Cmin étaient de 56 ng/mL pour une dose bi-quotidienne de 2,5 mg, et de 107 ng/mL pour une dose bi-quotidienne de 5 mg (45).

Abréviations. Cmax : concentration maximale dans l'intervalle de prise ; Cmin : concentration minimale dans l'intervalle de prise.

ciation globale de la coagulation, de sensibilité limitée, et particulièrement sensible aux variables pré-analytiques et biologiques (21-23). De plus, il n'existe pas de relation linéaire entre le résultat du TCA et la concentration plasmatique du dabigatran (24-26). Les réactifs du TCA actuellement disponibles sur le marché montrent des sensibilités variables au dabigatran. Chaque laboratoire doit donc être conscient de la sensibilité aux NOACs du réactif qu'il utilise et doit définir ses propres seuils pour les résultats, qu'ils soient exprimés en termes de temps (seconde) ou de ratio (24, 25).

b) Taux de prothrombine et INR

Le TP n'est pas un test fiable pour les patients traités par dabigatran, et son expression en INR (*International Normalized Ratio*) peut conduire à de « fausses » interpré-

tations par similitude aux AVK (25, 26). Il n'est dès lors pas recommandé de suivre les patients sous dabigatran par l'INR ou le TP. Les réactifs disponibles sur le marché possèdent également des sensibilités variables au dabigatran (25).

c) Temps de thrombine

Le TT présente plusieurs avantages par rapport au TCA : il n'est pas influencé par les déficits en facteurs (excepté en fibrinogène), ni par la présence d'un anticoagulant lupique, ni par l'élévation du facteur VIII (FVIII) dans les contextes inflammatoires. Cependant, il reste sensible aux variables analytiques, ce qui rend difficile sa standardisation.

En cas de TT normal, un effet anticoagulant cliniquement relevant du dabigatran peut être exclu.

Tableau III - Propositions du GIHP concernant l'utilisation du dabigatran et du rivaroxaban en périopératoire.

Concentration mesurée	Propositions
< 30 ng/mL* ou ratio TCA \leq 1,2 (dabigatran)** ou TP \leq 1,2 (rivaroxaban)**	Le geste invasif peut avoir lieu sans majoration du risque hémorragique
30 - 200 ng/mL* ou ratio $1,2 \leq$ TCA \leq 1,5 ou TP > 1,2 (similaire pour les deux produits)**	Intervalle de concentrations thérapeutiques <ul style="list-style-type: none"> ➤ Reporter l'intervention de 12 heures et refaire un dosage de la concentration du dabigatran ou rivaroxaban ➤ Si intervention invasive urgente : intervention avec antagonisation des anomalies de la coagulation
200 - 400 ng/mL* ou ratio TCA > 1,5 (similaire pour les deux produits)**	Risque hémorragique mineur <ul style="list-style-type: none"> ➤ Reporter l'intervention de 12 heures et refaire un dosage de la concentration du dabigatran ou rivaroxaban ➤ Si intervention invasive urgente : <ul style="list-style-type: none"> - reporter un maximum l'intervention - intervention avec antagonisation des anomalies de la coagulation - envisager une hémodialyse surtout si $CL_{CR} < 50$ mL/min (avec le dabigatran)
> 400 ng/mL*	Surdosage / Risque hémorragique majeur <ul style="list-style-type: none"> ➤ Envisager une hémodialyse (avec le dabigatran)

* La mesure/estimation des concentrations plasmatiques doit être effectuée à l'aide d'un test spécifique calibré (dabigatran : Hemoclot® Thrombin Inhibitors (HTI) ou STA®-ECA II (ECA) ; rivaroxaban : test chromogénique anti-Xa dédié à la mesure des inhibiteurs directs du FXa). Une mesure par LC-MS/MS est toujours préférable, mais n'est pas largement répandue et accessible. Elle permet de pallier aux limites de quantification des tests spécifiques actuels (HTI : ± 50 ng/mL et test chromogénique anti-Xa : 30 ng/mL). Cependant, des adaptations de ces tests spécifiques seront bientôt proposées pour remédier à ces limitations.

** L'utilisation du TCA pour le dabigatran et du TP pour le rivaroxaban est une version dégradée en cas d'indisponibilité immédiate de dosage spécifique. Remarque : le TCA et le TP peuvent être perturbés pour d'autres raisons que l'anticoagulant. Chaque laboratoire doit redéterminer l'intervalle de référence en ratio pour chaque combinaison réactif/instrument. Le temps de thrombine permet d'exclure la présence de dabigatran s'il se trouve dans l'intervalle de référence.

Abréviations. TCA : temps de céphaline avec activateur ; TP : taux de prothrombine ; CL_{CR} : clairance à la créatinine.

d) Tests spécifiques de la cible (anti-IIa) : temps de thrombine dilué et test à l'écarine

Des trousse commercialisées permettent de mesurer l'activité anti-IIa du dabigatran (STA® ECA-II, Diagnostica Stago® ; Hemoclot® Thrombin Inhibitors, Hyphen Biomed®). La mesure nécessite une configuration de l'appareil, une calibration et des contrôles spécifiques. Les résultats exprimés en concentrations dites pondérales (ng/mL) sont obtenus à partir d'une droite de calibration établie à l'aide de plasmas titrés surchargés en dabigatran ou de plasmas de patients traités par dabigatran étexilate.

Le « temps de thrombine dilué » (dTT) est un test chromométrique ou chromogénique réalisé avec le plasma dilué dans des conditions définies, avec addition de thrombine. La mise au point de ce test, moins sensible que le temps de thrombine, calibré avec des standards de dabigatran, permet d'établir une quantification précise des concentrations plasmatiques (24-26). Concrètement, 50 μ L de plasma sont dilués selon un ratio 1/8 dans de l'Owren-Koller® et incubés pendant 240 secondes avec un pool de plasma normal (fourni avec le test). Après cette période d'incubation, 100 μ L de thrombine calcique humaine sont ajoutés, déclenchant le chronomètre. Ce test

est tout à fait automatisable et peut être implémenté sur différents coagulomètres couramment utilisés. Une étude a récemment montré qu'il présentait une bonne concordance avec la détermination par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Cependant, en deçà de 50 ng/mL, une détermination par LC-MS/MS est préférable (23).

Le test chromométrique est sensible à la présence dans le plasma d'héparine non fractionnée (HNF), mais à des concentrations relativement élevées (> 0,75 UI/mL) contrairement au test chromogénique, qui contient un inhibiteur de l'HNF et des héparines de bas poids moléculaire (HBPM). Ce test est également utilisé pour le monitoring de l'hirudine et de l'argatroban, qui pourront *de facto* influencer le test s'ils sont présents dans le plasma du patient. Il convient donc d'être particulièrement attentif à renseigner la prise de ces molécules, notamment lors d'un *switch* héparine/hirudine vers dabigatran étexilate (23).

Le test à l'écarine est un test chromogénique basé sur l'utilisation de l'écarine, une protéase purifiée extraite du venin de la vipère *Echis carinatus*. L'écarine transforme la prothrombine en meizothrombine, capable de cliver un

substrat chromogène. La meizothrombine est sensible à l'action inhibitrice des anti-IIa directs, mais est insensible à l'héparine et à ses dérivés, ou à l'antithrombine.

Quelle que soit la méthode choisie, chaque laboratoire doit avoir connaissance des limites de détection et de quantification pour le test utilisé.

2) Rivaroxaban et apixaban

a) Temps de céphaline avec activateur et temps de thrombine

Le TCA est moins influencé que le TP par les agents anti-Xa, mais il existe une différence de sensibilité selon les réactifs disponibles sur le marché. Le rivaroxaban et l'apixaban n'influencent pas le TT (27).

b) Taux de prothrombine

Les différents réactifs de TP présentent une sensibilité différente au rivaroxaban (27) et à l'apixaban (28-30). En ce qui concerne le rivaroxaban, l'ISTH recommande l'utilisation du TP pour apprécier l'intensité relative de l'anticoagulation, mais rappelle que le TP ne permet pas la quantification des concentrations plasmatiques de rivaroxaban (19). De plus, celui-ci présente parfois une faible sensibilité suivant le réactif, suggérant une grande variabilité inter-réactifs, et une mauvaise concordance avec la LC-MS/MS (28, 29).

En ce qui concerne l'apixaban, le TP peut être tout à fait normal pour des gammes de concentration thérapeutiques et ne peut renseigner le clinicien que sur une prise éventuelle du traitement (si le réactif est suffisamment sensible), mais absolument pas sur la concentration plasmatique (28-30). Rappelons également que tout autre facteur susceptible d'influencer le TP risque de perturber le test et de mener à une interprétation erronée.

c) Tests spécifique de la cible (anti-Xa) : tests chromogéniques anti-Xa

Les tests chromogéniques anti-Xa présentent l'avantage d'être moins sensibles aux conditions de collecte de l'échantillon et à la concentration en facteurs (31). Pour le rivaroxaban, plusieurs équipes ont montré que ces tests présentaient une bonne concordance avec la LC-MS/MS pour des concentrations > 30 ng/mL (32-34). En deçà de 30 ng/mL, le dosage par LC-MS/MS est recommandé (24). Pour l'apixaban, nous avons montré une bonne concordance entre les valeurs d'activité anti-Xa mesurées à l'aide de calibrants et contrôles spécifiques et la LC-MS/MS pour des concentrations d'apixaban comprises entre 100 et 400 ng/mL et après dilution du plasma pour les valeurs au-delà (29).

Plusieurs troussees basées sur la mesure de l'activité anti-Xa chromogénique sont commercialisées par différentes sociétés (STA® - Liquid anti-Xa, Diagnostica Stago® ; Biophen® Direct Factor Xa Inhibitors, Hyphen Biomed ; HemosIL® Liquid anti-Xa, Instrumentation Laboratory® (non validé actuellement) ; Technochrom® anti-Xa kit, Technoclone®). Ils reposent sur une méthodologie diffé-

rente de celle utilisée pour les héparines et qui nécessite une configuration, des calibrants et des contrôles spécifiques. Les différents kits dédiés à la mesure des inhibiteurs directs du facteur Xa (FXa) possèdent une méthodologie qui leur est propre, mais la procédure est toujours basée sur l'activité résiduelle de FXa endogène apporté en excès inhibé par l'anti-Xa présent dans le plasma du patient. Le FXa résiduel pourra alors venir cliver un substrat chromogénique spécifique libérant de la *p-nitroaniline* dont l'absorbance peut être suivie spécifiquement à 405 nm. Les résultats, exprimés en concentrations pondérales (ng/ml), sont obtenus à partir d'une droite de calibration établie à l'aide de plasmas titrés surchargés en rivaroxaban ou en apixaban, ou de plasmas de patients. Il n'existe pas de recommandations relatives au choix du test chromogénique anti-Xa à l'heure actuelle. Néanmoins, il semble préférable de choisir des kits spécifiquement dédiés au dosage des NOACs, sur des plateformes spécifiques, en respectant une homogénéité en utilisant le calibrateur du fabricant du test chromogénique (34). Quelle que soit la méthode choisie, chaque laboratoire doit avoir connaissance des limites de détection et de quantification pour le test utilisé.

Rappelons que ces tests ne sont pas disponibles dans tous les centres, compliquant la prise en charge des patients lors de situations urgentes.

3) Conditions de prélèvement, de prise en charge et de stockage des échantillons

Le prélèvement se fait par ponction au niveau de la veine antécubitale au moyen d'une aiguille de 19 à 21 G. Les échantillons sont collectés dans des tubes citratés (citrates de calcium à 109 mM - ratio 1/9). Un remplissage insuffisant du tube et des températures extrêmes sont à éviter (35). Il convient de centrifuger au plus vite les échantillons après collecte pendant au moins 15 minutes à minimum 1 500 x g (une double centrifugation doit être réalisée lorsque l'analyse ne peut être faite immédiatement) (35).

Pour le dosage des NOACs, l'analyse peut être réalisée dans les 4 heures après la collecte si l'échantillon est maintenu à température ambiante. Pour une analyse différée, il est conseillé de conserver l'échantillon à -20 °C pour au maximum deux semaines. Pour un stockage à plus long terme, la conservation s'effectue à maximum -70 °C (35).

Un résumé pratique sur la mesure l'activité anticoagulante des patients sous NOACs est présenté dans le **tableau IV**.

V. - INFLUENCE DES NOACs SUR LES AUTRES TESTS DE COAGULATION

Le **tableau V** résume les effets des différents anticoagulants sur les tests de coagulation de routine. L'interférence du dabigatran avec le dosage du fibrinogène par la méthode de Clauss dépend directement du réactif utilisé,

Tableau IV - Implications pour la pratique.

- I. Un test de coagulation peut être utile chez les patients sous NOACs en cas de suspicion de surdosage, ou en cas d'événement hémorragique ou thrombotique, ainsi que chez les patients avec insuffisance rénale aiguë, ou les patients qui nécessitent une chirurgie ou un geste invasif en urgence.
- II. Afin de permettre une interprétation correcte des résultats de tests de coagulation, les informations cliniques suivantes doivent être collectées et fournies au laboratoire : âge, poids, médicament, dose, nombre d'administrations par jour, heure de la dernière administration, indication.
- III. Les tests de coagulation utilisés en routine (temps de céphaline avec activateur, taux de prothrombine, temps de thrombine) peuvent fournir une information qualitative, mais non quantitative, sur la concentration du médicament.
- IV. La réponse des tests de coagulation varie selon les réactifs utilisés. L'interprétation de ces tests devra tenir compte de ces différences de sensibilité.
- V. Un lien entre concentration du médicament et événements cliniques (hémorragie, thrombose) a uniquement été démontré pour le dabigatran actuellement.

et plus particulièrement de sa concentration en thrombine. Le rivaroxaban et l'apixaban n'interfèrent pas sur le dosage de fibrinogène déterminé par la méthode de Clauss. En ce qui concerne la méthode du fibrinogène dérivé du TP, on observe une surestimation dépendant de la sensibilité de la thromboplastine utilisée en présence de fortes concentrations de rivaroxaban ou d'apixaban. L'influence du dabigatran sur cette méthode est minime.

De par leur mode d'action, le rivaroxaban et l'apixaban sont susceptibles d'interférer avec les mesures d'activité anti-Xa chromogénique comme l'HNF, les HBPM, le fondaparinux (Arixtra®) ou le danaparoiide (Orgaran®).

Le dabigatran influence le dosage de l'antithrombine si la mesure de l'activité se base sur le facteur IIa (FIIa), mais pas si l'on utilise un test insensible basé sur le FXa (25). L'inverse s'applique pour le rivaroxaban et l'apixaban (27, 28).

Pour le dosage des facteurs de coagulation, on constate une diminution concentration-dépendante chez les patients sous dabigatran. L'impact est plus marqué sur la voie intrinsèque (dabigatran – TCA) (36), ou sur la voie extrinsèque (rivaroxaban-apixaban – TP) (37, 38). Cet effet disparaît lorsque des dilutions plus importantes du plasma sont utilisées (36-38). Pour minimiser au maximum l'influence des NOACs sur le dosage de facteurs, il est conseillé d'utiliser des réactifs de TCA ou de TP insensibles ou peu sensibles.

Pour les tests chromogéniques de dosage de facteurs, le rivaroxaban n'influence pas la détermination de l'activité du facteur XIII (38), mais il exerce un effet concentration-dépendant sur le test chromogénique de détermination de l'activité FVIII (39, 40).

Dans les bilans réalisés pour la recherche d'un facteur de risque biologique de thrombose, une évaluation de la résistance à la protéine C activée (RPCA), une mesure des taux d'antithrombine, de protéine C et de protéine S, et une recherche d'anticoagulant lupique peuvent être

requis. Le dabigatran provoque une fausse augmentation de l'activité de la protéine S évaluée par une méthode dérivée du TP, et influence la mesure de la RPCA et du temps de venin de vipère de Russell dilué (*dilute Russell's viper venom time*, dRVVT). Cependant, il n'influence pas les tests immunologiques, chromogéniques et par méthode ELISA pour ces mêmes mesures (36).

Le rivaroxaban et l'apixaban montrent un impact similaire à celui du dabigatran sur les tests chronométriques. Seuls les tests activant directement la thrombine, ou en apportant de façon exogène, ne sont pas influencés par ces molécules et pourraient être utilisés comme alternative (41).

Cependant, si aucune alternative n'est disponible, il paraît préférable de réaliser ces tests lorsque la concentration plasmatique de ces traitements est la plus faible (à C_{min} ; avant la prochaine prise du médicament), afin de minimiser au maximum l'impact de ces molécules sur les différents essais. Dans ce cas, il est primordial de s'assurer qu'il n'y ait pas, chez le patient, de facteurs prédisposant à une élimination réduite du produit.

Ainsi, en présence de dabigatran, de rivaroxaban ou d'apixaban, les taux de protéine S et de protéine C mesurés par techniques chronométriques peuvent être faussement élevés et masquer un déficit. Il en est de même avec la mesure de l'antithrombine, en fonction des réactifs utilisés. Les ratios de RPCA peuvent être aussi faussement élevés et conduire à des faux-négatifs. Enfin, une fausse positivité du dRVVT a été rapportée avec chacun de ces trois NOACs (27, 28, 36, 38, 40, 42).

Nous pouvons conclure que majoritairement, les NOACs influencent les tests coagulométriques, mais n'influencent pas les tests immunologiques, chromogéniques et ELISA (27, 28, 36, 38, 40, 42) (Tableau V). La plus grande vigilance doit être de mise lors de la réalisation de bilans de la coagulation chez les patients traités par NOACs.

Tableau V - Influence du dabigatran, du rivaroxaban et de l'apixaban sur les tests de coagulation.

Tests de coagulation	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
Taux de prothrombine (TP)	Temps prolongé + (en fonction des réactifs)	Temps prolongé + à +++ (en fonction des réactifs)	Temps non prolongé ou prolongé + (en fonction des réactifs)
Temps de céphaline avec activateur (TCA)	Temps prolongé + à +++ (en fonction des réactifs)	Temps prolongé + (en fonction des réactifs)	Temps prolongé + (en fonction des réactifs)
Temps de coagulation activée*	Temps prolongé ++	Temps prolongé +	Temps prolongé +
Facteurs de coagulation basés sur le temps de quick (II, VII, IX, X)	Diminution limitée (en fonction des réactifs)	Diminution limitée (en fonction des réactifs)	Diminution limitée (en fonction des réactifs)
Facteurs de coagulation basés sur le TCA (VIII, IX, XI)	Diminution limitée (en fonction des réactifs)	Diminution limitée (en fonction des réactifs)	Diminution limitée (en fonction des réactifs)
Fibrinogène (méthode de Clauss)**	Pas d'influence ou diminution (en fonction des réactifs)	Pas d'influence	Pas d'influence
D-dimères	Pas d'influence	Pas d'influence	Pas d'influence
Temps de thrombine (TT)	Temps prolongé +++	Pas d'influence	Pas d'influence
Activité anti-Xa***	Pas d'influence	Surestimation variable	Surestimation variable
Anticoagulant lupique (dRVVT)	Faux positifs	Faux positifs	Faux positifs
Antithrombine basée sur anti-Xa	Pas d'influence	Augmentation d'environ 10 % par 100 ng/ml	Augmentation d'environ 10 % par 100 ng/ml
Antithrombine basée sur anti-IIa	Augmentation d'environ 5-10 % par 100 ng/ml	Pas d'influence	Pas d'influence
Protéine C (chronométrique)	Augmentation	Augmentation	Augmentation
Protéine S (chronométrique)	Augmentation	Augmentation	Augmentation
Résistance à la protéine C activée	Ratio influencé	Ratio influencé	Ratio influencé

* Activated clotting time.

** La mesure du fibrinogène dérivée du TP peut être influencée selon la sensibilité de la thromboplastine utilisée, notamment avec l'apixaban et le rivaroxaban (influence minimale avec le dabigatran).

*** Héparine non fractionnée, héparines de bas poids moléculaire, fondaparinux, danaparoiide.

Abréviation. dRVVT : temps de venin de vipère de Russell dilué (*dilute Russell's viper venom time*).

VI. - CONCLUSION

Il est important que les praticiens soient conscients de l'influence des NOACs sur la majorité des tests de coagulation. La mesure de l'activité anticoagulante des NOACs peut être réalisée de façon fiable par des tests spécifiques, dans le but d'améliorer le rapport bénéfice-risque des patients traités. Des données clinico-biologiques supplémentaires (intervalles de référence, seuils de sous-dosage et de surdosage) sont nécessaires pour améliorer le rapport bénéfice-risque des patients traités.

Conflits d'intérêts : François Mullier : orateur pour Bristol Myers Squibb Pfizer et Sanofi-Aventis ; Jonathan Douxfils : aucun ; Anne Tamigniau : aucun ; Jean-Michel Dogné : aucun ; Marie-Hélène Horellou : aucun ; Claire Flaujac : participation à une réunion d'expert pour Bayer ; Bernard Chatelain : aucun ; Meyer Michel Samama : consultant pour Bayer Schering Pharma AG, Sanofi-Aventis, Eli Lilly et Daiichi Sankyo, membre de comités d'experts pour Bristol Myers Squibb, Pfizer Laboratory et Johnson & Johnson, et orateur/chairman pour Sanofi Aventis, GlaxoSmithKline, Bayer Schering Pharma AG, Boehringer Ingelheim, Rovi Laboratory et TEM Thromboelastography ; Isabelle Gouin-Thibault : participation à des réunions d'experts pour Bristol Myers Squibb Pfizer, Bayer et Boehringer Ingelheim.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Husted S, De Caterina R, Andreotti F, Arnesen H, Bachmann F, Huber K, Jespersen J, Kristensen SD, Lip GY, Morais J, Rasmussen LH, Siegbahn A, Storey RF, Weitz JI, Esc Working Group On Thrombosis Task Force On Anticoagulants In Heart Disease OB. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOACs): no longer new or novel. *Thrombosis and haemostasis* 2014 ; **111** (5) : 781-2.
- (2) Stangier J, Clemens A. Pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of dabigatran etexilate, an oral direct thrombin inhibitor. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis* 2009 ; **15** (Suppl 1) : 9S-16S.
- (3) Frost C, Nepal S, Wang J, Schuster A, Byon W, Boyd RA, Yu Z, Shenker A, Barrett YC, Mosqueda-Garcia R, Lacrete F. Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of multiple oral doses of apixaban, a factor Xa inhibitor, in healthy subjects. *British journal of clinical pharmacology* 2013 ; **76** (5) : 776-86.
- (4) Mueck W, Stampfuss J, Kubitz D, Becka M. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rivaroxaban. *Clinical pharmacokinetics* 2014 ; **53** (1) : 1-16.
- (5) European Medicines Agency. European Medicines Agency - Xarelto: Summary of Product Characteristics. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000944/WC500057108.pdf. Accessed Jan 29, 2014.
- (6) European Medicines Agency. European Medicines Agency - Pradaxa: Summary of Product Characteristics. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000829/WC500041059.pdf. Accessed Jan 29, 2014.
- (7) European Medicines Agency. European Medicines Agency - Eliquis: Summary of Product Characteristics Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002148/WC500107728.pdf. Accessed Jan 29, 2014.
- (8) Kubitz D, Becka M, Mueck W, Halabi A, Maatouk H, Klaus N, Lufft V, Wand DD, Philipp T, Bruck H. Effects of renal impairment on the pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of rivaroxaban, an oral, direct Factor Xa inhibitor. *British journal of clinical pharmacology* 2010 ; **70** (5) : 703-12.
- (9) Stangier J, Rathgen K, Stahle H, Mazur D. Influence of renal impairment on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral dabigatran etexilate: an open-label, parallel-group, single-centre study. *Clinical pharmacokinetics* 2010 ; **49** (4) : 259-68.
- (10) Kubitz D, Roth A, Becka M, Alatrach A, Halabi A, Hinrichsen H, Mueck W. Effect of hepatic impairment on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of a single dose of rivaroxaban, an oral, direct Factor Xa inhibitor. *British journal of clinical pharmacology* 2013 ; **76** (1) : 89-98.
- (11) Reilly PA, Lehr T, Haertter S, Connolly SJ, Yusuf S, Eikelboom JW, Ezekowitz MD, Nehmiz G, Wang S, Wallentin L, Investigators R-L. The effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY trial (Randomized Evaluation of long-term anticoagulation therapy). *Journal of the American College of Cardiology* 2014 ; **63** (4) : 321-8.
- (12) Food and Drug Administration. Food and Drug Administration - Xarelto: Clinical Pharmacology & Biopharmaceutical Review(s). Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/022406Orig1s000ClinPharmR.pdf. Accessed 29 Jan, 2014.
- (13) Food and Drug Administration. Food and drug Administration - Eliquis: Clinical Pharmacology & Biopharmaceutical Review(s). Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2012/202155Orig1s000ClinPharmR.pdf. Accessed 29 Jan, 2014.
- (14) Ten Cate H. Monitoring new oral anticoagulants, managing thrombosis, or both? *Thrombosis and haemostasis* 2012 ; **107** (5) : 803-5.
- (15) Ten Cate H. New oral anticoagulants: discussion on monitoring and adherence should start now! *Thrombosis journal* 2013 ; **11** (1) : 8.
- (16) Pernod G, Albaladejo P, Godier A, Samama CM, Susen S, Gruel Y, Blais N, Fontana P, Cohen A, Llau JV, Rosencher N, Schved JE, de Maistre E, Samama MM, Mismetti P, Sie P, Working Group on Perioperative H. Management of major bleeding complications and emergency surgery in patients on long-term treatment with direct oral anticoagulants, thrombin or factor-Xa inhibitors: proposals of the working group on perioperative haemostasis (GIHP) - March 2013. *Archives of cardiovascular diseases* 2013 ; **106** (6-7) : 382-93.
- (17) Faxon DP, Eikelboom JW, Berger PB, Holmes DR, Bhatt DL, Moliterno DJ, Becker RC, Angiolillo DJ. Consensus document: antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation undergoing coronary stenting. A North-American perspective. *Thrombosis and haemostasis* 2011 ; **106** (4) : 572-84.
- (18) Huber K, Airaksinen KJ, Cuisset T, Marin F, Rubboli A, Lip GY. Antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation undergoing coronary stenting: similarities and dissimilarities between North America and Europe. *Thrombosis and haemostasis* 2011 ; **106** (4) : 569-71.
- (19) Baglin T, Hillarp A, Tripodi A, Elalamy I, Buller H, Ageno W. Measuring Oral Direct Inhibitors (ODIs) of thrombin and factor Xa: a recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Journal of thrombosis and haemostasis* 2013 ; **11** : 756-60.
- (20) Maccallum PK, Mathur R, Hull SA, Saja K, Green L, Morris JK, Ashman N. Patient safety and estimation of renal function in patients prescribed new oral anticoagulants for stroke prevention in atrial fibrillation: a cross-sectional study. *BMJ Open* 2013 ; **3** (9) : e003343.
- (21) Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: time for a fresh look. *Thrombosis and haemostasis* 2006 ; **96** (5) : 547-52.
- (22) Kitchen CS. To bleed or not to bleed? Is that the question for the PTT? *Journal of thrombosis and haemostasis* 2005 ; **3** (12) : 2607-11.
- (23) Lippi G, Salvagno GL, Ippolito L, Franchini M, Favaloro EJ. Shortened activated partial thromboplastin time: causes and management. *Blood coagulation and fibrinolysis* 2010 ; **21** (5) : 459-63.
- (24) Douxfils J, Dogne JM, Mullier F, Chatelain B, Ronquist-Nii Y, Malmstrom RE, Hjelm Dahl P. Comparison of calibrated dilute thrombin time and aPTT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with dabigatran etexilate. *Thrombosis and haemostasis* 2013 ; **110** (3) : 543-9.
- (25) Douxfils J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogne JM. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. Laboratory recommendations for monitoring of dabigatran etexilate. *Thrombosis and haemostasis* 2012 ; **107** (5) : 985-97.
- (26) van Ryn J, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld KH, Wienen W, Feuring M, Clemens A. Dabigatran etexilate—a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thrombosis and haemostasis* 2010 ; **103** (6) : 1116-27.
- (27) Douxfils J, Mullier F, Loosen C, Chatelain C, Chatelain B, Dogne JM. Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature. *Thrombosis research* 2012 ; **130** (6) : 956-66.
- (28) Douxfils J, Chatelain C, Chatelain B, Dogne JM, Mullier F. Impact of apixaban on routine and specific coagulation assays: a practical laboratory guide. *Thrombosis and haemostasis* 2013 ; **110** (2) : 283-94.
- (29) Gouin-Thibault I, Flaujac C, Delavenne X, Quenet S, Horellou MH, Laporte S, Siguret V, Lecompte T. Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. A multicentre French GEHT study. *Thrombosis and haemostasis* 2014 ; **111** (2) : 240-8.
- (30) Harenberg J, Du S, Weiss C, Kramer R, Hoppensteadt D, Walenga J. The working party: methods to determine apixaban of the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the International Society of T, Haemostasis. Report of the Subcommittee on Control of Anticoagulation on the determination of the anticoagulant effects of apixaban: communication from the SSC of the ISTH. *Journal of thrombosis and haemostasis* 2014 ; [Epub ahead of print].
- (31) Barrett YC, Wang Z, Frost C, Shenker A. Clinical laboratory measurement of direct factor Xa inhibitors: anti-Xa assay is preferable to prothrombin time assay. *Thrombosis and haemostasis* 2010 ; **104** (6) : 1263-71.
- (32) Douxfils J, Tamigniau A, Chatelain B, Chatelain C, Wallemacq P, Dogne JM, Mullier F. Comparison of calibrated chromogenic anti-Xa assay and PT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with rivaroxaban. *Thrombosis and haemostasis* 2013 ; **110** (4) : 723-31.
- (33) Francart SJ, Hawes EM, Deal AM, Adcock DM, Gosselin R, Jeanneret C, Friedman KD, Moll S. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of rivaroxaban. A cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels. *Thrombosis and haemostasis* 2014 ; **111** (5) : [Epub ahead of print].

- (34) Samama MM, Contant G, Spiro TE, Perzborn E, Guinet C, Gourmelin Y, Le Flem L, Rohde G, Martinoli JL, Rivaroxaban Anti-Factor Xa Chromogenic Assay Field Trial L. Evaluation of the anti-factor Xa chromogenic assay for the measurement of rivaroxaban plasma concentrations using calibrators and controls. *Thrombosis and haemostasis* 2012 ; **107** (2) : 379-87.
- (35) Adcock DM. Sample integrity and preanalytical variables. In: *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis*, Second Edition John Wiley & Sons ed. Blackwell Publishing Ltd 2013 ; pp. 45-56.
- (36) Samama MMG, Gerotziafas G, Le Flem L. Influence of dabigatran on coagulation assays, an "in vitro" study. In: 58th Annual Meeting of the SSC of the ISTH 2012.
- (37) Gerotziafas GT, Baccouche H, Sassi M, Galea V, Chaari M, Hatmi M, Samama MM, Elalamy I. Optimisation of the assays for the measurement of clotting factor activity in the presence of rivaroxaban. *Thrombosis research* 2012 ; **129** (1) : 101-3.
- (38) Mani H, Hesse C, Stratmann G, Lindhoff-Last E. Rivaroxaban differentially influences *ex vivo* global coagulation assays based on the administration time. *Thrombosis and haemostasis* 2011 ; **106** (1) : 156-64.
- (39) Asmis LM, Alberio L, Angelillo-Scherrer A, Korte W, Mendez A, Reber G, Seifert B, Stricker H, Tsakiris DA, Wuillemin WA. Rivaroxaban: quantification by anti-FXa assay and influence on coagulation tests: a study in 9 Swiss laboratories. *Thrombosis research* 2012 ; **129** (4) : 492-8.
- (40) Tichelaar V, de Jong H, Nijland H, Kluin-Nelemans H, Meijer K, Mulder A. Interference of rivaroxaban in one-stage and chromogenic factor VIII: C assays. *Thrombosis and haemostasis* 2011 ; **106** (5) : 990-2.
- (41) van Os GM, de Laat B, Kamphuisen PW, Meijers JC, de Groot PG. Detection of lupus anticoagulant in the presence of rivaroxaban using Taipan snake venom time. *Journal of thrombosis and haemostasis* 2011 ; **9** (8) : 1657-9.
- (42) Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose. GEHT - Pratiques Professionnelles - Nouveaux Anticoagulants Oraux. Available at: http://site.geht.org/site/Pratiques-Professionnelles_472_.html. Accessed 17 Avril, 2014.
- (43) Becker RC, Alexander JH, Newby LK, Yang H, Barrett Y, Mohan P, Wang J, Harrington RA, Wallentin LC. Effect of apixaban, an oral and direct factor Xa inhibitor, on coagulation activity biomarkers following acute coronary syndrome. *Thromb Haemost* 2010 ; **104** (5) : 976-83.
- (44) Barrett YC, Wang J, Song Y, Pursley J, Wastall P, Wright R, Lacreata F, Frost C. A randomised assessment of the pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety interaction between apixaban and enoxaparin in healthy subjects. *Thromb Haemost* 2012 ; **107** (5) : 916-24.
- (45) Leil TA, Feng Y, Zhang L, Paccaly A, Mohan P, Pfister M. Quantification of apixaban's therapeutic utility in prevention of venous thromboembolism: selection of phase III trial dose. *Clin Pharmacol Ther* 2010 ; **88** (3) : 375-82.