

Vigilancia de laboratorio de los anticoagulantes orales directos*

Laboratory surveillance of direct oral anticoagulants.

Marión Echenagucia-Echenagucia

Resumen

La búsqueda del anticoagulante ideal está orientada a obtener fármacos seguros en su mecanismo de acción, de fácil administración, idealmente con formulación oral, prescritos a dosis fija con efecto predecible e inicio de acción más rápido, con la menor cantidad de efectos secundarios y sin interacciones con otros medicamentos o mecanismos bioquímicos naturales, lo que da lugar al desarrollo de los anticoagulantes orales directos. Esta revisión está centrada en la vigilancia de este tipo de anticoagulantes, por lo que se hace hincapié en cómo orientar la vigilancia, los requerimientos, los métodos utilizados, así como estrategias alternativas para conseguirlo. Por último, cada laboratorio debe tener conocimiento del efecto del anticoagulante oral directo en su sistema de reactivo, a través de revisiones en la bibliografía o muestras de pacientes y debe usar calibradores comerciales y controles con cuidado.

PALABRAS CLAVE: Anticoagulantes; trombina; tiempo de trombina; espectrometría de masa; ecarina; víbora de Russell; *Daboia russelii*.

Abstract

The search for the ideal anticoagulant is aimed at obtaining safe drugs in their mechanism of action, easy to administer, ideally with oral formulation, used at a fixed dose with a predictable effect and faster onset of action, with the least amount of side effects and without interactions with other medications or natural biochemical mechanisms, which gives rise to the development of direct oral anticoagulants (DOACs). This review is focused on the monitoring of this type of anticoagulants, so, emphasis is placed on how to guide the monitoring, the requirements, the methods used, as well as alternative strategies to achieve it. Finally, each laboratory should be aware of the effect of direct oral anticoagulants on its reagent system, through reviews in the literature or patient samples, and should use commercial calibrators and controls with care.

KEYWORDS: Anticoagulants; Thrombin; Thrombin time; Mass spectrometry; Ecarin; Russell's viper; *Daboia russelii*.

* Presentado en el Simposio del LX Congreso Nacional de Hematología, 24-28 de abril de 2019. Chihuahua, Chihuahua, México.

Coordinadora del Laboratorio de Hemostasia y Trombosis del Banco Municipal de Sangre, Centro Nacional de Hemofilia en Caracas. Docente de la Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

Recibido: 19 de marzo 2019

Aceptado: 25 de marzo 2019

Correspondencia

Marión Echenagucia Echenagucia
echenagucia23@gmail.com

Este artículo debe citarse como

Echenagucia-Echenagucia M. Vigilancia de laboratorio de los anticoagulantes orales directos. Hematol Méx. 2019 abril-junio;20(2):86-95.
<https://doi.org/10.24245/rhematol.v20i2.3097>

ANTECEDENTES

La industria farmacéutica siempre ha estado en la búsqueda del anticoagulante ideal. El esfuerzo permanente ha estado en producir fármacos cada vez más seguros en su mecanismo de acción, de fácil administración, idealmente con formulación oral, que además puedan ser prescritos a dosis fija con efecto predecible e inicio de acción más rápido, que causen la menor cantidad de efectos secundarios y que finalmente no tengan interacciones con otros medicamentos o mecanismos bioquímicos naturales. Así surgen los anticoagulantes orales directos, que inhiben, ya sea la trombina, como es el caso del dabigatrán, o el FXa, como lo hace el rivaroxabán, el apixabán y el endoxabán, entre otros xabanos, cuya eficacia y seguridad se han comparado con las de los anticoagulantes orales tradicionales (**Cuadro 1**). Estos fármacos salieron al mercado con la ventaja de no necesitar vigilancia de laboratorio debido a su farmacodinámica y farmacocinética predecibles. Sin embargo, en varias circunstancias es necesario conocer la concentración del fármaco en sangre; el desafío para el laboratorio es dar respuesta a esta problemática, en vista de que las pruebas clásicas de la hemostasia no son lo suficientemente sensibles para usarse en el control de estos fármacos.

¿A quién vigilar?

Hay un número de situaciones especiales en las que puede requerirse conocer las concentraciones del fármaco, como: falla en el tratamiento anticoagulante, episodios de sangrado durante la terapia, necesidad de un procedimiento invasivo no planificado, consideración de un agente reversor, evaluación de trombólisis en un paciente con trombosis isquémica aguda, sospecha de no apego o sobredosis del fármaco, pesos extremos, disfunción renal o hiperfunción, edad avanzada, interacciones con otros fármacos y mala absorción intestinal.

Laboratorio en la medición de los anticoagulantes orales directos

La lucha para obtener datos para soportar o sugerir métodos de laboratorio que puedan rápida y exactamente cuantificar o estimar la concentración del fármaco comenzó pronto, la mayor parte de las veces con modelos *in vitro* usando plasma normal enriquecido con fármaco o pool de datos de estudios clínicos sin diferenciación de los reactivos de las pruebas.² Diversas organizaciones han trabajado en la realización de guías con recomendaciones para la evaluación en el laboratorio de estos anticoagulantes, entre ellas cabe mencionar la Sociedad Británica de

Cuadro 1. Características de los anticoagulantes orales directos¹

	Dabigatrán	Rivaroxabán	Apixabán	Endoxabán
Mecanismo de acción	Inhibidor reversible directo de la trombina libre y unida al coágulo	Inhibidor reversible directo del FXa libre y unido al complejo protrombinasa		
Biodisponibilidad	3-7%	80-100%	50%	62%
Afinidad a proteínas	35%	92-95%	87%	55%
Excreción	80% renal	67% renal	56% fecal	50% renal
T. máximo	1.5-3 horas	2-3 horas	3-4 horas	1-2 horas
Vida media	12-14 horas	5-13 horas	12 horas	10-14 horas

T. máximo: tiempo en alcanzar la concentración máxima.

Hematología, el subcomité de anticoagulación de la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISTH) y el Consejo Internacional para la Estandarización en Hematología (ICSH).

La prueba óptima para evaluar estos anticoagulantes orales directos dependerá si será utilizada como método cualitativo (existencia o ausencia del fármaco) o cuantitativo (concentración del fármaco en ng/mL) y del tiempo requerido para entrega de resultados. La prueba ideal sería la que tenga adecuada linealidad, reproducibilidad y sensibilidad para detectar concentraciones clínicamente relevantes, que permita cuantificar el fármaco en un amplio intervalo de concentraciones, ser simple de realizar y estar disponible las 24 horas. En la actualidad son limitados los ensayos que pueden cumplir con estas condiciones, sumado el elevado costo, porque requieren calibradores y controles específicos para cada uno de los medicamentos, lo que hace que el control de estos fármacos no esté disponible en la mayor parte de los laboratorios. Algunos laboratorios ofrecen paquetes validados en instrumentos automatizados y existen aprobados métodos a pie de cama para determinar la concentración de estos anticoagulantes en sangre y orina.³ El clínico y el profesional del laboratorio requieren la comprensión total de las limitaciones de los ensayos disponibles, especialmente de los usados con propósitos cualitativos.

Requerimientos de muestra para evaluación de los anticoagulantes orales directos

En resumen y de acuerdo con el consenso en las diferentes guías, las recomendaciones de muestras para evaluación de los anticoagulantes orales directos son:

- El plasma con citrato de sodio 3.2% es el usado para pruebas cuantitativas basadas en coagulación o pruebas cromogénicas. Para cromatografía líquida o espectro-

metría de masa puede usarse suero o plasma.⁴⁻⁶

- Las muestras de sangre entera citratada para pruebas funcionales deberían procesarse antes de las 4 horas de ser extraídas.
- Las muestras de plasma para medición de dabigatrán tienen estabilidad a temperatura ambiente de 24 horas, de no poderse evaluar en ese tiempo, deben ser congeladas (la estabilidad es de 14 meses o más si es mantenida a -20°C o más frías) usando congeladores monitoreados o hielo seco.
- Las muestras de plasma para actividad anti-FXa que no puedan evaluarse en las primeras 8 horas de extraídas deben refrigerarse (estabilidad de 48 horas) o congelarse (estabilidad de 30 días o más si es mantenida a -20°C o más frías) usando congeladores monitoreados o hielo seco.^{5,6}
- Los datos sugieren que podrían ser al menos tres veces congeladas y descongeladas sin pérdida significativa de estabilidad (**Cuadro 2**).^{5,6}

A diferencia de los antagonistas de la vitamina K que mantienen un estado de anticoagulación constante durante el día, la distinta farmacocinética de los anticoagulantes orales directos hace que las concentraciones varíen a partir de la toma del fármaco, alcanzando un pico máximo entre las 2 a 4 horas posteriores a la toma y caída rápida de actividad, porque la vida media varía entre 5 y 17 horas. Para la correcta interpretación de los resultados de laboratorio es mandatorio conocer el tiempo transcurrido entre la última dosis y la extracción de sangre. No existe consenso para la toma de muestra (pico o valle). Si la concentración valle es la deseada, la muestra de sangre deberá tomarse justo antes de la dosis siguiente. Para concentraciones de

Cuadro 2. Estabilidad de las muestras para medición de los anticoagulantes orales directos¹

	Temperatura ambiente	-20°C	5°C	Ciclos congelamiento/descongelamiento
Dabigatrán	24 horas 4 horas (TT)	14 meses		
Rivaroxabán	8 horas	30 días	48 horas	3 ciclos Anti Xa y espectro
Apixabán	8 horas	30 días	48 horas	
Endoxabán	8 horas	30 días	48 horas	
			2 semanas (espectrometría)	3 ciclos (anti Xa y espectrometría)

fármaco en pico, la muestra deberá tomarse 2 a 4 horas después de la última dosis, dependiendo del anticoagulante oral directo.

Aún no se han establecido intervalos terapéuticos de los anticoagulantes orales directos, por lo que algunos autores recomiendan evaluar las concentraciones en el valle e informar junto con el resultado los valores esperados citados en algunas publicaciones (**Cuadro 3**).⁷

Métodos usados

Generales

Debido a su efecto directo en la actividad de IIa y Xa, los anticoagulantes orales directos pueden interferir con la mayor parte de las pruebas de la hemostasia basadas en coagulación; el efecto en las pruebas de coagulación depende del reactivo, así como del fármaco, con amplia variedad interindividual.

Tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa)

En relación con dabigatrán (inhibidor de la trombina), la regla general es que el TTPa es más sensible que el TP. Las recomendaciones tempranas han sugerido que cada laboratorio debe definir su sensibilidad reactivo TTPa/TP evaluando calibradores comerciales fármaco-específicos. Para evaluar la sensibilidad de la prueba al fármaco es importante tomar en cuenta qué muestras de plasma enriquecidas con el fármaco, calibradores de fármaco comercial y muestras del paciente propiamente dicho que consume el medicamento han demostrado respuestas diferentes a una concentración de dabigatrán dada, dependiendo del reactivo y la instrumentación utilizada. Las razones de esta discrepancia incluyen: concentración de citrato y diferencias en niveles de actividad del factor entre individuos sanos (o muestras de pool de donadores sanos) y pacientes médicamente enfermos. El uso de muestras enriquecidas con

Cuadro 3. Concentración esperada del fármaco en valle y pico³

	Dabigatrán		Rivaroxabán		Apixabán	
Dosis	110 mg	150 mg	15 mg	20 mg	2.5 mg	5 mg
Pico µg/mL	190 (31-651)	210 (43-538)	208 (77-393)	235 (61-449)	192 (55-300)	200 (102-416)
Valle µg/mL	93 (14-386)	91 (16-494)	27 (0-88)	41 (5-119)	79 (26-248)	113 (42-283)

fármaco *in vitro* suministra información valiosa en relación con las diferencias relativas en la sensibilidad del reactivo, pero no debe usarse para determinar la sensibilidad absoluta.²

Por último, la limitación para el uso de TP o TTPa para evaluar la concentración de fármacos es la suposición de que una prolongación dada es únicamente debido a la existencia de fármaco, lo que no es cierto, porque también puede deberse a deficiencias de factor simple o combinado, así como a la existencia de inhibidores específicos o no específicos.

Debido a las limitaciones significativas para el TTPa y para el TP, estos ensayos no deben utilizarse para estimar la concentración del fármaco. Sin embargo, cualquier prolongación del TTPa (y TP) en pacientes con conocida exposición a dabigatrán debe considerarse secundaria al efecto del fármaco hasta que se demuestre lo contrario con otros ensayos de coagulación (por ejemplo, dTT, estudios de mezclas, etc.).

En relación con los xabanos (inhibidores del FXa), el TP responde al rivaroxabán, en menor grado al endoxabán y es insensible al apixabán. El rivaroxabán y endoxabán prolongan el TP de manera dosis-dependiente.⁸ En cuanto al rivaroxabán, los estudios de farmacocinética inicial revelaron que el TP podría ser un ensayo útil porque hay estrecha correlación lineal entre TP y concentraciones del fármaco en plasma;^{9,10} sin embargo, estudios en fase II han resaltado la variabilidad considerable que existe entre reactivos.⁹ Un aspecto importante es que la combinación reactivo/instrumento también puede influir en la sensibilidad y es recomendable que cada laboratorio evalúe la sensibilidad de su reactivo sobre el instrumento en lo que la prueba es ejecutada.¹¹ En general, el TP no podría usarse para estimar concentraciones de rivaroxabán en plasma y los resultados de la prueba pueden no reflejar

confiablemente la intensidad de anticoagulación debida a rivaroxabán comparado con las concentraciones medidas por espectrometría de masa. Esto puede deberse a especificidades del reactivo y valores prolongados pueden deberse a una deficiencia simple o combinada de factor así como a la existencia de inhibidores específicos o inespecíficos.² Existen esfuerzos en mejorar la estandarización de las tromboplastinas para su uso en la vigilancia del rivaroxabán, que incluye la calibración de ese reactivo para esta terapia, pero aún no hay un uso diseminado ni la aprobación para su utilización.

El TP exhibe sensibilidad menos pronunciada hacia endoxabán. Esto limita el uso de TP para evaluar la farmacodinámica del edoxabán. Además, todavía faltan estudios *ex vivo*, pero puede esperarse que, como para rivaroxabán, la correlación con espectrometría de masa será escasa teniendo en cuenta la variabilidad interindividual, analítica y preanalítica del TP.²

El apixabán influye poco el TP, que no es sensible para asegurar la medición cuantitativa de apixabán a las concentraciones plasmáticas obtenidas en estudios iniciales de farmacocinética/farmacodinámica con las dosis dadas en indicaciones aprobadas.²

Tiempo de trombina (TT)

La mayor parte de los estudios *in vitro* con enriquecimiento con el fármaco y en muestras de pacientes tratados con dabigatrán, universalmente han indicado la sensibilidad exquisita de esta prueba a la existencia de dabigatrán,² pero no se ve afectada por inhibidores directos del FXa. Las concentraciones de dabigatrán mayores a 50 ng/mL producen un TT mayor al límite máximo de medida; de esta manera un TT normal sugiere que hay poco o nada de dabigatrán circulante, pero un TT prolongado no necesariamente equivale a concentración alta del anticoagulante.

Métodos cuantitativos

Espectrometría de masa y la medición de concentraciones plasmáticas de ACOD

La cromatografía líquida acoplada con espectrometría en tandas de masa se ha usado en el desarrollo clínico de ACODs para medir su concentración plasmática y evaluar su farmacocinética.¹²⁻¹⁶ Este método demostró mucho mayor selectividad que los ensayos basados en coagulación que pueden ser afectados por otros inhibidores de la coagulación, y por variables preanalíticas y cambios endógenos en los factores de la coagulación.⁶ Con la principal ventaja de alta especificidad, sensibilidad, selectividad y reproducibilidad, este método es considerado el patrón de referencia para la medición de ACODs.¹¹ Sin embargo, mientras que la reproducibilidad del laboratorio es muy buena, los datos son escasos en relación con las variaciones interlaboratorio. En un estudio previo, las mediciones por este método fueron sistemáticamente mayores que las listadas en el inserto del paquete de los calibradores comerciales, lo que sugiere que el ensayo sólo es tan bueno como los patrones de referencia usados para la calibración.¹¹ Diversos inconvenientes limitan el uso diseminado de la espectrometría de masa en los escenarios clínicos, especialmente para laboratorios pequeños. Esto incluye la preparación de muestra que es laboriosa y la complejidad de la técnica. En efecto, pocos ensayos están disponibles y los ensayos están principalmente considerados *in house* o pruebas desarrolladas en el laboratorio. Además, la implementación de un sistema de control de calidad externo es mandatorio y, a la fecha, no hay un patrón de referencia internacionalmente aceptado para los diferentes ACODs. Por último, tal instrumentación no está ampliamente disponible como instrumentación de hemostasia estándar y la evaluación no es generalmente ordenada como urgente, 24 horas/7 días, o geográficamente de disponibilidad amplia.

La espectrometría de masa no es un ensayo funcional, estos métodos pudieran proporcionar información precisa de la concentración del fármaco en circulación, pero no pueden usarse aislados y deben ser complementados por ensayos funcionales específicos y sensibles (por ejemplo, tiempo de trombina diluido [dTT] o ensayos basados en ecarina para dabigatrán y ensayos anti FXa cromogénico para inhibidores directo anti-FXa).

Tiempo de trombina diluido

Es una prueba funcional para evaluación del dabigatrán. Esto representa una modificación del TT tradicional, específicamente la muestra del paciente es diluida (por ejemplo, 1:8) con amortiguador, luego añadida a una cantidad igual de pool de plasma normal. La trombina se añade a la mezcla y se registra el TT. Hay una respuesta lineal a incrementos de concentraciones de dabigatrán, con buena correlación relativamente cuando se compara con las mediciones del fármaco por espectrometría de masa. El límite mínimo de detección se ha reportado en aproximadamente 40 ng/mL,⁶ pero una modificación usando una menor predilución (por ejemplo, 1:2) mejoró el límite de detección a menos de 10 ng/mL.¹⁷ Como este método es una modificación del TT, puede fácilmente adaptarse a la mayor parte de los coagulómetros, aunque la limitación de algunos coagulómetros puede requerir la dilución de la muestra preparada manualmente.

Métodos basados en ecarina

La ecarina es una metaloproteasa derivada de la víbora *Echis carinatus* que convierte protrombina a meizotrombina, un potente intermediario de la trombina que puede ser inhibida por dabigatrán, pero no por heparina. El método clásico de la ecarina es un ensayo de coagulación, pero también están disponibles métodos cromogénicos. Hay una correlación lineal con incrementos de

la concentración del fármaco y se han descrito mediciones cuantitativas de dabigatrán cuando es calibrado apropiadamente. Los métodos coagulantes o cromogénicos demostraron buena correlación con concentraciones de dabigatrán medidas por espectrometría de masa.² Los ensayos de ecarina de coagulación deberían ser adaptados fácilmente a la mayor parte de los coagulómetros, pero debe tenerse especial cuidado para asegurar que no haya arrastre en los ciclos de pipeteado del reactivo. Se ha reportado el uso de ensayos cromogénicos en coagulómetros.² Hay sola una prueba cromogénica basada en ecarina aprobada en Europa, pero no por la FDA, para la medición del dabigatrán (STA ECA-II Stago). De esta manera, si se usa metodología basada en ecarina, ésta sería la recomendada.²

Ensayos anti-Xa cromogénicos

En diversos estudios *in vitro* y *ex vivo*, los ensayos cromogénicos anti-Xa se han encontrado muy sensibles y lineales a la existencia de inhibidores directos del FXa.²

Mientras la actividad normal de anti-Xa puede ser predictiva de la ausencia de inhibidores directos anti-FXa, poco se sabe de la variabilidad interpaquete y es posible que la actividad anti-Xa para una concentración similar de fármaco difiera entre paquetes.² Además, se demostró que el uso de ensayo cromogénico anti-Xa calibrado con estándares de heparina se asocia con un intervalo limitado de linealidad y cuantificación. Por tanto, el enfoque de la utilización y calibración de los ensayos cromogénicos anti-Xa con el procedimiento y los estándares de heparina no es probablemente confiable para evaluar la intensidad de la anticoagulación en los pacientes tratados con fármacos directos. De esta manera, los procedimientos deberían calibrarse con estándares comerciales en los que la concentración exacta es verificada por un método validado de espectrometría de masa.²

La mayor parte de los ensayos cromogénicos anti-Xa también son influidos por la existencia de heparina y esto es particularmente relevante en terapia de puente (aunque esto no es requerido con rivaroxabán y otros inhibidores del FXa bajo circunstancias normales, excepto para endoxabán en el tratamiento del tromboembolismo venoso). Una prueba que no es influida por las heparinas es la prueba para inhibidores directos anti-FXa Biophen (Hyphen), que contiene un amortiguador pH 7.9 de alta fuerza iónica que neutraliza la actividad de las heparinas. Sin embargo, el procedimiento usado para medir concentraciones bajas de rivaroxabán (Biophen DiXal bajo) es influido por heparinas, debido a la contribución insuficiente del amortiguador específico que hace el procedimiento estándar insensible. Esto es explicado por la baja dilución de la muestra en amortiguador.²

Ensayos cromogénicos anti-IIa

Diversos paquetes comerciales están disponibles para medir dabigatrán usando ensayo anti-IIa cromogénico. Cuando la prueba es calibrada, el ensayo demuestra buena correlación con la espectrometría de masa. Existen modificaciones de la prueba.¹

Otras estrategias para evaluar anticoagulación relacionada con anticoagulantes orales directos

El veneno de la víbora de Russell diluido se ha propuesto como prueba universal para vigilar los anticoagulantes orales directos. Diversos estudios han evaluado la ejecución de la prueba para medir la farmacodinámica de los anticoagulantes orales directos en muestras de pacientes. La prueba del veneno de la víbora de Russell con fosfolípidos añadidos mostró buena correlación con las medidas de espectrometría de masa con sensibilidad aceptable permitiendo la medición de concentraciones plasmáticas

en terapia, al menos para dabigatrán y rivaroxabán.² Se requieren mejoras adicionales para esta prueba para suministrar perspectivas para el desarrollo de equipos POC implementables en emergencia para evaluar la intensidad relativa de anticoagulación.²

Para dabigatrán, métodos de actividad antitrombina que usan trombina como sustrato deben modificarse para usar como método anti-IIa cromogénico.² Un tromboelastógrafo (ROTEM) rápido modificado con o sin ecarina demostró respuesta curvilínea para concentraciones incrementadas del fármaco en un estudio de muestra normal enriquecida con fármaco.² Para rivaroxabán y apixabán, hubo fuerte correlación entre concentraciones plasmáticas y los parámetros de ROTEM a baja concentración de factor tisular, tiempo de coagulación y el tiempo para velocidad máxima. Sin embargo, se ha reportado no ser suficientemente sensible para evaluar la actividad residual de rivaroxabán en pacientes.²

Con ensayos de generación de trombina, hubo correlación moderada ($R = 0.54$) con concentración de dabigatrán y tiempo de latencia, pero incrementos paradójicos en el potencial de trombina endógeno (ETP)² y diversos autores reportan ciertas divergencias en algunos otros parámetros.

El uso de evaluación POC ha demostrado escasa correlación con CoaguCheck y concentración de dabigatrán y rivaroxabán.² También reportaron que hubo pérdida de sensibilidad usando métodos de TP CoaguChek XS (Roche) o GEM PCL plus pero el método GEM PCL plus de TTPa tuvo respuesta dosis-dependiente.² El tiempo de coagulación activado (ACT) y ACT a bajo rango demostraron diferencias entre picos y muestras de dabigatrán valle.² Existen datos conflictivos acerca del uso de tiempo de coagulación inducido por protrombinasa (PiCT) para evaluar los anticoagulantes orales directos. Se ha reportado

escasa correlación ha entre PiCT y dTT o ECA,² por lo que este método no parece ser útil.

El uso del tiempo de protrombina diluido se ha reportado como método útil para medir anticoagulación con anticoagulantes orales directos.²

El desarrollo de pruebas de cribado urinario puede ofrecer un método rápido para determinar anticoagulación con anticoagulantes orales directos en pacientes que no pueden suministrar una historia médica, pero estos datos pueden ser limitados cuando no hay correlación entre las concentraciones urinarias y plasmáticas.²

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Un impresionante conocimiento ha surgido de la bibliografía en estos últimos cinco años respecto a cómo medir una prueba de ACODs segura e interpretarla. A diferencia de los antagonistas orales de vitamina K que requieren mediciones episódicas (rutinarias), la evaluación rutinaria del efecto anticoagulante no se requiere con estos fármacos. Sin embargo, diversas situaciones pueden requerir el uso de evaluación. Cada laboratorio debe tener conocimiento del efecto del anticoagulante oral directo en su sistema de reactivo, a través de revisiones en la bibliografía o muestras de pacientes y debe usar calibradores comerciales y controles con cuidado.

- La evaluación del anticoagulante oral directo usando ensayos globales como TP, TTPa o ambos puede no ser adecuada para descartar cantidades significativas de anticoagulantes orales directos y deben considerarse métodos más sensibles de evaluación (por ejemplo TT, anti-Xa calibrado con heparina).
- Los métodos calibrados con fármaco usando TT diluido o ensayos basados en ecarina han demostrado ser rápidos y seguros para medir dabigatrán.

- Los métodos antiXa calibrados con fármaco han demostrado ser rápidos y seguros para medir los anticoagulantes orales directos anti-Xa.
 - El tiempo de veneno de la víbora de Russell diluido ha sido demostrado ser seguro y rápido para medir anticoagulantes orales directos.
 - La prolongación del TP, TTPa o ambos en un paciente con exposición conocida a anticoagulantes orales directos debe considerarse secundaria al efecto del fármaco hasta que no se comprueba lo contrario con otra prueba de laboratorio.
 - Para los médicos que optan por medir los anticoagulantes orales directos en su paciente, se prefiere una selección de tiempo determinada (pico o valle) sobre la recolección aleatoria de muestras.
 - Los resultados de cualquier prueba de evaluación o cuantitativa de los anticoagulantes orales directos deben usarse en conjunto con la historia clínica del paciente y el conocimiento de la última dosis de exposición.
 - Los laboratorios que ejecutan medidas cuantitativas de anticoagulantes orales directos deben enrolarse en programas de aseguramiento de la calidad externo para garantizar la continua vigilancia de la exactitud de los resultados.
3. Barret J, Wang Z, Frost C, Shenker A. Clinical laboratory measurement of direct factor Xa inhibitors: anti Xa assay is preferable to prothrombin time assay. *Thromb Haemost* 2010;104(6).
 4. Barret Y, Wang J, Song Y. A randomised assessment of the pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety interaction between apixaban and enoxaparin in healthy subjects. *Thromb Haemost* 2012;107(5).
 5. Bathala M, Masumoto H, Oguma T, et al. Pharmacokinetic, biotransformation, and mass balance of endoxaban, a selective, direct factor Xa inhibitor, in humans. *Drug Metab Dispos* 2012;40(12).
 6. Dager W, Gosselin R, Kitchen S, Dwyre D. Dabigatran effects on the international normalized ratio, activated partial thromboplastin time, thrombin time, and fibrinogen a multicenter in vitro study. *Ann Pharmacother* 2012;46(12).
 7. DeLavenne X, Mismetti P, Basset T. Rapid determination of apixaban concentration in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal* 2013;78.
 8. Douxfils J, Chatelain B, Chatelain C, Dogné J, Mullier F. Endoxaban: Impact on routine and specific coagulation assays: a practical laboratory guide. *Thromb Haemost* 2016;115(2).
 9. Douxfils J, Gosselin R. Laboratory assessment of direct oral anticoagulants. *Semin Thromb Hemost* 2017;43.
 10. Douxfils J, Moulier F, Dogné J. Comparison of calibrated dilute thrombin time and aPTT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with dabigatran etexilate. *Thromb Haemost* 2013;110(3).
 11. Douxfils J, Tamigniau A, Chatelain B. Comparison of calibrated chromogenic anti-Xa assay and PT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with rivaroxaban. *Thromb Haemost* 2013;110(4).
 12. Gosselin R, Adcock D, Hawes E, Francart S, et al. Evaluating the use of commercial drug-specific calibrators for determining PT and APTT reagent sensitivity to dabigatran and rivaroxaban. *Thromb Haemost* 2015;113(1).
 13. Gous T, Couchman L, Patel J, Paradzai C, Arya R, Flanagan R. Measurement of the direct oral anticoagulants apixaban, dabigatran, endoxaban and rivaroxaban in human plasma using turbulent flow liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry. *Ther Drug Monit* 2014;36(5).
 14. Harenberg J, Kramer S. Measurement of rivaroxaban and apixaban in serum samples of patients. *Eur J Clin Invest* 2014;44(8).
 15. Herrera M. Anticoagulantes orales directos: control de laboratorio y actualización de pruebas específicas. *Hematología* 2018;22.
 16. McGrail R, Revsholm J, Nissen P. Stability of direct oral anticoagulants in whole blood and plasma from patients in steady state treatment. *Thromb Res* 2016;148.
 17. Mueck W, Eriksson B, Bauer K. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban-an oral, direct

REFERENCIAS

1. Lessire S, Douxfils J, Bausar J. Is Thrombin time useful for the assessment of dabigatran concentrations? *Thromb Res* 2015;136(3).
2. Levy H, Ageno W, Chan N, et al. Subcommittee on control of anticoagulation. When and how to use antidotes for the reversal of direct anticoagulants guidance from the SSC of the ISTH. *Thromb Haemost* 2016;14(3).

- factor Xa inhibitor- in patient undergoing major orthopedic surgery. Clin Pharmacokinet 2008;47(3).
18. Robert C, Gosselin D, Adcock S, et al. International Council for Standardization in Haematology: Recommendation for Laboratory measurement of Direct Oral Anticoagulants. Thromb Haemost 2018;118.
 19. Stangier J, Feuring M. Using the HEMOCLOT direct thrombin inhibitor assay to determine plasma concentrations of dabigatran. Blood Coagul Fibrinolysis 2012;23(2).
 20. Strangier J, Rathgen K, Stahle H, Gansser D, Roth W. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. Br J Clin Pharmacol 2007;64(3).
 21. Vogeser M, Seger C. Pitfalls associated with the use of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the clinical laboratory. Clin Chem 2010;56(8).
 22. Zhang L, Long Y, Xiao H, et al. Use of D-dimer in oral anticoagulation Therapy. Int J Lab Hematol 2018;40.