



Université de Strasbourg
FACULTÉ DE PHARMACIE

N° d'ordre : _____

MÉMOIRE DE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

—

Bilan de thrombophilie sous AOD : efficacité du charbon activé.

Présenté par REGNART Chloé

Soutenu le 19 octobre 2023, devant le jury constitué de

Madame le Pr. Florence TOTI, Présidente

Madame le Dr. Agathe HERB, Directrice de thèse

Monsieur le Pr. Laurent MAUVIEUX, Membre du jury

Monsieur le Dr Laurent SATTLER, Membre du jury

Approuvé par le Doyen et
par le Président de l'Université de Strasbourg



Doyen :	Esther KELLEBERGER
Directeurs adjoints	Julien GODET Blattica HEURTAULT Emilie SICK
Directeur adjoint étudiant :	Léo FERREIRA-MOURAUX

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT-CHERCHEUR

Professeurs :

Philippe BOUCHER	Physiologie
Nathalie BOULANGER	Parasitologie
Line BOURSEL	Chimie thérapeutique
Pascal DIDOT	Biophotonique
Said ENNAHAR	Chimie analytique
Philippe GEDRZEJ	Bactériologie, Virologie
Jean-Pierre GIES	Pharmacologie moléculaire
Blattica HEURTAULT	Pharmacie galénique
Esther KELLEBERGER	Bio-informatique
Madeine LEHMANN	Biologie cellulaire
Eric MARCHON	Chimie analytique
François MÉGERLIN	Droit et économie pharm.
Yves MELV	Physique et Biophysique
Jean-Yves BARST	Droit Economie pharm.
Françoise RONS	Toxicologie
Valérie SCHUB-KERTH	Pharmacologie
Florence TITI	Pharmacologie
Thierry VANDAMME	Biogalénique
Catherine VONTHRON	Pharmacognosie
Rozal WEHRLÉ	Pharmacie galénique

Professeurs-praticiens hospitaliers

Jean-Marc LESONGER	Biochimie
Bruno MICHEL	Pharm. clinique santé publique
Pauline SCOLAY-SPRAUEL	Immunologie
Suzanne URBALIS-SOUCIER	Pharmacochimie

Pharm.

Mathieu FOHBER	Pharmacie d'officine
Philippe GALAS	Droit et économie pharm.
Philippe NARDE	Ingénierie pharmaceutique
Caroline WILLOU - WEHRLÉ	Pharmacie d'officine

Maîtres de Conférences :

Nicolas ANTON	Pharmacie biogalénique
Martine BERGAENTZ E	Chimie analytique
Elisa BOMBARDIA	Biophysique
Aurélien BOUNDEROUK	Pharmacochimie
Emmanuel BOUITANT	Virologie et Microbiologie
Véronique BRUBAN	Physiologie et physiopath.
Anne CASSET	Toxicologie
Thierry CHATAIGNEAU	Pharmacologie
Manuela CHAPER	Pharmacie biogalénique
Guillaume CONZATTI	Pharmacie galénique
Marcelle DE GORIO	Pharmacochimie
Serge DUMONT	Biologie cellulaire
Valérie GEDTROY	Microbiologie
Grégoire HAAN-ARCHIPOFF	Plantes médicinales
Cécile JACQUEMARD	Chémoinformatique
Julie KARPENKO	Pharmacochimie
Christophe MACHLONG	Chimie physique
Rachel MATZ-WESTPHAL	Pharmacologie
Cherifa MEHADJI	Chimie
Nathalie NIEDERHOFER	Pharmacologie
Sophie ORTIZ AGUIRRE	Pharmacognosie
Sylvie PERROTEY	Parasitologie
Romain PERTSCH	Chimie en flux
Frédéric PRZYBILLA	Biostatistiques
Patrice RASSAM	Microbiologie
Elonore BEAC	Biochimie
Andreas BESCH	Biophysique
Lucyline BIFFAULT-VALZIG	Analyse du médicament
Carole BONZANI	Toxicologie
Emilie SICK	Pharmacologie
María-Vittoria SPANEDDA	Chimie thérapeutique
Jérôme TERRAND	Physiopathologie
Nassera TOIND	Chimie physique
Aurélien URBAN	Pharmacognosie
Bruno VAN OVERLOOP	Physiologie
María ZENOU	Chimio-génomique

Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers

Julia BRUNET	Parasitologie
Nelly ETIENNE-SELLOUM	Pharmacologie-pharm. clinique
Julien GODET	Biophysique - Biostatistiques

Assistants hospitaliers universitaires

Damien REITA	Biochimie
--------------	-----------



SERMENT DE GALIEN

JE JURE,

en présence des Maîtres de la Faculté,
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit
dans les préceptes de mon art et de
leur témoigner ma reconnaissance en
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,
ma profession avec conscience et de respecter non
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,
que je sois moi-même honoré
et estimé de mes confrères
et de mes patients.

Remerciements :

A Madame le Professeur Florence TOTI, présidente du jury, un grand merci pour l'honneur que vous me faites de présider le jury de cette thèse.

A Madame le Docteur Agathe HERB, directrice du jury, merci de m'avoir soutenue et aidée tout au long de ce travail, merci pour ta grande disponibilité, ta patience et pour tes nombreuses relectures.

A Monsieur le Professeur Laurent MAUVIEUX et à Monsieur le Docteur Laurent SATTLE, merci d'avoir accepté de faire partie du jury.

Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire d'hématologie et d'hémostase des HUS pour votre pédagogie et votre aide au cours de l'écriture de ce manuscrit mais également au cours des différents stages que j'ai pu effectuer au sein du service.

Je tiens à remercier mes amies et co-internes de promotion, Mathilde, Anne et Chaimae pour tous les fous rires et les moments de détente qu'on a passé ensemble mais également pour votre soutien lors des moments plus compliqués... Mathilde je ne quitterai pas Strasbourg sans avoir fini la carte du super tonic ceci est un avertissement !

Merci à mes co-internes d'hématologie, Loup et Nicolas, pour cette belle rencontre et votre aide plus que douteuse lors de la réalisation de mes manip de thèse.

Une pensée à toutes ces belles rencontres sur Strasbourg : Yannick, Simo, Samih, Ibtissem, Claire, Adrien, Laurent, Elise, Raphaël, Dihia, Guilaine, Julien, Taha, Marion, Assilina, Inès, Clotilde, Antoine et tous les autres.

A Coco, Maude, Alice, Loulou et Popo, ces années de fac ont été les plus belles à vos côtés je vous aime !

A Léa, Manon, Clémence et Zou mes copines de toujours.

A ma famille :

Merci à mes parents, pour m'avoir toujours soutenue aussi bien moralement que financièrement dans mes choix, sans votre amour et vos sacrifices rien n'aurait été possible, je vous aime.

A ma sœur Manon, merci de toute l'attention que tu as porté à mon bien être.

A mon grand-père, merci d'avoir toujours cru en moi.

A mon Mimi, ma douceur à quatre pattes, merci pour ces longs câlins apaisant même s'ils se font plus que rare à mon grand désespoir.

A ma grand-mère, ma tante, mon oncle et mes cousines merci pour vos encouragements et votre soutien infaillible.

A ma moitié Mehdi, merci pour ton amour et soutien au quotidien. Ton goût de l'excellence et ton ambition fracassante m'ont très certainement plus qu'inspirée et sans ta présence dans ma vie je ne serais jamais allé au-delà de mon « plafond de verre ». Je t'aime.

Table des matières :

I)	Introduction :	1
1.	Contexte :	1
2.	Bilan de thrombophilie :	1
a.	Antithrombine :	2
b.	Protéine C :	2
c.	Protéine S :	3
d.	Anticoagulant de type lupique LA :	5
a.	Principe de la recherche de LA :	5
b.	Impact des AOD sur la recherche de LA :	5
3.	L'utilisation du charbon activé in vitro pour lever les interférences liées aux AOD :	8
II)	Matériel et méthode :	12
III)	Résultats :	14
1.	Détermination de l'interférence du CA sur les tests de coagulation chez les témoins adultes sans traitements anticoagulants :	14
2.	Effet du CA sur les interférences liées aux AOD dans le bilan de thrombophilie :	18
IV)	Discussion :	27
	Bibliographie :	1

Liste des abréviations :

AOD : anticoagulant oraux

AT : antithrombine

AVK : antivitamine K

BSH : British society of haematology

CA : charbon activé

dRVVT : temps de venin de vipère Russell dilué

EP : embolie pulmonaire

ETEV : évènement thromboembolique veineux

FII : facteur II

FN : faux négatif

FP : faux positif

FRB : facteur de risque biologique

FV : facteur V

GEHT : groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose

HUS : hôpitaux universitaire de Strasbourg

IIa : facteur II activé

ISTH : International society on thrombosis and haemostasis

MTEV : maladie thromboembolique veineuse

PC : protéine C

PSa : activité de la PS

PET : Polyéthylène – Téréphtalate

PL : phospholipide

PPP : plasma pauvre en plaquettes

PS : protéine S

SAPL : syndrome des anti-phospholipides

TCA : temps de céphaline activé

TP : taux de prothrombine

Xa : facteur X activé

Table des figures :

Figure 1 : dépistage des déficits en PC par mesure de l'activité amidolytique en présence d'apixaban et rivaroxaban à concentration croissante.(5)	3
Figure 2 : dépistage des déficits en protéine s par technique chromométrique en présence d'apixaban et rivaroxaban à concentration croissante (5).....	4
Figure 3 : dépistage des déficits en protéine S par technique chromométrique (en rouge) et par technique immunologique (protéine S libre) en présence de dabigatran à concentration croissante. (6).....	4
Figure 4 : RN dRVVT en présence d'apixaban et de rivaroxaban à différentes concentrations (5).	6
Figure 5 : RN dRVVT en présence de concentrations croissantes de dabigatran (6).	7
Figure 6 : démonstration de l'adsorption des concentrations en AOD par HPLC-MS/MS après ajout de 18 mg/ml de DOAC stop (21).	8
Figure 7 : démonstration de l'adsorption de l'argatroban par dosage de celui-ci (Thrombin Inhibitor (Hyphen Biomed)) après ajout d'une pastille de DOAC-Remove. (23).....	9
Figure 8 : différences pour les résultats des tests dRVVT dépistage et confirmation après ajout de différentes concentrations de CA.. (La zone grise correspond à 3SD (écart-type) selon les règles de Westgard.) (18).....	10
Figure 9 : différences pour les résultats des tests aPTT après ajout de différentes concentrations de CA .(La zone grise correspond à 3SD (écart-type) selon les règles de Westgard.)(18).....	10
Figure 10 : PS avant et après CA chez les patients sans AOD.	14
Figure 11 : AT avant et après CA chez les patients sans AOD.	15
Figure 12 : dRVVT avant et après CA chez les patients sans AOD.	16
Figure 13 : TCA avant et après CA chez les patients sans AOD.....	17
Figure 14 : différence des résultats avant et après ajout de CA pour les tests dRVVT et TCA. (La zone colorée indique les bornes de reproductibilités du laboratoire (+/- 2CV)).....	18
Figure 15 : AT avant et après CA chez les patients traités par dabigatran.	19
Figure 16 : PS avant et après CA chez les patients sous AOD.	19
Figure 17 : dRVVT avant et après CA chez patients sous AOD	23
Figure 18 : TCA avant et après CA chez les patients sous AOD.....	26

Table des tableaux :

Tableau 1 : résultats de PS avant et après DOAC-Stop chez les patients sous AOD. 20

Tableau 2 : résultats des tests dRVVT avant et après ajout de CA chez les patients anticoagulés.
..... 23

Tableau 3 : résultats des test TCA chez les patients anticoagulés avant et après CA..... 26

I) Introduction :

1. Contexte :

Les anticoagulants oraux directs (AOD) sont des médicaments inhibant la coagulation en agissant directement sur le facteur IIa ou le Xa. Ils sont largement utilisés de nos jours dans la prévention des complications thromboemboliques chez les patients atteints de diverses pathologies thromboemboliques ou emboligènes.

Cependant, il convient de noter que la présence d'AOD dans le plasma des patients peut interférer de manière significative avec les techniques d'hémostase, ce qui est susceptible de fausser les résultats obtenus.

Bien que les AOD ne nécessitent – théoriquement – pas de monitoring biologique, il est indispensable dans plusieurs circonstances d'explorer l'hémostase et c'est notamment le cas du bilan de thrombophilie. Ainsi, lorsqu'un traitement par AOD a déjà été instauré et qu'un changement d'anticoagulation ou qu'une fenêtre thérapeutique n'est pas envisageable celui-ci peut s'avérer complexe.

Cette étude a pour but d'évaluer les capacités du charbon activé (CA) in vitro à adsorber différents AOD et ainsi potentiellement résoudre les perturbations du bilan de thrombophilie associées à leur présence.

2. Bilan de thrombophilie :

Le bilan de thrombophilie vise à rechercher des facteurs de risque biologique (FRB) dont la résultante est une augmentation du risque thrombotique.

Cela inclut la recherche d'anomalies congénitales comme les déficits en inhibiteurs physiologiques de la coagulation que sont l'antithrombine (AT), la protéine C (PC) et la protéine S (PS) ainsi que la mutation du FV Leiden ou G20210A du FII, mais également d'anomalies acquises, comme le syndrome des anti phospholipides (SAPL) comprenant la recherche d'anticoagulant lupique (LA), d'anti bêta2 glycoprotéine 1 et d'anticardiolipines (1).

L'exploration de certains FRB peut être sujette à des interférences par les traitements anticoagulants, dont les AOD. Ces derniers sont actuellement largement prescrits en France et

comprennent à la fois l'inhibiteur direct de la thrombine (IIa) qu'est le dabigatran et les inhibiteurs directs du facteur Xa : les xabans tels que l'apixaban et le rivaroxaban.

Ces anticoagulants vont interférer de manière molécule et dose-dépendante avec la plupart des tests chronométriques d'hémostase ainsi qu'avec certains tests chromogéniques. Les techniques d'hémostase utilisées pour la recherche de FRB sujettes à des interférences par les AOD sont : la recherche de LA, la mesure de la PC, de la PS et de l'AT.

a. Antithrombine :

Il est préconisé de rechercher un déficit en AT en procédant en premier lieu à une mesure de l'activité cofacteur de l'héparine par une technique chromogénique. Cette dernière mesure la capacité de l'AT à inhiber du IIa ou du Xa, ajoutés en excès, en présence d'une forte concentration d'héparine et d'un substrat chromogène du IIa ou du Xa. Il existe une interférence par les AOD en fonction du type de technique (anti-IIa ou anti-Xa) utilisée, avec un risque de surestimation de l'activité de l'AT. En effet, les xabans sont susceptibles d'interférer sur les techniques de dosage fondées sur l'activité anti-Xa de l'AT, tandis que le dabigatran interférera sur les techniques basées sur l'activité anti-IIa (2). Ainsi les principaux groupes de travail (1,3) préconisent d'évaluer l'activité de l'AT à l'aide d'une méthode basée sur l'inhibition du facteur Xa, en cas de traitement par dabigatran, ou par une méthode basée sur l'inhibition de la thrombine en cas de traitement par un xaban. Néanmoins, peu de laboratoires disposent de deux trousse avec des techniques différentes et la recherche d'un déficit en AT peut s'avérer compliquée selon la technique utilisée et le type d'AOD prescrit.

b. Protéine C :

Il existe deux types de techniques pour le dépistage des déficits en PC. Celles-ci sont initiées par une activation de la PC à l'aide de Protac (venin de serpent) :

- La mesure de l'activité anticoagulante de la PC par technique chronométrique en mélangeant le plasma du patient à un plasma commercial déplété en PC. Cette technique, comme toutes les techniques chronométriques, est systématiquement sujette à des interférences par les AOD (2–4).
- La mesure de l'activité amidolytique (capacité fonctionnelle du site catalytique) par technique colorimétrique. Elle consiste, à mesurer la capacité de la PCa à dégrader un

substrat chromogène. Cette technique n'est pas influencée par la présence d'AOD (4), (voir Figure 1), cependant elle peut conduire à un défaut de diagnostic pour certains déficits qualitatifs (2,3).

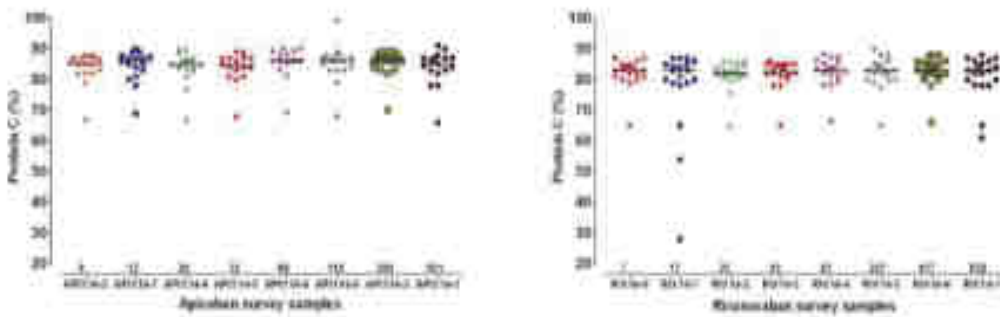


Figure 1 : dépistage des déficits en PC par mesure de l'activité amidolytique en présence d'apixaban et rivaroxaban à concentration croissante.(5)

c. Protéine S :

Il existe deux types de techniques de dépistage des déficits en PS :

- D'une part, l'activité cofacteur de la PCa, technique chronométrique consistant en la mesure d'un temps de coagulation d'un mélange du plasma du patient et d'un plasma commercial déplété en PS, en présence de PCa, de facteur Va, de calcium, et d'un activateur de la coagulation. Cependant cette technique est sujette à de multiples interférences (anticoagulant lupique, AOD, élévation du facteur VIII, etc.)(1,2,4).

En effet, dans les études de Bonar et al. (5,6) il a été mis en évidence que les AOD entraînaient une surestimation de cette activité pouvant conduire à des résultats faussements négatifs (FN), principalement avec le dabigatran et le rivaroxaban (voir Figure 2 et 3).

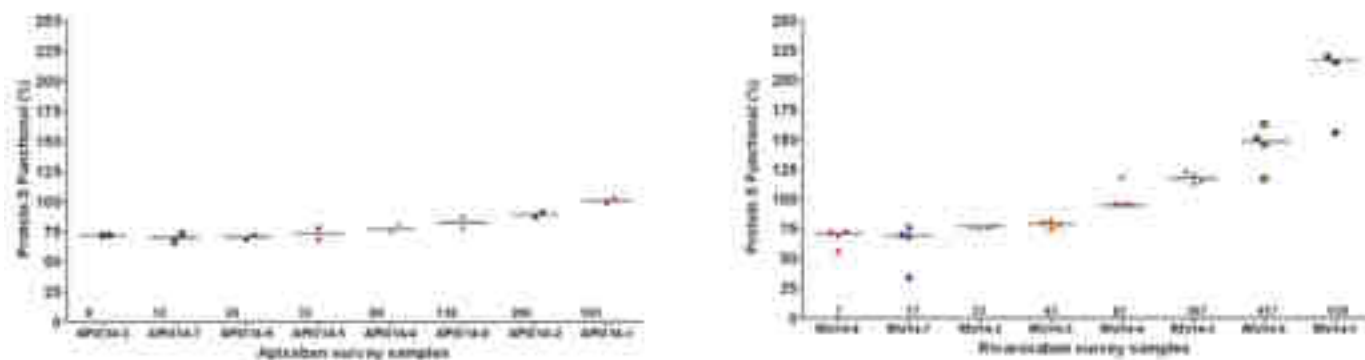


Figure 2 : dépistage des déficits en protéine S par technique chromométrique en présence d'apixaban et rivaroxaban à concentration croissante (5).

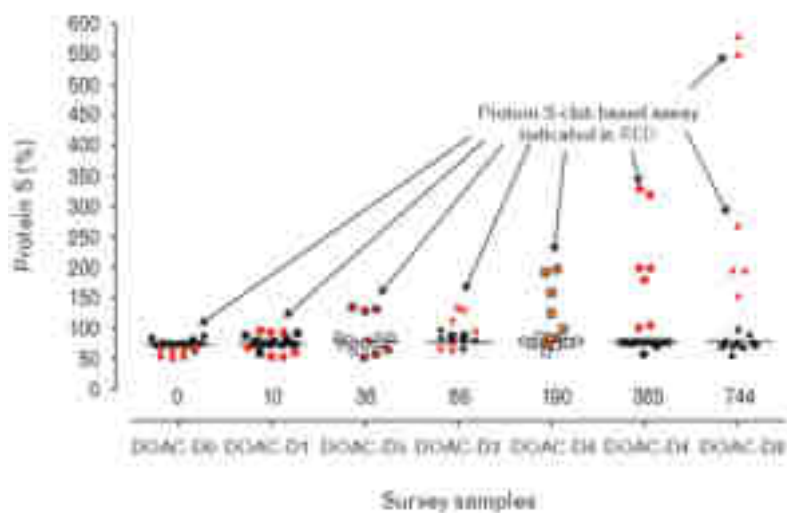


Figure 3 : dépistage des déficits en protéine S par technique chromométrique (en rouge) et par technique immunologique (protéine S libre) en présence de dabigatran à concentration croissante. (6)

- D'autre part, la mesure de la PS libre, généralement par ELISA ou immunoturbidimétrie. Cette technique présente l'avantage d'être insensible à la présence d'AOD (5,6), mais ne permet pas de dépister les déficits qualitatifs en PS (1,7).

Les recommandations françaises et internationales divergent quant au choix de la technique de dépistage d'un déficit en PS. Tandis que les recommandations 2020 du GEHT (Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose) (1) préconisent en premier lieu de procéder à une mesure de l'activité cofacteur de la PCa, l'ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis) (7) et la BSH (British Society of Haematology) (3) préconisent d'avoir recours à une mesure de la PS libre.

d. Anticoagulant de type lupique LA :

a. Principe de la recherche de LA :

La recherche de LA, qui constitue l'un des critères diagnostiques du SAPL, a pour but de mettre en évidence un allongement des temps de coagulation dépendant des phospholipides (PL), lié à la présence d'anticorps dirigés contre ces PL.

La recherche de LA se réalise en plusieurs temps, alliant deux tests de dépistage de principe différent, puis, en cas de positivité, des tests de confirmation correspondants. Les tests de dépistage doivent être sensibilisés aux LA, et comportent ainsi généralement de faibles concentrations de PL. Il est préconisé ainsi de réaliser systématiquement, en dépistage, un TCA (Temps de Céphaline Activé) avec un activateur à base de silice (éventuellement de l'acide ellagique (8,9)) et un temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) :

- Le TCA est un test global permettant l'exploration de la voie intrinsèque et est sensible aux déficits en facteurs intervenant dans cette voie (VIII, IX, XI, XII) ainsi que ceux de la voie commune (I, II, V et X).
- Le dRVVT permet d'activer directement le facteur X, et est de facto insensible aux déficits en facteurs de la voie intrinsèque, cependant il reste sensible aux déficits en facteurs de la voie commune.

En cas de positivité d'un des tests de dépistage, on réalise le test de confirmation correspondant en réitérant l'analyse en présence d'une forte concentration de PL. Une normalisation des temps permet de mettre en évidence l'effet inhibiteur PL-dépendant. Le résultat est ainsi considéré positif si le ratio normalisé, représentant le ratio du test de dépistage rapporté au ratio du test de confirmation, ainsi que le ratio du test de dépistage sont supérieurs à leurs seuils respectifs de positivité.

b. Impact des AOD sur la recherche de LA :

Le dRVVT est influencé de manière variable selon les réactifs utilisés et le type d'AOD. Dans l'étude de Bonar et al en 2016 (5), réalisée à l'aide du Staclot DRVV Screen et Confirm (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France) ainsi que dans celle de Flieder et al. de 2018 (10), réalisée à l'aide du DRVV IL Screen et Confirm (Werfen, Barcelone, Espagne), il a été démontré que l'utilisation du rivaroxaban conduisait à une surestimation du ratio normalisé du dRVVT et ainsi à un risque de faux positif (FP). En effet, cet AOD impacterait de manière plus importante le test de dépistage du dRVVT que le test de confirmation et cela de manière dose dépendante. L'apixaban ne semblait pas réellement interférer sur le RN dRVVT puisque les tests de

confirmation et de dépistages étaient impactés de manière similaire (voir Figure 4). Il est important de noter que même si le RN dRVVT n'était pas impacté par l'apixaban, les ratios de dépistage et de confirmation étaient quand même largement surestimés, ce qui pourrait induire alors un risque de faux négatif. De plus, Bonar et al. (6) avaient mis en évidence une légère augmentation du ratio normalisé dRVVT en présence de dabigatran (voir Figure 5) lors que Flieder et al. (10) ne retrouvaient aucun impact avec cet AOD. Il convient donc de nuancer ces résultats puisque les AOD semblent effectivement avoir des impacts différents sur le test dRVVT en fonction des réactifs utilisés et de la nature de l'AOD lui-même.

Ainsi, des résultats contradictoires ont été observés quant à l'effet des AOD sur le RN puisque certaines études (6,11) mettent en évidence un risque de FP tandis que d'autres ne retrouvent pas d'impact sur le ratio normalisé, voire décrivent un risque de FN en masquant des résultats potentiellement pathologiques (5,10) ou en impactant plus fortement le test de confirmation que celui de dépistage (4).

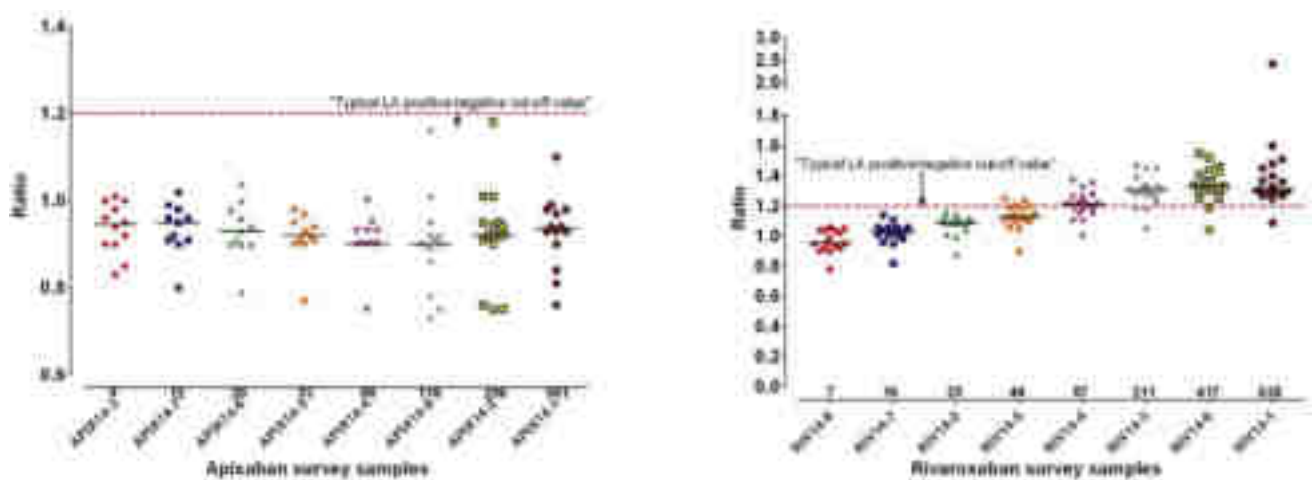


Figure 4 : RN dRVVT en présence d'apixaban et de rivaroxaban à différentes concentrations (5).

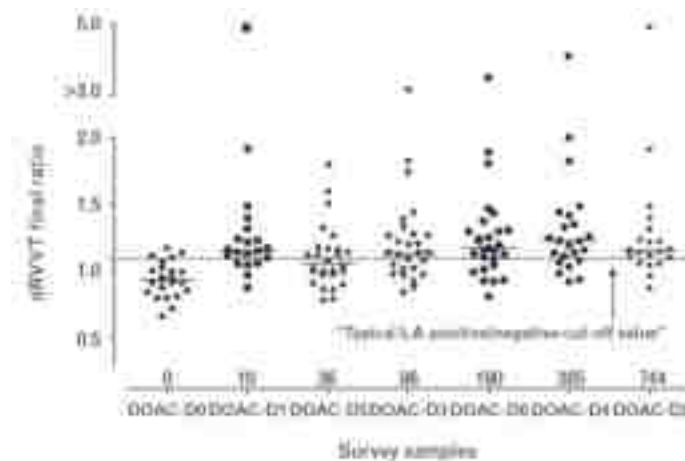


Figure 5 : RN dRVVT en présence de concentrations croissantes de dabigatran (6).

Le TCA est également impacté de façon variable en fonction de la situation : dans l'ensemble, les études s'accordent à dire que le test de dépistage à faible concentration en PL est plus sensible que le test de confirmation à la présence d'AOD et que le dabigatran semble avoir l'impact le plus important suivi du rivaroxaban et enfin de l'apixaban (4,5,10,12). Par exemple dans l'étude de Flieder et al. (10), la présence de dabigatran même à faible dose (10 ng/ml) conduisait à des valeurs pathologiques de TCA dépistage, avec le réactif APTT-SP (Werfen), pour 64% des échantillons contre 8% avec le rivaroxaban. Cependant il n'y avait pas d'impact sur les RN. Des résultats similaires ont été trouvés par l'équipe de Zabczyk et al.(13) en utilisant le réactif Pathromtin SL (Siemens Healthcare, Erlangen, Allemagne), et aucun impact de l'apixaban n'était observé sur le test. Néanmoins il convient de pondérer ces résultats car les réactifs présentent des sensibilités variées aux AOD, et il est ainsi difficile de standardiser ces tests en présence d'anticoagulants.

En l'absence d'alternatives aux tests chronométriques pour une partie des explorations du bilan de thrombophilie, la réalisation de celui-ci chez un patient sous AOD est un réel défi pour le biologiste. D'autant plus qu'il a été démontré que l'utilisation des AOD chez les patients atteints de SAPL triples positifs était associée à une augmentation du taux de survenue d'évènements thromboemboliques en comparaison à l'utilisation d'AVK (14). Ainsi il devient crucial de pouvoir détecter la présence de LA chez les patients déjà sous AOD afin de pouvoir adapter la thérapeutique en conséquence.

Il n'existe pas de consensus sur les techniques à utiliser pour lever ces interférences à l'heure actuelle. Bien que l'idéal demeure de réaliser le bilan de thrombophilie à distance de tout évènement thrombo-embolique veineux (ETEV) et de toute anticoagulation, il peut être envisagé

plusieurs alternatives pour limiter l'interférence des AOD. Il s'agit, par exemple, de l'utilisation de tests combinés moins sensibles aux AOD, l'utilisation d'antidotes comme l'idarucizumab (antidote du dabigatran) ou encore l'utilisation des temps de venin de vipère Taipan ou du temps de textarine couplé au temps d'écarine. Cependant ces alternatives restent incomplètes, voire pour certaines inutilisables en routine (1,15–17). Enfin, il est possible d'ajouter des neutralisants d'AOD in vitro avant l'analyse, tels que le charbon activé.

3. L'utilisation du charbon activé in vitro pour lever les interférences liées aux AOD :

Le charbon activé (CA) serait un bon candidat pour supprimer les interférences analytiques liées aux AOD sans perturber les protéines de la coagulation. En effet, elles ont presque toutes une taille d'environ 30 000 Da, alors que la capacité adsorbante maximale du CA est de 5000 Da. Cela explique en partie la spécificité du CA pour les petites molécules que sont les AOD (18,19). Différents types d'adsorbants sont actuellement disponibles sur le marché comme par exemple : DOAC-Stop (Haematex Research, Sydney, Australie) et DOAC-Remove (5-Diagnostics, Quadragech, Suisse) sous forme de micro tablette à ajouter au plasma in vitro.

Une grande majorité des études ayant expérimenté l'utilisation du CA ont mis en évidence une adsorption des AOD avec des concentrations inférieures ou proches des limites de quantification après traitement du plasma par 18 et 20 mg/ml de CA (voir Figure 6) (18–21). De plus, aucun effet du CA n'a été mis en évidence dans la littérature pour les échantillons traités par héparine, fondaparinux, anti-vitamine K (AVK) ou encore danaparoiide (18–20,22–24) et au contraire, l'argatroban subirait une adsorption complète après ajout de CA (23) (voir Figure 7) .

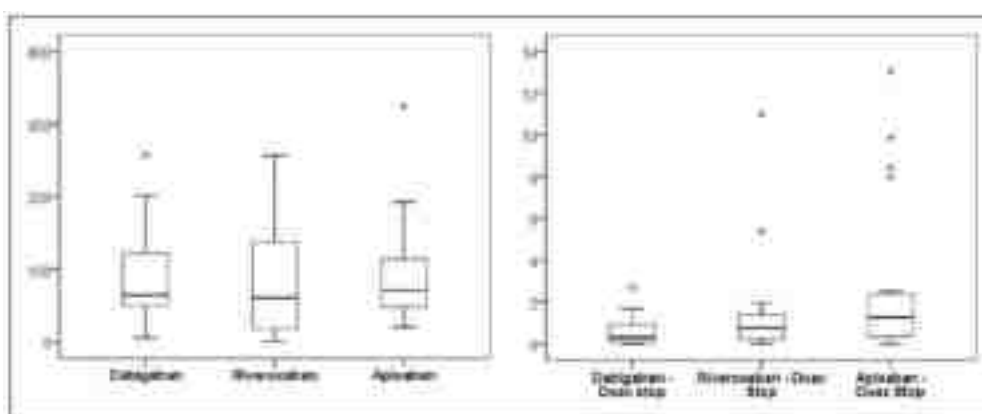


Figure 6 : démonstration de l'adsorption des concentrations en AOD par HPLC-MS/MS après ajout de 18 mg/ml de DOAC stop (21).

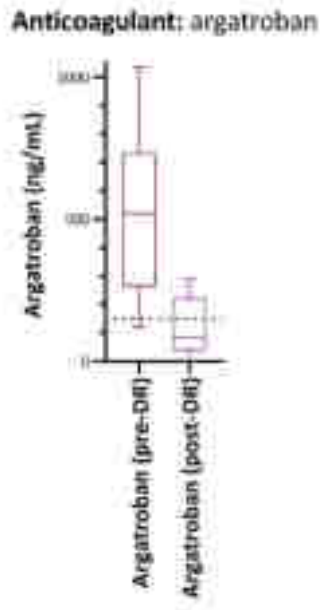


Figure 7 : démonstration de l'adsorption de l'argatroban par dosage de celui-ci (Thrombin Inhibitor (Hyphen Biomed)) après ajout d'une pastille de DOAC-Remove. (23)

L'utilisation du CA semble avoir peu d'impact clinique sur les tests d'hémostase. En effet, différents auteurs s'accordaient à dire que, malgré quelques variations retrouvées après l'utilisation du CA chez des patients non anticoagulés, le charbon activé n'avait pas d'impact clinique sur les tests d'hémostases lorsque celui-ci était utilisé aux concentrations recommandées par le fabricant (< 20 mg/ml).

En ce sens, l'étude de Guammad et al.(27) a montré l'absence d'interférences liées à la présence du CA sur le dosage de la PS par technique chromométrique (Staclo Protein S, Diagnostica Stago) chez des patients témoins sans anticoagulant. Cette même observation a été faite dans l'étude de Favresse et al.(20) concernant le dosage de l'AT par technique basée sur l'anti-IIa (Stachrom AT III (Diagnostica Stago)) ainsi que dans l'étude de Exner et al.(19) par technique basée sur l'anti-Xa (Innovance Antithrombin (Siemens)).

Pour le dRVVT, l'étude d'Exner et al.(19) a mis en évidence l'absence d'effet significatif de 18 mg/ml de CA sur des patients témoins sans traitement anticoagulant pour le test de dépistage et de confirmation dRVVT (DRVV Screen et DRVV Confirm, Diagnostica Stago). Ce fut également le cas dans l'étude de Frans et al.(18) en présence de 20 mg/ml de CA à l'aide des réactifs dRVVT Screen et Confirm (HemosIL, Werfen). Par ailleurs, dans cette même étude (18) des concentrations en CA supérieures aux recommandations ont été testées et, un raccourcissement du dRVVT

dépistage (HemosIL, Werfen) a été observé lorsque les concentrations de CA étaient supérieures à 40 mg/ml sans impact sur le test de confirmation (voir Figure 8).

Quant au TCA, lorsque la concentration de 18 mg/ml était utilisée (19), un allongement du TCA dépistage était retrouvé (Cephen-LS (Hyphen Biomed, Neuville sur Oise, France)), de sorte que les RN étaient augmentés de plus de 10% après ajout du CA. Cependant, cette augmentation n'avait aucun impact clinique et les auteurs incriminaient potentiellement l'ultracentrifugation nécessaire lors de l'ajout de l'adsorbant, seul paramètre différenciant entre les deux groupes en dehors du CA. Lorsque le CA était utilisé à une concentration supérieure à 40 mg/ml (18), un allongement du TCA (aPTT Synthasil, Werfen) a également été observé (voir Figure 9).

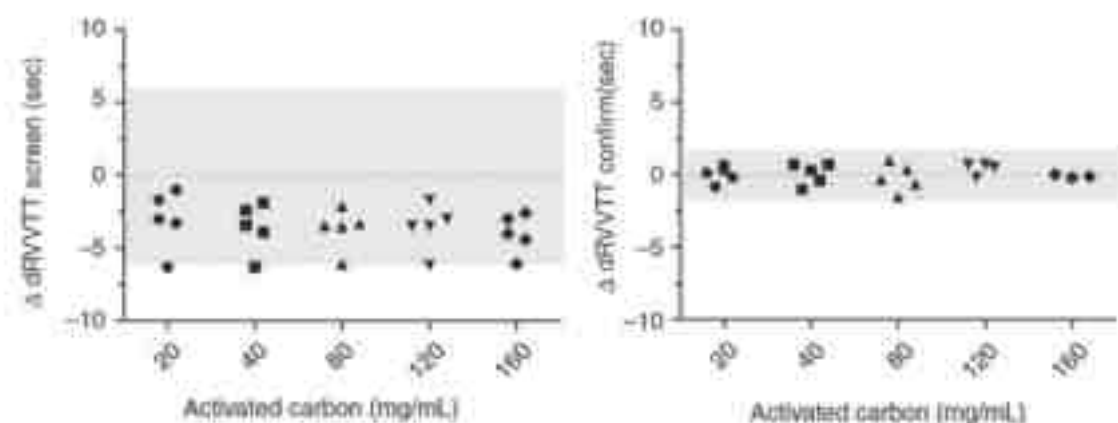


Figure 8 : différences pour les résultats des tests dRVVT dépistage et confirmation après ajout de différentes concentrations de CA.. (La zone grise correspond à 3SD (écart-type) selon les règles de Westgard.) (18).

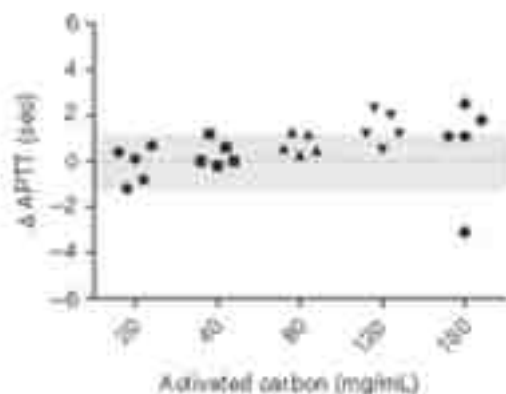


Figure 9 : différences pour les résultats des tests aPTT après ajout de différentes concentrations de CA .(La zone grise correspond à 3SD (écart-type) selon les règles de Westgard.)(18).

L'utilisation de CA s'est avérée efficace pour lever les interférences liées à la présence d'AOD dans un grand nombre d'études. Tout d'abord, pour la recherche de LA, bien que peu d'études aient utilisé des tests combinés, la plupart des travaux ont montré une efficacité du CA à réduire les faux positifs sous AOD principalement sur le test dRVVT. Par exemple dans l'étude de Frans et al.(18), le CA a permis la réduction de 96% des FP sous AOD en dRVVT dépistage. Ce fut également le cas dans l'étude de Favresse et al.(20) où 100% des FP se sont normalisés après ajout de CA en dRVVT à l'aide de tests combinés (DRVV Screen et Confirm, Diagnostica Stago) avec une diminution importante des ratios, principalement pour le test de dépistage.

Concernant l'activité de l'AT pour les patients sous dabigatran, dans cette même étude (20), aucune différence significative après ajout du CA n'a été observée sur le dosage de l'AT par méthode chromogénique basée sur l'activité anti-IIa (Stachrom AT III (Diagnostica Stago)) : ceci peut s'expliquer par l'absence d'impact du dabigatran puisque les concentrations initiales étaient toutes < 100 ng/ml (25,26). Néanmoins dans l'étude d'Exner et al.(19) une normalisation des résultats de l'AT pour les échantillons traités par apixaban et rivaroxaban a été observée avec le réactif Antithrombin Innovance (Siemens) basé sur une technique anti-Xa, ce qui prouve au moins l'efficacité du CA avec cette méthode.

Enfin, pour ce qui est du dosage de la PS, l'étude de Guammad et al.(27) a démontré l'efficacité du DOAC-remove à lever les interférences liées à la présence d'AOD dans le dosage de celle-ci par technique chromométrique (Staclot Protein S, Diagnostica Stago).

Au regard de la littérature, cette étude a pour but d'évaluer l'intérêt du CA dans le bilan de thrombophilie. En effet, au vu des données précédemment énoncées, il serait pertinent de conforter les résultats prometteurs de ces différentes études ainsi qu'obtenir des informations supplémentaires quant à l'efficacité et la pertinence d'un tel dispositif sur des tests combinés dans la recherche de LA.

II) Matériel et méthode :

Cette étude non interventionnelle monocentrique, approuvée par le comité d'éthique (CE-2022-80), a été menée sur des échantillons de patients majeurs pour lesquels un échantillon de sang avait été adressé, dans le cadre du soin, au Laboratoire d'Hématologie des Hôpitaux universitaires de Strasbourg (HUS) pour recherche de FRB, entre avril 2022 et avril 2023.

Afin d'étudier respectivement l'action du charbon activé sur les AOD et sur les tests de coagulation eux-mêmes, il a été inclus des patients anticoagulés par AOD et des patients sans traitement anticoagulant.

Les prélèvements de sang ont été effectués sur tubes en verre BD Vacutainer® (Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) ou en PET Kima Vacutest® (Kima, Padoue, Italie) à 0,109 M de citrate de sodium. La préparation du plasma pauvre en plaquette (PPP) a été réalisée selon les préconisations du GEHT par double centrifugation à 2500 G pendant 10 minutes à 20°C avant décantation et congélation du plasma à $\leq -20^\circ \text{C}$ dans des tubes en polypropylène.

Le charbon activé DOAC-Stop (Haematex Research, Hornsby, Australie) a été utilisé selon les préconisations du fabricant. Ainsi, juste avant analyse, environ 1 ml de plasma a été décanté dans un tube Eppendorf, puis une pastille de DOAC-Stop (contenant 18 mg de CA) y a été ajoutée et mélangée jusqu'à dissolution. Après 10 minutes à température ambiante, le tube Eppendorf a été centrifugé à 11 000 g pendant 2 minutes dans une microcentrifugeuse puis décanté dans un nouveau tube Eppendorf pour analyse.

Toutes les analyses ont été réalisées sur des automates STA-R Max (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France). Le TP a été mesuré avec le réactif STA-NeoPTimal et le TCA avec du PTT-A (Diagnostica Stago).

La recherche de LA a été effectuée pour tous les patients inclus en présence et en l'absence de CA, par le biais de tests intégrés pour le dRVVT (DRVV Screen et Confirm (Diagnostica Stago)) et le TCA (Cephen LS et Cephen (Hyphen Biomed, Neuville sur Oise, France)). La mesure de l'activité de la PS a été effectuée à l'aide de Staclot Protein S (Diagnostica Stago) en présence et en absence de CA. La mesure de l'activité cofacteur de l'héparine de l'AT (anti IIa) a été évaluée à l'aide de Stachrom ATIII (Diagnostica Stago), et ce uniquement chez des témoins non anticoagulés et chez des patients sous dabigatran en présence et en absence de CA.

Tous les échantillons ont bénéficié d'un dépistage d'activité anti-Xa à l'aide de Liquid anti-Xa ou anti-IIa avec Thrombin (Diagnostica Stago). Lorsque le volume plasmatique le permettait, après traitement par le CA, la mesure de l'activité spécifique anti-Xa (rivaroxaban, apixaban) a été effectuée à l'aide de Liquid Anti-Xa (Diagnostica Stago) et la mesure de l'activité spécifique anti IIa (dabigatran) à l'aide de Thrombin Inhibitor (Hyphen Biomed).

La normalité des populations a été testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk avec un risque d'erreur alpha à 5%. Lorsque la distribution était normale, des tests de Student sur échantillons appariés ont été utilisés pour comparer les résultats avant et après ajout de CA avec un risque établi à 5%. Lorsque les données ne suivaient pas une loi normale, le test de Wilcoxon a été utilisé. Enfin, la relation entre deux variables a été étudiée par le test de corrélation de Pearson. Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel Prism version 6.05 et 9.51 (GraphPad Software, San Diego, USA).

III) Résultats :

1. Détermination de l'interférence du CA sur les tests de coagulation chez les témoins adultes sans traitements anticoagulants :

Pour déterminer si le CA interférait avec les tests de coagulation, 45 patients témoins non anticoagulés ont été inclus pour la recherche de LA, 38 pour la PS et 30 pour l'AT.

- Protéine S (voir Figure 10) :

il n'existait aucune différence significative ($p=0,053$) entre la valeur moyenne mesurée avant ($\mu=70\%$; (16-145%)) et après traitement par le CA ($\mu=68\%$; (14-142%)).

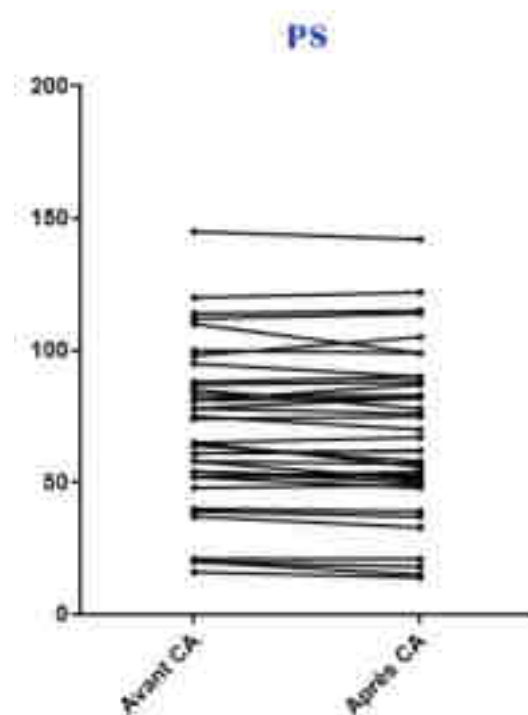


Figure 10 : PS avant et après CA chez les patients sans AOD.

- Antithrombine (voir Figure 11) :

Aucune différence significative ($p=0,387$) n'a été mise en évidence entre la valeur moyenne mesurée avant ($\mu=85\%$; (46-138%)) et après traitement par le CA ($\mu=86\%$; (47-125%)).

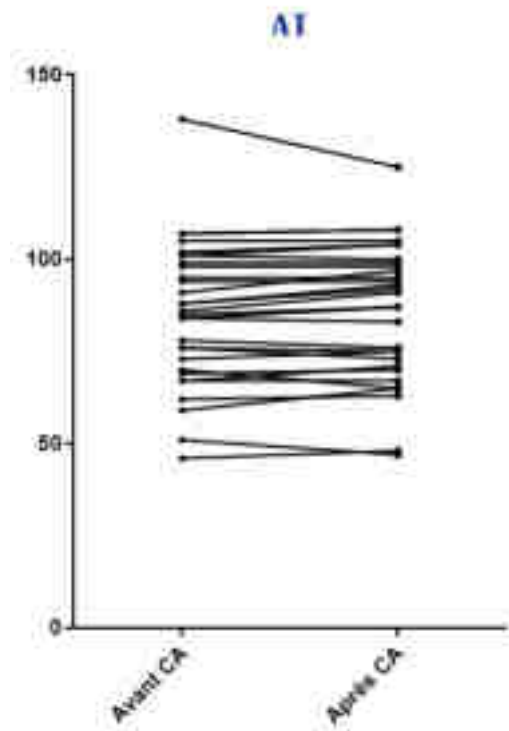


Figure 11 : AT avant et après CA chez les patients sans AOD.

- Recherche de LA :

Quarante-cinq patients ont été inclus dans l'étude dont 24 étaient connus positifs au LA et 21 négatifs.

- **dRVVT** (voir Figure 12) :

- Test de dépistage : parmi les 45 échantillons, 58% (n=26) étaient positifs avant CA et le sont restés après. Une différence significative ($p < 0,001$) a été observée entre les ratios moyens avant ($\mu = 1,33$; (0,73-2,73)) et après CA ($\mu = 1,38$; (0,73-2,98)).
- Test de confirmation : une différence significative a également été observée ($p < 0,001$) entre les deux groupes avec $\mu = 1,01$ (0,74-1,42) avant et $\mu = 1,03$ (0,75-1,47) après CA.
- Ratio normalisé : aucune différence significative ($p = 0,568$) n'a été observée entre les RN du dRVVT avant ($\mu = 1,30$; (0,91-2,45)) et après ($\mu = 1,31$;

(0,87-2,73)) traitement par le CA. Effectivement, les temps de coagulation des tests dépistage et confirmation étaient allongés de façon similaire, ainsi il n'y a pas eu d'impact sur le ratio normalisé.

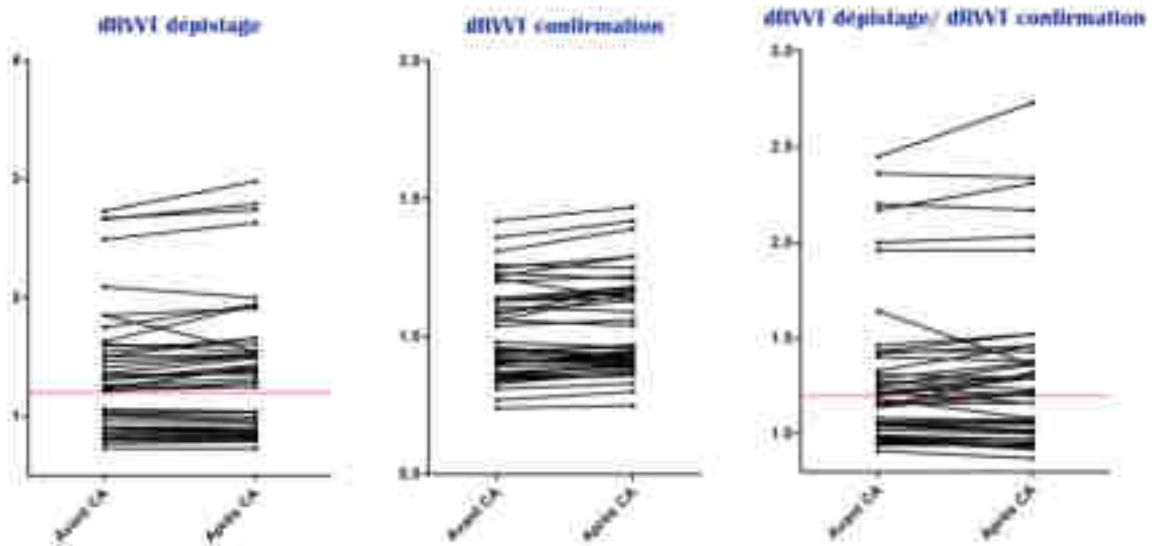


Figure 12 : dRVVT avant et après CA chez les patients sans AOD.

Parmi les 45 patients étudiés, 49% (n=22) avaient un RN positif avant CA et 53% (n=24) après. En effet parmi les 23 patients négatifs avant CA, 3 échantillons (13%) se sont positivés (1,14 à 1,21 ; 1,16 à 1,22 ; 1,14 à 1,32) et parmi les 22 positifs avant CA, un échantillon (5%) s'est négativé (1,22 à 1,16). Ainsi 9% (n=4) des échantillons ont vu leur interprétation du test intégré dRVVT modifiée suite au traitement par le CA.

○ **TCA** (voir Figure 13) :

- Test de dépistage : parmi les 45 échantillons, 47% (n=21) avaient des ratios positifs avant CA et 44% (n=20) après. Ainsi, parmi les 21 patients positifs avant CA, un échantillon (5%) s'est négativé en passant de 1,21 à 1,18, ce qui n'a pas eu de retentissement sur le RN TCA. Une différence significative a été observée ($p=0,006$) entre les ratios moyens mesurés avant ($\mu=1,43$; (0,92-3,18)) et après CA ($\mu=1,42$; (0,92-3,35)).

- Test de confirmation : une différence significative a également été observée ($p= 0,011$) entre la valeur moyenne mesurée avant ($\mu=1,13$; $(0,85-1,59)$) et après CA ($\mu=1,12$; $(0,85-1,58)$).
- Ratio normalisé : parmi les 45 patients, 31% ($n=14$) avaient des ratios positifs avant CA et il n'y a eu aucune modification après ajout du CA. De façon identique au test dRVVT, les temps de coagulation des tests TCA de dépistage et confirmation étaient impactés de manière équivalente (raccourcissement). Ainsi, aucune différence significative n'a été mise évidence ($p= 0,567$) et les valeurs moyennes avant et après CA étaient respectivement de 1,26 $(0,92-2,25)$ et 1,25 $(0,95-2,31)$.

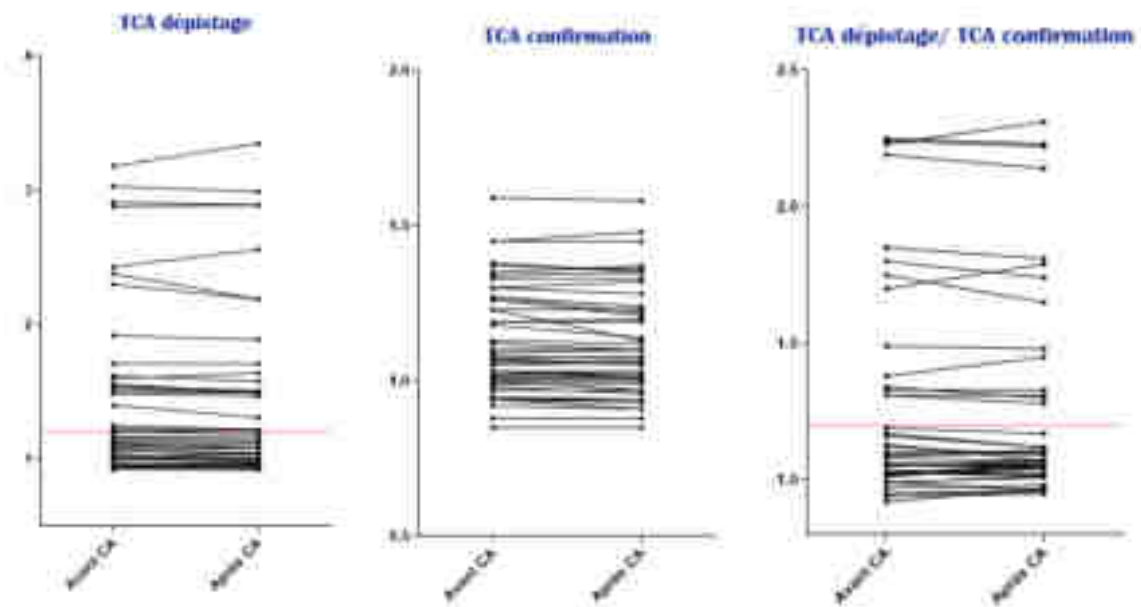


Figure 13 : TCA avant et après CA chez les patients sans AOD.

Il a également été vérifié que les variations observées avant et après ajout du CA demeuraient bien dans les limites acceptables du laboratoire (soit deux fois le coefficient de variation acceptable pour la reproductibilité), voir Figure 14.

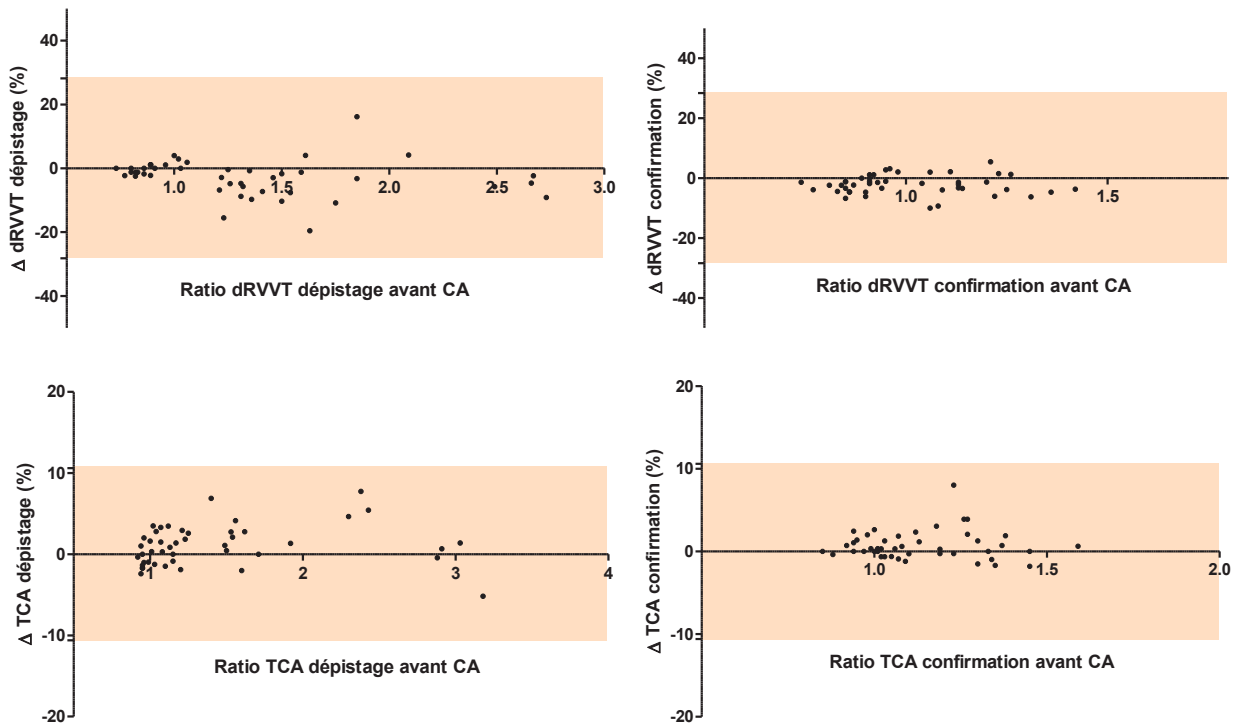


Figure 14 : différence des résultats avant et après ajout de CA pour les tests dRVVT et TCA. (La zone colorée indique les bornes de reproductibilités du laboratoire (+/- 2CV)).

2. Effet du CA sur les interférences liées aux AOD dans le bilan de thrombophilie

Dans cette étude, 42 échantillons de patients anticoagulés, présentant une activité anti-IIa ou anti-Xa positive, ont été inclus. L'activité anti-IIa ou anti-Xa spécifique après CA a été contrôlée à chaque fois que le volume plasmatique le permettait, et était retrouvée systématiquement inférieure à la limite de détection.

- Antithrombine (voir Figure 15) :

Cinq patients sous dabigatran ont été inclus. Aucune différence significative ($p = 0,125$) n'a été mise en évidence entre la valeur moyenne mesurée avant ($\mu=103\%$; (69-142%)) et après traitement par le CA ($\mu= 91\%$; (74-109%)). En effet, le faible effectif étudié ($n=5$) ne permettait pas de conclure de manière significative. Cependant une diminution d'en moyenne 9% a pu être observée après ajout du charbon activé et cette diminution était corrélée à la concentration en dabigatran présente dans l'échantillon avant CA ($p= 0,016$; $r=0,94$).

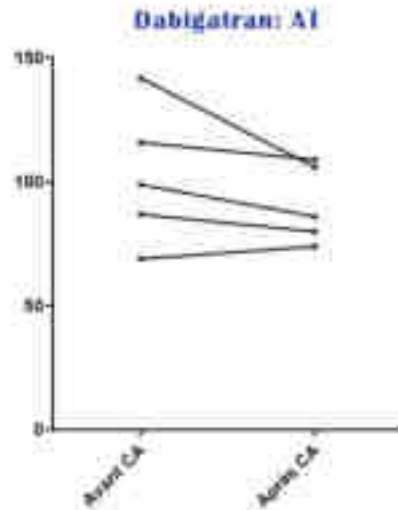


Figure 15 : AT avant et après CA chez les patients traités par dabigatran.

- Protéine S (voir Figure 16) :

Pour étudier l'activité de la PS, 27 échantillons ont été inclus dont 19 sous apixaban, 5 sous rivaroxaban et 3 sous dabigatran.

L'activité de la PS diminuait significativement après traitement par le CA chez tous les patients anticoagulés par AOD ($p < 0,001$), avec une valeur moyenne avant CA de 94% (21 – 200%) et de 70% (22 – 153%) après. Les valeurs de PSa ont été réduite d'en moyenne 20% après utilisation d'une pastille de DOAC-Stop.

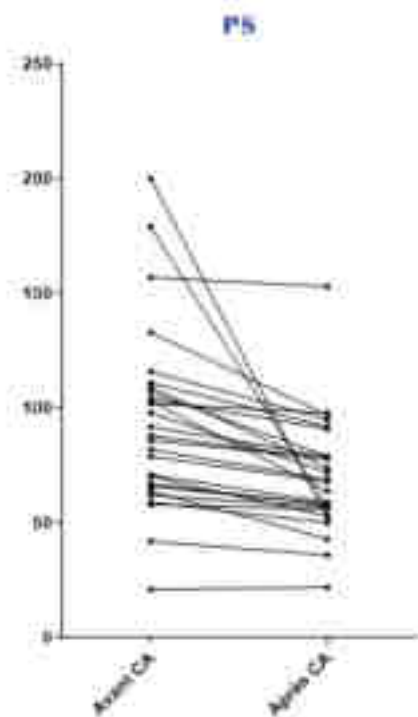


Figure 16 : PS avant et après CA chez les patients sous AOD.

En étudiant les résultats par sous-groupe d'anticoagulant, une différence significative ($p < 0,001$) avant et après CA était visible uniquement pour les patients sous apixaban avec des valeurs moyennes avant et après CA respectivement de 86% (21-157%) et 73% (22-153%). En effet les effectifs des deux autres groupes étaient trop faibles pour conclure à une différence statistiquement significative ($n=5$ pour le rivaroxaban et $n=3$ pour le dabigatran). Cependant, une diminution a bien été observée dans ces deux groupes :

- avec pour le rivaroxaban des valeurs moyennes avant et après CA respectivement de 87% (59-133%) et 64% (43-97%)
- et pour le dabigatran des valeurs avant CA de 154% (82-200%) et de 59% (52-69%) après.

Les différents résultats sont regroupés dans le Tableau 1 :

PS	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
Tous AOD	27	94	21-200	70	22-153	<0,001
Apixaban	19	86	21-157	73	22-153	<0,001
Rivaroxaban	5	87	59-133	64	43-97	/
Dabigatran	3	154	82-200	59	52-69	/

Tableau 1 : résultats de PS avant et après DOAC-Stop chez les patients sous AOD.

- Recherche de LA :

Quarante-deux patients ont été inclus, dont 28 sous apixaban, 9 sous rivaroxaban et 5 sous dabigatran. Quinze patients présentaient des résultats présumés faussement positifs au LA (apixaban = 5, rivaroxaban = 7, dabigatran = 3) et 27 étaient négatifs (apixaban = 23, rivaroxaban = 2, dabigatran = 2).

- dRVVT (voir Figure 17) :

- Test de dépistage : parmi les 42 patients, 93% ($n=39$) présentaient un ratio supérieur au seuil de positivité avant CA, soit 89% ($n=25$) des patients sous apixaban et l'intégralité des patients sous rivaroxaban et dabigatran.

Après traitement du plasma par DOAC-Stop, seulement 20% (n=8) des échantillons présentaient encore un ratio positif, toutefois diminué, dont 18% (n=5) des patients sous apixaban (3,40 à 1,23 ; 4,11 à 1,54 ; 2,04 à 1,35 ; 2,61 à 1,27 et 2,57 à 1,37), 22% (n=2) des patients sous rivaroxaban (1,57 à 1,27 et 1,21 à 1,24) et 20% (n=1) sous dabigatran (3,83 à 1,38). Ainsi le CA a permis de négativer 80% (n=31) des FP sous AOD en dRVVT dépistage dont 80% (n=20) des FP sous apixaban, 78% (n=7) sous rivaroxaban et 80% (n=4) sous dabigatran.

Une différence significative ($p < 0,001$) a été observée entre les ratios moyens, tous AOD confondus, avant ($\mu=1,85$; (0,95-4,11)) et après CA ($\mu=1,05$; (0,80-1,54)), ainsi que dans le sous-groupe de patients sous apixaban ($p<0,001$) et rivaroxaban ($p=0,003$) (voir Tableau 2).

- Les valeurs pour le sous-groupe apixaban étaient avant CA de 1,71 (0,95-4,11) et 1,06 (0,81-1,54) après.
 - Dans le sous-groupe traité par rivaroxaban les valeurs avant CA étaient de 2,01 (1,21-3,24) et de 1,06 (0,85-1,31) après ajout d'une pastille de DOAC-Stop.
 - Pour le sous-groupe traité par dabigatran les ratios moyens sont passés de 2,32 (1,25-8,83) à 1,04 (0,80-1,38) mais l'effectif était toutefois trop faible pour pouvoir conclure à une différence significative.
- Test de confirmation : la différence après ajout de CA était significative ($p<0,001$) avec des ratios moyens avant et après CA respectivement de 1,54 (0,97-2,77) et 0,96 (0,79-1,46). C'était également le cas lors de l'étude des résultats par type d'AOD hormis pour les patients sous dabigatran puisque les effectifs étaient toujours trop faibles pour conclure significativement (voir Tableau 2) :
 - les valeurs pour le sous-groupe apixaban ($p<0,001$) étaient de 1,52 (1,04-2,77) avant CA et de 0,96 (0,79-1,46) après avec $p<0,001$
 - et pour celui sous rivaroxaban de 1,43 (0,97-2,25) avant CA et de 1,00 (0,83-1,22) après avec $p=0,001$.

- Dans le groupe traité par dabigatran les résultats du test de confirmation sont passés de 1,84 (1,07-2,59) avant ajout de CA à 0,95 (0,80-1,08) après.
- Ratio normalisé : parmi les 42 patients étudiés, 36% (n=15) présentaient un RN supérieur au seuil de positivité avant CA soit 18% (n=5) des patients sous apixaban, 78% (n=7) des patients sous rivaroxaban et 60% (n=3) des patients sous dabigatran. Après ajout d'une pastille de DOAC-Stop, il ne restait plus que 14% (n= 6) des échantillons avec un RN au-delà du seuil de positivité. En effet, 60% (n=9) des échantillons positifs se sont négativés après traitement par DOAC-Stop (20% (n=1) des FP sous apixaban, 86% (n=6) des FP sous rivaroxaban et 67% (n=2) des FP sous dabigatran). Toutefois, 6 échantillons sont restés positifs dont 4 sous apixaban (1,31 à 1,23 ; 1,43 à 1,29 ; 1,89 à 1,38 et 1,23 à 1,24), 1 sous rivaroxaban (1,24 à 1,21) et 1 sous dabigatran (1,48 à 1,28).

L'étude a mis en évidence une différence significative ($p = 0.014$) avant et après CA, tous AOD confondus, avec un RN moyen de 1,18 (0,90-1,89) avant CA et de 1,09 (0,78-1,38) après. Lorsque les valeurs étaient étudiées par type d'AOD, une différence significative ($p < 0,001$) a été mise en évidence seulement pour le sous-groupe traité par rivaroxaban ($\mu = 1,39$; (1,16-1,73) avant CA et $\mu = 1,06$; (0,78-1,21) après CA). En effet, pour le sous-groupe sous dabigatran, le faible effectif ne permettait toujours pas de mettre en évidence une différence significative ($\mu = 1,24$ (1,10-1,48) avant CA et $\mu = 1,09$ (0,97-1,28) après) malgré une diminution des valeurs visible après traitement par DOAC-Stop. De plus, la différence observée pour le sous-groupe sous apixaban était également non significative ($p = 0,562$) avec des RN peu impactés par le charbon, passant en moyenne de 1,11 (0,91-1,89) avant à 1,10 (0,94-1,38) après CA (voir Tableau 2).

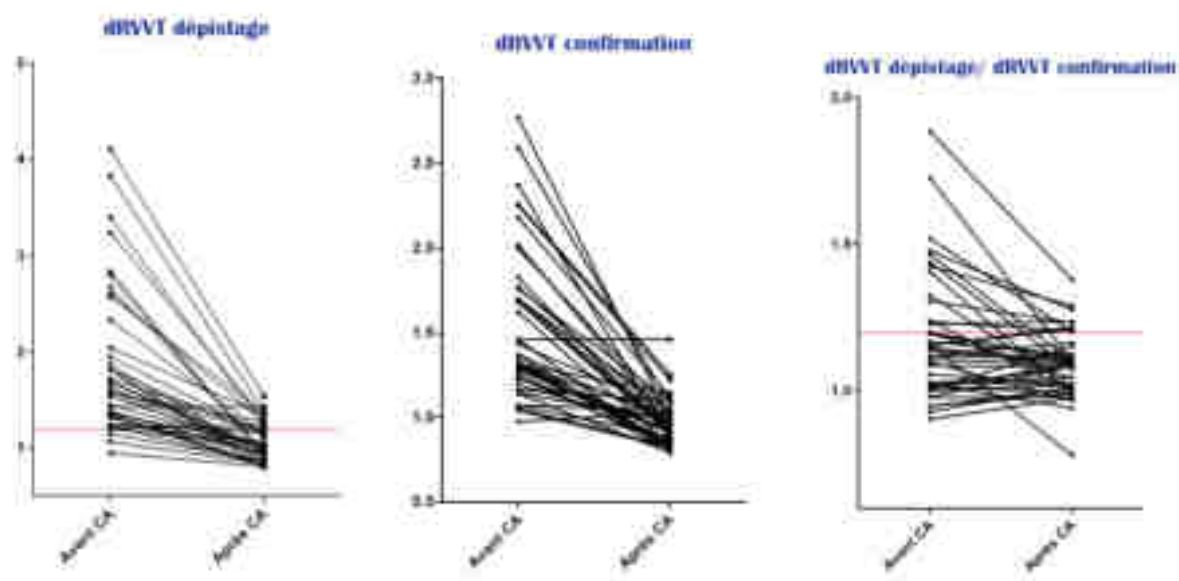


Figure 17 : dRVVT avant et après CA chez patients sous AOD

dRVVT dépistage	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
AOD	42	1,85	0,95-4,11	1,05	0,80-1,54	<0,001
Dabigatran	5	2,32	1,25-8,83	1,04	0,80-1,38	/
Apixaban	28	1,71	0,95-4,11	1,06	0,81-1,54	<0,001
Rivaroxaban	9	2,01	1,21-3,24	1,06	0,85-1,31	0,003
dRVVT confirmation	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
AOD	42	1,54	0,97-2,77	0,96	0,79-1,46	<0,001
Apixaban	28	1,52	1,04-2,77	0,96	0,79-1,46	<0,001
Rivaroxaban	9	1,43	0,97-2,25	1,00	0,83-1,22	0,001
Dabigatran	5	1,84	1,07-2,59	0,95	0,80-1,08	/
dRVVT RN	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
AOD	42	1,18	0,90-1,89	1,09	0,78-1,38	0,014
Apixaban	28	1,11	0,91-1,89	1,10	0,94-1,38	0,562
Rivaroxaban	9	1,39	1,16-1,73	1,06	0,78-1,21	<0,001
Dabigatran	5	1,24	1,10-1,48	1,09	0,97-1,28	/

Tableau 2 : résultats des tests dRVVT avant et après ajout de CA chez les patients anticoagulés.

○ TCA (voir Figure 18) :

- Test de dépistage : parmi les 42 échantillons, 31% (n=13) avaient des ratios supérieurs au seuil de positivité avant CA, ce qui correspondait à 14% (n=4) des patients sous apixaban, 56% (n=5) sous rivaroxaban et 80% (n=4) sous dabigatran.

Après la procédure DOAC-Stop, il ne restait plus que 10% (n=4) d'échantillons encore positifs soit : 1 patient (4%) sous apixaban (1,61 à 1,37), 3 (33%) sous rivaroxaban (1,50 à 1,30 ; 1,23 à 1,22 et 1,53 à 1,23) et tous les patients sous dabigatran se sont négativés. Ainsi, l'ajout de CA a permis de normaliser 69% (n=9) des FP sous AOD en TCA dépistage dont 75% (n=3) des patients sous apixaban, 40% (n=2) sous rivaroxaban et 100% (n=4) sous dabigatran.

La différence entre les ratios moyens avant ($\mu=1,21$ (0,91-2,14)) et après ($\mu=1,03$ (0,85-1,37)) CA, tous AOD confondus, était significative ($p<0,001$). Cela a également été le cas lors de l'étude des résultats par type d'AOD hormis pour le groupe sous dabigatran dont l'effectif était très faible (n=5) (voir Tableau 3).

- En effet pour le sous-groupe traité par apixaban, les ratios moyens sont passés de 1,10 (0,91-1,61) avant CA à 1,02 (0,85-1,37) après avec $p<0,001$.
 - Pour le sous-groupe traité par rivaroxaban les résultats du test de dépistage sont passés de 1,30 (0,96-1,65) avant CA à 1,06 (0,92-1,30) après avec $p=0,008$.
 - Les patients sous dabigatran ont vu leur TCA dépistage passer en moyenne de 1,63 (1,10-2,14) avant CA à 0,97 (0,88-1,07) après.
- Test de confirmation : une différence significative a été observée ($p<0,001$) entre les ratios moyens mesurés avant ($\mu=1,24$; (0,90-2,10)) et après CA ($\mu=0,99$; (0,80-1,67)) lorsque tous les AOD étaient étudiés ensemble. De la même façon, cette différence significative a été confirmée dans les sous-

groupes sous apixaban ($p < 0,001$) et sous rivaroxaban ($p = 0,006$) (voir Tableau 3).

- Les patients sous apixaban sont passés d'un ratio confirmation moyen de 1,15 (0,90-2,10) avant CA à 0,98 (0,80-1,67) après.
 - Pour ceux sous rivaroxaban les valeurs étaient de 1,30 (0,97-1,60) avant CA et de 1,03 (0,85-1,25) après ajout utilisation du DOAC-Stop.
 - Le sous-groupe traité par dabigatran a subi une diminution après ajout de CA avec des ratios moyens avant de 1,68 (1,08-2,05) contre 0,98 (0,91-1,08) après. Cependant, comme pour les tests précédents, le faible effectif de ce groupe ne permettait pas de mettre en évidence une différence statistiquement significative.
- Ratio normalisé : aucun des échantillons n'avait un RN au-delà du seuil de positivité que ce soit avant ou après CA (voir Tableau 3). Cependant, l'utilisation du CA a augmenté significativement le RN ($p < 0,001$; $\mu = 1,00$ (0,78-1,13) avant CA et $\mu = 1,06$ (0,84-1,19) après CA) pour tous les AOD ainsi que pour les sous-groupes apixaban et rivaroxaban, mais pas pour le dabigatran dont l'effectif était toutefois très faible. Cette augmentation du RN n'a cependant engendré aucune différence d'interprétation.
 - Les ratios moyens pour le sous-groupe sous apixaban étaient de 1,00 (0,78-1,11) avant CA et de 1,07 (0,84-1,19) après CA avec $p < 0,001$.
 - Pour le sous-groupe sous rivaroxaban les valeurs du RN étaient de 1,03 (0,93-1,13) avant CA et de 1,09 (1,01-1,19) après CA avec $p = 0,003$.
 - Pour les patients sous dabigatran les résultats du RN TCA sont passés de 0,98 (0,88-1,06) à 1,00 (0,97-1,04) après CA.

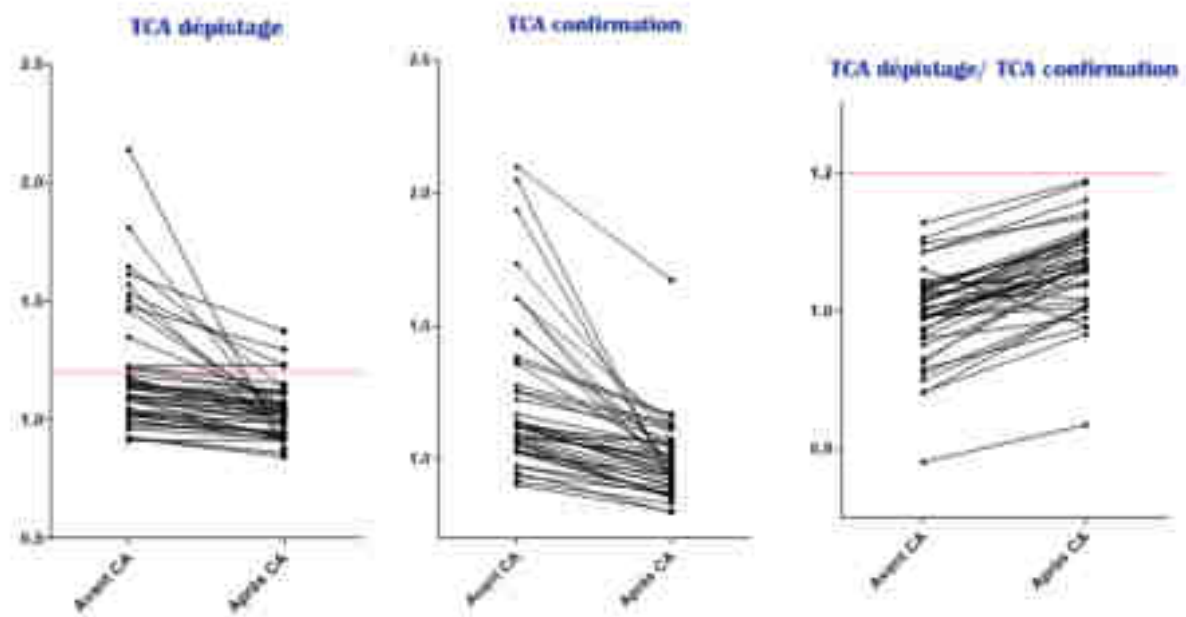


Figure 18 : TCA avant et après CA chez les patients sous AOD.

TCA dépistage	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
AOD	42	1,21	0,91-2,14	1,03	0,85-1,37	<0,001
Apixaban	28	1,10	0,91-1,61	1,02	0,85-1,37	<0,001
Rivaroxaban	9	1,30	0,96-1,65	1,10	0,92-1,30	0,008
Dabigatran	5	1,63	1,10-2,14	0,97	0,88-1,07	/
TCA confirmation	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
AOD	42	1,24	0,90-2,10	0,99	0,80-1,67	<0,001
Apixaban	28	1,15	0,90-2,10	0,98	0,80-1,67	<0,001
Rivaroxaban	9	1,30	0,97-1,60	1,03	0,85-1,25	0,006
Dabigatran	5	1,68	1,08-2,05	0,98	0,91-1,08	/
RN TCA	n	moyenne	intervalle	moyenne	intervalle	p value
		AVANT CA		APRES CA		
AOD	42	1,00	0,78-1,13	1,06	0,84-1,19	<0,001
Apixaban	28	1,00	0,78-1,11	1,07	0,84-1,19	<0,001
Rivaroxaban	9	1,03	0,93-1,13	1,09	1,01-1,19	0,003
Dabigatran	5	0,98	0,88-1,06	1,00	0,97-1,04	/

Tableau 3 : résultats des test TCA chez les patients anticoagulés avant et après CA.

IV) Discussion :

Dans cette étude portant sur les performances du charbon activé dans la neutralisation de l'interférence des AOD sur les tests d'hémostase, nous avons étudié, dans un premier temps, les possibles interférences du CA sur les tests d'hémostase sur 45 patients pour la recherche de LA, 38 pour la PS et 30 pour l'AT. Il a été démontré que le charbon activé n'interférait ni sur la mesure de l'activité de la PS par technique chronométrique ni sur l'activité cofacteur de l'héparine (basée sur l'activité anti-IIa), ce qui est en accord avec les différents résultats exposés dans la littérature (28,29).

Concernant la recherche de LA, aucune interaction du CA sur les RN TCA et RN dRVVT des patients témoins n'a été identifiée au cours de cette étude. Ces résultats corroborent les résultats des études précédentes ne retrouvant pas d'impact du CA sur les RN de patients témoins non anticoagulés (18,19,30–32). Cependant des variations après ajout de CA se sont produites dans les tests de dépistage et confirmation que ce soit pour le TCA (raccourcissement) ou le dRVVT (allongement).

En effet, les ratios de dRVVT dépistage et confirmation ont augmenté après traitement du plasma par DOAC-Stop. Un allongement des temps de coagulation suite à l'ajout de CA dans des plasmas sans traitement par AOD avait déjà été décrit dans d'autres études (24,24,31) mais le mécanisme sous-jacent reste cependant incertain.

Exner et al.(19) suggèrent que cet effet puisse être attribué à l'étape supplémentaire d'ultracentrifugation (1 min 7000G), pouvant s'apparenter à celle réalisée au cours de ce travail (2 min 11000G). Cependant Kesel et al.(31) retrouvent le même effet malgré une centrifugation standard (15 min , 2230 G). Une autre explication pourrait être que le charbon activé adsorbe des protéines procoagulantes endogènes affectant les tests de coagulation. Peu d'études ont évalué l'effet du CA sur les facteurs de coagulation, toutefois Jacquemin et al.(33) n'ont trouvé aucune différence dans les taux de facteurs VII, VIII et X après ajout de celui-ci. Ceci paraît logique puisque les facteurs de coagulation et les inhibiteurs affectant les tests de coagulation ont des tailles moléculaires > à 30 000 Da et ne devraient donc pas être adsorbés par le CA. Néanmoins, deux études (34,35) ont suggéré une diminution du TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), notamment pour des concentrations de charbon activé supérieures à 18 mg/ml.

Quant au TCA, les résultats obtenus dans ce travail montrent un raccourcissement des temps de coagulation chez les patients témoins pour les tests de dépistage et de confirmation. La littérature à ce sujet est plutôt contradictoire : tandis que certaines études (19,35) retrouvent au contraire un allongement des temps de coagulation, l'étude de Al-Quawzai et al.(23) met en évidence un raccourcissement des temps de coagulation du test TCA (Dade Actin FS (Siemens)) après ajout d'une pastille de DOAC-Remove. Les auteurs restent malgré tout flous concernant la cause de cette modification du temps de coagulation et avancent l'hypothèse d'une possible activation de la coagulation. Par ailleurs, peu d'études ont été réalisées à l'aide de tests TCA intégrés, ce qui limite les comparaisons.

Les causes des variations obtenues pour la recherche de LA chez les patients sans traitement anticoagulant après ajout de CA sont donc incertaines. Dans cette étude, 11% (5/45) des échantillons témoins ont subi des modifications autour du seuil de positivité après ajout de CA ce qui a conduit à une discordance d'interprétation dans la recherche de LA pour 4% des échantillons (1 s'est négativé et 1 s'est positivé) et ceci uniquement sur le voie du dRVVT. Bien que certaines de ces variations aient été à l'origine de modification d'interprétation, cela s'est produit uniquement pour des valeurs très proches du seuil de positivité et les variations restaient dans les limites acceptables de reproductibilité. De plus ces discordances ne sont pas restreintes à notre étude puisque d'autres publications ont mis en évidence des variations d'interprétations après ajout de CA chez des patients témoins (31,37). Nous pouvons donc en conclure qu'il n'y avait pas d'impact clinique majeur lié à la présence du CA en lui-même mais qu'il pourrait s'agir plutôt de variations liées aux méthodes employées. Ces données sont ainsi en accord avec les conclusions de la plupart des études traitant de ce sujet (19,30,31,36).

Par conséquent, l'utilisation du CA dans la pratique de laboratoire de routine nécessite des précautions et la connaissance de l'état anticoagulant du patient au préalable est nécessaire puisque l'utilisation du DOAC-Stop devrait être limitée aux échantillons provenant de patients recevant des AOD.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'effet du CA sur les plasmas issus de patients anticoagulés par AOD dans la recherche de LA.

Au cours de ce travail, le traitement du plasma par DOAC-Stop a conduit à une réduction de toutes les concentrations en AOD en dessous du seuil de quantification, ce qui rejoint les conclusions d'études précédentes démontrant l'efficacité du CA sur l'adsorption de l'apixaban, du rivaroxaban

et du dabigatran plasmatique (19–21,23,30,37,38). Néanmoins, l'efficacité du CA pourrait être limitée par des concentrations importantes en AOD (>490 ng/ml en apixaban et rivaroxaban) (37,39). Cela n'a pas été le cas dans ce travail étant donné que les plus fortes concentrations étudiées pour l'apixaban et le rivaroxaban étaient respectivement de 284 ng/ml et 167 ng/ml. Des études complémentaires intégrant des concentrations en AOD plus importantes pourraient être intéressantes afin de documenter cette limite potentielle dans l'utilisation du CA.

Chez les patients anticoagulés par AOD, l'utilisation du CA a entraîné une diminution significative dans la mesure de l'activité de la PS (94% avant CA, 70% après CA, $p < 0.001$). Ces résultats sont cohérents avec ceux retrouvés dans différentes études ayant étudié la capacité du charbon à lever les interférences liées à la présence d'AOD sur le dosage de la PS par technique chromométrique (27,29,40).

L'utilisation du DOAC-Stop s'est également avérée efficace sur le dosage de l'AT par méthode basée sur l'inhibition de la thrombine dans le groupe traité par dabigatran. Effectivement, après ajout de CA une diminution de l'activité mesurée (103% avant et 91% après CA) a pu être observée, bien que cette diminution ne soit pas statistiquement significative. En effet, le faible nombre d'échantillons inclus ($n=5$) au cours de cette étude n'a pas permis d'avoir un effectif représentatif. Contrairement aux résultats de des études de Favresse et al.(20) et de Zabczyk et al.(26), n'ayant obtenu aucune différence significative après traitement par CA, les échantillons utilisés dans ce travail contenaient des concentrations beaucoup plus importante en dabigatran : en moyenne 158,6 ng/ml contre 73,5 ng/ml (20) et 71 ng/ml (26). Des études supplémentaires intégrant un nombre de patients plus important traités par dabigatran permettraient de confirmer la diminution significative de l'AT après utilisation du CA.

Des différences significatives ont été retrouvés entre les échantillons sous AOD avant et après CA pour l'intégralité des tests utilisés dans la recherche de LA. Le CA a permis ainsi de négativer 80% des FP sous AOD en dRVVT dépistage, 60% des FP en RN dRVVT et 69% des FP en TCA dépistage. Au total, cela a permis de normaliser 60% des FP en LA sous AOD (plus fréquemment sous rivaroxaban et dabigatran) et cela essentiellement sur la voie du dRVVT.

Parmi les 6 patients demeurés positifs en RN dRVVT après ajout de CA, cinq présentaient une infection au virus SARS-CoV-2 pouvant entraîner la présence de LA transitoire (41,42), et un patient sous apixaban était suivi pour un carcinome bronchique pouvant également positiver transitoirement la recherche de LA (43).

Il ne nous a pas été possible, dans cette étude, de recueillir des données relatives à des examens de contrôle du LA à 12 semaines, ainsi que préconisé par l'ISTH (8), pour ces sept patients.

Ces résultats sont très similaires à ceux retrouvés dans l'étude de Novelli et al.(32) où le CA a permis d'éliminer 58% des FP sous AOD (principalement sous rivaroxaban), cependant la CA a également entraîné des positivités dans la recherche de LA chez 8% des patients (principalement sous apixaban) ce qui n'a pas été le cas dans ce travail.

Il a également été noté, au cours de cette étude, une augmentation des RN TCA après ajout du CA, toutefois sans impact sur l'interprétation du test. Ainsi deux hypothèses peuvent expliquer cette augmentation : tout d'abord, la présence d'AOD pourrait impacter préférentiellement le test de confirmation cephen plutôt que le test de dépistage cephen LS, ce qui conduirait à une légère sous-estimation du RN TCA sous AOD. La seconde hypothèse serait que l'étape d'ultracentrifugation supplémentaire, avant ajout du CA, interférerait avec les tests TCA de sorte que les RN TCA augmenteraient indépendamment de l'ajout de celui-ci. Cette dernière hypothèse semble peu probable puisque aucune modification significative sur les RN TCA n'a été identifiée chez les patients témoins au cours de cette étude, même si certains travaux ont montré le contraire (19).

Pour conclure, lorsque le CA est utilisé aux doses recommandées par le fournisseur, comme dans cette étude, il semble sans impact clinique sur les tests de coagulation du bilan de thrombophilie. Par ailleurs, l'utilisation du dispositif DOAC-Stop s'est montrée efficace pour lever les interférences liées à la présence d'AOD en normalisant les résultats dans plus de la moitié des cas pour le LA, et en réduisant en moyenne de 20% les valeurs pour la PSa et de 9% pour l'AT. Ainsi il permettrait la normalisation des tests de coagulation sous AOD lorsque le traitement est compris dans les zones thérapeutiques. Cependant les échantillons demeurant positifs au LA après CA doivent être interprétés avec précaution et systématiquement être recontrôlés à distance de toute anticoagulation.

Cette étude comporte néanmoins des limites : tout d'abord l'effectif étudié pour les patients anticoagulés était relativement faible, principalement pour ceux sous dabigatran (n=5) et rivaroxaban (n=9). Un simple dépistage des AOD a été réalisé avant CA et non une mesure précise de ces anticoagulants, ainsi les résultats ne peuvent pas être pondérés par rapport à l'effet dose dépendant des AOD sur les tests d'hémostase. De plus, un seul lot de de chaque réactif a été utilisé au cours de cette étude et des expérimentations sur une période et un effectif plus important pourraient permettre de conforter nos résultats. Enfin seul le dispositif DOAC-Stop a été étudié, ce qui ne permet pas de généraliser ces résultats à tous les dispositifs à base de CA

V) Conclusion :

Ce travail a permis de démontrer la pertinence du CA dans le cadre du bilan de thrombophilie des patients sous AOD : en effet, son utilisation pourrait permettre, dans des cas complexes, d'éviter des switches d'anticoagulation (16). L'efficacité du CA à lever les interférences des AOD sur la mesure de la PSa et de l'AT s'est montrée sans équivoque. Toutefois, la recherche de LA demeure plus complexe et l'interprétation des résultats obtenus doit être précautionneuse et limitée aux patients traités par AOD. Enfin, malgré l'efficacité et le complément adéquat que peut apporter un tel dispositif au laboratoire, son utilisation reste cependant chronophage et onéreuse, rendant compliquée son utilisation de manière systématique.

Bibliographie :

1. De Maistre E, De Raucourt E, Desconclois C, Flaujac C, Hurtaud M. Recherche de thrombophilie biologique : proposition du GFHT 2020. Rev Francoph Hemostase Thromb. sept 2020;2(3).
2. Moser KA, Smock KJ. Direct oral anticoagulant (DOAC) interference in hemostasis assays. Hematol Am Soc Hematol Educ Program. 10 déc 2021;2021(1):129-33.
3. Baker P, Platton S, Gibson C, Gray E, Jennings I, Murphy P, et al. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. Br J Haematol. 2020;191(3):347-62.
4. Siriez R, Dogné JM, Gosselin R, Laloy J, Mullier F, Douxfils J. Comprehensive review of the impact of direct oral anticoagulants on thrombophilia diagnostic tests: Practical recommendations for the laboratory. Int J Lab Hematol. 2021;43(1):7-20.
5. Bonar R, Favaloro EJ, Mohammed S, Ahuja M, Pasalic L, Sioufi J, et al. The effect of the direct factor Xa inhibitors apixaban and rivaroxaban on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples. Pathology (Phila). 1 janv 2016;48(1):60-71.
6. Bonar R, Favaloro EJ, Mohammed S, Pasalic L, Sioufi J, Marsden K. The effect of dabigatran on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples. Pathology (Phila). juin 2015;47(4):355-64.
7. Marlar RA, Gausman JN, Tsuda H, Rollins-Raval MA, Brinkman HJM. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. J Thromb Haemost. 2021;19(1):68-74.
8. Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, de Laat B, Antibodies the S on LA. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost. 2018;16(4):809-13.
9. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. J Thromb Haemost. 2020;18(11):2828-39.
10. Flieder T, Weiser M, Eller T, Dittrich M, von Bargen K, Alban S, et al. Interference of DOACs in different DRVVT assays for diagnosis of lupus anticoagulants. Thromb Res. mai 2018;165:101-6.
11. Favaloro E, Lippi G. Interference of direct oral anticoagulants in haemostasis assays: High potential for diagnostic false positives and false negatives. Blood Transfus Trasfus Sanguie. 14 mars 2017;15.

12. Favaloro EJ, Gilmore G, Arunachalam S, Mohammed S, Baker R. Neutralising rivaroxaban induced interference in laboratory testing for lupus anticoagulant (LA): A comparative study using DOAC Stop and andexanet alfa. *Thromb Res.* 1 août 2019;180:10-9.
13. Ząbczyk M, Kopytek M, Natorka J, Undas A. The effect of DOAC-Stop on lupus anticoagulant testing in plasma samples of venous thromboembolism patients receiving direct oral anticoagulants. *Clin Chem Lab Med.* 27 août 2019;57(9):1374-81.
14. Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Jose SP, Hoxha A, Ruffatti A, et al. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. *Blood.* 27 sept 2018;132(13):1365-71.
15. Thiriet A. Diagnostic biologique de l'anticoagulant lupique et place du TCA dans la stratégie diagnostique. Strasbourg; 2021.
16. Hoxha A, Banzato A, Ruffatti A, Pengo V. Detection of lupus anticoagulant in the era of direct oral anticoagulants. *Autoimmun Rev.* févr 2017;16(2):173-8.
17. Antovic A, Norberg EM, Berndtsson M, Rasmuson A, Malmström RE, Skeppholm M, et al. Effects of direct oral anticoagulants on lupus anticoagulant assays in a real-life setting. *Thromb Haemost.* 30 août 2017;117(9):1700-4.
18. Frans G, Meeus P, Bailleul E. Resolving DOAC interference on aPTT, PT, and lupus anticoagulant testing by the use of activated carbon. *J Thromb Haemost JTH.* août 2019;17(8):1354-62.
19. Exner T, Michalopoulos N, Pearce J, Xavier R, Ahuja M. Simple method for removing DOACs from plasma samples. *Thromb Res.* 1 mars 2018;163:117-22.
20. Favresse J, Lardinois B, Sabor L, Devalet B, Vandepapeliere J, Braibant M, et al. Evaluation of the DOAC-Stop® Procedure to Overcome the Effect of DOACs on Several Thrombophilia Screening Tests. *TH Open.* avr 2018;02(2):e202-9.
21. Slavik L, Jacova J, Friedecky D, Ulehlova J, Tauber Z, Prochazkova J, et al. Evaluation of the DOAC-Stop Procedure by LC-MS/MS Assays for Determining the Residual Activity of Dabigatran, Rivaroxaban, and Apixaban. *Clin Appl Thromb.* 16 sept 2019;25:1076029619872556.
22. De Kesel PMM, Devreese KMJ. The effect of unfractionated heparin, enoxaparin, and danaparoid on lupus anticoagulant testing: Can activated carbon eliminate false-positive results? *Res Pract Thromb Haemost.* janv 2020;4(1):161-8.
23. Al-Qawzai Z, Dale C, Dave M, Yartey N, Platton S. Effect of DOAC-Remove on coagulation screening assays in samples from patients receiving oral or parenteral anticoagulation. *Int J Lab Hematol.* 2022;44(3):e95-9.
24. Exner T, Ahuja M, Ellwood L. Effect of an activated charcoal product (DOAC Stop™) intended for extracting DOACs on various other APTT-prolonging anticoagulants. *Clin Chem Lab Med.* 24 avr 2019;57(5):690-6.

25. Douxfils J, Ageno W, Samama CM, Lessire S, ten Cate H, Verhamme P, et al. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J Thromb Haemost.* 2018;16(2):209-19.
26. Ząbczyk M, Natorska J, Kopytek M, Malinowski KP, Undas A. The Effect of Direct Oral Anticoagulants on Antithrombin Activity Testing Is Abolished by DOAC-Stop in Venous Thromboembolism Patients. *Arch Pathol Lab Med.* 3 juin 2020;145(1):99-104.
27. Ghammad W, Gendron N, Luneau S, Smadja D, Helley D, Mauge L. Intérêt de la neutralisation des anticoagulants oraux directs par DOAC-Remove® pour les dosages d'activité anticoagulante des protéines C et S. 2023;
28. Sevenet PO, Cucini V, Hervé T, Depasse F, Carlo A, Contant G, et al. Evaluation of DOAC Filter, a new device to remove direct oral anticoagulants from plasma samples. *Int J Lab Hematol.* 2020;42(5):636-42.
29. Favre R, Zia-Chahabi S, Talb Y, de Gunzburg N, Flaujac C. Direct oral anticoagulant neutralization by activated charcoal DOAC-Remove for thrombophilia screening. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb.* 1 juill 2021;32(5):356-8.
30. Baker SA, Jin J, Pfaffroth C, Vu T, Zehnder JL. DOAC-Stop in lupus anticoagulant testing: Direct oral anticoagulant interference removed in most samples. *Res Pract Thromb Haemost.* févr 2021;5(2):314-25.
31. Kesel PMD, Devreese KMJ. Direct oral anticoagulant adsorption: Impact on lupus anticoagulant testing—Review of the literature and evaluation on spiked and patient samples. *J Thromb Haemost.* 1 août 2020;18(8):2003-17.
32. Novelli C, Pradella P, Papandrea M, Montaruli B. Direct oral anticoagulant adsorption and laboratory detection of lupus anticoagulant. *Blood Coagul Fibrinolysis.* avr 2023;34(3):199.
33. Jacquemin M, Toelen J, Feyen L, Schoeters J, Van Horenbeeck I, Vanlinthout I, et al. The adsorption of dabigatran is as efficient as addition of idarucizumab to neutralize the drug in routine coagulation assays. *Int J Lab Hematol.* 2018;40(4):442-7.
34. Kopatz WF, Brinkman HJM, Meijers JCM. Use of DOAC Stop for elimination of anticoagulants in the thrombin generation assay. *Thromb Res.* oct 2018;170:97-101.
35. Monteyne T, Kesel PD, Devreese KMJ. Interference of DOAC stop and DOAC remove in the thrombin generation assay and coagulation assays. *Thromb Res.* 1 août 2020;192:96-9.
36. Jourdi G, Delrue M, Stepanian A, Valaize J, Foulon-Pinto G, Demagny J, et al. Potential usefulness of activated charcoal (DOAC remove®) for dRVVT testing in patients receiving Direct Oral AntiCoagulants. *Thromb Res.* 1 déc 2019;184:86-91.
37. Platton S, Hunt C. Influence of DOAC Stop on coagulation assays in samples from patients on rivaroxaban or apixaban. *Int J Lab Hematol.* avr 2019;41(2):227-33.
38. Tripodi A, Scalabrino E, Chantarangkul V, Paoletti O, Clerici M, Novembrino C, et al. Impact of a commercially available DOAC absorbent on two integrated procedures for lupus anticoagulant detection. *Thromb Res.* 1 août 2021;204:32-9.

39. Wang J, Lim HY, Nandurkar H, Ho P. DOAC-stop can remove direct oral anticoagulants and allow analysis by global coagulation assays. *Int J Lab Hematol.* 2023;45(3):360-7.
40. Terakami T, Nagaya S, Hayashi K, Furusho H, Fujino N, Kato T, et al. Effect on Plasma Protein S Activity in Patients Receiving the Factor Xa Inhibitors. *J Atheroscler Thromb.* 1 juill 2022;29(7):1059-68.
41. Owaidah T, Saleh M, Aguilos AM, Amri AA, Maghrabi K, Owaidah M, et al. Incidence of lupus anticoagulant in hospitalized covid-19 patients. *Am J Blood Res.* 2021;11(3):317-24.
42. Butt A, Erkan D, Lee AI. COVID-19 and antiphospholipid antibodies. *Best Pract Res Clin Haematol.* 1 sept 2022;35(3):101402.
43. Fei X, Wang H, Jiang L, Zhao T, Cheng M, Yuan W. Clinical and Prognostic Significance of Lupus Anticoagulant Measurement in Patients With Lung Cancer. *Technol Cancer Res Treat.* déc 2017;16(6):1006-13.

FICHE SIGNALETIQUE

REGNART Chloé

Née le 21 septembre 1995 à Ivry sur seine

Bilan de thrombophilie sous AOD : efficacité du charbon activé

Date et lieu de la soutenance : le 19 octobre 2023 à Strasbourg

N° d'ordre :

Le but de cette étude était de déterminer si le dispositif DOAC-Stop pouvait permettre d'effectuer une recherche de LA ainsi que le dosage de PSa et d'AT chez des patients sous AOD, sans pour autant interférer sur ces tests. Le CA a permis de réduire les concentrations en AOD en dessous des limites de quantification pour tous les échantillons. Concernant les patients non anticoagulés : aucune différence significative n'a été observée pour les RN (TCA et dRVVT), la PSa et l'AT entre les résultats avant et après ajout de CA. Pour les patients sous AOD : une différence significative a été observée pour les tests de coagulation et l'utilisation du CA a réduit de 60% les FP sous AOD. Notre étude suggère que l'utilisation du DOAC-Stop pourrait permettre de faciliter l'interprétation des bilans de thrombophilie lorsque les patients sont traités par AOD, cependant il doit être utilisé avec précaution. En effet, des résultats erronés de LA peuvent survenir chez les patients non-anticoagulés et tous les résultats positifs sous AOD doivent être contrôlés à distance d'un traitement anticoagulant.

The aim of this study was to determine whether DOAC-Stop (DS) could allow laboratories to perform lupus anticoagulant screening, protein S and AT activities in clot-base assays in patients receiving DOACs without nonspecific effect on coagulation parameters. DS reduced DOACs concentration below the lower limit of quantification. For nonanticoagulated patients : no significant difference in normalized LA ratio results (aPTT and dRVVT) and in PS testing and AT activities were observed before and after addition of activated charcoal. For anticoagulated patients: a statistically significant difference was found for coagulation screening and DOAC-Stop reduced the false positivity for lupus anticoagulants observed on DOAC-containing plasma in 60%. Our study suggests that DOAC-Stop should facilitate the interpretation of thrombophilia screening test in patients taking DOAC but it must be used with care. Indeed, erroneous LAC results in non-DOAC containing sample may occur and all positif result with DOACs must be control without anticoagulation treatment.

Mots clés: DOAC, lupus anticoagulant, activated charcoal, protein S, antithrombin, DOAC-Stop, aPTT, dRVVT