



DABIGATRAN ETEXILATE ET EXAMENS DE BIOLOGIE MEDICALE

Ce texte est une mise au point de mars 2013, dont le contenu sera revu en fonction de l'avancement des connaissances.

Rédacteurs : V. Siguret¹, Isabelle Gouin-Thibault², Pierre Sié³

¹Service d'Hématologie biologique, Hôpital européen Georges Pompidou, Université Paris Descartes, Paris, France

²Laboratoire d'Hématologie/Hémostase, Groupe Hospitalier Hôtel Dieu-Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

³Laboratoire d'Hématologie/Hémostase, CHU Toulouse, Toulouse, France

Relecteurs pour la commission pharmacologie et thérapeutique du Groupe d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT) et pour le Groupe d'Intérêt en Hémostase Périopératoire (GIHP) : Pierre Albaladejo (Anesthésie-Réanimation, Grenoble), Martine Alhenc-Gelas (HEGP, Paris), Delphine Borgel (Hémostase/Hématologie Biologique, Paris), Xavier Delavenne (Pharmacologie, Saint-Etienne), Emmanuel de Maistre (Hémostase/Hématologie Biologique, Dijon), Anne-Marie Fischer (Hémostase/Hématologie Biologique, Paris), Claire Flaujac (Hémostase/Hématologie Biologique, Paris), Pascale Gaussem (Hémostase/Hématologie Biologique, Paris), Anne Godier (Anesthésie-Réanimation, Paris), Yves Gruel (Hémostase/Hématologie Biologique, Tours), Silvy Laporte (Pharmacologie, Saint-Etienne), Dominique Lasne (Hémostase/Hématologie Biologique, Paris), Thomas Lecompte (Hématologie, Genève), Patrick Mismetti (Pharmacologie clinique, Saint-Etienne), Pierre Morange (Hémostase/Hématologie Biologique, Marseille), Philippe Nguyen (Hémostase/Hématologie Biologique, Reims), Gilles Pernod (Médecine vasculaire, Grenoble), Michel Samama (Biomnis), Sophie Susen (Hémostase/Hématologie Biologique, Lille)

Le dabigatran exerce une activité inhibitrice compétitive, sélective, rapide et réversible vis à vis de la thrombine (activité anti-IIa) libre ou liée au caillot.

Données pharmacocinétiques

Le dabigatran etexilate est un promédicament rapidement transformé en dabigatran actif, sous l'action d'estérases et de carboxyl-estérases microsomiales. Sa biodisponibilité est faible, de l'ordre de 6%. La liaison aux protéines plasmatiques est estimée à 35%. Au cours de son métabolisme, le dabigatran subit une étape de glucuronidation : l'acylglucuronide de dabigatran est un métabolite actif, qui représente 15 à 25% du dabigatran plasmatique total. Il est éliminé à 80% par le rein sous forme active. Les concentrations de dabigatran (moyennes géométriques et 25^{èmes}-75^{èmes} percentiles), indiquées dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) sont les suivantes : pour un patient traité par dabigatran etexilate 150 mg deux fois par jour, la concentration maximale (C_{max}) est de 175 ng/mL (117-275) et la concentration résiduelle (C_{res}) (12 heures après la prise du médicament) de 91 ng/mL (61-143). La demi-vie du dabigatran est de l'ordre de 11 à 14 heures chez le sujet sain ; elle s'allonge avec le degré d'insuffisance rénale pour atteindre 27 heures en moyenne chez l'insuffisant rénal sévère (RCP), avec de larges écarts entre les valeurs extrêmes témoignant d'une importante variabilité pharmacocinétique interindividuelle.

Effet du dabigatran sur les examens d'hémostase

Le dabigatran modifie les tests chronométriques, basés sur la mesure d'un temps de coagulation, qu'il s'agisse d'examens d'hémostase usuels ou plus spécialisés, réalisés notamment lors de la recherche d'un facteur de risque biologique de thrombose dans le plasma. Lors de la réalisation d'une exploration de l'hémostase dans une situation critique (en cas d'hémorragie, d'accident thromboembolique ou en prévision d'un geste invasif), il est difficile de dissocier l'effet du médicament de celui d'une éventuelle pathologie associée de la coagulation. Si l'effet du dabigatran sur certains tests peut être relativement modeste aux concentrations pharmacologiques usuelles, notamment à distance de la prise, il peut être majeur sur d'autres tests (comme le temps de thrombine) ou en cas de surdosage, et rendre très difficile l'interprétation des résultats.

Temps de Quick (TQ) / taux de prothrombine (TP), temps de céphaline avec activateur (TCA)

Il existe un allongement du TQ et du TCA dont l'amplitude varie en fonction du réactif utilisé, la thromboplastine pour la mesure du TQ, la céphaline pour la mesure du TCA. Pour le TQ, cet allongement est proportionnel à la concentration du dabigatran, mais la sensibilité de ce test reste faible. Pour le TCA, la relation concentration-effet est non linéaire, avec un

infléchissement de la pente pour les concentrations très élevées, qui rend l'estimation d'un surdosage très imprécise. Les effets sont maxima au pic d'activité, soit 2 à 4h après la prise orale, mais l'interférence avec la mesure du TQ et du TCA peut exister à la concentration résiduelle, lorsque le patient est prélevé juste avant la prise orale suivante.

L'effet sur le TQ conduit à une réponse grossièrement erronée des tests de mesures de l'INR au lit du patient, qui ne doivent pas être utilisés chez les patients traités par dabigatran. Enfin, lorsqu'un antagoniste de la vitamine K est introduit en relais du dabigatran, l'effet du dabigatran sur le TQ contribue à une surestimation de l'INR pendant la période de chevauchement entre dabigatran et antivitamine K.

Effet sur le temps de thrombine (TT)

Le temps de thrombine, temps de coagulation réalisé par addition au plasma citraté de thrombine calcique (FIIa), explore la fibrinof ormation et est sensible à la présence de composants naturels ou chimiques, exerçant une activité anti-IIa, parmi lesquels l'héparine non fractionnée. Le TT est d'une extrême sensibilité au dabigatran, avec une relation linéaire entre l'allongement du TT et la concentration plasmatique du dabigatran, et ceci contrairement au TCA (cf *supra*). Le TT est allongé même pour des concentrations plasmatiques résiduelles faibles que chaque laboratoire doit déterminer. Néanmoins, l'imprécision de la mesure pour des TT supérieurs à 120 secondes rend ce test inutilisable pour la quantification du dabigatran. Ce test peut donc être utile en pré-analytique lorsque la prise de dabigatran est suspectée (pas de renseignement thérapeutique) ou lorsque la nature de l'anticoagulant que reçoit le patient n'est pas connue. Il peut être également utile pour s'assurer de la prise du médicament lorsqu'il existe un doute sur l'observance du traitement.

Mesure des facteurs de coagulation

La mesure de l'activité coagulante des facteurs basée sur la réalisation d'un TQ (facteurs II, V, VII et X) ou d'un TCA (facteurs VIII, IX, XI et XII) avec du plasma dilué est affectée par le dabigatran avec une sous-estimation systématique du résultat, dont l'amplitude varie selon le facteur étudié et le réactif utilisé: cette sous-estimation est en général proportionnelle à la concentration du médicament mais peut exister pour des concentrations faibles de dabigatran (≤ 50 ng/mL). Le taux du fibrinogène mesuré par la méthode de Clauss peut également être sous-estimé par certaines techniques. Compte tenu de l'interférence du dabigatran avec la mesure du TQ, le taux de fibrinogène dérivé du TQ est sous-estimé. Ces interférences rendent difficile l'interprétation d'un bilan d'hémostase en cas de coagulopathie associée. Aussi, il est recommandé de réaliser les mesures avec des échantillons prélevés juste avant la prise du médicament pour limiter au maximum l'interférence. Il est également

suggéré de réaliser la mesure des facteurs avec des dilutions de plasma plus importantes que celles habituellement utilisées. Néanmoins, il n'est souvent pas possible d'éliminer complètement l'interférence *in vitro* du dabigatran. Enfin, certaines techniques de dosage de l'activité du FXIII basées sur l'utilisation de thrombine comme réactif peuvent conduire à la sous-estimation de celle-ci en présence de dabigatran.

Mesure chromogénique de l'activité anti-Xa

Il n'existe pas d'interférence du dabigatran avec la mesure chromogénique de l'activité anti-Xa des héparines, du fondaparinux et du danaparoiide.

Recherche d'un anticoagulant circulant de type lupique/anticorps anti-cardiolipine et anti-bêta2-GPI

En présence de dabigatran, tous les tests de coagulation recommandés pour la recherche d'un anticoagulant de type lupique, notamment les TCA « sensibilisés » et le dRVVT (diluted Russell Viper Venom clotting Time), sont allongés. L'allongement porte à la fois sur l'épreuve de détection et l'épreuve de confirmation (en présence de deux concentrations de phospholipides) ; les ratios normalisés sont également modifiés, pouvant conduire à une fausse positivité.

Le dabigatran n'interfère pas avec le titrage des anticorps anti-cardiolipine et anti-bêta2GPI par technique ELISA.

Activité anticoagulante de l'antithrombine, des protéines C et S, étude de la résistance à la protéine C activée

La mesure de l'activité de l'antithrombine par des tests basés sur l'inhibition du facteur IIa conduit à une surestimation du taux d'antithrombine pouvant ainsi masquer un déficit : ces tests ne doivent pas être utilisés chez un patient traité par dabigatran. Si nécessaire, une méthode amidolytique basée sur l'inhibition du facteur Xa pourra être utilisée.

La mesure de l'activité anticoagulante des protéines C et S par méthode chronométrique est affectée par le dabigatran. Cela conduit à une surestimation des valeurs qui peut masquer un authentique déficit. Une mesure de la protéine S libre antigène, de la protéine C antigène ou amidolytique pourra être réalisée (cf *infra*) (avec le risque de méconnaître certains déficits qualitatifs si les taux sont normaux).

La recherche d'une résistance à la protéine C activée ne peut être interprétée du fait de l'allongement des temps de coagulation pour les deux épreuves du test. L'étude génotypique (facteur V Leiden) est possible. La recherche du polymorphisme 20210 A/G du gène du facteur II ou de toute autre anomalie détectée par génotypage n'est pas affectée par le dabigatran.

Ainsi, la recherche d'une résistance à la protéine C activée, d'un déficit en antithrombine, protéine C et S ou d'un anticoagulant circulant de type lupique devra préférentiellement être effectuée à distance du traitement par dabigatran. Si elle est jugée utile alors que le traitement anticoagulant est en cours, le biologiste devra être impérativement informé du médicament administré afin d'en tenir compte pour le choix des méthodes et l'interprétation des résultats.

Mesure des paramètres de coagulation par méthode immunologique

Le dabigatran n'interfère pas avec la mesure immunologique de paramètres tels que les D-dimères, les produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine, les facteurs de la coagulation, ou les inhibiteurs de la coagulation (protéine C ou S...).

Mesure de la concentration plasmatique du dabigatran (ng/mL) par son activité anticoagulante

La mesure de la concentration de dabigatran selon son activité anticoagulante n'est pas nécessaire pour la majorité des patients. Cependant, cette mesure est utile dans un certain nombre de situations critiques : hémorragie, accident thromboembolique, nécessité d'un geste invasif urgent. Dans ce dernier cas, il convient de vérifier que la concentration résiduelle de dabigatran est compatible avec la réalisation du geste invasif. Cette concentration n'est pas précisément connue, mais une valeur seuil de 30 ng/mL a récemment été proposée par le Groupe d'Intérêt en Hémostase Péri-opératoire (GIHP) pour un geste invasif à risque hémorragique.

Tests de coagulation usuels

Le TQ et le TCA qui sont des tests usuels de coagulation facilement réalisables, disponibles dans tous les laboratoires et peu coûteux, permettent d'estimer l'activité anticoagulante du dabigatran. Néanmoins, leur sensibilité est variable en fonction des réactifs et dépend aussi du couple réactif-appareil. De plus, ils peuvent être allongés ou raccourcis pour des raisons autres que la présence du médicament, par exemple en cas d'anomalie associée de la coagulation. Pour ces raisons, le TQ et le TCA ne sauraient remplacer la mesure de la concentration du médicament, lorsque celle-ci est nécessaire, par des tests spécifiques.

L'expression du TQ en INR chez un patient traité par dabigatran doit être bannie. En effet, l'indice de sensibilité international (ISI) des thromboplastines utilisées pour le calcul de l'INR est déterminé à partir de plasmas issus de patients traités par AVK dont les facteurs vitamine K dépendants (II, VII et X) sont hypo-gamma-carboxylés. Le dabigatran ayant une activité anti-IIa directe, la variabilité inter-laboratoires du TQ exprimé en INR chez un patient traité par dabigatran est, en pratique, accrue par rapport à celle du TQ. Enfin, l'expression du

TQ en INR est de nature à semer la confusion dans l'esprit des prescripteurs : ni les zones thérapeutiques de sécurité et d'efficacité d'INR établies et validées pour les patients traités par AVK, ni les seuils de sécurité (INR < 1,5) autorisant un acte invasif chez un patient sous AVK ne s'appliquent au dabigatran.

Si le test spécifique est indisponible au laboratoire, il peut être considéré que la normalisation du TT, test extrêmement sensible, correspond à une concentration très faible à nulle de dabigatran .

Tests spécifiques de la cible : mesure de l'activité anti-IIa en ng/mL

Des trousse commercialisées permettent de mesurer l'activité anti-IIa du dabigatran (Diagnostica Stago, Hyphen Biomed). La mesure nécessite une configuration de l'appareil, une calibration et des contrôles spécifiques. Les résultats exprimés en concentrations dites pondérales (en ng/mL) sont obtenus à partir d'une droite de calibration établie à l'aide de plasmas titrés surchargés en dabigatran. Les tests permettant de mesurer l'activité anti-IIa sont basés sur différents principes :

- le « temps de thrombine dilué » est un test chromométrique ou chromogénique réalisé avec le plasma dilué dans des conditions définies, avec addition de thrombine. Le test chromométrique est sensible à la présence dans le plasma d'héparine non fractionnée mais à des concentrations relativement élevées > 0,75 UI/mL contrairement au test chromogénique qui contient un inhibiteur de l'héparine non fractionnée et des héparines de bas poids moléculaire.
- un test chromogénique est basé sur l'utilisation de l'écarine, une protéase purifiée extraite du venin de la vipère *Echis carinatus*. L'écarine transforme la prothrombine en meizothrombine capable de cliver un substrat chromogène. La meizothrombine est sensible à l'action inhibitrice des anti-IIa directs mais est insensible à l'héparine et à ses dérivés, ou à l'antithrombine.

Chaque laboratoire doit avoir connaissance de ses limites de détection et de quantification pour le test utilisé. Le domaine de mesure qui comprend les concentrations pharmacologiques usuelles (entre Cmax et Cmin) doit être connu du biologiste pour interpréter le résultat. Dans les zones élevées, une pré-dilution du plasma peut s'avérer nécessaire lorsqu'il convient d'évaluer l'importance d'un éventuel surdosage. Ces tests, quoique facilement réalisables, sont actuellement peu répandus et ne sont pas inscrits pour l'instant à la nomenclature des actes de biologie médicale.

Références

Dager WE, Gosselin RC, 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; 46:1627-36.

Douxflis J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogné JM. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. *Laboratory recommendations for monitoring of dabigatran etexilate. Thromb Haemost.* 2012;107:985-97.

Halbmayer WM, Weigel G, Quehenberger P, Tomasits J, Haushofer AC, Aspoeck G, Loacker L, Schnapka-Koepf M, Goebel G, Griesmacher A. Interference of the new oral anticoagulant dabigatran with frequently used coagulation tests. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50:1601-5.

Lindahl TL, Baghaei F, Blixter IF, Gustafsson KM, Stigendal L, Sten-Linder M, Strandberg K, Hillarp A; Expert Group on Coagulation of the External Quality Assurance in Laboratory Medicine in Sweden. Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays. *Thromb Haemost.* 2011;105:371-8.

Samama MM, Guinet C. Laboratory assessment of new anticoagulants. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49:761-72.

Tripodi A. The laboratory and the new oral anticoagulants. *Clin Chem.* 2012 Oct 5.

van Ryn J, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld H-J, Wiene W, Feuring M, et al. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost* 2010;103:1116 – 27.

van Ryn J, Baruch L, Clemens A. Interpretation of point-of-care INR results in patients treated with dabigatran. *Am J Med.* 2012;125:417-20.

http://site.geht.org/UserFiles/file/NACO/NACO_urgences_propositions_GIHP.pdf

Tableau récapitulatif de l'effet du dabigatran sur les examens usuels d'hémostase

Test	Effet
Temps de Quick (TQ), Taux de Prothrombine (TP)	Allongement du TQ, diminution du TP ; sensibilité dépendante du réactif
Temps de Céphaline avec Activateur (TCA)	Allongement du TCA, dépendant du réactif
Fibrinogène (Fg)	Méthode de Clauss : dépend du titre de la thrombine utilisé pour le dosage du fibrinogène, et du degré de dilution du plasma Fg dérivé du TQ : cf TQ → sous-estimation du taux de Fg
Temps de thrombine (TT)	Allongement +++ du TT, test très sensible
Temps de reptilase	Pas d'effet
Mesures de l'activité coagulante des facteurs II, V, VII, X, VIII, IX, XI, XII	Sous-estimation des taux de facteurs dont le niveau est dépendant du réactif et de la dilution du plasma
Mesure de l'activité du facteur XIII	Sous-estimation du taux de FXIII lorsque de la thrombine est utilisée comme réactif
Activité cofacteur de la ristocétine (VWFRco)	Absence d'interférence analytique
Activité de l'antithrombine	Réactifs basés sur activité anti-Xa : pas d'effet Réactifs basés sur activité anti-IIa : surestimation
Activité anticoagulante des protéines C et S	Surestimation des taux
Activité amidolytique de la protéine C	Pas d'effet direct sur la mesure
Test de coagulation avec du Venin de Vipère Russell dilué (dRVVT)	Allongement des temps de coagulation et augmentation des ratios normalisés : faux positifs
Test de résistance à la protéine C activée	Allongement des temps de coagulation : surestimation du ratio
Méthodes immunologiques (D-dimères, VWFAg...)	Pas d'effet direct sur la mesure
Anticorps anticardiolipine et anti-bêta2GPI (ELISA)	Pas d'effet
Mutation Q506 du facteur V et 20210A du gène de la	Pas d'effet

prothrombine

Indications et posologies du dabigatran etexilate

Indication	Posologie
<p>Prévention des accidents vasculaires cérébraux et embolies systémiques chez les patients adultes atteints de fibrillation atriale non valvulaire associée à au moins un facteur de risque</p>	<p>une gélule de 150 mg deux fois par jour (matin et soir) Pour les patients \geq 80 ans ou avec insuffisance rénale modérée (clairance de la créatinine de 30 à 49 mL/min) : une gélule de 110 mg deux fois par jour (matin et soir)</p>
<p>Prévention des événements thromboemboliques veineux chez les patients adultes bénéficiant d'une intervention chirurgicale programmée de la hanche ou du genou</p>	<p>deux gélules de 110 mg en une seule prise Pour les patients $>$ 75 ans ou avec insuffisance rénale modérée (clairance de la créatinine de 30 à 49 mL/min) : deux gélules de 75 mg en une seule prise</p>

ENCADRE SUR L'ÉVALUATION DE LA FONCTION RENALE CHEZ LES PATIENTS TRAITÉS PAR NOUVEAUX ANTICOAGULANTS

Avant toute prescription de dabigatran, l'évaluation de la fonction rénale par la formule de Cockcroft et Gault doit être réalisée. D'autres formules recommandées pour l'évaluation du débit de filtration glomérulaire (CKD-EPI ou MDRD), sont considérées comme de meilleurs estimateurs de la fonction rénale, mais la formule de Cockcroft et Gault présente dans le cas des anticoagulants deux avantages essentiels :

- c'est la formule qui a été utilisée dans les essais cliniques pour 1) sélectionner les patients (exclusion si la clairance estimée de la créatinine est < 30 mL/min), 2) ajuster les posologies (pour exemple, 110 mg deux fois par jour en dessous de 50 mL/min au lieu de 150 mg deux fois par jour au dessus de 50 mL/min en cas de fibrillation atriale), 3) pour évaluer l'impact de la fonction rénale sur le risque hémorragique et thromboembolique,
- avec la formule de Cockcroft et Gault, les valeurs de clairance de la créatinine au delà de 75 ans sont systématiquement plus basses que les valeurs obtenues avec la formule de MDRD ou CKD-EPI. Ainsi les ajustements posologiques et les précautions d'emplois selon la fonction rénale seront plus fréquents avec la formule de Cockcroft et Gault et pourraient contribuer à une prescription du dabigatran plus sécurisée notamment chez les sujets âgés.

Pour ces raisons, c'est donc la formule de Cockcroft et Gault qui doit être utilisée pour la prescription du dabigatran etexilate.

Dans la mesure où la fonction rénale peut varier au cours du temps chez un même malade, il est recommandé de la surveiller au moins annuellement dans les cas simples ou plus souvent chez les patients à risque. Ainsi, la Société Européenne de Cardiologie recommande cette surveillance de façon systématique trois fois par an. Il est impératif de connaître la fonction rénale lorsque le patient traité se présente dans une situation à risque (hémorragie active ou acte invasif urgent).
