

Gebrauchsanweisung – IN

REF 1031EU – IN

UDI 59998629921031EU_1TV

Verwendungszweck



IN ist ein gebrauchsfertiges Reagenz für die professionelle In-vitro-Diagnostik zum Nachweis von unfractioniertem Heparin in Citratblut mittels Viskoelastometrie.



ACHTUNG: Bei Verwendung des Tests außerhalb seines vorgesehenen Verwendungszwecks können die Testergebnisse vom Anwender falsch interpretiert werden.

Indikationen für die Anwendung

Indiziert zur Anwendung bei Verdacht auf das Vorhandensein von unfractioniertem Heparin im Blut des Patienten.

Kontraindikationen für die Anwendung

Der Assay darf nicht bei Patienten angewendet werden, die mit DOACs behandelt werden, da dies zu falsch positiven Ergebnissen im IN-Assay führen kann.

Anwender



- geschultes medizinisches Fachpersonal,
- geschultes Laborpersonal.

Anwendungsumgebung

In Innenräumen, typischerweise in einem Labor, das so ausgestattet und gestaltet ist, dass standardmäßige elektrische Anschlüsse, eine angemessene Beleuchtung sowie standardmäßige Umgebungsbedingungen hinsichtlich Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Druck gewährleistet sind, um die Funktionsfähigkeit typischer elektrischer Geräte wie medizinischer Elektrogeräte und PCs sicherzustellen.

Vorgesehene Patientengruppe

Erwachsene Patienten mit Verdacht auf Exposition gegenüber unfractioniertem Heparin.

Testprinzip

IN ist ein funktioneller, vollblutbasierter Assay zur Anwendung auf Viskoelastometrie-Analysegeräten [1], bei dem der Kontaktaktivator Ellagsäure zur Aktivierung des intrinsischen Gerinnungswegs der Blutgerinnung eingesetzt wird. Die Viskoelastometrie ermöglicht die Analyse der Gerinnselbildung im Vollblut und erlaubt damit die Erfassung des Gerinnungsbeginns (über die Gerinnungszeit, CT), der Gerinnselstabilität (über die maximale Gerinnselstabilität, MCF, oder verwandte Parameter wie A20, die Amplitude 20 Minuten nach CT) sowie der Gerinnselstabilität bzw. Fibrinolyse (über die maximale Lyse, ML).

Unfraktioniertes Heparin (UFH) ist ein Antikoagulans, das über eine spezifische Pentasaccharidsequenz des Heparinmoleküls an Antithrombin (ein natürlicher im Blut vorkommender Gerinnungshemmer) bindet [2]. Diese Bindung führt zu einer Konformationsänderung des Antithrombins, wodurch dessen Fähigkeit zur Inaktivierung bestimmter Gerinnungsenzyme deutlich verstärkt wird. Der Heparin-Antithrombin-Komplex hemmt mehrere aktivierte Gerinnungsfaktoren, hauptsächlich Thrombin (Faktor IIa) und Faktor Xa sowie in geringerem Maße die Faktoren IXa, XIa und XIIa.

Im IN Assay wird die Thrombingenerierung über die Gerinnungsfaktoren XII, XI, IX, VIII, X und V vermittelt [3]. Zusätzlich zur Ellagsäure enthält das Reagenz Calciumchlorid zur Rekalkifizierung des Citratbluts. Die Kombination aus Ellagsäure und Calciumchlorid wird üblicherweise in viskoelastometrischen Tests wie dem in-tem®- oder IN-Test-Assay [1] eingesetzt (tem® ist eine eingetragene Marke von CA Casyso, Schweiz).

Ist kein unfraktioniertes Heparin vorhanden, erfolgt die Initiierung der Thrombingenerierung rasch, sodass die Gerinnungszeit (CT) des IN Assays kurz ist. Unfraktioniertes Heparin hemmt die Gerinnungsaktivierung über den intrinsischen Gerinnungsweg. Daher ist die CT bei Anwesenheit von UFH verlängert oder vollständig aufgehoben. Dies ermöglicht den Nachweis von unfraktioniertem Heparin anhand der CT-Verlängerung.

Der Nachweis von unfraktioniertem Heparin mittels funktioneller Gerinnungstests, die über den Kontaktaktivierungsweg ausgelöst werden, ist gängige Praxis. Zu diesen Tests zählen die aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) [4], die ACT (aktivierte Gerinnungszeit) [5] sowie Viskoelastometrie-basierte Tests wie in-tem®, IN-Test oder der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebene IN Assay [6]. Aufgrund ihres Wirkmechanismus sind diese Tests empfindlich gegenüber unfraktioniertem Heparin, zeigen jedoch nur eine mäßige Korrelation zwischen Gerinnungszeit / aPTT / ACT und der Antikoagulanskonzentration, wie sie mit chromogenen Substratassays (z. B. dem Anti-Xa-Test) bestimmt wird [4–5].

Bereitgestellte Materialien

10 versiegelte Einwegbeutel mit je einer Pipettenspitze mit Reagenz. Das Reagenz besteht aus einem Trockenchemie-Reagenz aus Ellagsäure und Calciumchlorid. Jeder Einwegbeutel enthält einen Trockenmittelbeutel.


Zusätzlich benötigte Materialien und Geräte

- Viskoelastometrie-Analysegerät und Messzellen (Cups & Pins),
- Elektronische Pipette für 340 µL mit 3 Sekunden Aspirations-/Dispensierzyklen,
- Blutentnahmeröhrchen (3,2% Natriumcitrat) für Gerinnungstests.

Reagenzienansatz

Das Reagenz ist gebrauchsfertig.

Lagerung und Stabilität

 Lagerung bei +2 bis +8 °C. Die ungeöffneten Einwegbeutel mit Reagenzspitzen sind bis zu dem auf dem Etikett der Spitzenverpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Ungeöffnete Spitzenverpackungen können bis zu einem Monat bei Raumtemperatur gelagert werden. Die Reagenzspitzen sind für den sofortigen Gebrauch innerhalb von 1 Minute nach dem Öffnen der Spitzenverpackung bestimmt.



ACHTUNG: Falsche Lagerungsbedingungen können die Stabilität des Reagenzes beeinträchtigen und zu falschen Testergebnissen führen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Nur für den professionellen Gebrauch durch geschultes Personal.



ACHTUNG: Verwenden Sie keine Spitzen aus defekten Spitzenverpackungen oder aus Spitzenverpackungen, die keinen Trockenmittelbeutel enthalten.



ACHTUNG: Für den einmaligen Gebrauch bestimmt - nicht wiederverwenden.



ACHTUNG: Jeder schwerwiegende Zwischenfall, der sich infolge der Verwendung des Produkts ereignet hat, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden.

ACHTUNG: Die Nichtbeachtung dieser Gebrauchsanweisung kann zu Fehlern in der Handhabung des Assays und somit zu falschen Testergebnissen führen.



ACHTUNG: Menschliche Blutproben sollten mit Sorgfalt behandelt werden, unter Beachtung der allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen für biologisch gefährliche Materialien [7].

ACHTUNG: Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen (z. B. das Tragen von Handschuhen und die Minimierung des Hautkontakts mit Probenmaterial und Reagenzien) sind beim Umgang mit allen Materialien einzuhalten.

HINWEIS: Entsorgen Sie Abfälle gemäß den lokalen Vorschriften.

HINWEIS: Ein Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich.

Restrisiken, unerwünschte Wirkungen und Informationen für den Patienten

Folgende Restrisiken wurden während der Risikomanagementaktivitäten für den Test identifiziert:

- Im Fall einer Off-Label-Verwendung des Produkts können die Testergebnisse vom Anwender falsch interpretiert werden.
- Im Fall von Bedienungsfehlern kann die Gerinnung des Patienten falsch wiedergegeben werden.
- Im Fall einer Verwendung eines abgelaufenen Produkts kann die Gerinnung des Patienten falsch wiedergegeben werden.
- Im Fall inakzeptabler Transport- und Lagerungsbedingungen kann die Gerinnung des Patienten falsch wiedergegeben werden.

Warnhinweise zu den Restrisiken sind im gesamten Dokument enthalten.

Im Rahmen der Marktbeobachtungsaktivitäten für das Produkt wurden keine unerwünschten Nebenwirkungen festgestellt.

Für das Produkt müssen keine Informationen für den Patienten angegeben werden.

Probenentnahme



ACHTUNG: Entnehmen Sie die venöse Blutprobe gemäß den empfohlenen Verfahren [8-9] unter Verwendung eines Blutentnahmeröhrchens mit 3,2 % Natriumcitrat. Die Proben sollten innerhalb von drei Stunden nach der Blutentnahme analysiert werden. Lagern Sie das Blut bei Raumtemperatur. Stellen Sie sicher, dass die Blutentnahmeröhrchen bis zum angegebenen Füllvolumen gefüllt sind, um einen zu hohen Citratgehalt zu vermeiden.

Testverfahren

1. Prüfen Sie das Verfallsdatum des Artikels. Das Format des Verfallsdatums ist JJJJ-MM-TT.



ACHTUNG: Verwenden Sie kein abgelaufenes Produkt. Die Verwendung eines abgelaufenen Produkts kann zu falschen Testergebnissen führen.

2. Warten Sie, bis die Spitzenverpackung mit der Reagenzspitze Raumtemperatur erreicht hat.
3. Wenn die Probe kalt ist ($< 22^{\circ}\text{C}$), wird empfohlen, die Probe 5 Minuten lang in der beheizten Position des Viskoelastometrie-Analysegeräts vorzuwärmen. Bei Untersuchungen zum Effekt des Vorwärmens von Blutprobenröhrchen auf Raumtemperatur wurden gegenüber nicht vorgewärmten Röhrchen wenig bis keine Auswirkungen auf die Testergebnisse beobachtet.
4. Erstellen Sie den entsprechenden Test in der Software des Viskoelastometrie-Analysegerätes gemäß der Bedienungsanleitung des Analysegerätes.
5. Setzen Sie den Cup und Pin gemäß der Bedienungsanleitung des Analysegerätes in das Gerät ein.
6. Öffnen Sie Verpackung der Reagenzspitze, setzen Sie die Reagenzspitze auf die elektronische Pipette auf und saugen Sie 340 μl Probe aus dem Blutröhrchen auf.
7. Geben Sie die Blutprobe in den Cup ab.

8. Saugen Sie die Probe erneut auf und geben Sie sie wieder in den Cup ab, um eine gründliche Durchmischung der Reagenzien mit der Blutprobe zu gewährleisten. Stellen Sie sicher, dass das Pipettieren der Probe ohne Unterbrechung des Prozesses erfolgt.
9. Starten Sie den Test wie im Handbuch des Analysegerätes beschrieben.
10. Der Test wird automatisch beendet, oder Sie können den Test wie im Handbuch des Analysegerätes beschrieben abbrechen.
11. Entfernen Sie den Cup & Pin aus dem Analysegerät und entsorgen Sie sie gemäß den lokalen Vorschriften.

Qualitätskontrolle

Plasma-basierte Qualitätskontrollmaterialien können verwendet werden, um die Stabilität der mit dem IN Assays ermittelten Testergebnisse über die Zeit zu bestätigen.

Ergebnisinterpretation und Erwartungswerte

Die Wirkung von unfraktioniertem Heparin auf den IN Assay wird anhand der Gerinnungszeit (CT) bestimmt.

Der Referenzbereich für die Gerinnungszeit (CT) liegt zwischen 113 und 164 Sekunden. Dieser wurde in einer klinischen Studie mit 123 gesunden Probanden im Alter von 18,9 bis 79,2 Jahren (51,2% weiblich, 48,8% männlich), durch Berechnung des 95%-Intervalls (2,5°-Perzentil – 97,5°-Perzentil) ermittelt.

Die Fähigkeit des IN Assays unfraktioniertes Heparin (UFH) in therapeutischen Konzentrationen ($\geq 0,3$ anti-Xa U/ml) nachzuweisen, wurde in einer klinischen Studie mit 101 Proben von 52 Patienten, welche unfraktioniertes Heparin erhielten, untersucht. Der UFH-Spiegel wurde in plättchenarmem Plasma mittels anti-Xa-Analyse bestimmt. Die Patienten waren zwischen 25,4 und 85,5 Jahre alt (19,8% weiblich, 80,2% männlich). Bei 54 Patienten lag der anti-Xa-Spiegel bei $> 0,3$ U/ml. In 18 Proben wurde keine Gerinnung detektiert, und die Gerinnungszeit wurde für die nachfolgende Analyse auf 3600 Sekunden festgelegt. Als Kontrollgruppe wurden 103 Kontrollprobanden analysiert, welche kein unfraktioniertes Heparin erhielten (19 – 78,6 Jahre alt, 49,5% weiblich, 50,5% männlich).

Gruppiert man die IN Assay-CT-Ergebnisse der Heparin-behandelten Patienten ($n = 101$) nach den anti-Xa-Ergebnissen, ergeben sich folgenden CT-Mittelwerte und CT-Bereiche:

anti-Xa Gruppe	N	Mittelwert \pm Standardabweichung (Sek.)	Bereich (min – max) (Sek.)
$< 0,1$ U/ml	17	150 ± 28	102 – 210
$0,1 - 0,3$ U/ml	30	165 ± 16	136 – 196
$0,3 - 1$ U/ml	12	256 ± 76	149 – 389
> 1 U/ml	42	2181 ± 1361	332 – 3600

Zur Bewertung der Sensitivität und Spezifität des IN Assays für den Nachweis von Heparin wurde ein Cut-off-Wert von $0,3$ U UFH/ml angewendet, welche die untere Grenze des therapeutischen Bereichs darstellt [10].

Werden die Patientengruppe (n=101) und die Kontrollgruppe (Kontrollprobanden, n=103) gemeinsam unter Verwendung eines Cut-off-Werts von 190 Sekunden [6] für die CT des IN Assays analysiert, ergeben sich folgende Werte für Sensitivität, Spezifität sowie positiven und negativen prädiktiven Wert:

Sensitivität	94%
Spezifität	97%
Positiv prädiktiver Wert (PPV)	91%
Negativ prädiktiver Wert (NPV)	98%
Positives Likelihood-Ratio (LR+)	28,3
Negatives Likelihood-Ratio (LR-)	0,06

Die Ergebnisse der weiteren viskoelastometrischen Parameter in der Referenzbereichsstudie (n = 123) waren wie folgt:

	A5 [mm]	A10 [mm]	A20 [mm]	MCF [mm]	ML [%]
Mittelwert	44,1	52,7	57,1	57,6	6,3
2.5° - 97.5° Perzentil	37 – 52	46 – 60	50 – 63	50 – 64	2 – 13

Präzision

In einer Präzisionsstudie wurde Citratblut mit und ohne Zusatz von 0,5 anti-Xa-U/ml unfractioniertem Heparin in drei Wiederholungen, auf drei Analysegeräten, von drei verschiedenen Anwendern und unter Einbeziehung von drei IN Assay-Chargen untersucht (54 Bestimmungen pro Probe). Die resultierenden Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (VK) für die Gerinnungszeit (CT) waren wie folgt:

	Mittelwert	Standardabweichung	VK
Citratblut	158,2	4,7	3,0%
Citratblut + 0,5 U/mL UFH	269,6	20,9	7,8%

Grenzen und Interferenzen

Jede In-vitro-diagnostische Methode kann unter bestimmten Umständen fehlerhafte Ergebnisse liefern. Daher wird empfohlen, geeignete Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

Messungen mit verrauschten Kurven oder unregelmäßigen Verläufen sollten verworfen und erneut durchgeführt werden. Bei der Interpretation der Ergebnisse des IN Assays sollten der klinische Kontext sowie weitere Laborparameter (sofern verfügbar) berücksichtigt werden. Generell sollte eine Messung wiederholt werden, wenn ein Ergebnis unerwartet oder anderweitig nicht plausibel erscheint.

Der Wirkmechanismus des IN Assays ist nicht spezifisch für unfraktioniertes Heparin. Ein Mangel an Gerinnungsfaktoren (z. B. infolge einer Leberfunktionsstörung, Hämophilie oder einer Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten) kann die Gerinnungszeit in Ellagsäure-induzierter Viskoelastometrie verlängern [11–13]. Die Gerinnungszeit der durch Ellagsäure ausgelösten Viskoelastometrie kann auch durch die Anwesenheit anderer Antikoagulanzen als unfraktioniertem Heparin verlängert werden, beispielsweise durch Argatroban, Dabigatran oder FXa-Antagonisten [14-15].

Der ausgedehnte Kontakt von Blut mit künstlichen Oberflächen während der extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) kann zu veränderten Gerinnungszeiten führen und somit die Spezifität des Nachweises von unfraktioniertem Heparin mittels Viskoelastometrie beeinträchtigen [16].

Interferenzen durch die folgenden Substanzen wurden unter Verwendung von Citratblut mit in-vitro-Zusatz von niedermolekularem Heparin (LMWH), Apixaban (Eliquis®, direkter FXa-Antagonist) und Dabigatran (Pradaxa®, direkter Thrombinantagonist) untersucht. Zusätzlich wurde eine 40%-ige Hämodilution mit einer 0,9%-igen Natriumchlorid- und 3,2%-igem Natriumcitrat-Lösung getestet.

Die Messungen wurden in sechsfacher Bestimmung durchgeführt. Die CT-Ergebnisse waren wie folgt:

	Mittelwert	Standardabweichung	Veränderung vs. Kontrolle
Citratblut (Kontrolle)	139	3	n/a
LMWH 0,5 I.E./ml	204	7,3	47%
LMWH 1 I.E./ml	267,5	5,6	92%
Apixaban 100 ng/ml	148,8	4,8	7%
Apixaban 300 ng/ml	163,3	1,8	17%
Dabigatran 100 ng/ml	262,5	5,4	89%
Dabigatran 300 ng/ml	384,8	11,5	177%
40% Hämodilution	153,8	2,8	11%

Es zeigt sich, dass niedermolekulares Heparin (LMWH) und Dabigatran einen klar erkennbaren Einfluss auf den IN Assay hatten, während Apixaban und die Hämodilution in diesem Experiment geringere Effekte zeigten.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass der IN Assay als funktioneller Parameter auch durch andere Faktoren als Heparin verlängert werden kann und dass Gerinnungsfaktormangel oder andere Antikoagulanzen zu falsch-positiven Ergebnissen führen können.

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung



eIFU

Die Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung wird in elektronischem Format zur Verfügung gestellt und steht auf www.apiro.eu/eIFU zum Download bereit.

Hersteller



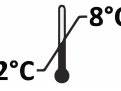





APIRO Diagnostics Kft.

Liget utca 3/2, HU-2040 Budaörs, Ungarn

+36 30 203 3334 / info@apiro.eu / www.apiro.eu

Symbole

Symbol	Bedeutung
	Hersteller
	Chargennummer
	Land der Herstellung
	Temperaturbegrenzung
	Gebrauchsanweisung oder elektronische Gebrauchsanweisung beachten.
	Nicht für patientennahe Tests vorgesehen
	Eindeutige Produktidentifizierung
	In-vitro-Diagnostikum

Symbol	Bedeutung
	Haltbarkeitsdatum
	Artikelnummer
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist. Gebrauchsanweisung beachten.
	Nicht wiederverwenden
	Enthält ausreichend für <n> Tests
	Vorsicht / Warnung
	CE-Kennzeichnung der Konformität
	Biologische Gefahr

Referenzen

[1] Volod O, Bunch CM, Zackariya N, Moore EE, Moore HB, Kwaan HC, Neal MD, Al-Fadhl MD, Patel SS, Wiarda G, Al-Fadhl HD, McCoy ML, Thomas AV, Thomas SG, Gillespie L, Khan RZ, Zamlut M, Kamphues P, Fries D, Walsh MM. Viscoelastic Hemostatic Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices. J Clin Med. 2022 Feb 7;11(3):860.

- [2] Oduah EI, Linhardt RJ, Sharfstein ST. Heparin: Past, Present, and Future. Pharmaceuticals (Basel). 2016 Jul 4;9(3):38.
- [3] Troisi R, Balasco N, Autiero I, Sica F, Vitagliano L. New insight into the traditional model of the coagulation cascade and its regulation: illustrated review of a three-dimensional view. Res Pract Thromb Haemost. 2023 Aug 7;7(6):102160.
- [4] McLaughlin K, Rimsans J, Sylvester KW, Fanikos J, Dorfman DM, Senna P, Connors JM, Goldhaber SZ. Evaluation of Antifactor-Xa Heparin Assay and Activated Partial Thromboplastin Time Values in Patients on Therapeutic Continuous Infusion Unfractionated Heparin Therapy. Clin Appl Thromb Hemost. 2019 Jan-Dec;25:1076029619876030.
- [5] Falter F, MacDonald S, Matthews C, Kemna E, Cañameres J, Besser M. Evaluation of Point-of-Care ACT Coagulometers and Anti-Xa Activity During Cardiopulmonary Bypass. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2020 Nov;34(11):2921-2927.
- [6] Heubner L, Mirus M, Vicent O, Güldner A, Tiebel O, Beyer-Westendorf J, Fries D, Spieth PM. Point of care coagulation management in anesthesiology and critical care. Minerva Anesthesiol. 2022 Jul-Aug;88(7-8):615-628.
- [7] Biosafety in microbiological and biomedical laboratories; U.S. Department of Health and Human Services, Washington, 5th Edition.
- [8] CLSI/NCCLS H03-A6; Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture.
- [9] CLSI H21-A5 Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays.
- [10] Gouin-Thibault et al. Management of Therapeutic-intensity Unfractionated Heparin: A Narrative Review on Critical Points. TH Open. 2024 Oct 17;8(3):e297-e307).
- [11] Gupta D, Arya V, Dass J, Gupta N, Kalra M, Sachdeva A, Kotwal J. Assessment of the phenotypic severity of hemophilia A: using rotational thromboelastometry (ROTEM) and APTT-clot waveform analysis. Blood Res. 2024 May 14;59(1):19.
- [12] Schmidt DE, Chaireti R, Bruzelius M, Holmström M, Antovic J, Ågren A. Correlation of thromboelastography and thrombin generation assays in warfarin-treated patients. Thromb Res. 2019 Jun;178:34-40.
- [13] Campello E, Zanetto A, Bulato C, Maggiolo S, Spiezia L, Russo FP, Gavasso S, Mazzeo P, Tormene D, Burra P, Angeli P, Senzolo M, Simioni P. Coagulopathy is not predictive of bleeding in patients with acute decompensation of cirrhosis and acute-on-chronic liver failure. Liver Int. 2021 Oct;41(10):2455-2466.
- [14] Nygaard S, Hvas CL, Hvas AM, Adelborg K. In vitro Effect of Dalteparin and Argatroban on Hemostasis in Critically Ill Sepsis Patients with New-Onset Thrombocytopenia. TH Open. 2023 Jan 30;7(1):e42-e55.
- [15] Henskens YMC, Gulpen AJW, van Oerle R, Wetzels R, Verhezen P, Spronk H, Schalla S, Crijns HJ, Ten Cate H, Ten Cate-Hoek A. Detecting clinically relevant rivaroxaban or dabigatran levels by routine coagulation tests or thromboelastography in a cohort of patients with atrial fibrillation. Thromb J. 2018 Feb 1;16:3.

[16] Prakash S, Wiersema UF, Bihari S, Roxby D. Discordance between ROTEM® clotting time and conventional tests during unfractionated heparin-based anticoagulation in intensive care patients on extracorporeal membrane oxygenation. Anaesth Intensive Care. 2016 Jan;44(1):85-92.

Versionsverlauf

Datum	Version	Änderungen
2025-10-29	1	Erstversion