

Gebrauchsanweisung – RVV

REF 1071EU – RVV

UDI 59998629921071EU_1VH

Verwendungszweck



RVV ist ein gebrauchsfertiges Reagenz für die professionelle In-vitro-Diagnostik zum Nachweis von direkten FXa-Antagonisten 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 FXa-Antagonisten im Blut des Patienten.

Kontraindikationen für die Anwendung

Der Assay darf nicht bei Patienten angewendet werden, die mit unfraktioniertem Heparin behandelt werden, da dies zu falsch-positiven Ergebnissen im 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 eine Exposition gegenüber direkten FXa-Antagonisten.

Testprinzip



Der RVV Assay ist ein funktioneller Vollblut-basierter Test zur Anwendung auf Viskoelastometrie-Analysegeräten [1], welcher das Gift der Kettenviper verwendet, um den Gerinnungsfaktor X direkt zu aktivieren und auf diese Weise die Thrombingenerierung im Vollblut auszulösen.

Die Viskoelastometrie ermöglicht die Erfassung der Gerinnselbildung im Vollblut und damit die Detektion des Gerinnungsbeginns (über die Gerinnungszeit, CT), der Gerinnselfestigkeit (über die maximale Gerinnselfestigkeit, MCF, oder verwandte Parameter wie A20, die Amplitude 20 Minuten nach CT) sowie der Gerinnselstabilität bzw. der Fibrinolyse (über die maximale Lyse, ML).

Direkte FXa-Inhibitoren (Apixaban, Rivaroxaban und Edoxaban) sind Antikoagulanzen, die den aktivierten Gerinnungsfaktor Xa, ein Schlüsselenzym des gemeinsamen Abschnitts der Gerinnungskaskade, selektiv und reversibel hemmen [2].

Im RVV Assay wird die Thrombingenerierung über die Gerinnungsfaktoren X und V vermittelt. Neben dem Gift der Kettenviper (Russell-Viper) enthält das Reagenz zudem Calciumchlorid zur Rekalkifizierung des Citratbluts. Die Verwendung einer Kombination aus dem Gift der Kettenviper und Calciumchlorid zum Nachweis direkter FXa-Antagonisten wurde 2013 von Exner et al. vorgeschlagen [3] und anschließend von Douxfils et al. weiter validiert [4]. Der Test wurde als IVD-Assay unter der Bezeichnung RVV-Test eingeführt [5]. Seine Sensitivität und Spezifität für den Nachweis direkter FXa-Antagonisten wurde in einer großen unabhängigen klinischen Studie nachgewiesen [5].

Wenn keine Antikoagulanzen in der Probe vorhanden sind, wird die Thrombingenerierung rasch initiiert, und die Gerinnungszeit (Clotting Time, CT) des RVV Assays ist entsprechend kurz. Direkte FXa-Antagonisten hemmen den durch das Gift der Kettenviper (Russell-Viper) gebildeten Faktor Xa (FXa). Daher ist die CT in Anwesenheit direkter FXa-Antagonisten verlängert, was den Nachweis von FXa-Antagonisten ermöglicht.

Aufgrund seines Wirkmechanismus ist die durch Gift der Kettenviper-induzierte Viskoelastometrie gegenüber FXa-Antagonisten sensitiv, jedoch wird die CT auch durch unfraktioniertes Heparin, Dabigatran und andere Antikoagulanzen verlängert [6]. Als schneller, Vollblut-basierter Assay ist er daher nicht spezifisch für die Effekte direkter FXa-Antagonisten.

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 RVV Assay ermittelten Testergebnisse über die Zeit zu bestätigen.

Ergebnisinterpretation und Erwartungswerte

Der Effekt direkter FXa-Antagonisten auf den RVV Assay wird über die Gerinnungszeit (Clotting Time, CT) detektiert.

Der Referenzbereich für die Gerinnungszeit (CT) beträgt 47–89 Sekunden. Dieser wurde in einer klinischen Studie mit 122 gesunden Probanden (Alter: 18,9–79,2 Jahre; 51,6% weiblich, 48,4% männlich) durch Berechnung des zentralen 95%-Intervalls (2,5° – 97,5° Perzentil) bestimmt.

Die Fähigkeit des RVV Assays, direkte FXa-Antagonisten ab einer Konzentration von ≥ 50 ng/ml zu detektieren, wurde in einer klinischen Studie mit 102 Proben von Patienten unter FXa-Antagonisten-Therapie untersucht. Die Konzentrationen von Apixaban, Rivaroxaban und Edoxaban wurden mittels Massenspektrometrie auf dem Shimadzu LCMS-8060-Analysator (Shimadzu, Kyoto, Japan) quantifiziert.

Folgende FXa-Antagonist-Konzentrationen (ng/ml) wurden ermittelt:

Parameter	Apixaban	Rivaroxaban	Edoxaban
N	58	29	15
Mittelwert	205,5	154,1	220,5
Standardabweichung	131,2	124,8	134,3
Min	0	0	36,7
Max	488	442	453

Folgende RVV Assay-CT-Ergebnisse für Proben mit einer direkten FXa-Antagonist-Konzentration von > 50 ng/ml wurden ermittelt:

	RVV-CT
N	87
2.5° – 97.5° Perzentil	116,8 – 386,7 Sek.
Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	238 $\pm$ 73,6 Sek.
Bereich (Min – Max)	110 – 430 Sek.

Basierend auf den Daten der untersuchten klinischen Kollektive – Patienten unter direkter FXa-Antagonist-Therapie (n=102) und Referenzkollektiv (n=122) – wurden unter Verwendung eines vordefinierten Cut-off-Wertes von 105 Sekunden für die RVV-Gerinnungszeit (RVV-CT) zur Detektion direkter FXa-Antagonisten bei einer Konzentration von 50 ng/ml folgende Kenngrößen bestimmt:

Gesamtanzahl N	224
Sensitivität	100%
Spezifität	94%
Positiv prädiktiver Wert (PPV)	92%
Negativ prädiktiver Wert (NPV)	100%
Positives Likelihood-Ratio (LR+)	17,13
Negatives Likelihood-Ratio (LR-)	0

Der Cut-off-Wert von 50 ng/ml wurde auf Grundlage der Literatur festgelegt, die angibt, dass „ein DOAK-Spiegel von unter 50 ng/ml als minimaler, klinisch nicht signifikanter antikoagulatorischer Effekt angesehen werden kann“ (Douketis JD, Spyropoulos AC. Perioperative Management of Patients Taking Direct Oral Anticoagulants: A Review. JAMA. 2024 Sep 10;332(10):825–834).

Präzision

In einer Präzisionsstudie wurde Citratblut mit und ohne Zusatz von 200 ng Apixaban/ml untersucht. Die Messungen erfolgten in drei Wiederholungen, auf drei Analysegeräten, und wurden von drei verschiedenen Anwendern unter Einbeziehung von drei RVV Assay-Chargen durchgeführt (54 Bestimmungen pro Probe). Die resultierenden Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (VK) für die Gerinnungszeit (CT) waren wie folgt:

	Mittelwert	Standardabweichung	VK
Citratblut	59,6	8,5	14,2%
Citratblut + 200 ng Apixaban/ml	272,2	31,2	11,5%

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 RVV 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.

Während in der klinischen Studie eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 94% für das Vorhandensein direkter FXa-Antagonisten ermittelt wurden, hängen diese Kennwerte von der lokalen Situation und dem Studienprotokoll ab [10]. Als Referenzmethode wurde in dieser Untersuchung die Massenspektrometrie verwendet, die hochsensitiv und präzise ist, jedoch zeitaufwendig und in vielen Zentren nicht verfügbar. Eine Anti-Xa-Analyse kann im Bereich des Cut-offs von 50 ng/ml weniger präzise sein [11]. Je mehr Patienten mit Faktorendefiziten oder unter anderen Antikoagulanzen in eine Untersuchung eingeschlossen werden (d. h. Bedingungen, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen können), desto geringer kann die Spezifität einer Untersuchung ausfallen [10]. Die Sensitivität und Spezifität des Assays sind am besten, wenn eine hochgenaue

Referenzmethode verwendet wird und wenn weniger Patienten mit anderen vermuteten Antikoagulanzen oder schweren Erkrankungen getestet werden. Wenn solche Verdachtsfälle vorliegen, kann es sinnvoll sein, verlängerte RVV Assay-Gerinnungszeiten mit spezifischeren Testmethoden zu bestätigen, sofern diese verfügbar sind.

Der Mechanismus des RVV Assays ist nicht spezifisch für direkte FXa-Antagonisten.

Andere Methoden, wie die Bestimmung der Apixaban-, Rivaroxaban- oder Edoxaban-Konzentration mittels anti-Faktor-Xa-Analyse oder Massenspektrometrie, sind im Vergleich zum RVV Assay spezifischer und sensitiver, wobei der RVV Assay einen schnellen Vollblut-basierten Test darstellt. Allerdings sind die anti-Faktor-Xa-Analyse und/oder die Massenspektrometrie in verschiedenen Zentren nicht verfügbar oder können mit langen Durchlaufzeiten verbunden sein.

Aufgrund seines Prinzips ist die durch Gift der Kettenviper (Russell-Viper) induzierte Viskoelastometrie gegenüber FXa-Antagonisten sensitiv [5], die Gerinnungszeit wird jedoch auch durch Heparine [6],[12], Argatroban [12] und Dabigatran [6] verlängert und kann zudem bei Faktorendefiziten verlängert sein [6].

Interferenzen durch die folgenden Substanzen wurde unter Verwendung von Citratblut mit in vitro Zugabe von unfraktioniertem Heparin (UFH), niedermolekularem Heparin (LMWH) und Dabigatran (Pradaxa®, direkter Thrombinantagonist) untersucht. Zusätzlich wurde eine 20%-ige und eine 40%-ige Hämodilution mit 0,9% Natriumchlorid und 3,2% Natriumcitrat getestet.

Die Messungen wurden in 6-fachen Bestimmungen durchgeführt. Die CT-Ergebnisse waren wie folgt:

	Mittelwert (Sek.)	Standard- abweichung	Veränderung (Sek.)
Citratblut (Kontrolle)	73,7	5,9	n/a
UFH 0,5 I.E./ml	471,8	22,3	398,2
UFH 1 I.E./ml	1599,0	121,4	1525,3
LMWH 0,5 I.E./ml	212,5	14,0	138,8
LMWH 1 I.E./ml	401,8	26,9	328,2
Dabigatran 100 ng/ml	216,2	10,2	142,5
Dabigatran 300 ng/ml	354,2	12,9	280,5
20% Hämodilution	68,7	5,3	-5,0
40% Hämodilution	72,7	3,3	-1,0

Es ist zu erkennen, dass UFH, LMWH und Dabigatran den RVV Assay verlängern können, während die Hämodilution im Experiment im Grunde genommen kaum Auswirkungen hatte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Gerinnungszeit im RVV Assay als funktioneller Parameter durch andere Antikoagulanzen und Gerinnungsfaktormängel verlängert werden kann, was zu falsch positiven Ergebnissen führen kann.

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung



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

Hersteller

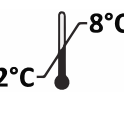


APIRO Diagnostics Kft.

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.
	Enthält biologisches Material tierischen Ursprungs.
	Nicht für patientennahe Tests vorgesehen
	Eindeutige Produktidentifizierung

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

Symbol	Bedeutung
IVD	In-vitro-Diagnostikum

Symbol	Bedeutung
--------	-----------

Referenzen

- [1] Volod O, Bunch CM, Zackariya N, Moore EE, Moore HB, Kwaan HC, Neal MD, Al-Fadhli MD, Patel SS, Wiarda G, Al-Fadhli 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] Yeh CH, Fredenburgh JC, Weitz JI. Oral direct factor Xa inhibitors. Circ Res. 2012 Sep 28;111(8):1069-78.
- [3] Exner T, Ellwood L, Rubie J, Barancewicz A. Testing for new oral anticoagulants with LA-resistant Russells viper venom reagents. An in vitro study. Thromb Haemost. 2013 Apr;109(4):762-5. doi: 10.1160/TH12-11-0842.
- [4] Douxfils J, Chatelain B, Hjemdahl P, Devalet B, Sennesael AL, Wallemacq P, Rönquist-Nii Y, Pohanka A, Dogné JM, Mullier F. Does the Russell Viper Venom time test provide a rapid estimation of the intensity of oral anticoagulation? A cohort study. Thromb Res. 2015 May;135(5):852-60. doi:10.1016/j.thromres.2015.02.020.
- [5] Oberladstätter D, Voelckel W, Schlimp C, Zipperle J, Ziegler B, Grottke O, Schöchl H. A prospective observational study of the rapid detection of clinically-relevant plasma direct oral anticoagulant levels following acute traumatic injury. Anaesthesia. 2021 Mar;76(3):373-380.
- [6] Groene P, Wagner D, Kammerer T, Kellert L, Giebl A, Massberg S, Schäfer ST. Viscoelastometry for detecting oral anticoagulants. Thromb J. 2021 Mar 16;19(1):18.
- [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] Leeftang MM, Rutjes AW, Reitsma JB, Hooft L, Bossuyt PM. Variation of a test's sensitivity and specificity with disease prevalence. CMAJ. 2013 Aug 6;185(11):E537-44.
- [11] Gouin-Thibault I, Freyburger G, de Maistre E, Susen S, Delavenne X, Golmard JL, Gruel Y, Sié P; GFHT study group on DOAC. Evaluation of dabigatran, rivaroxaban and apixaban target-specific assays in a multicenter French study. Thromb Res. 2017 Oct;158:126-133.
- [12] Gratz J, Ulbing S, Schäfer F, Koch S, Dibiasi C, Wiegele M, Quehenberger P, Schaden E. Detection of enoxaparin and argatroban by use of the novel viscoelastic coagulometer ClotPro. Sci Rep. 2024 Nov 27;14(1):29520.

Versionsverlauf

Datum	Version	Änderungen
2025-10-29	1	Erstversion